

David Van Vranken and Gregory Weiss

Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology

Chapter 3 DNA

ΜΑΘΗΣΙΑΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

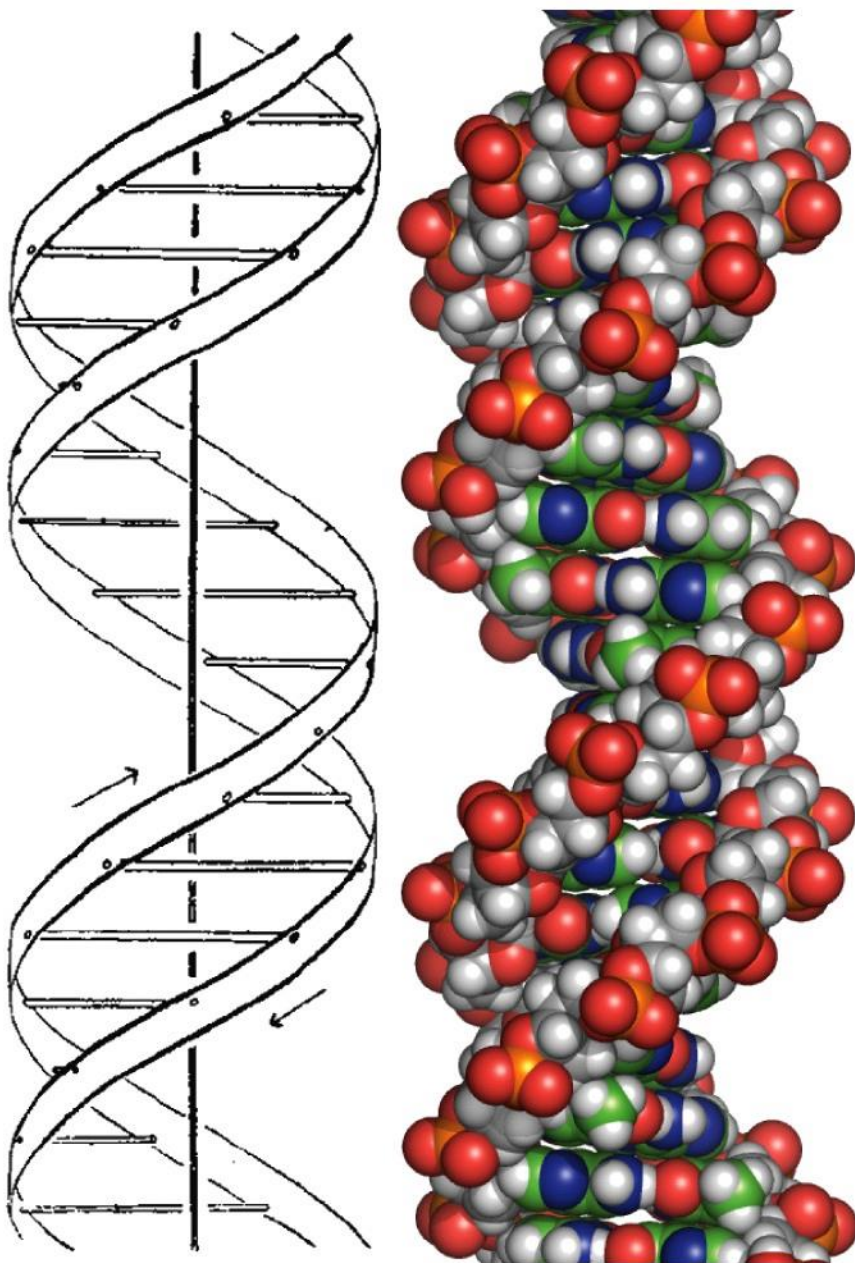
- Η εξοικείωση με την ονοματολογία και την αρίθμηση των ατόμων των νουκλεοτιδίων.
- Η αναγνώριση της χημικής διαμόρφωσης της κανονικής διπλής έλικας του DNA.
- Η πρόγνωση της αναδίπλωσης και της υβριδοποίησης βασιζόμενοι στην αλληλουχία του DNA.
- Ο σχεδιασμός μηχανισμών με βέλη ώθησης που εμπλέκονται στη χημική σύνθεση του DNA.
- Η αντιπαραβολή της βιολογικής σύνθεσης του DNA με τη χημική σύνθεσή του.
- Ο σχεδιασμός πειραμάτων χρησιμοποιώντας στοιχειώδη εργαλεία της μοριακής βιολογίας.
- Η αναγνώριση μορίων που ενδέχεται να προκαλούν βλάβη στο DNA.
- Η πρόταση μηχανισμών για τη δραστηριότητα μικρομορίων έναντι του DNA

Τα μεγαλύτερα ερωτήματα που αντιμετωπίζουμε είναι συνήθως τα απλούστερα. Από τι είμαστε φτιαγμένοι; Γιατί είμαστε εδώ; Ποιο είναι το μέλλον του είδους μας;

- Από τη δεκαετία του 1940 ήταν ξεκάθαρο πως το δεοξυριβονουκλεϊκό οξύ, ή DNA, ήταν η αρχή που μεταβίβαζε τα *κληρονομικά χαρακτηριστικά*
- Δεν ήταν γνωστή η **δομική βάση της αντιγραφής του DNA**
- Το 1953, οι James D. Watson και Francis Crick δημοσίευσαν την ορθή εικόνα της δομής του DNA—μια συμπληρωματική διπλή έλικα οι κλώνοι της οποίας συγκρατούνται μεταξύ τους με δεσμούς υδρογόνου, χρησιμοποιώντας τα υψηλής ακρίβειας δεδομένα περίθλασης ακτίνων X της Rosalind Franklin.

Το μοντέλο της συμπληρωματικής διπλής έλικας των Watson και Crick παρέχει τη χημική βάση για την αποθήκευση της γενετικής πληροφορίας, την αντιγραφή και τη μετάλλαξη—κομβικά προαπαιτούμενα της εξέλιξης



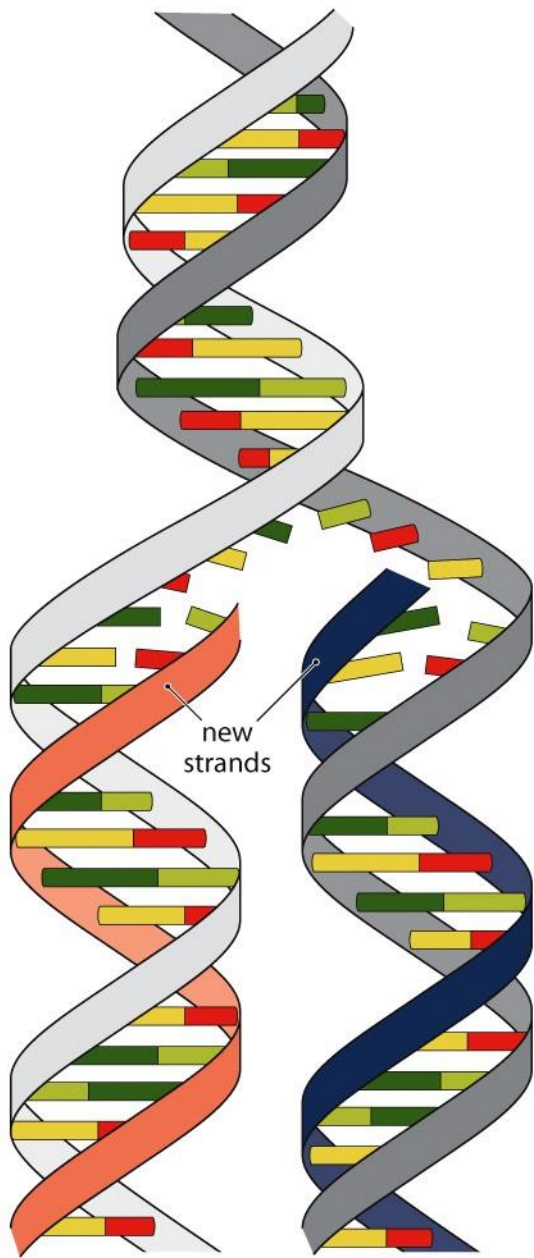


Το μοντέλο της διπλής έλικας ήταν επαναστατικό, αποτελούμενο από συμπληρωματικούς και όχι ταυτόσημους κλώνους. Η διπλή έλικα είναι σήμερα ένα σύμβολο για τη μοριακή βιολογία. Η σχεδίαση του DNA αριστερά είναι από την αυθεντική δημοσίευση των Watson και Crick όπου πρωτοαναφέρθηκε η δομή της διπλής έλικας του DNA.

ΟΙ ΜΟΡΦΕΣ ΤΟΥ DNA

Τα δίκλιωνα νουκλεϊκά οξέα γενικά υιοθετούν έναν από τους **τρεις τύπους** ελικοειδούς διαμόρφωσης που ονομάζονται A, B ή Z.

- Η **A μορφή** είναι μικρότερη και παχύτερη και συνήθως απαντάται στα δίκλιωνα RNA/RNA ή DNA/RNA.
- Η **B μορφή** είναι η κανονική διαμόρφωση που προτάθηκε από τους Watson και Crick και είναι η δομή που συνήθως συσχετίζουμε με το δίκλιωνο DNA. Τόσο οι A όσο και οι B μορφής έλικες έχουν μια δεξιόστροφη ελικοειδή περιτύλιξη, αλλά σε αλκοόλη ή σε ασυνήθιστα υψηλές συγκεντρώσεις αλάτων,
- Το DNA μπορεί να υιοθετήσει τη **Z μορφή**, με μια αριστερόστροφη περιστροφή της έλικας.



*Συμπληρωματικοί κλώνοι.
Η συμπληρωματικότητα των
κλώνων παρέχει έναν προφανή
μηχανισμό αντιγραφής σε
μοριακό επίπεδο.*

Figure 3.2 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Οι δύο κλώνοι της διπλής έλικας του τύπου B DNA συνδέονται με *δεσμούς υδρογόνου* και όχι ομοιοπολικούς δεσμούς.

Η διπλή έλικα έχει μια κλίση περίπου 3,4 Å σε κάθε βαθμίδα της σκάλας—το πάχος ενός αρωματικού δακτυλίου.

Κάθε κλώνος της διπλής έλικας του DNA έχει αντίστροφο προσανατολισμό, ο οποίος καλείται *αντιπαράλληλος*.

Ως αποτέλεσμα της ψευδο-C2 συμμετρίας της διπλής έλικας, όταν αυτή παρατηρηθεί κάθετα στον κεντρικό άξονα, μοιάζει η ίδια όπως και όταν περιστραφεί κατά 180°. Η διπλή έλικα έχει **δύο ανισότιμες μεταξύ τους αύλακες**: μια πλατύτερη *μεγαλύτερη αύλακα* (major groove) και μια στενότερη *μικρή αύλακα* (minor groove).

Αυλακωτό. Αναπαράσταση της επιφάνειας του B DNA στην οποία φαίνονται οι μεγάλες (μπλε) και οι μικρές (πράσινο) αύλακες

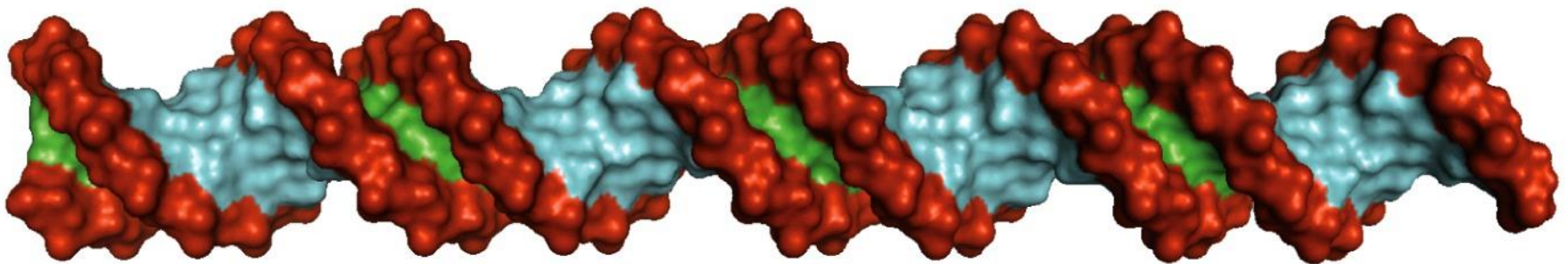


Figure 3.3 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η επιφάνεια της βαθιάς **μικρής** **αύλακας** έχει διαρκώς κινούμενα **κατιόντα νατρίου** καλυμμένα από ένα στρώμα μορίων νερού τα οποία σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου με τον φωσφορικό σκελετό.

Το **νερό** είναι άμεσα ορατό στις κρυσταλλικές δομές ακτίνων X του DNA, αλλά το **νάτριο** όχι.

1. Το **νάτριο** δεν προτιμά κάποια **εξειδικευμένη γεωμετρία συναρμογής**.

2. Το νερό συνήθως καταλαμβάνει καθορισμένες θέσεις στους κρυστάλλους του DNA γιατί μπορεί να δράσει τόσο ως δότης όσο και ως αποδέκτης σε **δεσμούς υδρογόνου**· το **νάτριο** μπορεί να δράσει μόνο ως ένα οξύ κατά Lewis.

3. Είναι δύσκολο να γίνει διάκριση των ιόντων νατρίου από τα μόρια του νερού σε χαμηλής ανάλυσης κρυσταλλικές δομές, διότι έχουν τον ίδιο αριθμό ηλεκτρονίων.

Η οργάνωση των μορίων του γονιδιωματικού DNA εξαρτάται από το είδος του οργανισμού

Σε όλους τους κυτταρικούς οργανισμούς, η διπλή έλικα είναι η κατάλληλη μορφή του *DNA* για την αποθήκευση πληροφοριών.

- Στο *Escherichia coli* όλα τα μοριακά συστατικά βρίσκονται ανεμιγμένα στο κυτταρόπλασμα: το γενετικό υλικό (**DNA**), η μηχανή της πρωτεϊνικής σύνθεσης, τα εργοστάσια των πρωτεϊνικών τροποποιήσεων και οι μονάδες παραγωγής ενέργειας.

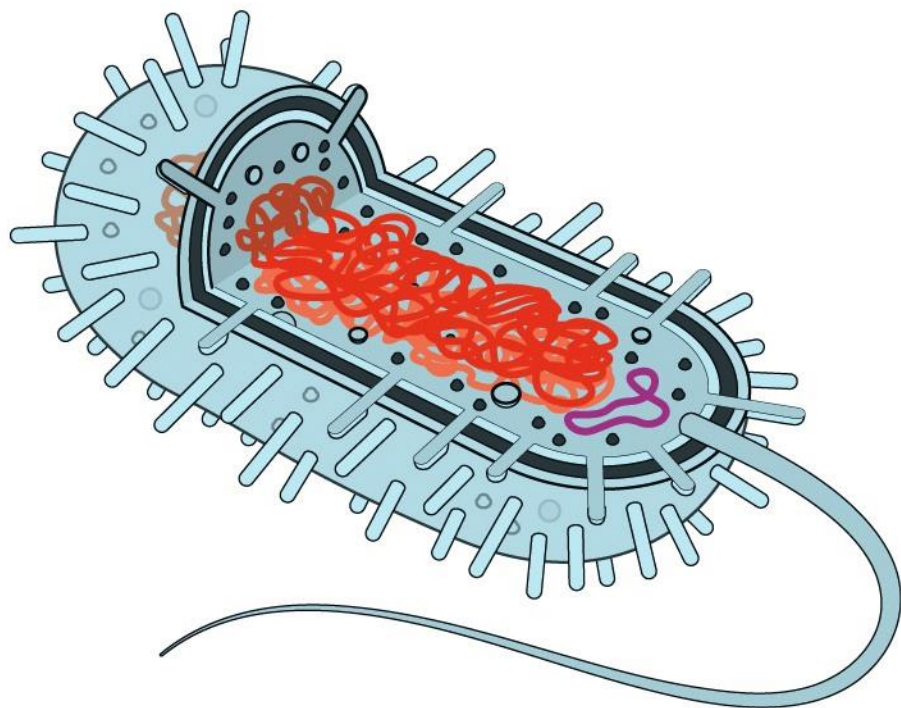
Το γονιδίωμα του *E. coli* είναι ένα κυκλικό μόριο **DNA** στο οποίο τα άκρα της διπλής έλικας ενώνονται για να φτιάξουν ένα δακτύλιο.

Τα βακτήρια περιέχουν κάποιες φορές μικρότερα κυκλικά **πλασμιδιακά (plasmid) μόρια DNA**, περίπου 1000 φορές μικρότερα από το γονιδίωμα. Τα πλασμίδια περιέχουν μικρές αλληλουχίες που ξεγελούν τον ξενιστή ώστε να φτιάξει αντίγραφα.

- Ως εξαίρεση στα δίκλιωνα γονιδιώματα, **μερικοί ιοί** μεταφέρουν ένα γονιδίωμα **μονόκλωνου DNA** από έναν ξενιστή σε έναν άλλο.

Η διαμερισματοποίηση του DNA. Το DNA και άλλα συστατικά των ανθρώπινων κυττάρων είναι διαχωρισμένα με μεμβράνες. Τα βακτήρια και άλλοι προκαρυώτες έχουν έλλειψη τέτοιων χωροταξικών διευθετήσεων. Τα κύτταρα αυτά δεν έχουν σχεδιαστεί σε κλίμακα. Ένα ερυθρό αιμοσφαίριο έχει 50–100 φορές τον όγκο του βακτηρίου E. Coli.

Prokaryotic cell



Eukaryotic cell

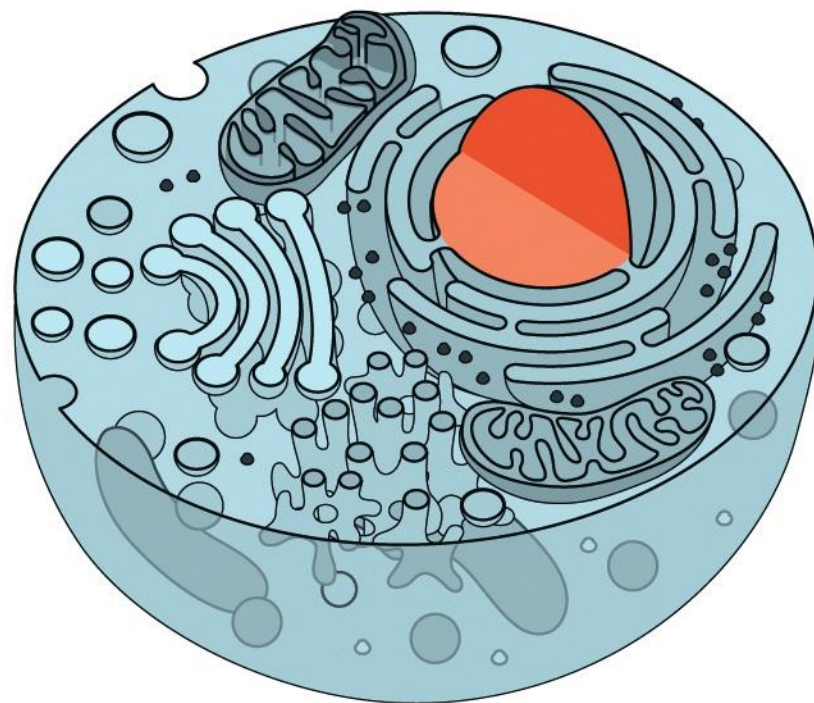


Figure 3.4 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

ΟΙ ΡΙΒΟΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΚΕΣ ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ ΤΟΥ DNA

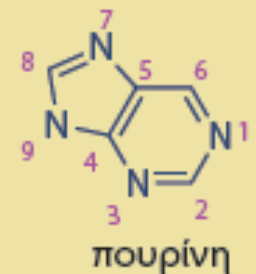
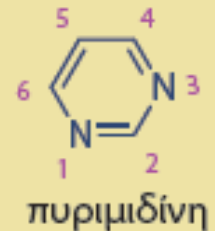
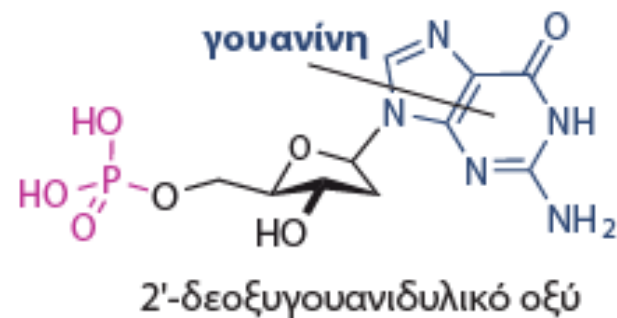
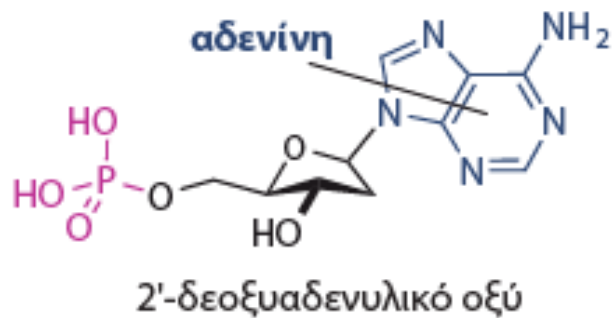
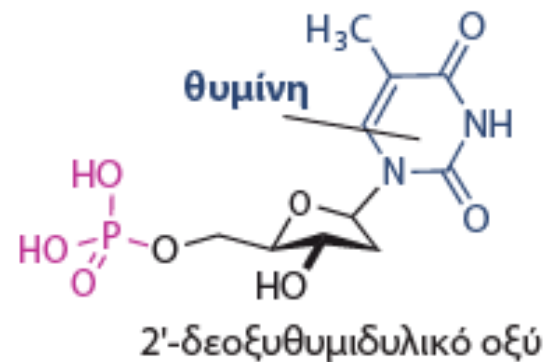
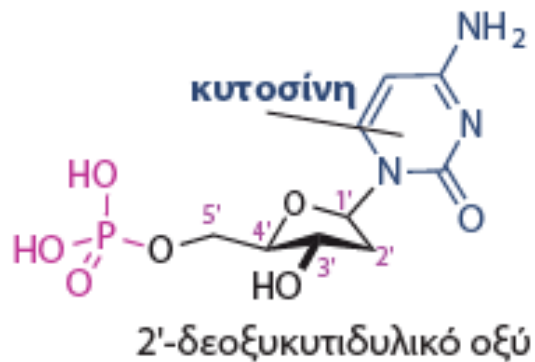
Τα νουκλεοτίδια είναι φωσφορικοί εστέρες

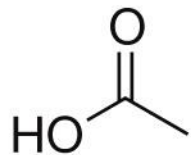
- Κάθε υπομονάδα του DNA: **νουκλεοτίδιο** (nucleotide), αποτελείται από ένα πενταμελή δακτύλιο **σακχάρου** με δύο σημαντικές λειτουργικές ομάδες: μια φωσφορική ομάδα και έναν αζωτούχο **ετεροκυκλικό δακτύλιο**.
- Τα τέσσερα νουκλεοτίδια του DNA διακρίνονται μεταξύ τους από τον αζωτούχο ετεροκυκλικό δακτύλιο: **αδενίνη, κυτοσίνη, γουανίνη και θυμίνη**.

Είναι αποδεκτή πρακτική να περιγράψουμε συντομογραφικά τις νουκλεοτιδικές υπομονάδες ως dA, dC, dG και dT (το «d» προέρχεται από το 2'-deoxy, 2'-δεόξυ), όμως όταν είναι σαφές πως κάποιος αναφέρεται αποκλειστικά στο DNA, είναι πιο συνηθισμένες οι μικρότερες συντομογραφίες A, C, G και T.

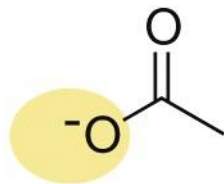
Η ανατομία των νουκλεοτιδίων.

Τα νουκλεοτίδια είναι φωσφορικοί μονοεστέρες της ριβόζης που ο καθένας τους φέρει ως υποκαταστάτη μια μοναδική ετεροκυκλική βάση. Παρόλο που τα μονομερή του DNA είναι μονοεστέρες του φωσφορικού οξέος, πολύ σπάνια τα χειριζόμαστε ως οξέα. Αντίθετα, πωλούνται, αγοράζονται και διαχειρίζονται ως τα αντίστοιχα ανιόντα

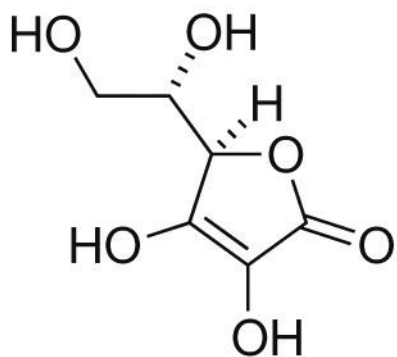




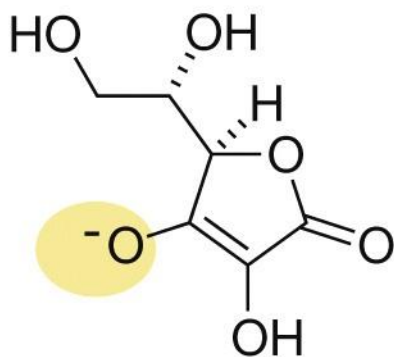
acetic acid



acetate anion



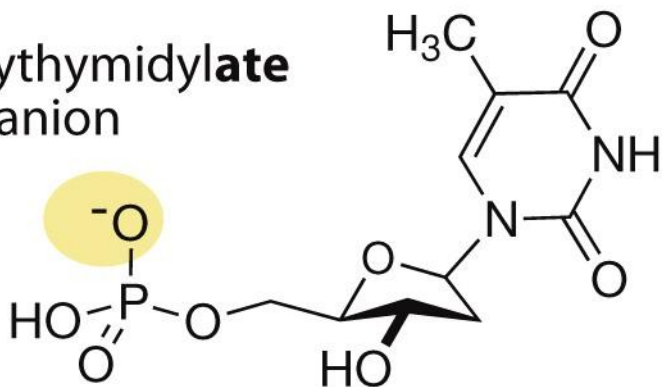
ascorbic acid



ascorbate anion

Τα καρβοξυλικά οξέα και τα φωσφορικά οξέα υπάρχουν σε μια αποπρωτονιωμένη ανιονική μορφή σε φυσιολογικό pH.

2'-deoxythymidylate anion



Το DNA και το RNA είναι πολυμερή νουκλεοτιδίων

Διαβάζοντας μια αλυσίδα DNA.

Κατά σύμβαση, τα ολιγονουκλεοτίδια διαβάζονται από το 5' τελικό προς το 3' τελικό άκρο, χρησιμοποιώντας το γράμμα p για να υποδείξουμε μια φωσφορική ομάδα.

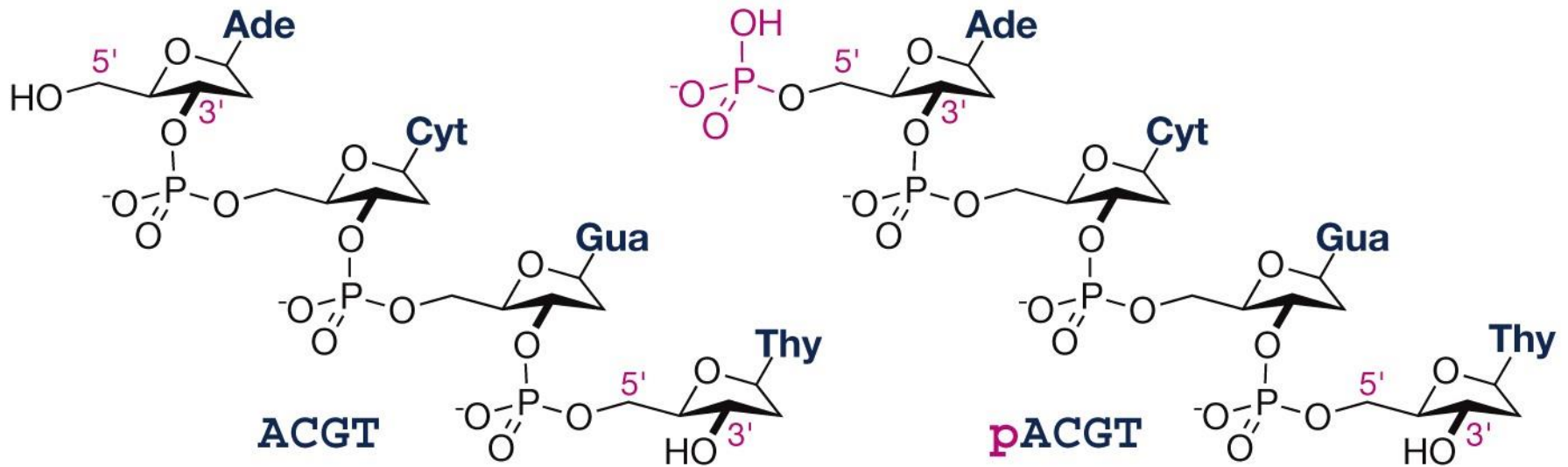


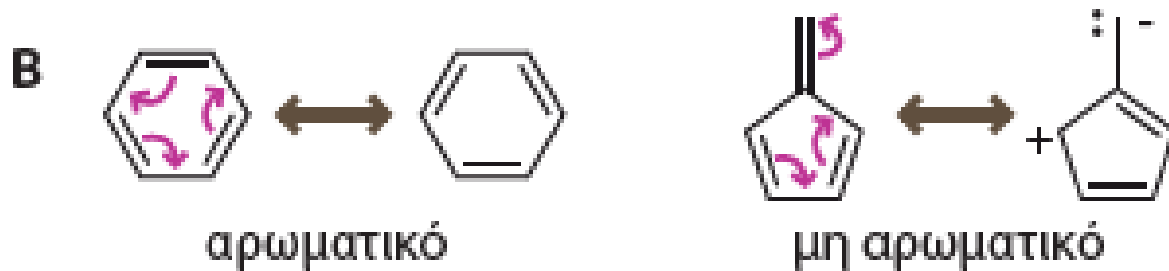
Figure 3.7 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Είναι οι ετεροκυκλικές βάσεις του DNA αρωματικές;

Η χρήση των κυρτών βελών βοηθά στο να αναδειχθεί η σημασία της γραμμικής συζυγίας σε σχέση με τη διασταυρούμενη συζυγία.



(A) Όταν υπάρχει γραμμική συζυγία, ένας διπλός δεσμός C=C μεταδίδει τον συντονισμό ανάμεσα στο αδεσμικό μονήρες ζεύγος της αμινομάδας (n_N) και στο καρβονύλιο. Όταν υπάρχει διασταυρούμενη συζυγία, ο διπλός δεσμός C=C εμποδίζει τον συντονισμό. (B) Το βενζόλιο είναι αρωματικό, ενώ το διασταυρούμενο συζυγιακό ισομερές, φουλβένιο, δεν είναι αρωματικό.



Το ενεργειακό όφελος της αρωματικότητας συχνά αντιμάχεται το κόστος του διαχωρισμού φορτίων στις ετεροκυκλικές βάσεις.

Η αρωματικότητα μπορεί να αντιστοιχεί μέχρι και σε 36 kcal mol^{-1} όφελος



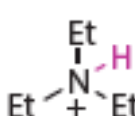
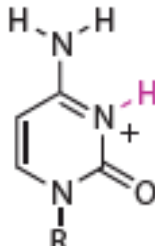
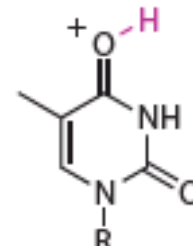
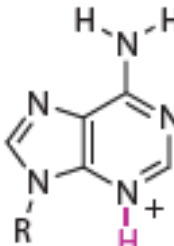
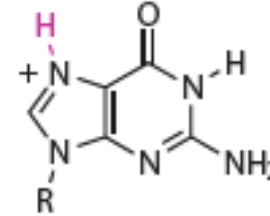
στον κετο-συντονισμό με έναν π δεσμό
Ο δεσμός $\text{C}=\text{O}$ είναι πάνω από 15 kcal mol^{-1}
σταθερότερος του π δεσμού $\text{C}=\text{N}$

Τα νουκλεϊκά οξέα δεν είναι όξινα και οι βάσεις του DNA δεν είναι βασικές

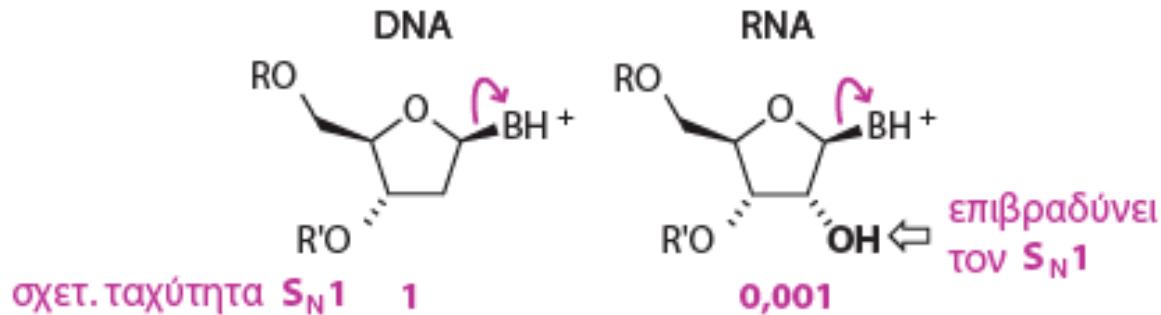
Στην περίπτωση του DNA οι όροι βάση και νουκλεϊκό οξύ υποκρύπτουν την πραγματική δραστηριότητα των λειτουργικών ομάδων υπό ρυθμιστικές φυσιολογικές συνθήκες. Το pK_a του φωσφορικού διεστέρα βρίσκεται τυπικά μεταξύ 1 και 2.

Έτσι, σε pH 7 λιγότερες από 1 στις 100.000 φωσφορικές ομάδες σε έναν κλώνο DNA θα έχουν ένα πρωτόνιο για να το προσφέρουν.

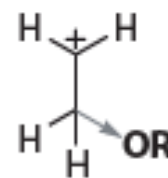
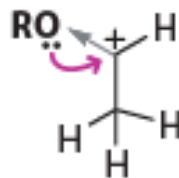
Ο όρος «βάσεις» του DNA είναι παραπλανητικός. Το άζωτο των ετεροκυκλικών δακτυλίων είναι πολύ λιγότερο βασικό από τις παραδοσιακές αμινικές βάσεις που χρησιμοποιούνται στην οργανική χημεία.

	κοινή αμινική βάση	κυτοσίνη	θυμίνη	αδενίνη	γουανίνη
					
pK_a	10,8	4,2	0,5	4,2	3,3
σχετική βασικότητα της συζυγούς βάσης	4.000.000	1	0,0002	1	0,1

Η απύσα 2'-υδροξυλομάδα στο DNA προσφέρει σταθερότητα έναντι της υδρόλυσης του φωσφοδιεστέρα



αποσταθεροποιείται από την ηλεκτραρνητικότητα
σταθεροποιείται από τον συντονισμό (πολύ)



αποσταθεροποιείται από την ηλεκτραρνητικότητα
όχι συντονισμός

Οι γειτονικές ομάδες επηρεάζουν τον S_N1 ιονισμό των βάσεων των νουκλεϊκών οξέων. Η 2' υδροξυλομάδα δεν μπορεί να σταθεροποιήσει το καρβοκατιόν μέσω συντονισμού, αλλά ασκεί ένα ασθενές αποσταθεροποιητικό επαγωγικό φαινόμενο.

Οι τροποποιήσεις στις βάσεις του DNA είναι εξίσου σημαντικές με την αλληλουχία των νουκλεοτιδίων του DNA

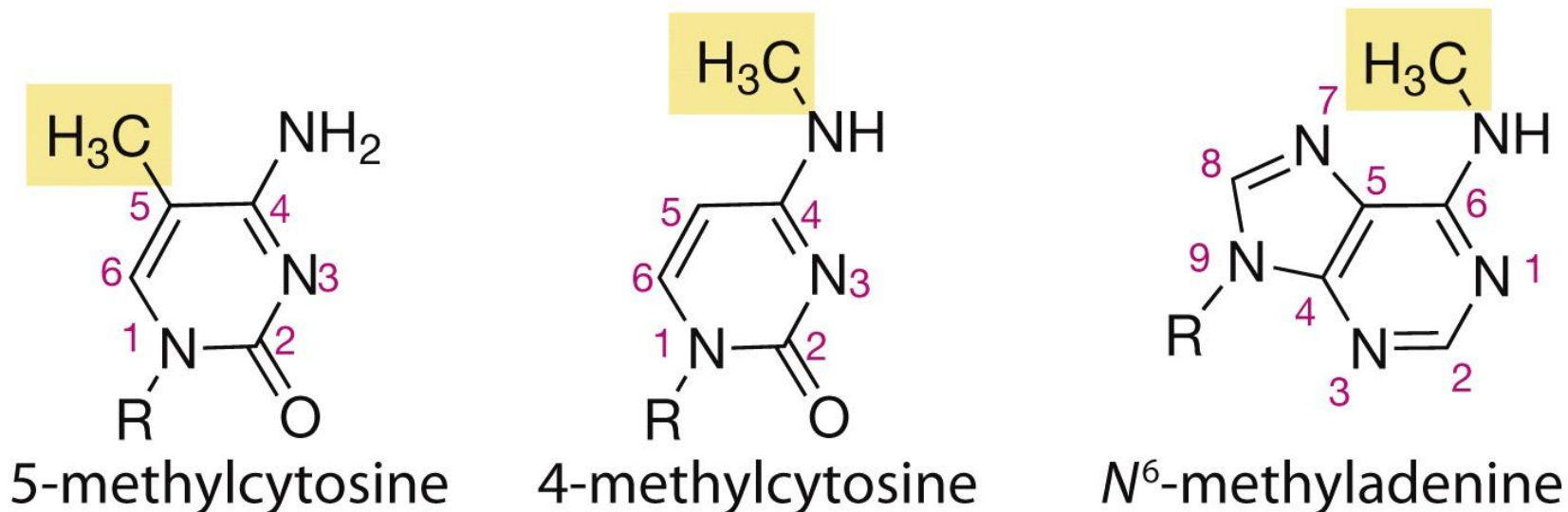


Figure 3.12 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ιικό DNA που είχε πολλαπλασιασθεί μέσω ενός στελέχους του *E. Coli* δεν ήταν πάντα αποτελεσματικό στην επιμόλυνση άλλων στελεχών του *E. Coli*

1. Τα βακτήρια διαθέτουν ενδονουκλεάσες του DNA που στοχεύουν μη φυσιολογικές αλληλουχίες του DNA
2. Τα βακτήρια περιέχουν ένζυμα τα οποία μεθυλιώνουν χημικά τις βάσεις της αδεΐνης και της κυτοσίνης στο νεο-συντιθέμενο DNA, καθιστώντας το ανθεκτικό στις εξειδικευμένες ενδονουκλεάσες περιορισμού.

Η κυτοσίνη είναι ευάλωτη σε μια υδρόλυση δύο σταδίων που προκαλείται από διθειώδη. Η 5-μεθυλοκυτοσίνη αντιστέκεται σε αυτήν την υδρολυτική μετατροπή

Το πεδίο της επιγενετικής (epigenetics) ασχολείται κατά κύριο λόγο με τους κληρονομήσιμους παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταγραφή των γονιδίων αλλά δεν καθορίζονται από τη νουκλεοτιδική αλληλουχία.

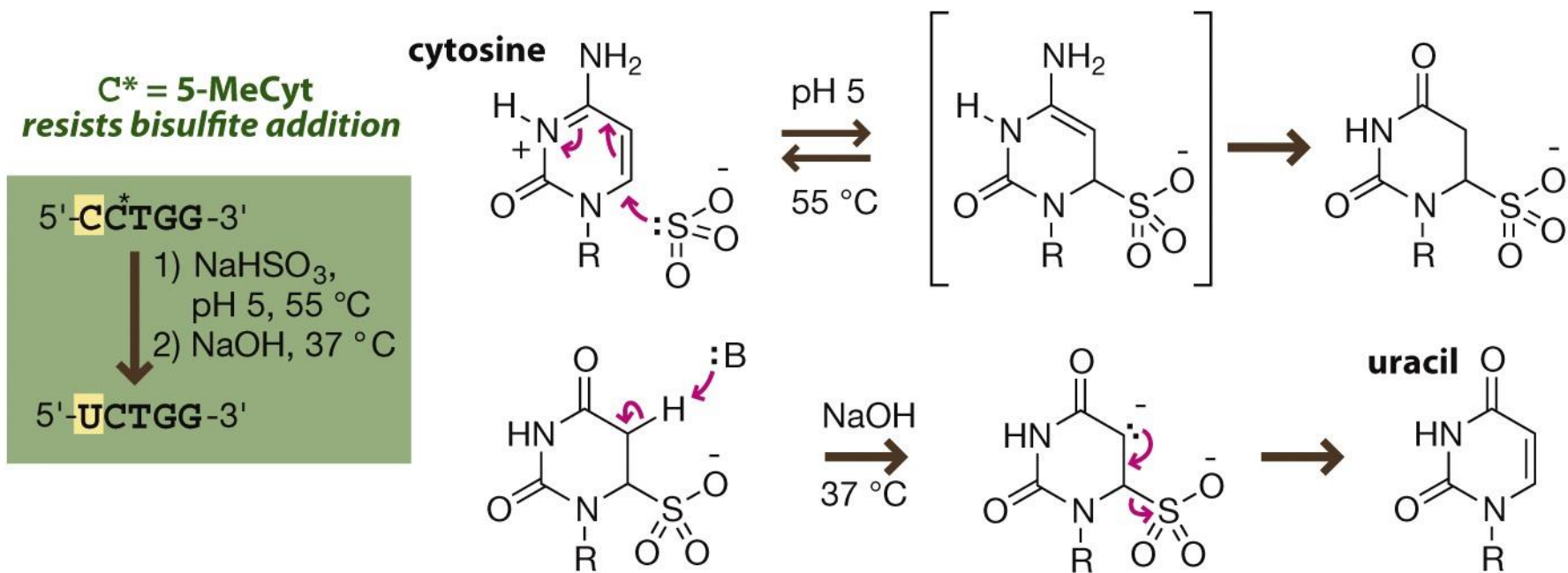
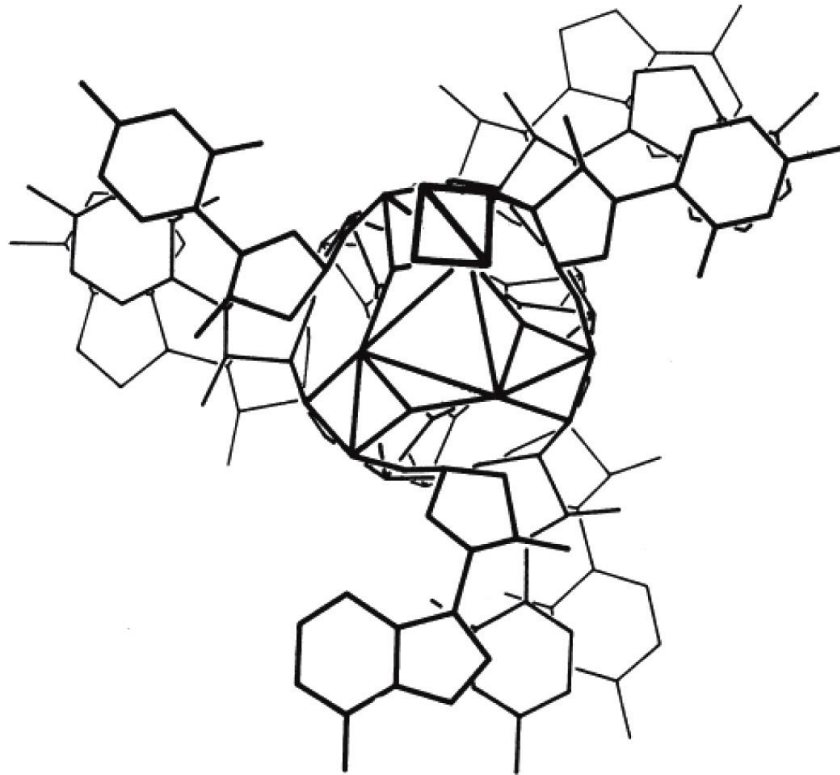


Figure 3.13 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

ΟΙ ΣΤΟΙΧΕΙΩΔΕΙΣ ΔΥΝΑΜΕΙΣ ΣΤΟ DNA

Το ζευγάρι των βάσεων δένει μαζί τους δύο κλώνους του DNA



Το ζευγάρι των βάσεων δεν ήταν πάντα μια προφανής έννοια. Μια λανθασμένη δομή του DNA που προτάθηκε από τους Linus Pauling και Robert Corey στις αρχές του 1953 περιλαμβάνει μια τριπλή έλικα που αποτελείται από τρεις ταυτόσημους κλώνους χωρίς ζευγάρι των βάσεων. Σε αυτή τη λανθασμένη υποθετική δομή, οι φωσφοδιεστερικοί σκελετοί κάθε κλώνου εμφανίζονται στο κέντρο της δομής και οι βάσεις γύρω από τα άκρα

Ο θύμος έχει το υψηλότερο περιεχόμενο σε DNA από κάθε όργανο θηλαστικού—περισσότερο από το 10% του ξηρού βάρους του ιστού. Ο Erwin Chargaff, ο οποίος έδειξε χρησιμοποιώντας DNA που απομονώθηκε από αδένες θύμου και άλλα όργανα, πως η αναλογία της A προς τη G και της C προς τη T ήταν ποικίλη, ενώ οι αναλογίες της A προς τη T και της G προς την C ήταν πάντα κοντά στη μονάδα . Για παράδειγμα, στο ανθρώπινο DNA, τα ποσοστά των A, T, G και C ήταν 30,9%, 29,4%, 19,9% και 19,8%.



Figure 3.15 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Οι δεσμοί υδρογόνου στα ζεύγη βάσεων των Watson–Crick είναι η βάση της ζωής στον πλανήτη. Η γκρι κουκίδα αναπαριστά τον άξονα της έλικας. Οι ριβόζυλο ομάδες δεν είναι τοποθετημένες συμμετρικά (180°) γύρω από τον άξονα της έλικας· αυτή η ασυμμετρία οδηγεί σε μεγάλες και μικρές αύλακες.

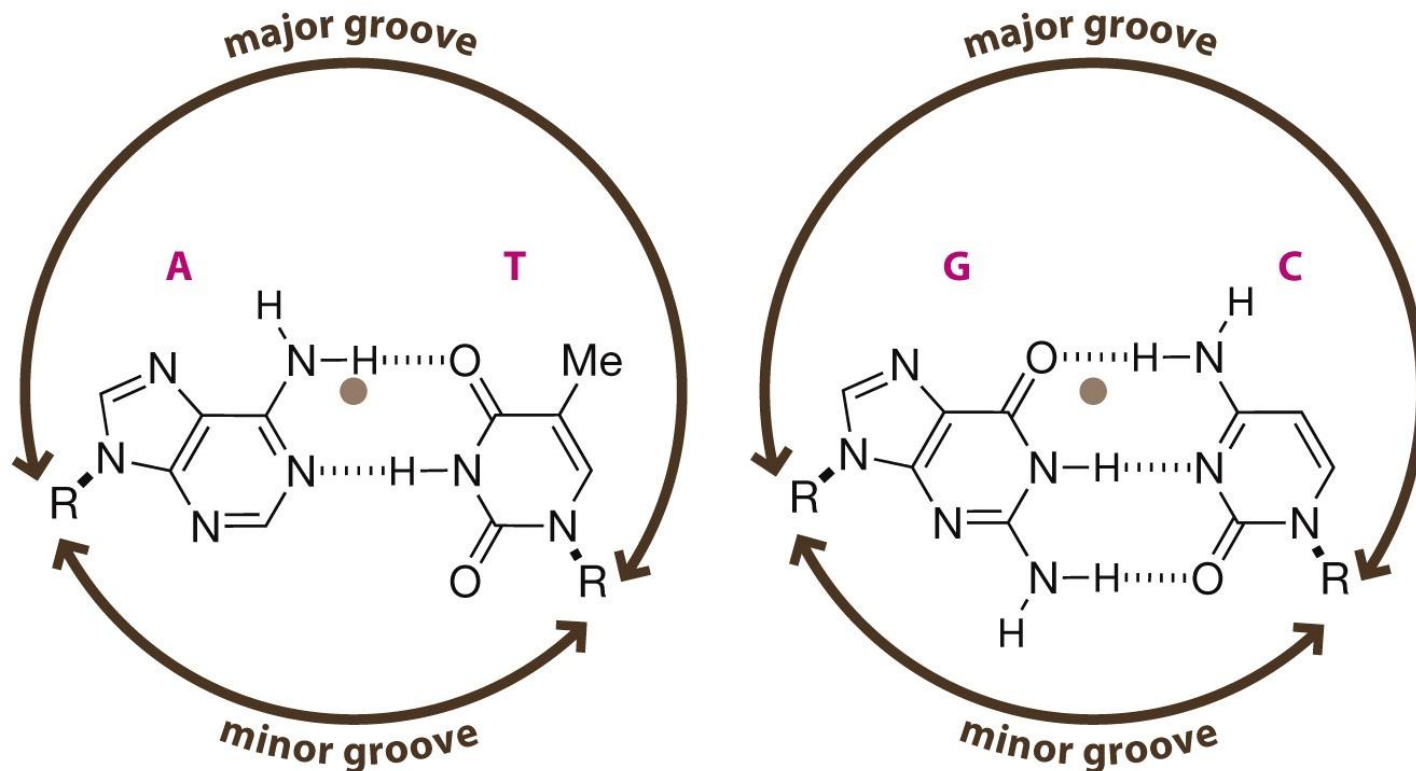


Figure 3.16 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Εξειδικευμένης αλληλουχίας πρόσδεση στο DNA. Οι μεταγραφικοί παράγοντες Fos (χρώμα μπλε του ουρανού στο βάθος) και Jun (ιώδες-μπλε μπροστά) αναγνωρίζουν την αλληλουχία TGAGTCA ανιχνεύοντας τη μεγάλη αύλακα του DNA.

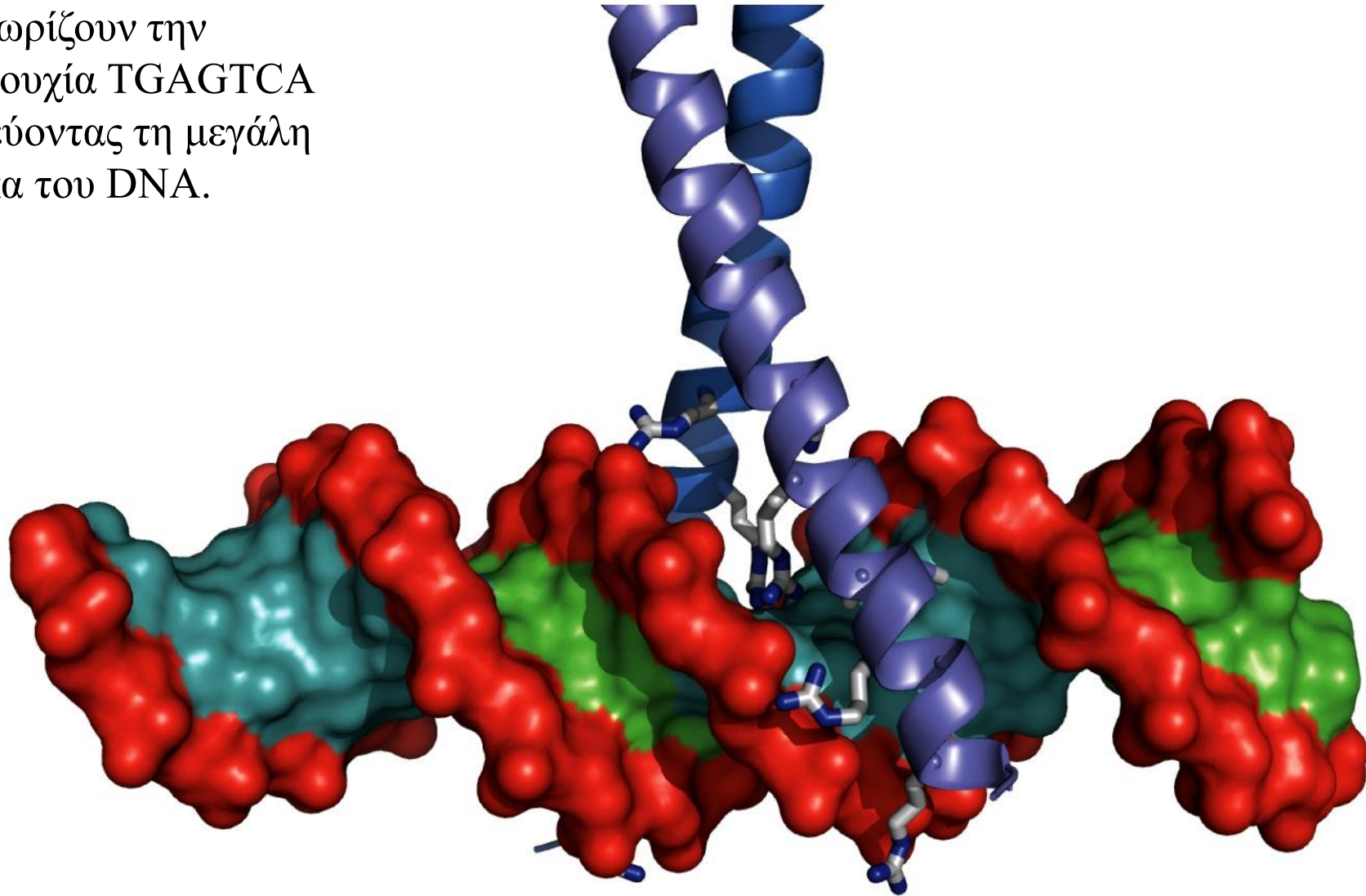


Figure 3.18 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

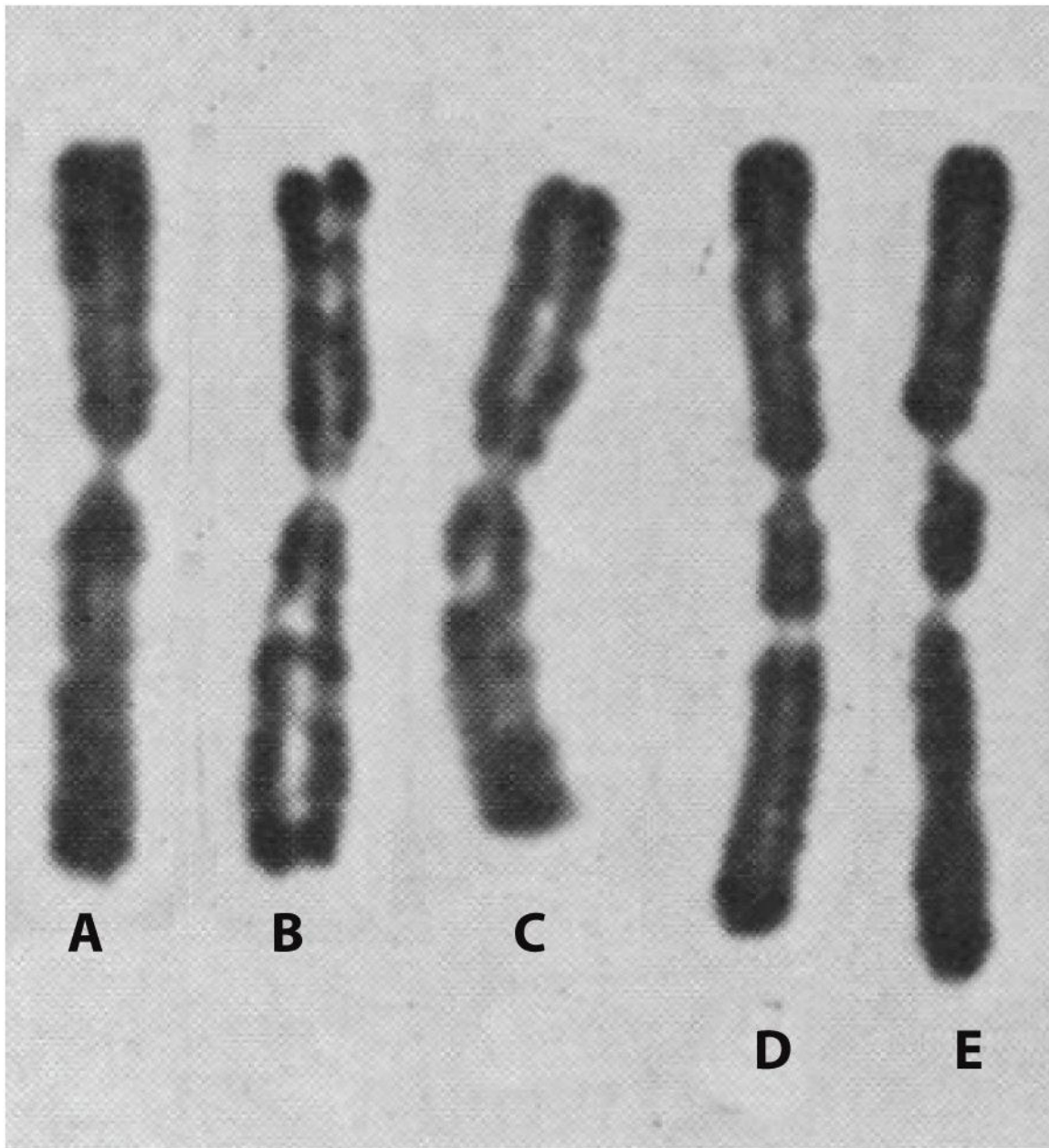
Η εργασία των Watson–Crick θα μπορούσε να ήταν ευκολότερη αν οι χημικοί γνώριζαν τους δύο θεμελιώδεις κανόνες της ταυτομέρειας: οι 2-υδροξυπυριδίνες προτιμούν την κετο-ταυτομερική δομή, ενώ οι 2-αμινοπυριδίνες προτιμούν την εναμινική ταυτομερική δομή. Το κετο-ταυτομερές ευνοείται από τη σταθερότητα του π δεσμού του C=O, ενώ ο π χαρακτήρας του αμιδικού δεσμού C–N επιτρέπει επιπλέον στο κετο-ταυτομερές να έχει σημαντική αρωματική σταθεροποίηση (με το κόστος του διαχωρισμού φορτίων)



Figure 3.19 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Προτίμηση ταυτομερούς δομής για τα παράγωγα της πυριδίνης και της πυριμιδίνης

- Στην **5-βρωμοουρακίλη (BrU)** υπάρχει ένα σημαντικά υψηλότερο ποσοστό (ως και 1%) του ασυνήθιστου ενολικού ταυτομερούς. Αυτή η ανεπαίσθητη διαφορά κάνει την **5-βρωμοουρακίλη ιδιαίτερα μεταλλαξιογόνα.**
- Επειδή το βρώμιο έχει περίπου το μέγεθος μιας μεθυλομάδας, η **5-βρωμοουρακίλη ενσωματώνεται από το κύτταρο στο DNA στη θέση της θυμίνης.** Όταν η πολυμεράση του DNA προσθέτει ένα συμπληρωματικό νουκλεοτίδιο σε έναν αυξανόμενο κλώνο εισάγει λανθασμένα G αντί για A απέναντι από τη βρωμοουριδίνη.
- τα χρωμοσώματα κυττάρων που έχουν εκτεθεί σε **βρωμοδεοξουριδίνη παρουσιάζουν εμφανή ελαττώματα στο πακετάρισμα.**



Το χρωμόσωμα 1
από κύτταρα
χάμστερ που έχουν
εκτεθεί σε
βρωμοδεοξυ-
ουριδίνη. (A)
Φυσιολογικό
χρωμόσωμα. (B-E)
Αποκλίνοντα
χρωμοσώματα

Μια μετατόπιση στην ισορροπία της ταυτομέρειας. Η ενολική μορφή της βρωμοουριδίνης οδηγεί σε περισσότερα αταίριαστα ζευγάρια από ότι η ενολική μορφή της θυμιδίνης.

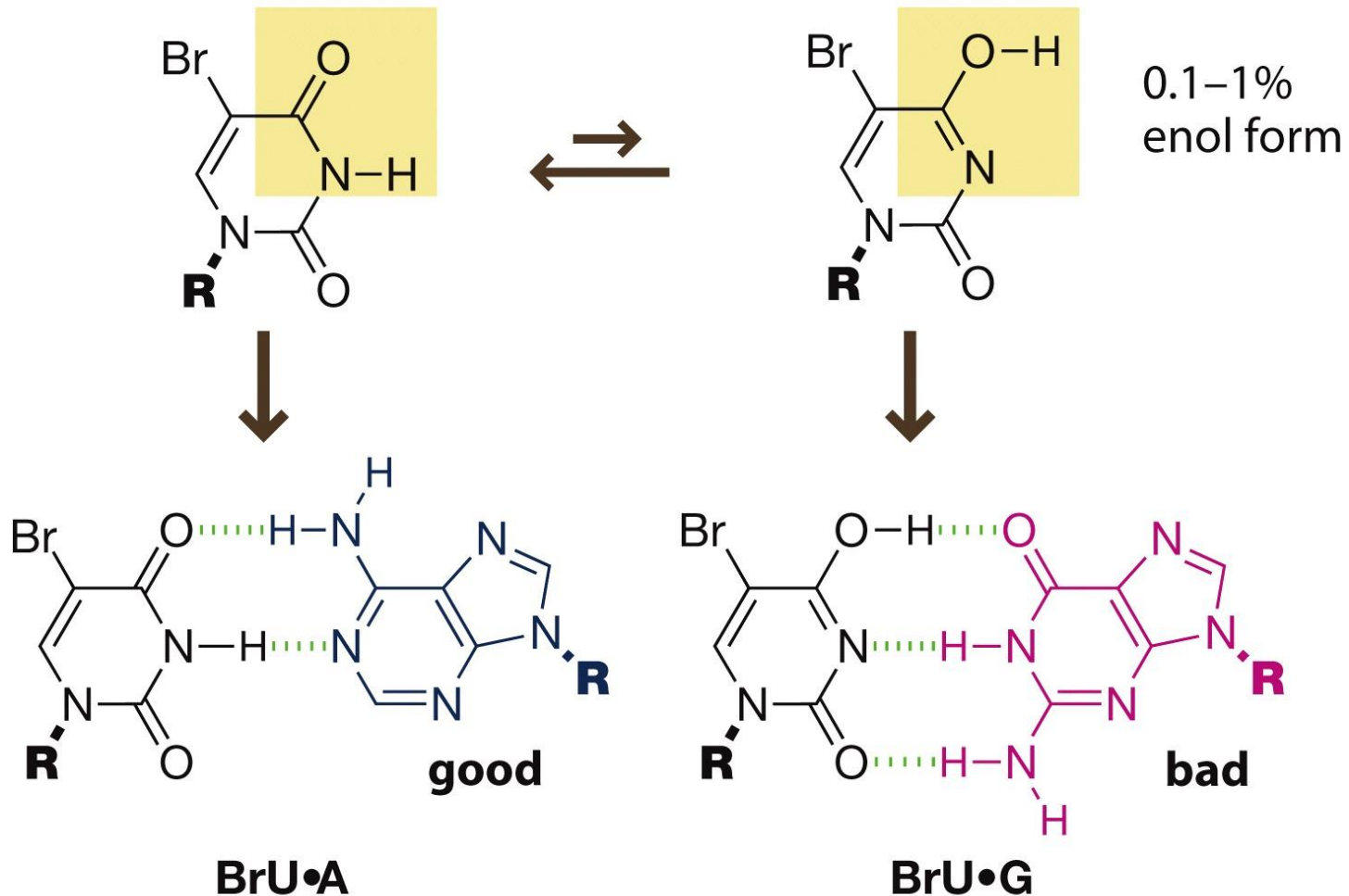


Figure 3.21 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Κάποιες μη φυσικές, ισομερείς βάσεις σχηματίζουν αποτελεσματικά ζεύγη βάσεων

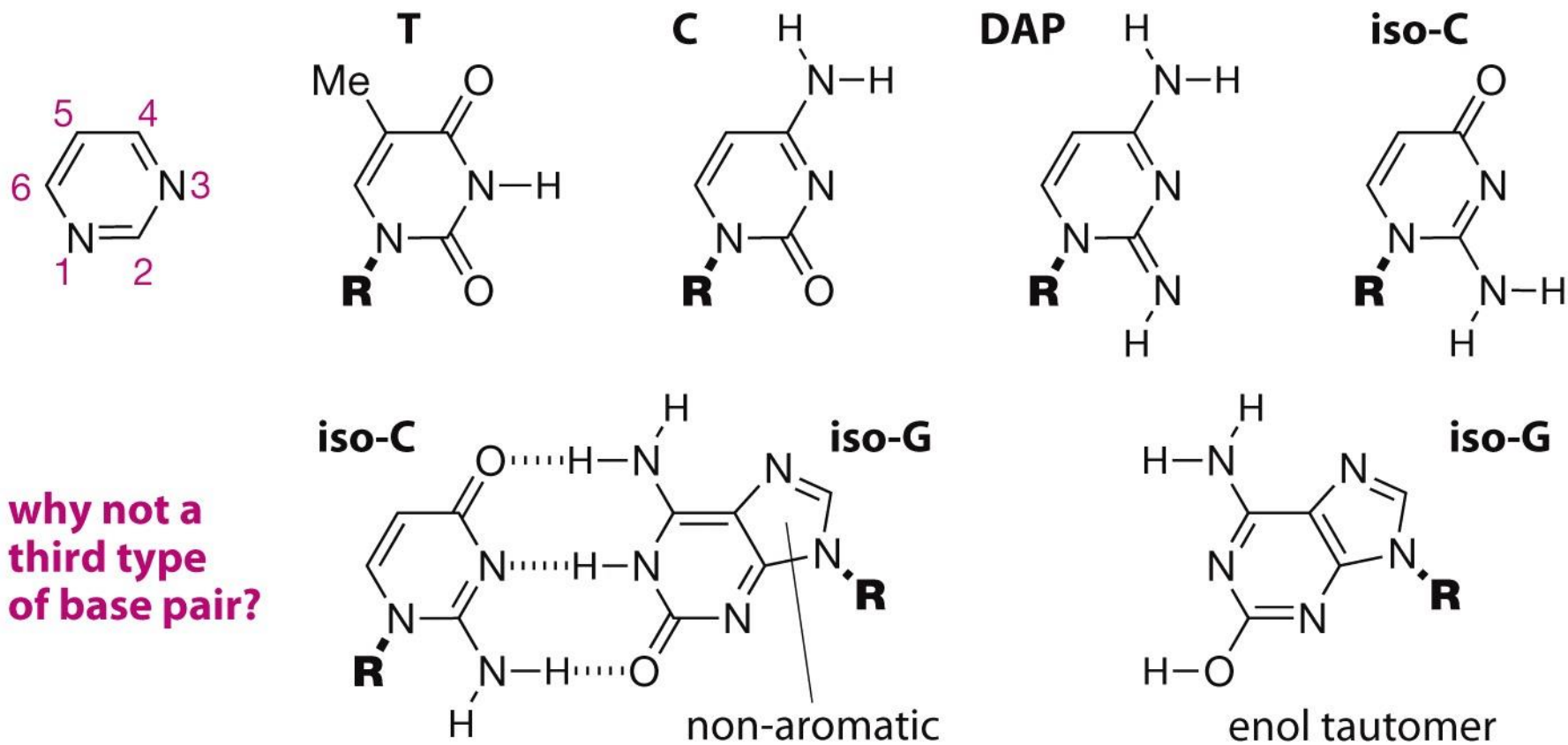
Έχουν συντεθεί και ενσωματωθεί σε κλώνους DNA και RNA νουκλεοζίτες (**nucleosides**) βασισμένοι σε συμπληρωματικές βάσεις ισο-κυτοσίνης και ισο-γουανίνης.

Στην πραγματικότητα, τα μόρια RNA που περιέχουν iso-C και iso-G είναι αποδεκτά από τον μηχανισμό της φυσιολογικής ριβοσωματικής πρωτεϊνικής σύνθεσης. Δυστυχώς όμως, οι iso-C και iso-G εμφανίζουν κάποια προβλήματα.

Η Φύση έχει, όπως φαίνεται, συγκλίνει σε ένα ιδανικό σετ νουκλεοτιδικών βάσεων, το οποίο είναι βελτιστοποιημένο ως προς τη συμπληρωματικότητα, τη σταθερότητα, την ευκολία σύνθεσης και το περιεχόμενο της πληροφορίας.

Παραδείγματα ισομερών πυριμιδίνης και ισομερών ζευγών βάσεων.

Η iso-C μπορεί να σχηματίσει ένα μοναδικό ζεύγος βάσεων με την iso-G. Δυστυχώς, το ενολικό ταυτομερές της iso-G είναι παρόν σε ανεπίτρεπτα υψηλές ποσότητες.



why not a third type of base pair?

Οι δεσμοί υδρογόνου δεν είναι απολύτως απαραίτητοι για το ζευγάρι των συμπληρωματικών βάσεων

Είναι σίγουρα αληθές πως οι δεσμοί υδρογόνου εξασφαλίζουν τη σταθερότητα της διπλής έλικας του DNA, αλλά θα μπορούσαμε να αναρωτηθούμε αν είναι και απαραίτητοι για τη συμπληρωματικότητα κάθε ζεύγους βάσεων.

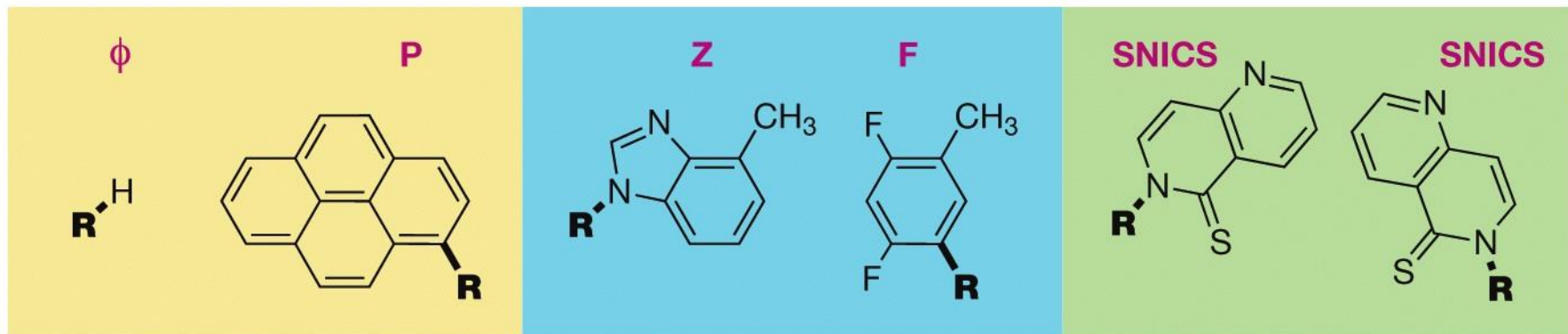


Figure 3.23 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ζεύγη βάσεων χωρίς δεσμούς υδρογόνου. Νουκλεοζιτικοί υποκαταστάτες χωρίς ομάδες που να σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου μπορούν να λειτουργήσουν ως συμπληρωματικές «βάσεις». Το ένζυμο DNA πολυμεράση, μπορεί να ενσωματώσει εκλεκτικά αυτά τα νουκλεοτίδια, με βάση τους στερεοχημικούς παραγόντες και όχι λόγω της δημιουργίας δεσμών υδρογόνου

Το ζευγάρι βάσεων τύπου Hoogsteen βρίσκεται στο DNA τριπλής έλικας. Τα ζεύγη βάσεων κατά Hoogsteen χρησιμοποιούν ένα διαφορετικό άκρο των πουρινών από αυτό των ζευγών βάσεων κατά Watson–Crick.

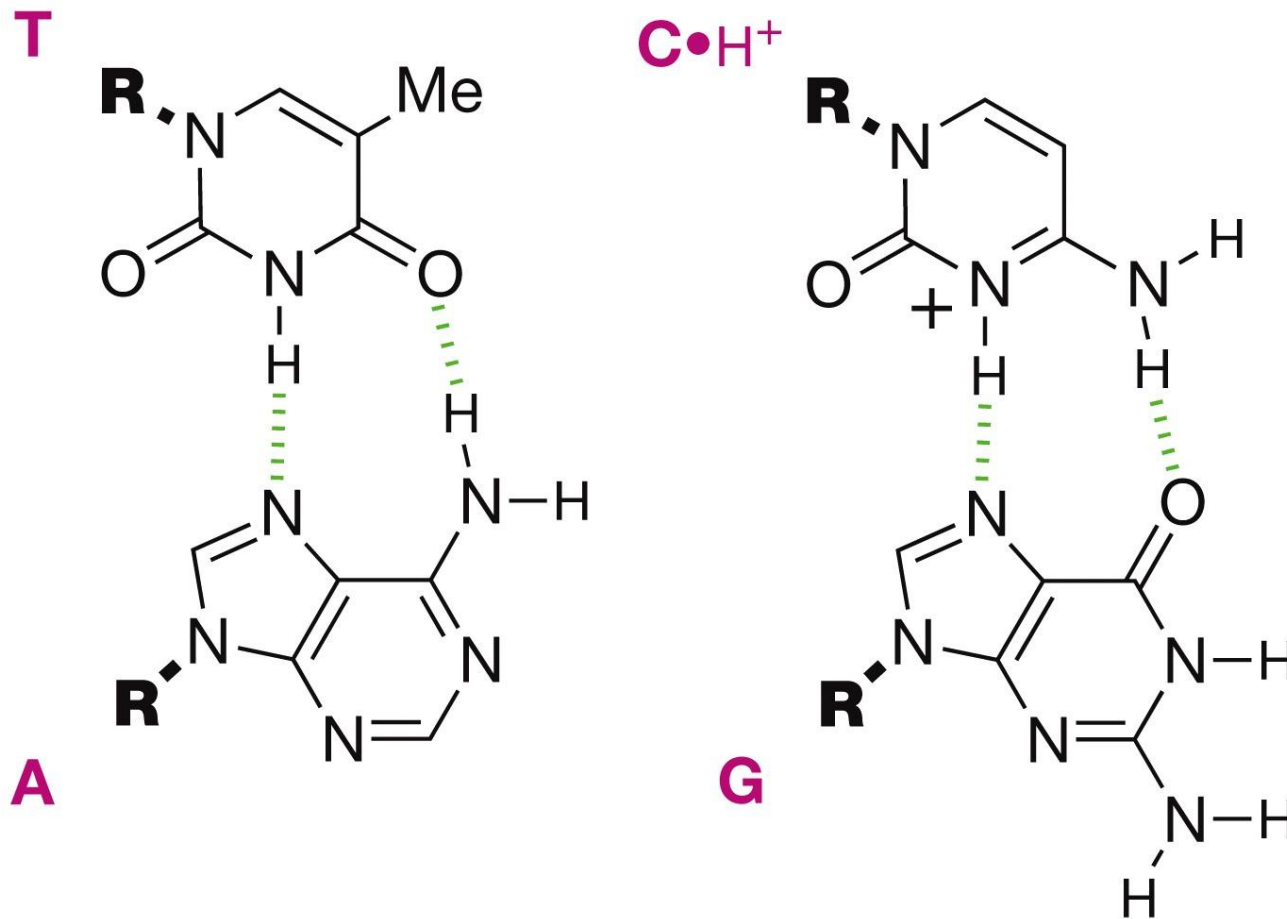
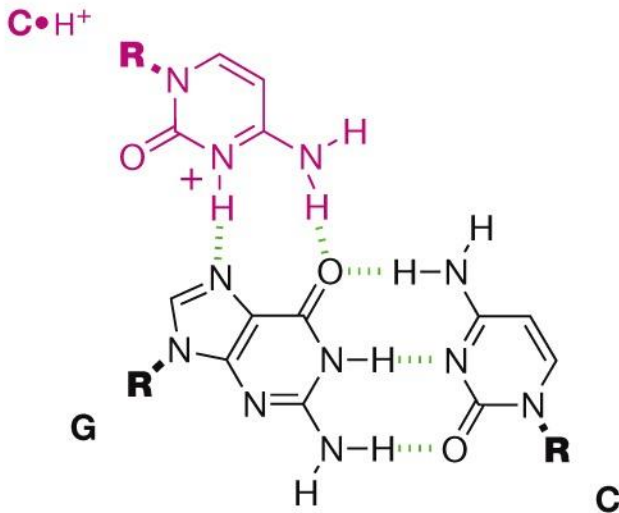
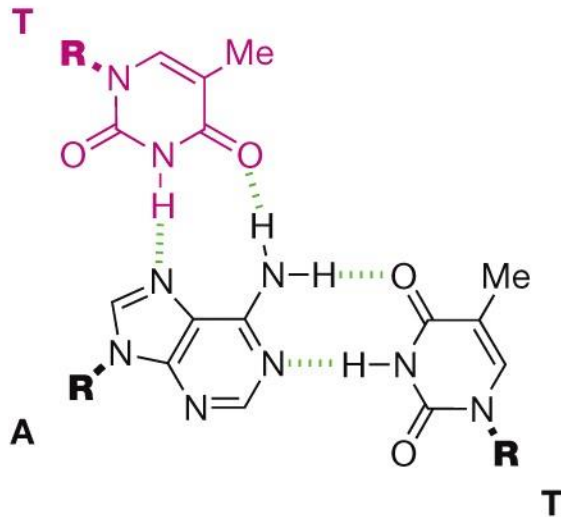


Figure 3.24 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

A



B

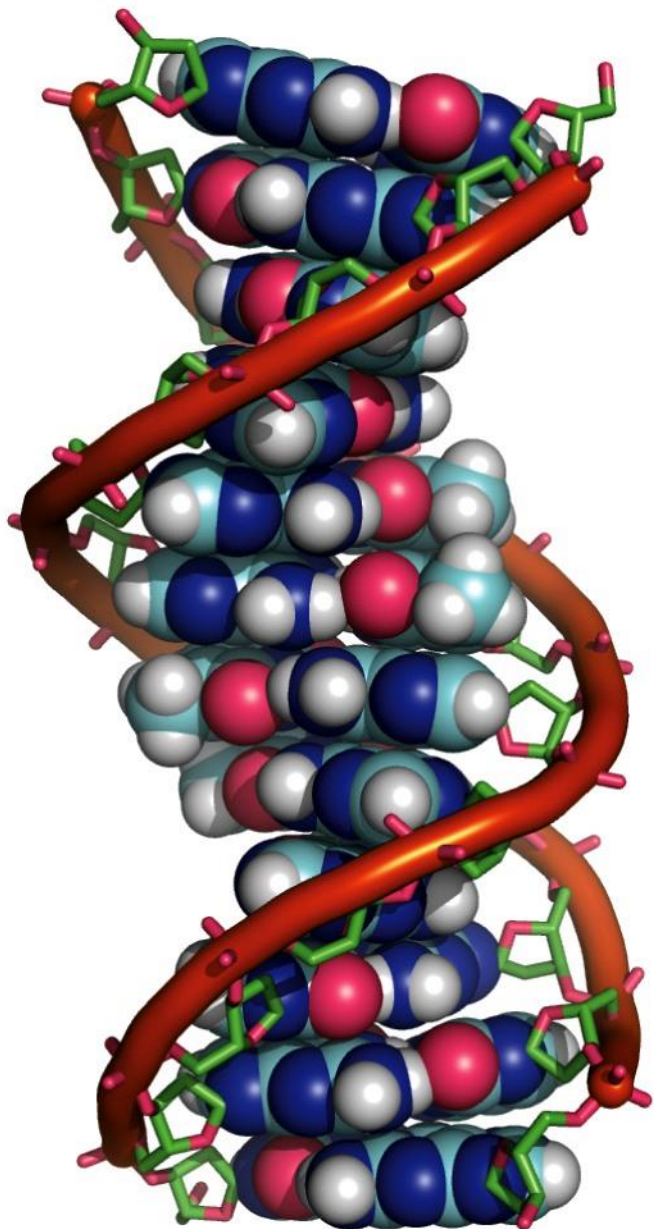


3' 5'

T-A
 A-T
 G-C
 C-G
3' T-A
T-A-T
C⁺-G-C
T-A-T
C⁺-G-C
T-A-T
C⁺-G-C
T-A-T
C⁺-G-C
T-A-T
T-A-T
T-A-T
T-A-T
***T**-A-T
 T-A
 A-T
 T-A
 A-T
 T-A
 A-T
 T-A
 A-T
 T-A
 A-T

Τρίκλωνο DNA. (A) Οι συμπληρωματικές τρίδυμες βάσεις του DNA, TAT και C+GC περιλαμβάνουν ζευγάρωμα βάσεων τόσο τύπου Hoogsteen όσο και τύπου Watson-Crick. (B) Μονοκλωνικά ολιγονουκλεοτίδια μπορούν να σχεδιαστούν έτσι ώστε να δεσμεύονται εκλεκτικά σε αλληλουχίες της μεγάλης αύλακας του DNA με ζευγάρωμα βάσεων τύπου Hoogsteen

Η τριπλή αναγνώριση έχει χρησιμοποιηθεί για να μεταφέρει δραστικά μόρια σε συγκεκριμένες περιοχές του DNA. Για παράδειγμα, ο Dervan και οι συνεργάτες του ήταν οι πρώτοι που έδειξαν πως ο σχηματισμός της τριπλής έλικας θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να καθοδηγήσει την προκαλούμενη από σίδηρο διάσπαση του DNA σε συγκεκριμένες περιοχές.

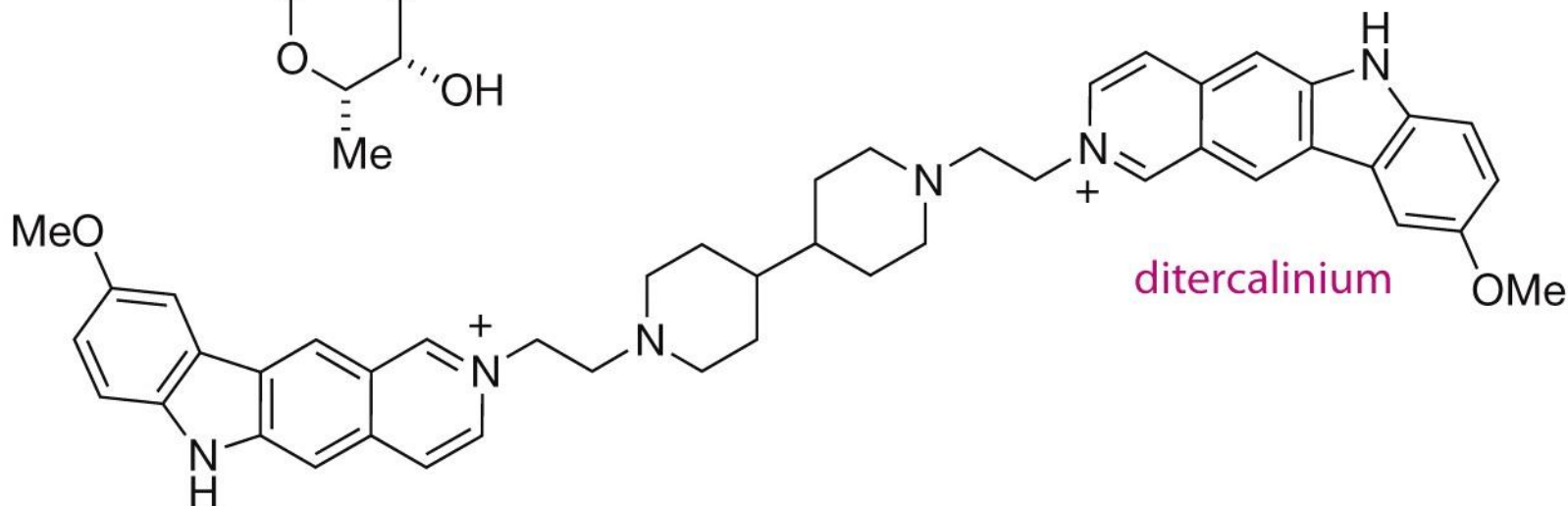
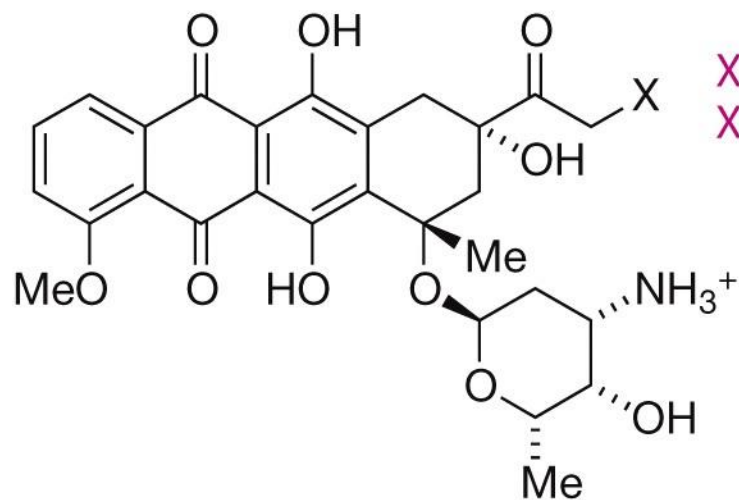


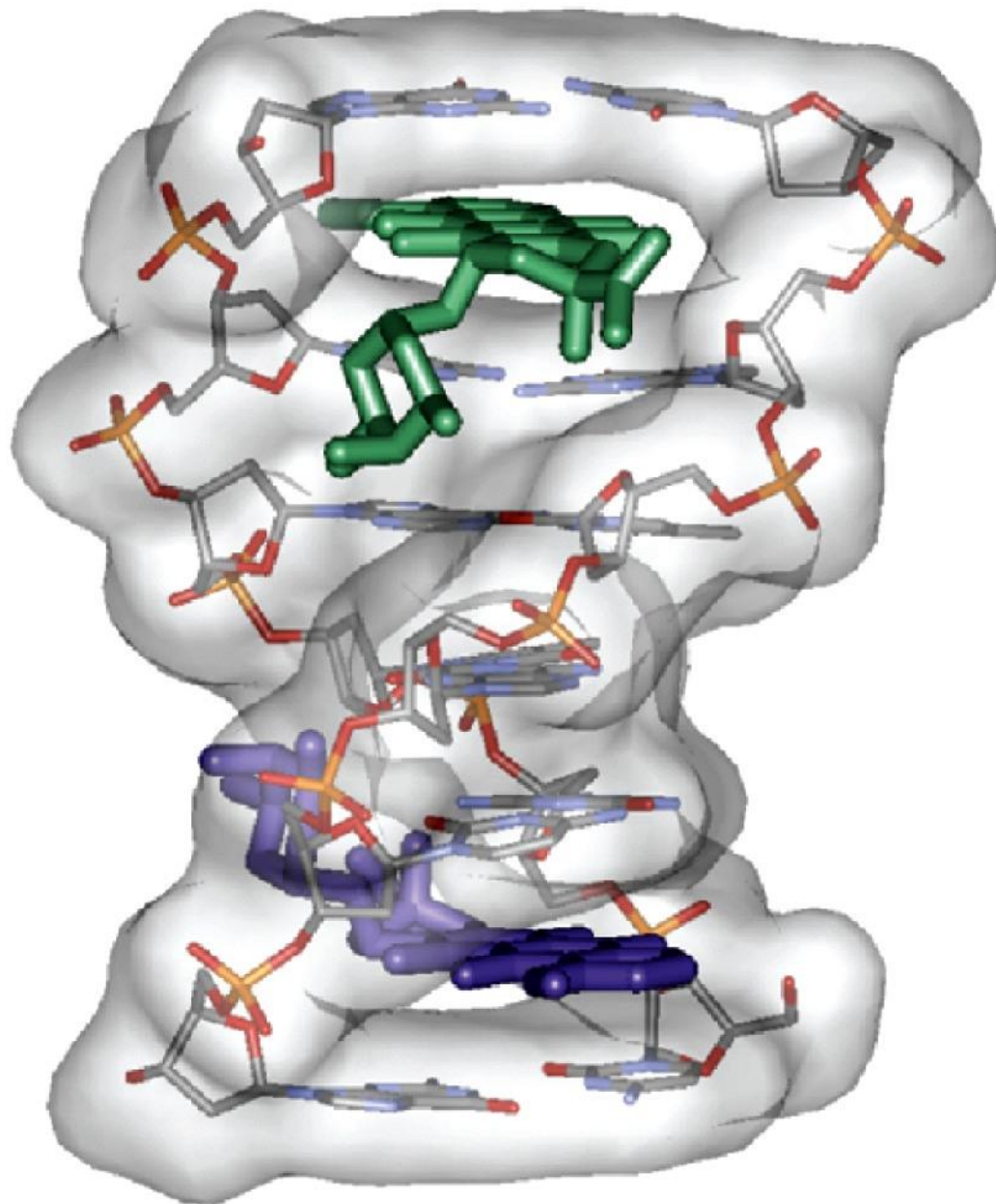
**Η αρωματική π στοίβαξη
σταθεροποιεί τη διπλή έλικα του
DNA**

Στοιίβαξη. Η διπλή έλικα του DNA σταθεροποιείται με π στοίβαξη των ζευγών βάσεων του DNA, οι οποίες αναπαριστώνται εδώ ως σφαίρες.

Η παρεμβολή μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA περιλαμβάνει π στοίβαξη

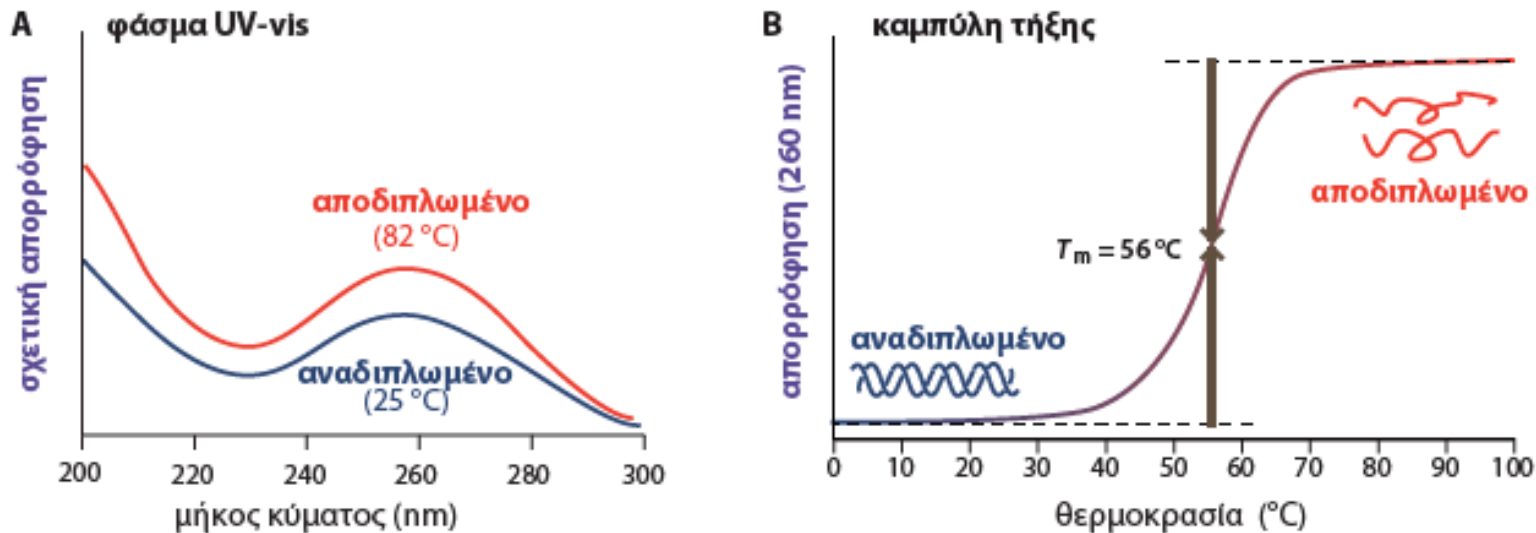
Μόρια παρεμβολής. Τα μικρομόρια που παρεμβάλλονται μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA έχουν συνήθως επίπεδη πολυκυκλική αρωματική δομή και κατιονικές λειτουργικές ομάδες





Επίπεδα αρωματικά μόρια όπως η νταουνομυκίνη παρεμβάλλονται μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA. Το αποτέλεσμα είναι ένα «σάντουιτς» στο οποίο τα ζεύγη βάσεων είναι το ψωμί και η ένωση παρεμβολής είναι το κρέας. Αυτή η κρυσταλλική δομή ενός εξαμερούς του DNA έχει δύο μόρια νταουνομυκίνης προσδεμένα μέσω παρεμβολής.

Το δίκλωνο DNA υφίσταται αντιστρεπτή αποδίπλωση και επαναδίπλωση

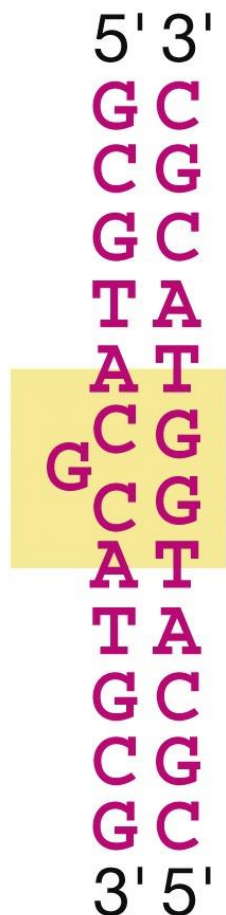


Τήκοντας το DNA. (A) Τα φάσματα UV-vis για την αναδιπλωμένη και την αποδιπλωμένη δομή του DNA φανερώνουν μια αξιοσημείωτη διαφορά στην απορρόφηση στα 260 nm. (B) Η καμπύλη τήξης για DNA διπλής έλικας σε αυξανόμενη θερμοκρασία δείχνει ένα σημείο καμπής στη θερμοκρασία τήξεως (T_m).

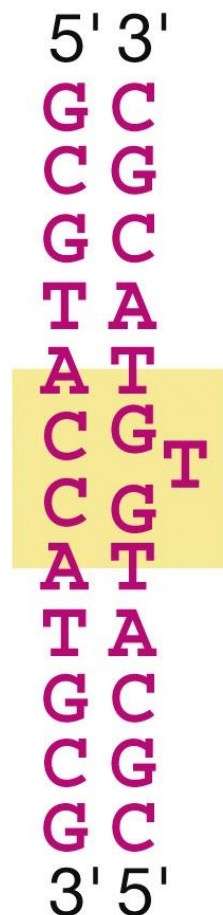
T_m 68 °C



52 °C



59 °C

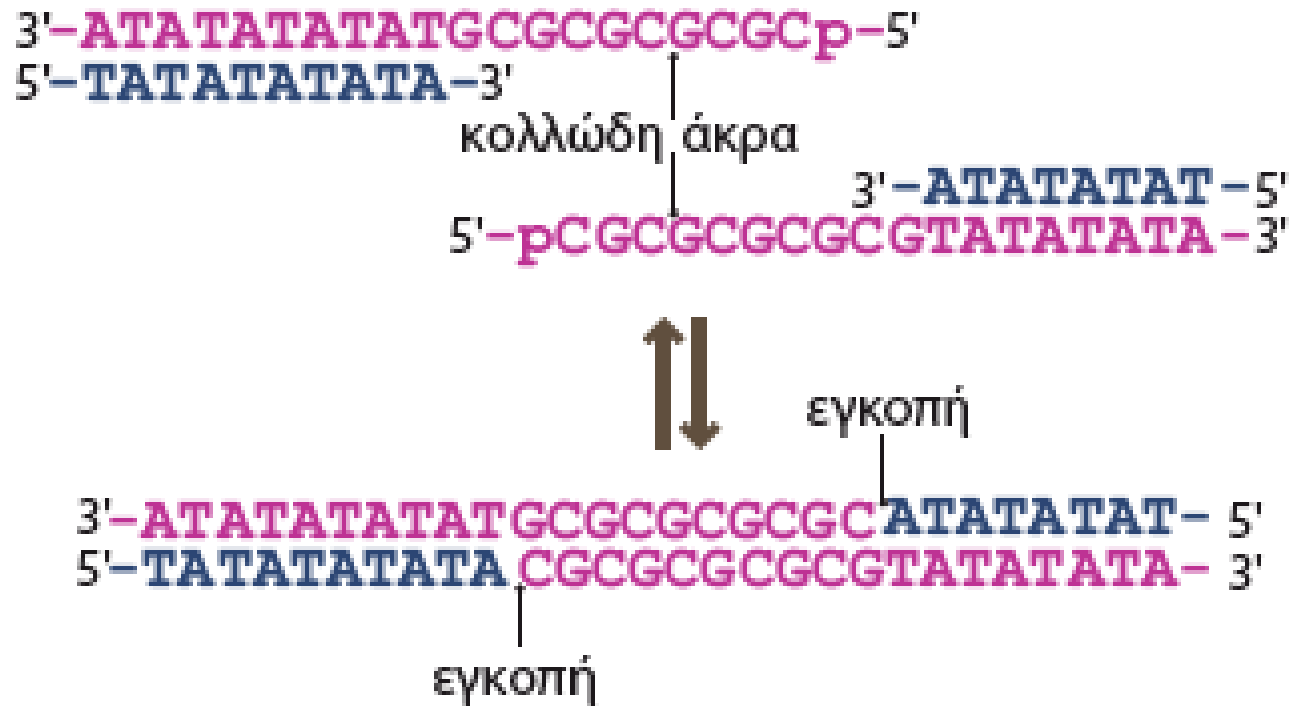


Τα εξογκώματα
αποσταθεροποιούν
το δίκλωνο DNA,
ελαττώνοντας την
 T_m .

Figure 3.32 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

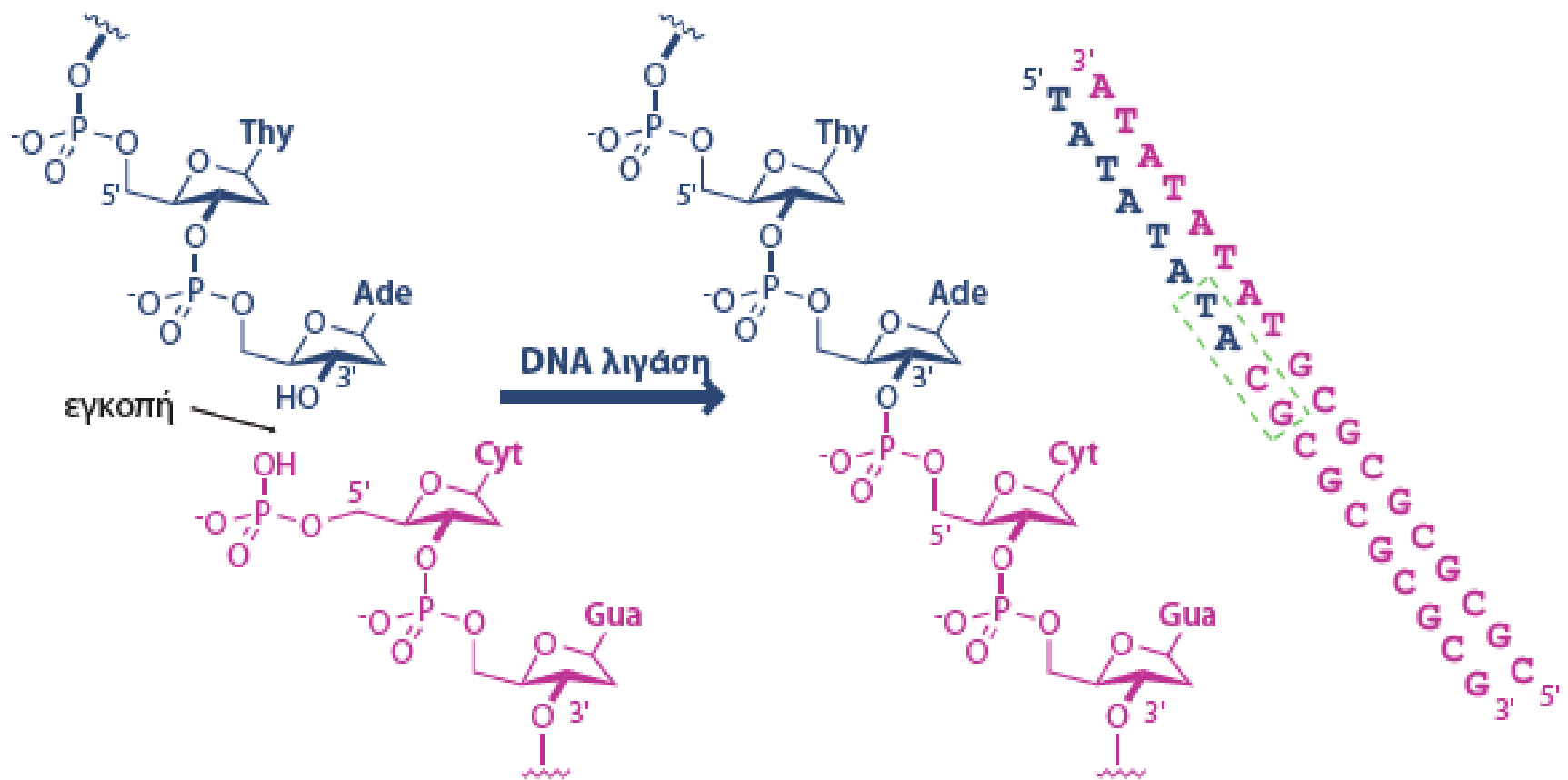
Το κάθε μη σωστό ταίριασμα βάσεων, μειώνει τη σταθερότητα της διπλής έλικας.

Η συμπληρωματικότητα καθοδηγεί την αυτο-συναρμολόγηση του DNA



Κολλώδης κατάσταση. Δύο συμπλέγματα δίκλωνου DNA θα αυτο-συσχετιστούν αν περιέχουν συμπληρωματικά κολλώδη άκρα.

Συνένωση του DNA. Ένα DNA με εγκοπή που δημιουργήθηκε μέσω της συσχέτισης κολλωδών άκρων, μπορεί να συνενωθεί από μια DNA λιγάση.



Η ικανότητα των κλώνων του DNA με συμπληρωματικά κολλώδη άκρα να αυτο-συναθροίζονται είναι ένα εξαιρετικά ισχυρό μηχανιστικό εργαλείο που επιτρέπει στους μοριακούς βιολόγους να ενώνουν κομμάτια DNA

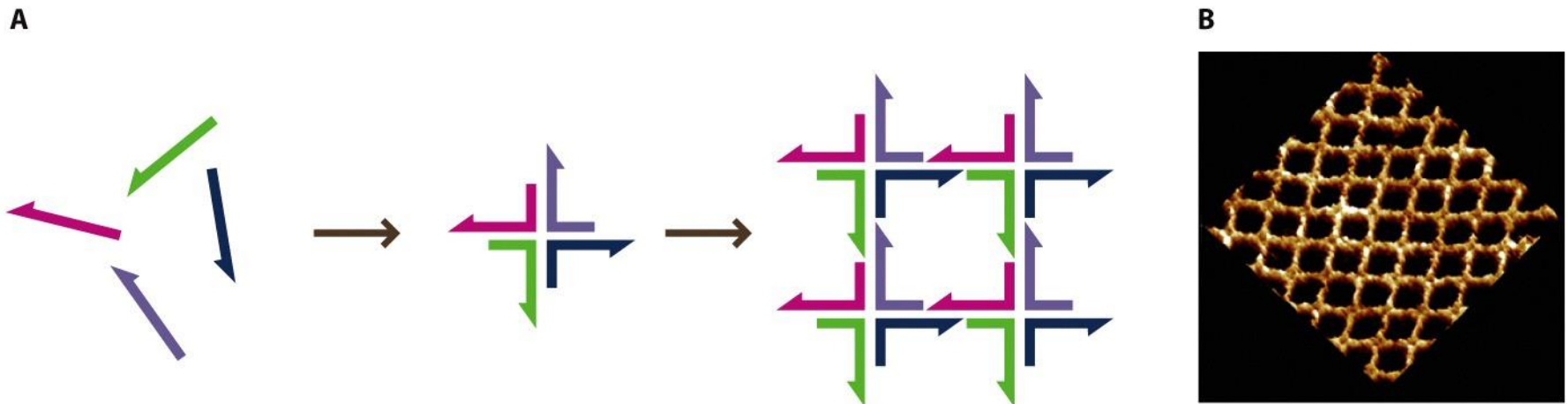


Figure 3.35 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Υλικά του DNA. (A) Μπορούν να σχεδιαστούν oligονουκλεοτίδια με αλληλουχίες που αυτο-οργανώνονται με άλλους κλώνους σε ένα καθορισμένο προσανατολισμό, οδηγώντας σε πολυδιάστατα υλικά. (B) Ένα νανοπλέγμα DNA που δημιουργήθηκε μέσω αυτο-συνάθροισης oligονουκλεοτιδίων

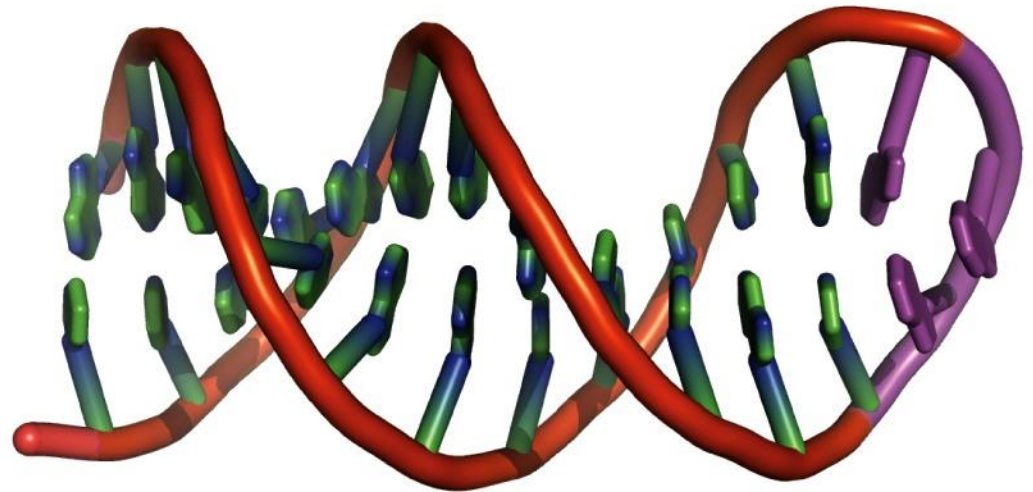
Μικρά τμήματα DNA μπορούν να αναδιπλωθούν σε σχήμα φουρκέτας

Φουρκέτες DNA. (A) Το ενδομοριακό ζευγάρι βάσεων επιτρέπει σε αυτό το πλούσιο σε AT ολιγονουκλεοτίδιο να σχηματίσει μια σταθερή δομή φουρκέτας. (B) Τα τρία κατάλοιπα με μωβ χρώμα δεν εμπλέκονται σε ζευγάρι βάσεων κατά Watson–Crick

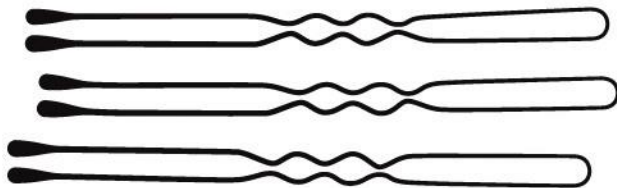
A



B



C



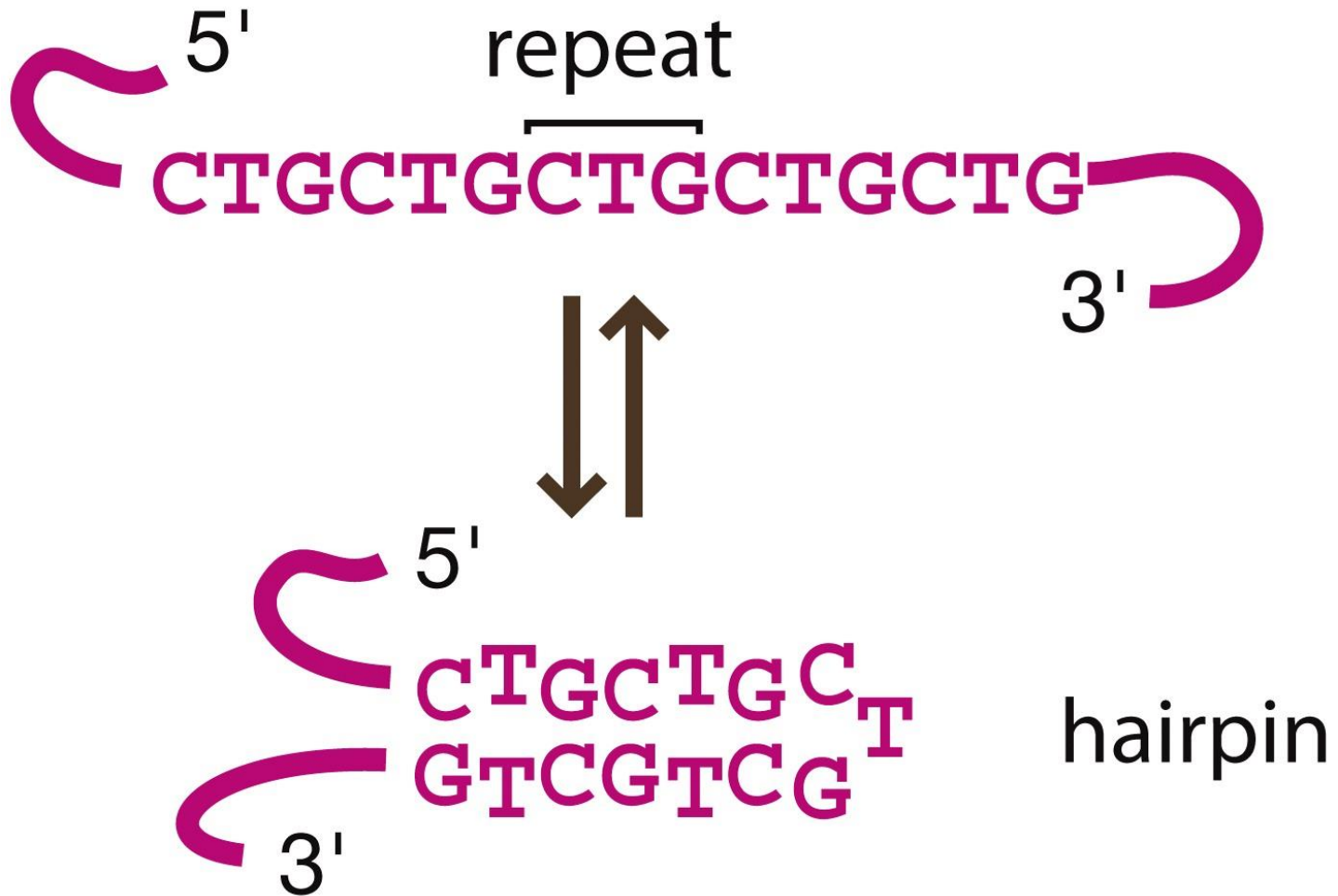
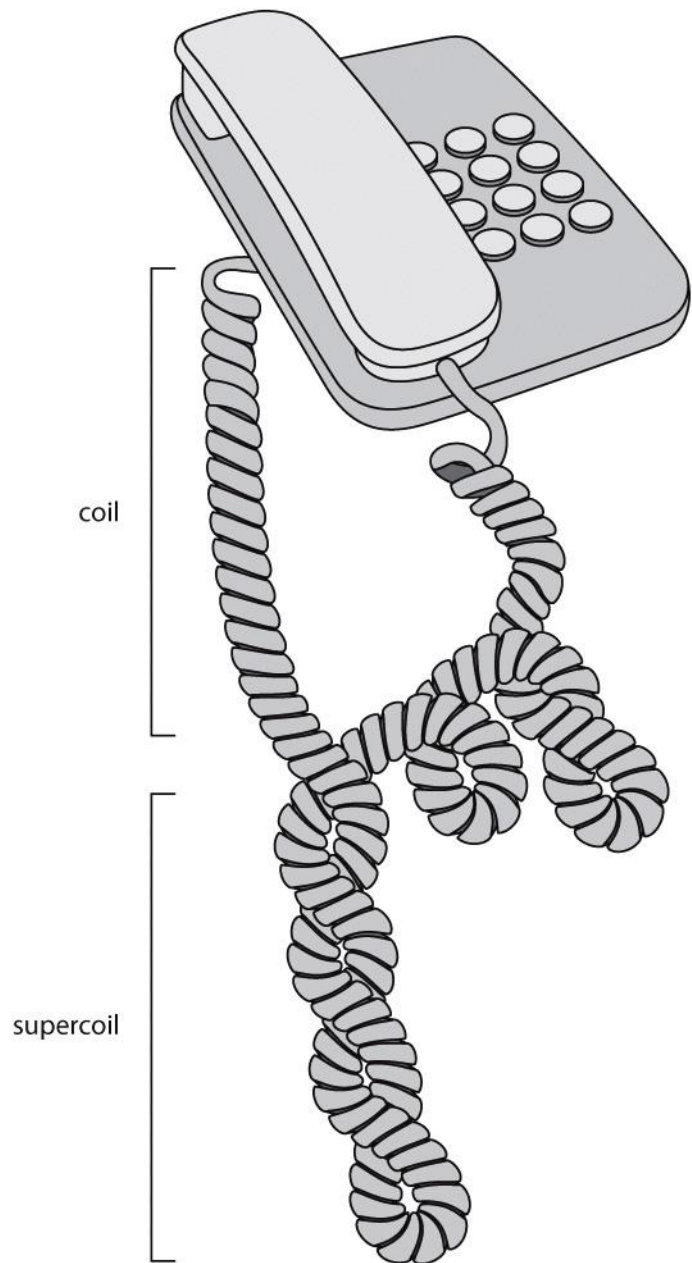


Figure 3.37 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ο κίνδυνος των τρίδυμων επαναλήψεων. Στην ασθένεια Huntington οι επαναμβανόμενες αλληλουχίες CTG σχηματίζουν φουρκέτες που ανταγωνίζονται τον σχηματισμό δίκλωνης δομής.



Η ΥΠΕΡΔΟΜΗ ΤΟΥ DNA Το δίκλωνο DNA σχηματίζει υπερελικώσεις

Χωρίς προσεκτική διαχείριση, το DNA ενός κυττάρου θα ήταν ένα μπερδεμένο κουβάρι. Το γονιδιωματικό DNA είναι πάντα μακρύ. Αν τεντωνόταν, το DNA ενός μόνο ανθρώπινου κυττάρου θα είχε περίπου 2 μέτρα μήκος.

Και το DNA και το καλώδιο του τηλεφώνου έχουν μια ενδογενή τάση για περιτόλιξη.

Υπερελικωμένα πλασμίδια.

Αυτά τα πλασμιδιακά DNA έχουν την ίδια χημική δομή, αλλά διαφορετικό βαθμό υπερελίκωσης, από τη χαμηλότερη

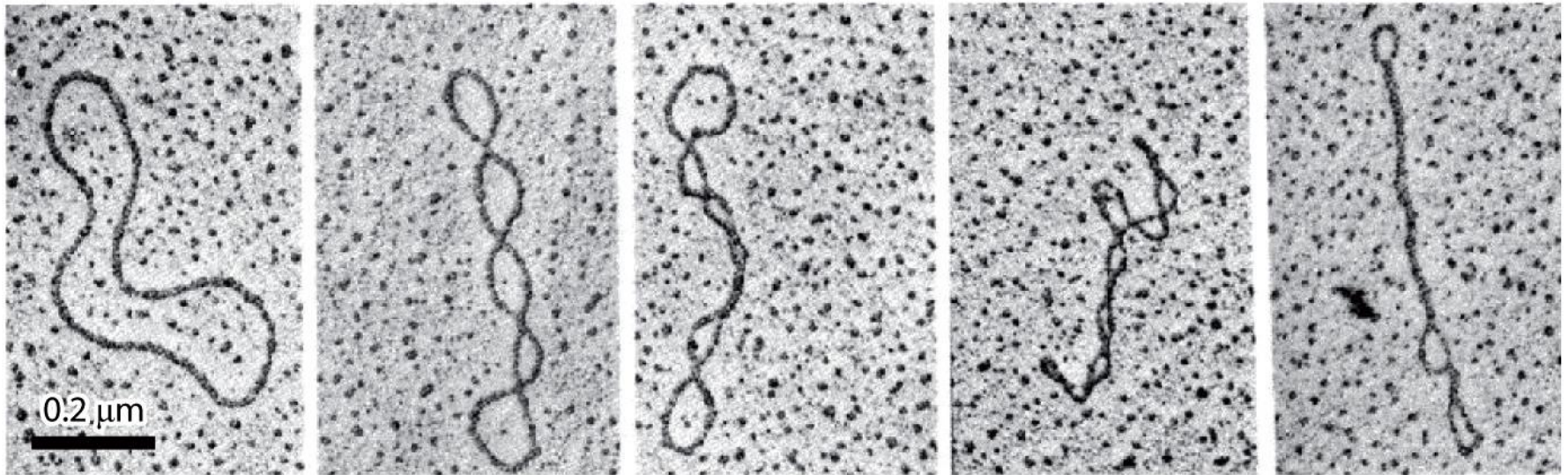


Figure 3.39 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η υπερελίκωση του DNA αποτρέπει τον μηχανισμό μεταγραφής από το να διαχωρίσει τους μεμονωμένους κλώνους για να παράγει RNA

Οι τοποϊσομεράσες επιλύουν τα τοπολογικά προβλήματα του DNA

- Αντί να προσπαθήσουν να επιλύσουν τα προβλήματα του υπερελικωμένου DNA περιστρέφοντας τα άκρα, τα κύτταρα χρησιμοποιούν δύο τύπους ενζύμων που λέγονται **τοποϊσομεράσες** για να εισάγουν προσωρινά κοψίματα στο DNA .
- Η τοποϊσομεράση τύπου I κόβει έναν απλό κλώνο, επιτρέποντας στον άλλο κλώνο να χαλαρώσει μέσω περιστροφής γύρω από μεμονωμένους δεσμούς. Στη συνέχεια το ένζυμο επανασυνδέει τους κλώνους.

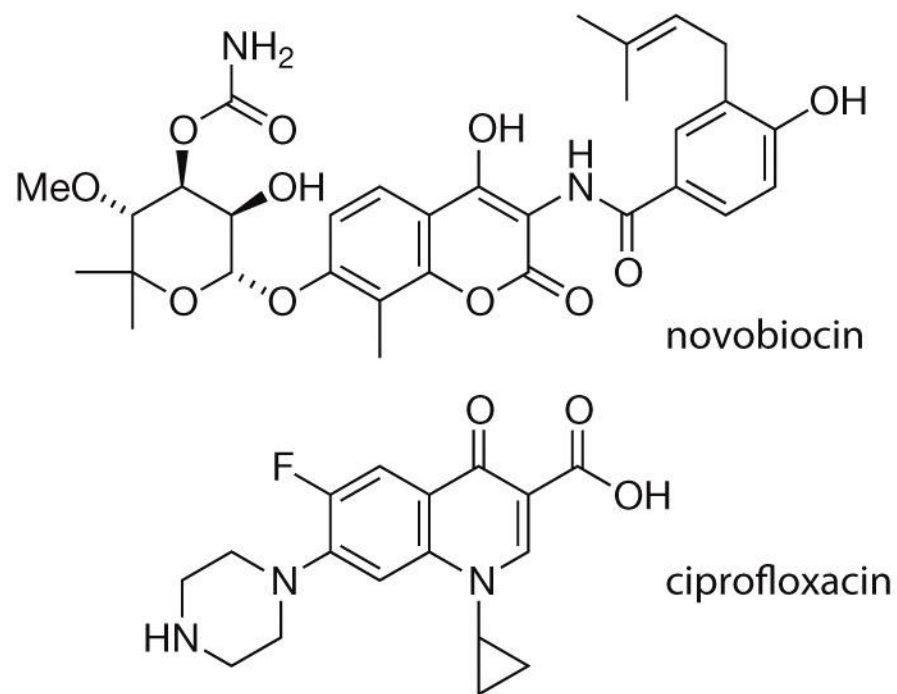
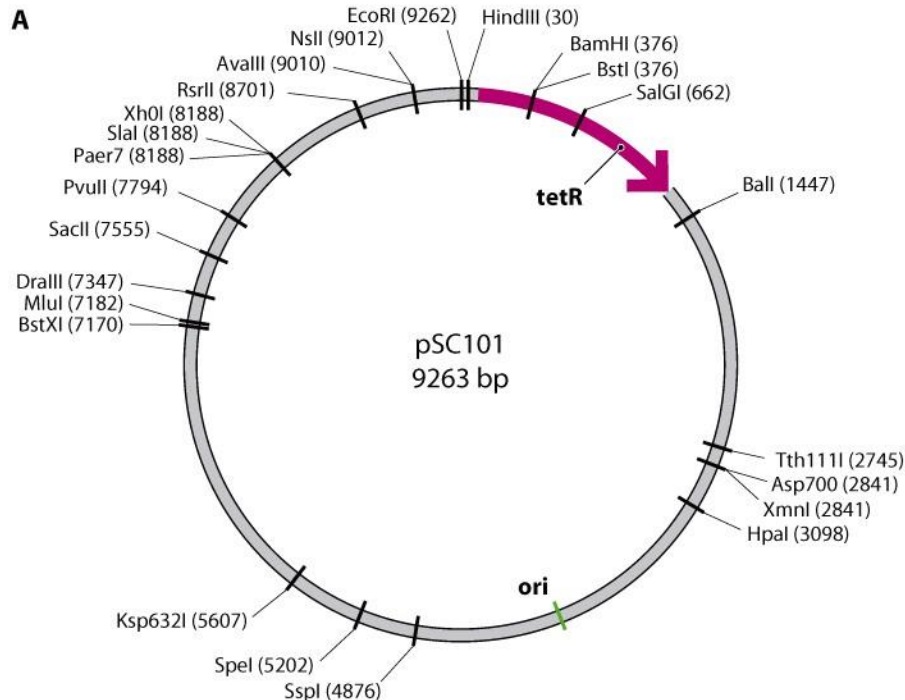


Figure 3.40 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η Β περιοχή της βακτηριακής DNA γυράσης, μιας τύπου II τοποϊσομεράσης, έχει μια εμφανή οπή μέσω της οποίας περνάει το DNA. Τόσο το φυσικό προϊόν νοβοβιοκίνη (novobiocin, αποδίδεται με κίτρινο) όσο και το συνθετικό αντιβιοτικό σιπροφλοξασίνη (ciprofloxacin) αναστέλλουν εκλεκτικά τη βακτηριακή DNA γυράση αλλά όχι τις ανθρώπινες τοποϊσομεράσες

Τα βακτηριακά πλασμίδια είναι δακτύλιοι DNA

Τα πλασμίδια απομονώνονται άμεσα σε καθαρή μορφή από τα βακτήρια μετά από λύση της κυτταρικής μεμβράνης και παγίδευση του πλασμιδιακού DNA σε silica gel. Όταν νέα γονίδια έχουν ματιστεί στα πλασμίδια, αυτά μπορούν να επανεισαχθούν πίσω στα βακτήρια και να εκφραστούν ως πρωτεΐνες. Το πεδίο της μοριακής βιολογίας αναδείχθηκε μέσα από την ικανότητα διεξαγωγής αξιόπιστης χημείας με πλασμιδιακά μόρια και όχι σε ζώντες οργανισμού



B

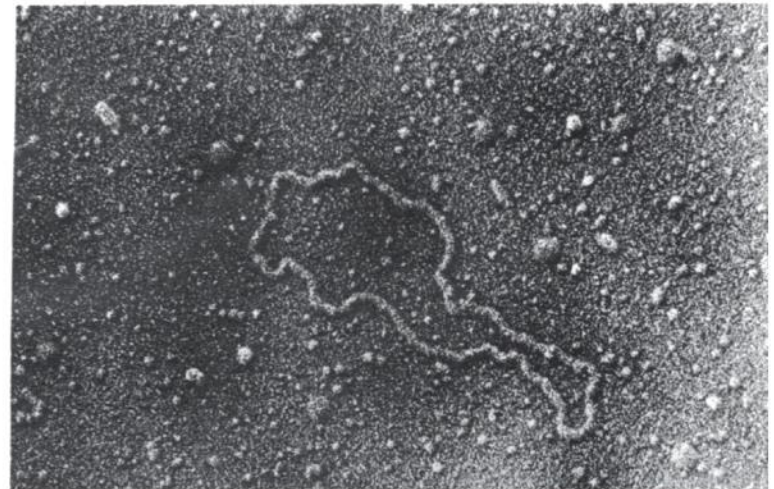


Figure 3.41 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Τα πλασμίδια περιέχουν γονίδια που παρέχουν επωφελή χαρακτηριστικά

Τα πιο χρήσιμα αντιβιοτικά σκοτώνουν επιλεκτικά τα βακτήρια ή τα ανθρώπινα καρκινικά κύτταρα, αλλά στην ιατρική ο όρος συνήθως χρησιμοποιείται αυστηρά για μικρομόρια που στοχεύουν βακτήρια.

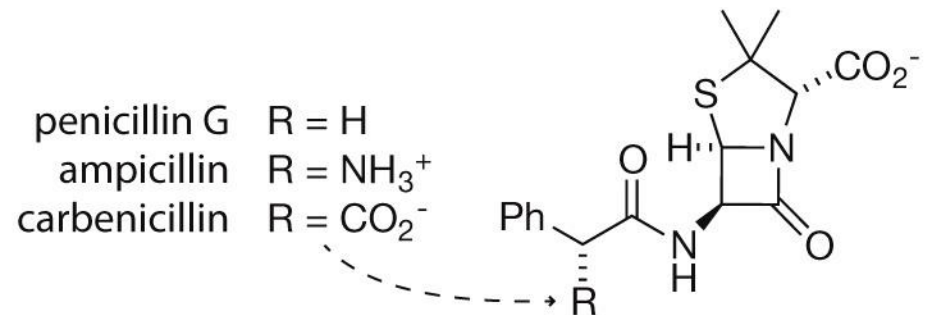
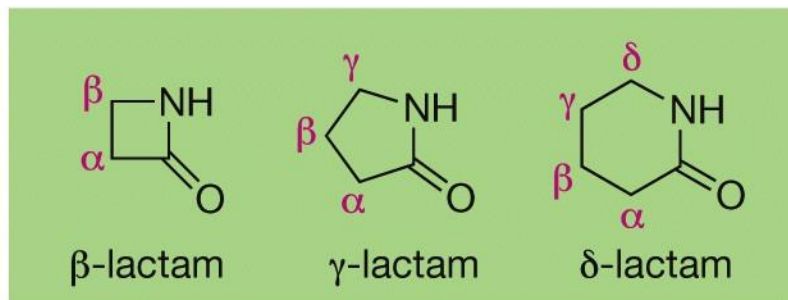
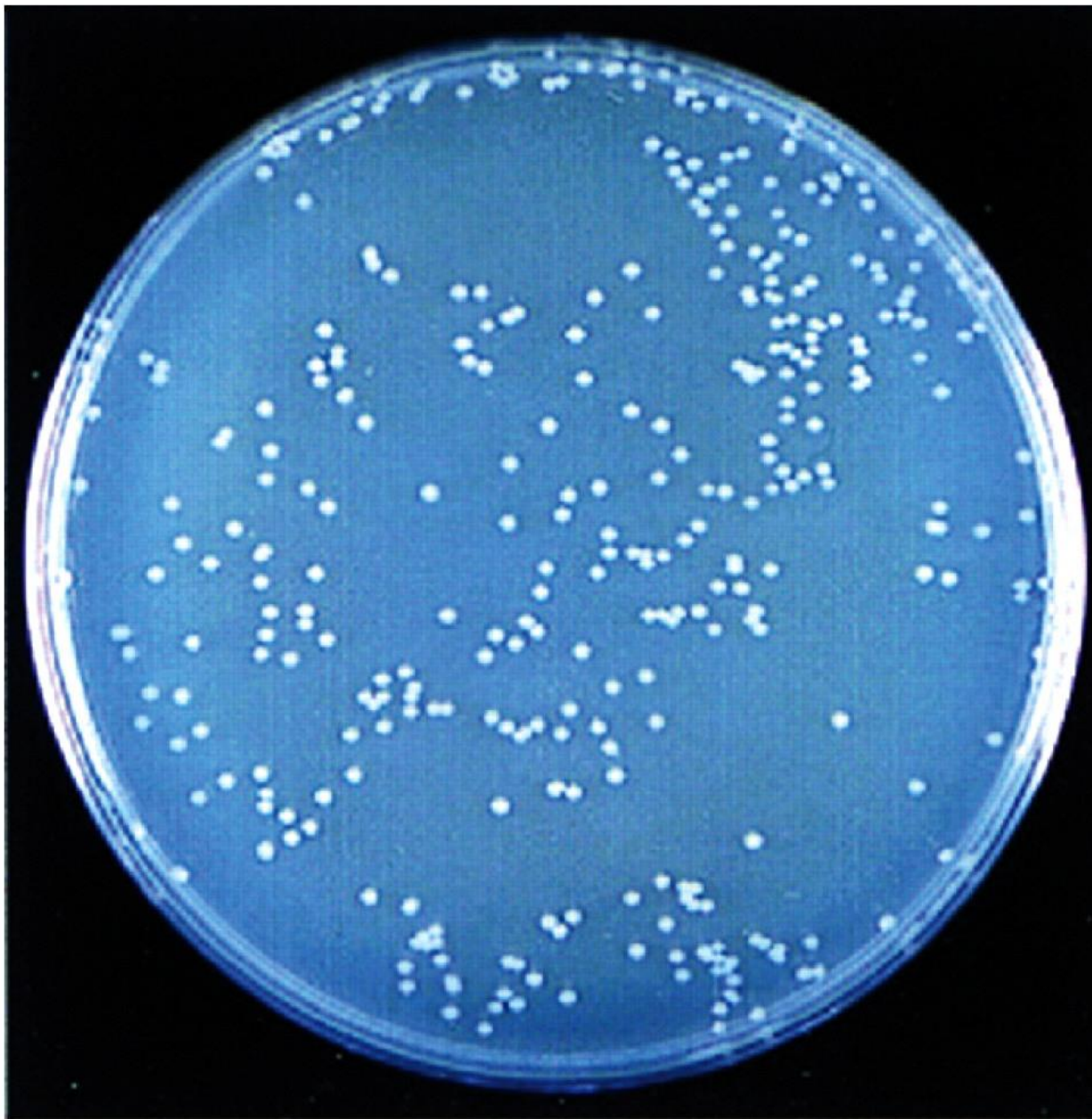


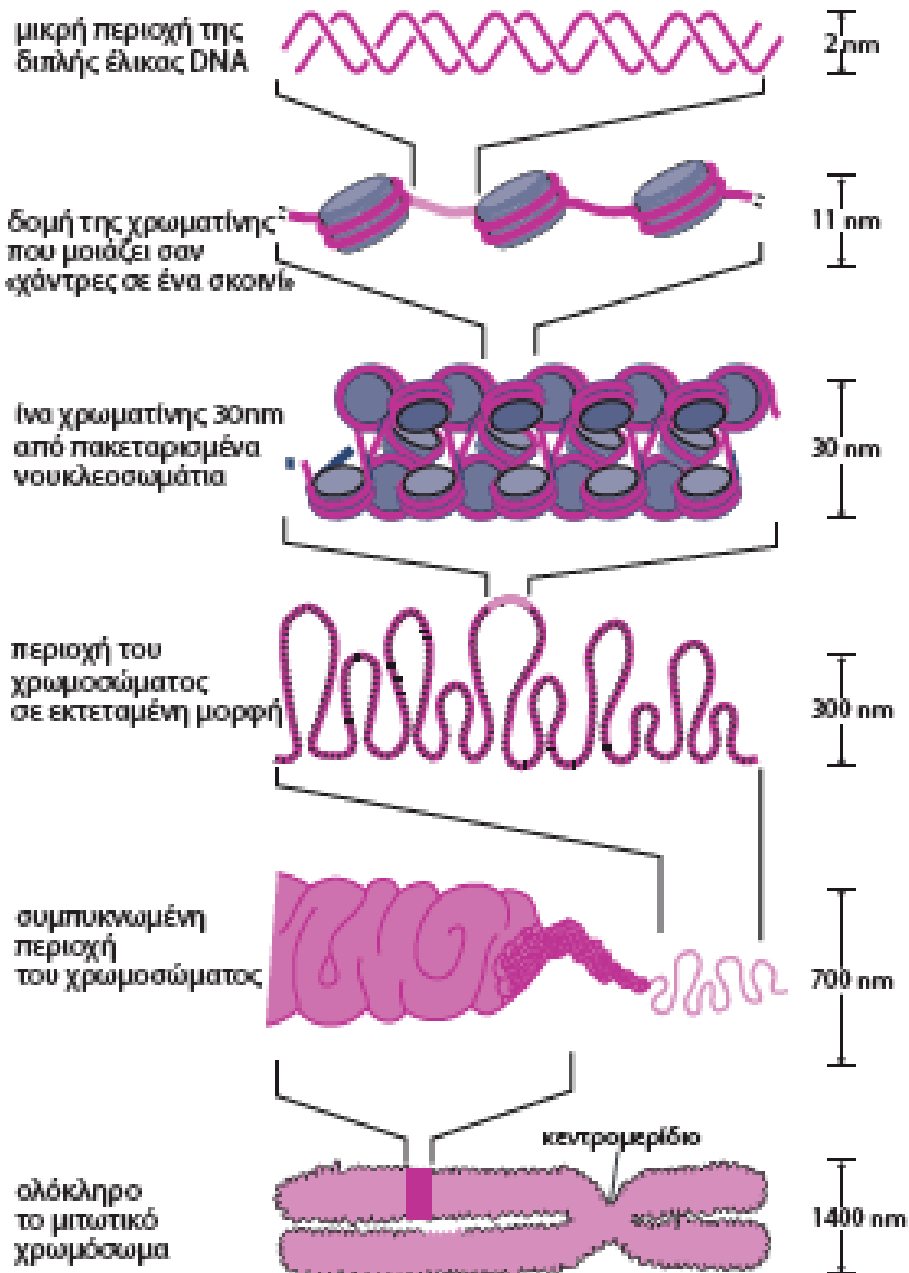
Figure 3.42 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Οι πρώτες μελέτες για την αντίσταση στα αντιβιοτικά αποκάλυψαν πλασμίδια τα οποία μεταφέρουν γονίδια (όπως το *Amp*) που αποκωδικοποιούν ένζυμα που διανοίγουν τον δακτύλιο με τάση των β-λακταμικών αντιβιοτικών



Χρήση ενός
δείκτη
γενετικής
επιλογής. Μόνο
τα βακτήρια που
περιέχουν
πλασμίδια *Amp⁺*
μπορούν να
αναπτύξουν
αποικίες
σε άγαρ που
περιέχει
καρμπεκιλλίνη.

Figure 3.43 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Το ευκαρυωτικό DNA συσπειρώνεται γύρω από πρωτεΐνες ιστόνης

Πακετάρισμα του ανθρώπινου DNA σε χρωμοσώματα. Το ανθρώπινο γονιδίωμα—6 δισεκατομμύρια ζεύγη βάσεων του διπλοειδούς γονιδιώματος—χωράει άνετα στα ανθρώπινα κύτταρα αφήνοντας και εφεδρικό χώρο. **Φανταστείτε να πρέπει να πακετάρετε 9 km κλωστής μέσα σε μια μπάλα ποδοσφαίρου**, ενώ τη διατηρείτε τακτοποιημένη, ελεύθερη από κόμπους και με το κάθε μικρόμετρο της κλωστής πλήρως προσβάσιμο.

Ηλεκτροστατικά άγκιστρα. Οι θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες λυσίνης και αργινίνης (αποδίδονται με πράσινο) συγκρατούν το αρνητικά φορτισμένο DNA τυλιγμένο γύρω από τις ιστόνες. Βοηθούν επίσης τα νουκλεοσωμάτια να συσχετισθούν μεταξύ τους σφιχτά.

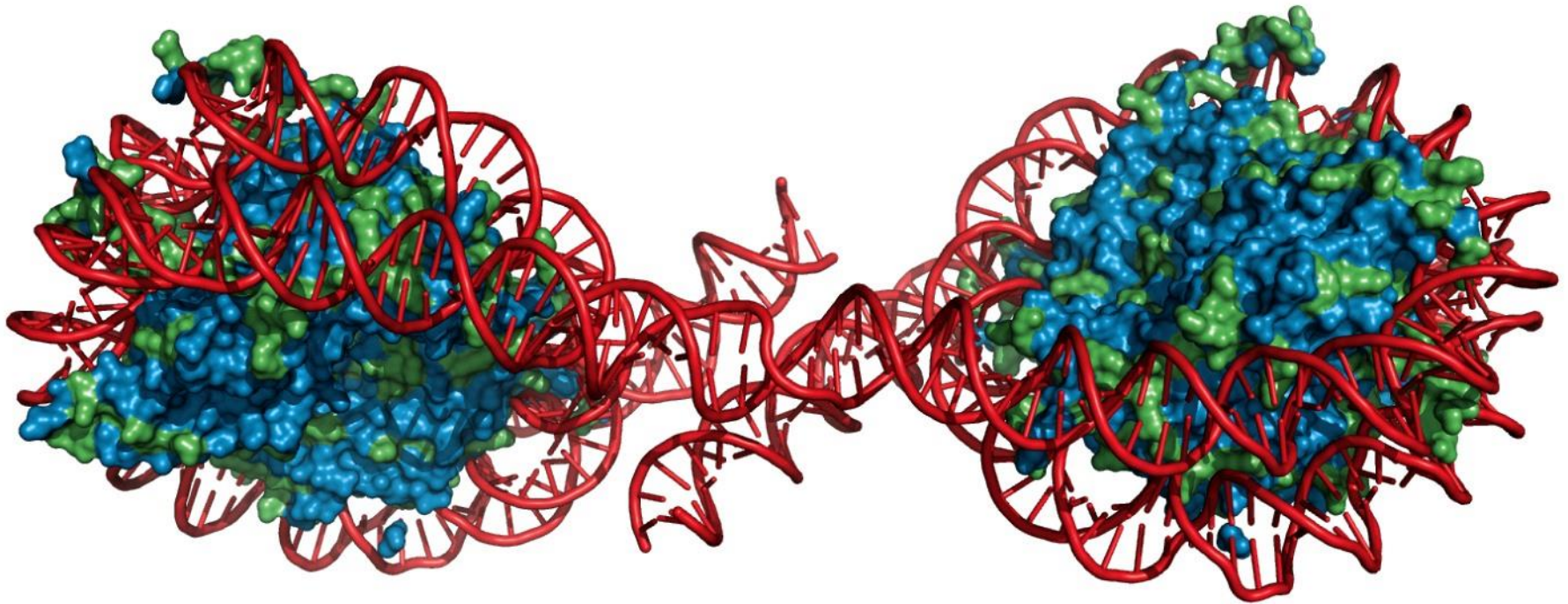


Figure 3.45 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η λεπτή ρύθμιση της αλληλεπίδρασης ιστονών-DNA. Διάφορες ενζυμικές τροποποιήσεις της λυσίνης (Lys), της αργινίνης (Arg) και της σερίνης (Ser) ρυθμίζουν την αλληλεπίδραση των ιστονών με το DNA. *M_r*, σχετική μοριακή μάζα.

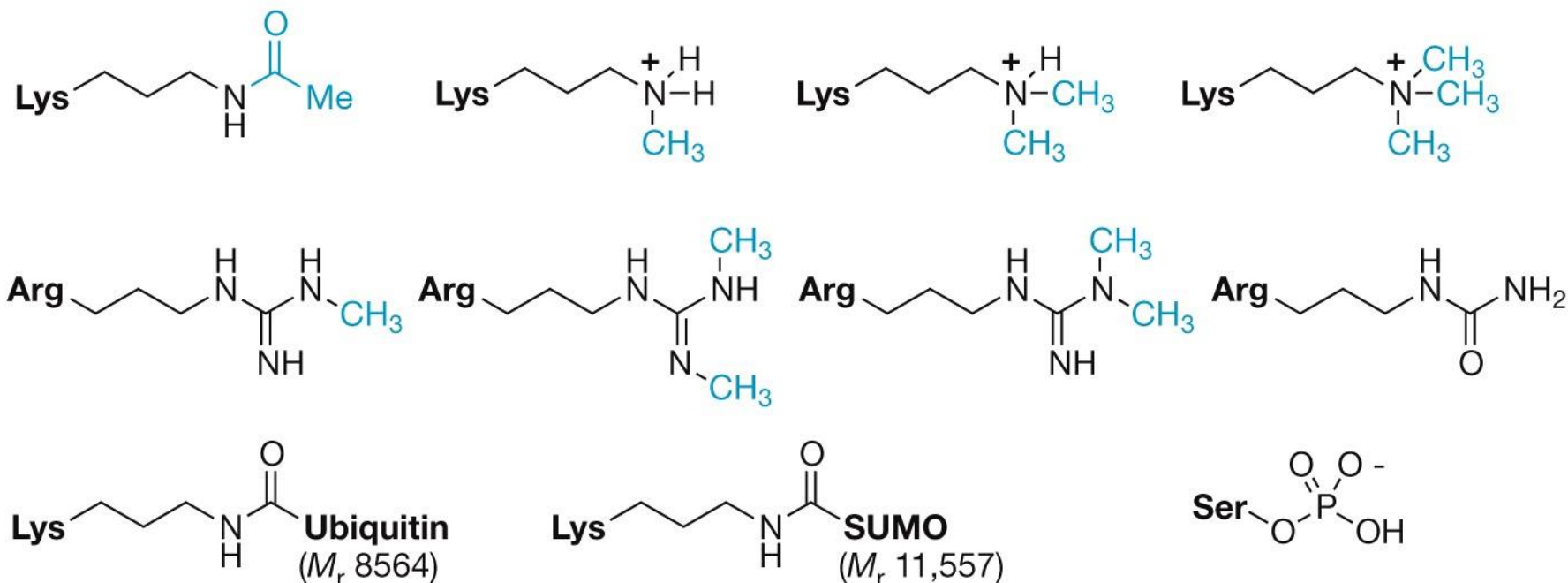
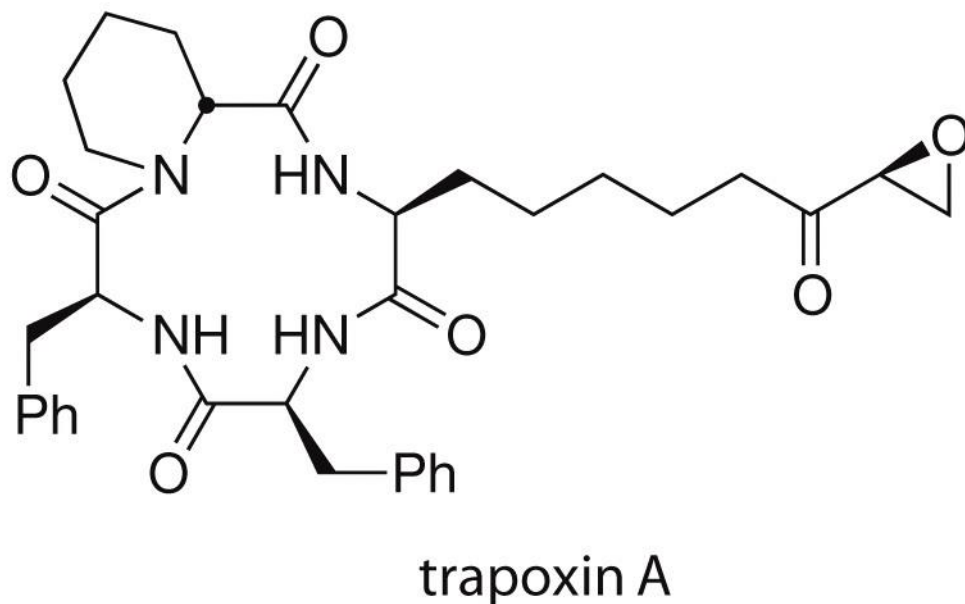
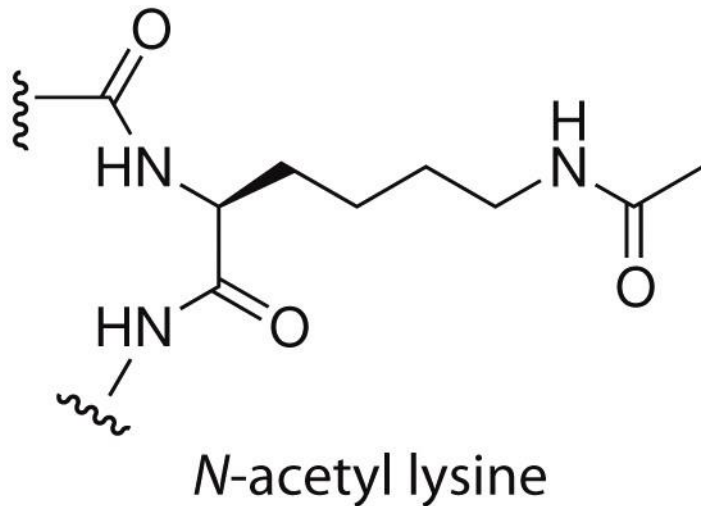


Figure 3.46 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Ένα χημικό δόλωμα
ψαρέματος. Η τραποξίνη A
είναι ένας ομοιοπολικός
αναστολέας της HDAC-1. Η
λειτουργική ομάδα
της εποξυκετόνης της
τραποξίνης A μιμείται την
πλευρική αλυσίδα της *N*-
ακέτυλο λυσίνης των ιστονών.

Η ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ DNA ΑΠΟ ΤΑ ΕΝΖΥΜΑ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΕΣ

Ο πολυμερισμός του DNA. Όλες οι DNA πολυμεράσες επιμηκύνουν έναν κλώνο εκκινητή (πράσινο) χρησιμοποιώντας ένα δεύτερο κλώνο ως μήτρα

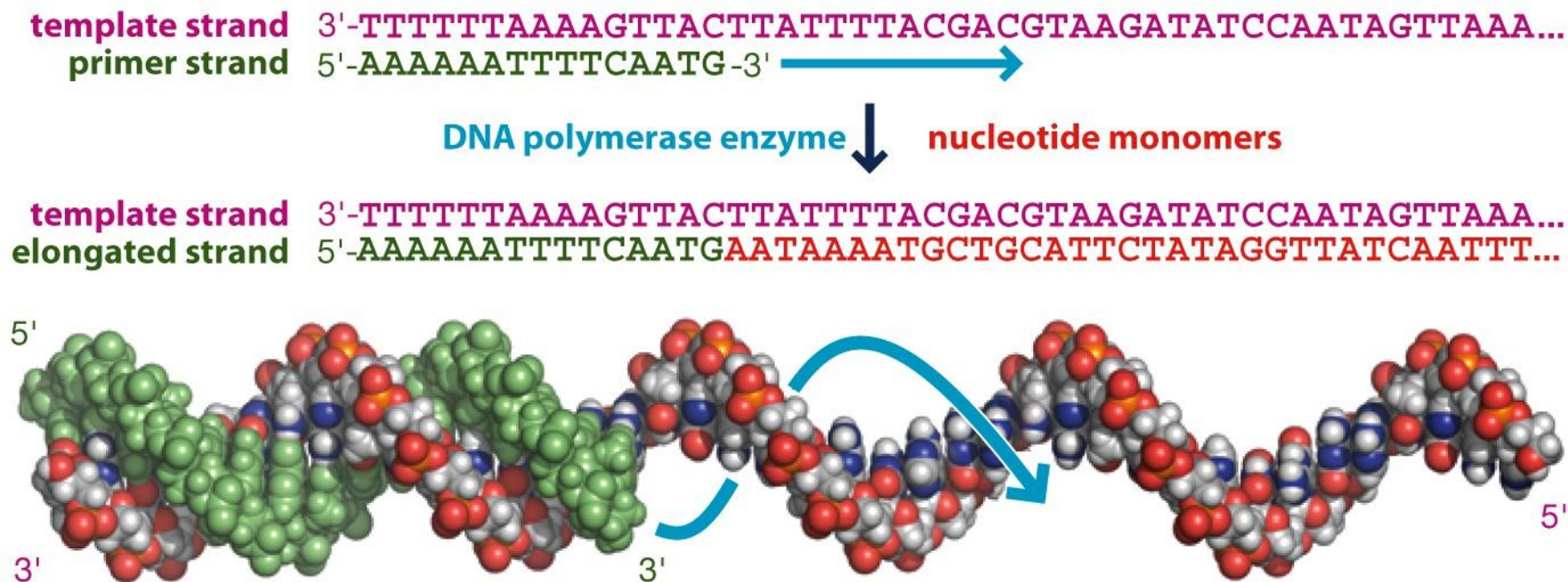


Figure 3.48 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Απαίτηση για μαγνήσιο. Ο χημικός μηχανισμός της ανθρώπινης DNA πολυμεράσης η (DNA Pol) περιλαμβάνει δύο ιόντα Mg^{2+}

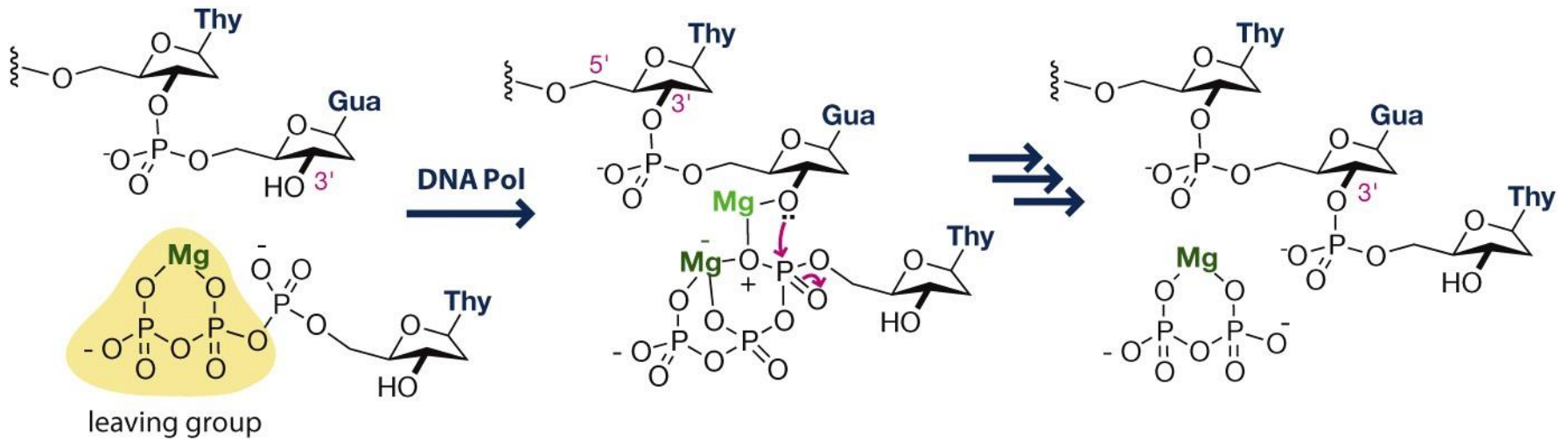


Figure 3.49 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Οι DNA πολυμεράσες αντιγράφουν με υψηλή αξιοπιστία

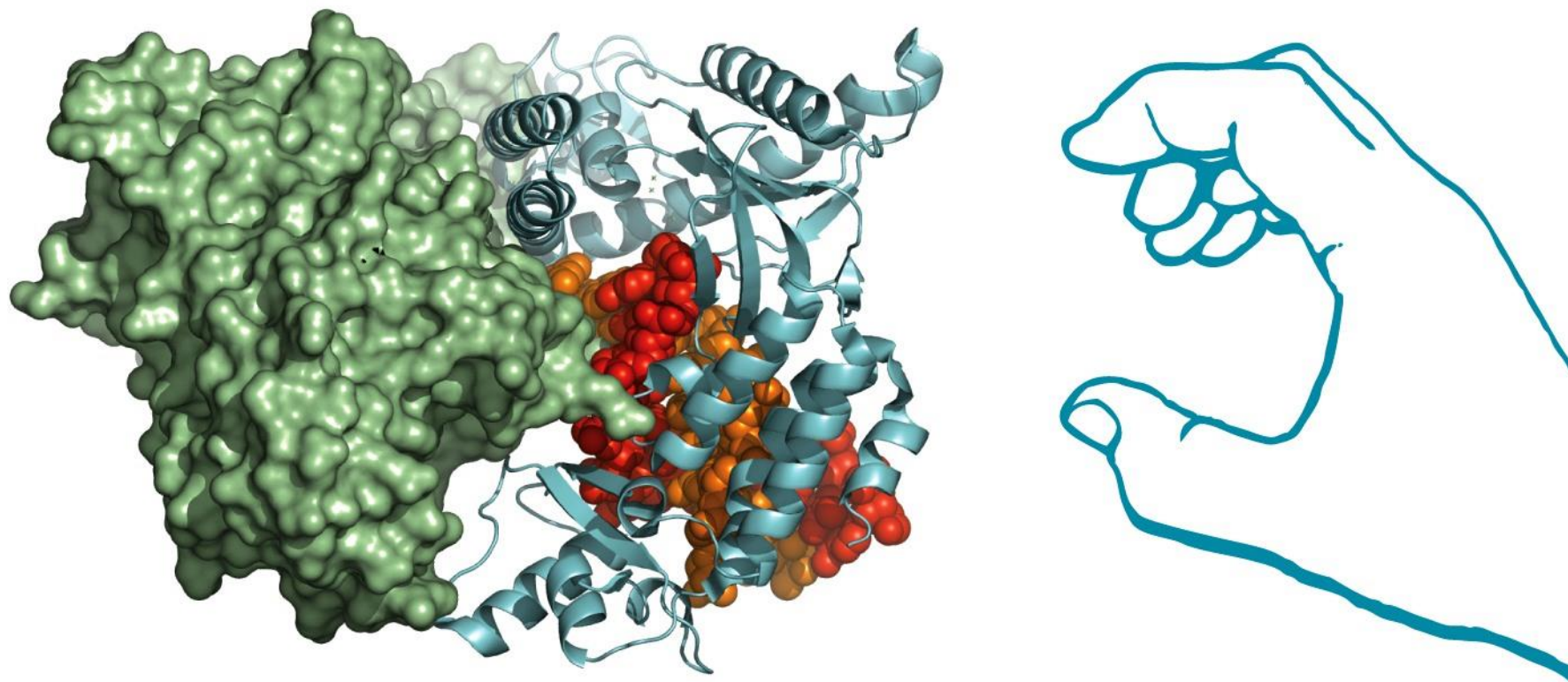


Figure 3.50 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Το μοντέλο του δεξιού χεριού (κυανό) διατηρείται για όλες τις γνωστές δομές των DNA πολυμερασών. Η δομή αυτή της DNA πολυμεράσης δ από ζυμομύκητα (PDB 3IAY) περιλαμβάνει επίσης μια περιοχή εξωνουκλεάσης, η οποία αποδίδεται με πράσινο. Ο κλώνος μήτρα αποδίδεται με πορτοκαλί και ο αυξανόμενος κλώνος του DNA αποδίδεται με κόκκινο.

Η αντίστροφη μεταγραφάση επιμηκώνει τον υπάρχοντα κλώνο του DNA με βάση ένα πρότυπο RNA



Figure 3.51 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η αντίστροφη μεταγραφάση είναι ένας τύπος DNA πολυμεράσης. Η αντίστροφη μεταγραφάση του HIV δημιουργεί ένα σταθερό αντίγραφο cDNA του RNA γονιδιώματος του HIV, χρησιμοποιώντας ως εκκινητή ένα ανθρώπινο μόριο μεταφορικού RNA (transfer RNA).

Η DNA πολυμεράση ενσωματώνει τροποποιημένα θυμιδικά κατάλοιπα

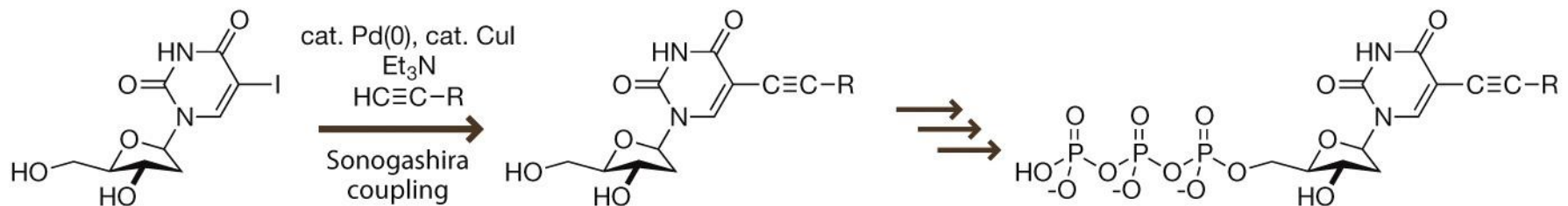


Figure 3.52 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Προσθέτοντας χημική λειτουργικότητα σε βάσεις του DNA.
Τα ανάλογα του dTTP μπορούν να συντεθούν εύκολα
χρησιμοποιώντας καταλυόμενη από παλλάδιο διασταυρούμενη
σύζευξη.

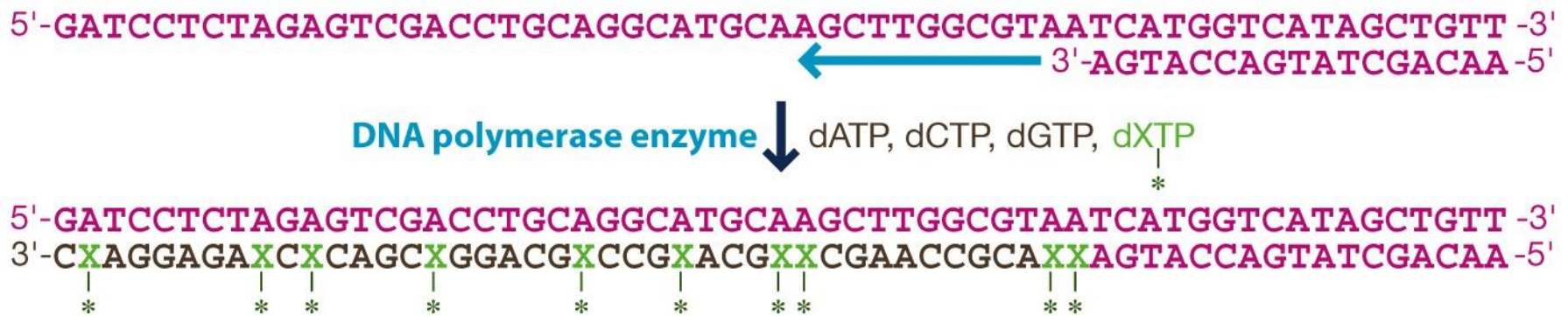
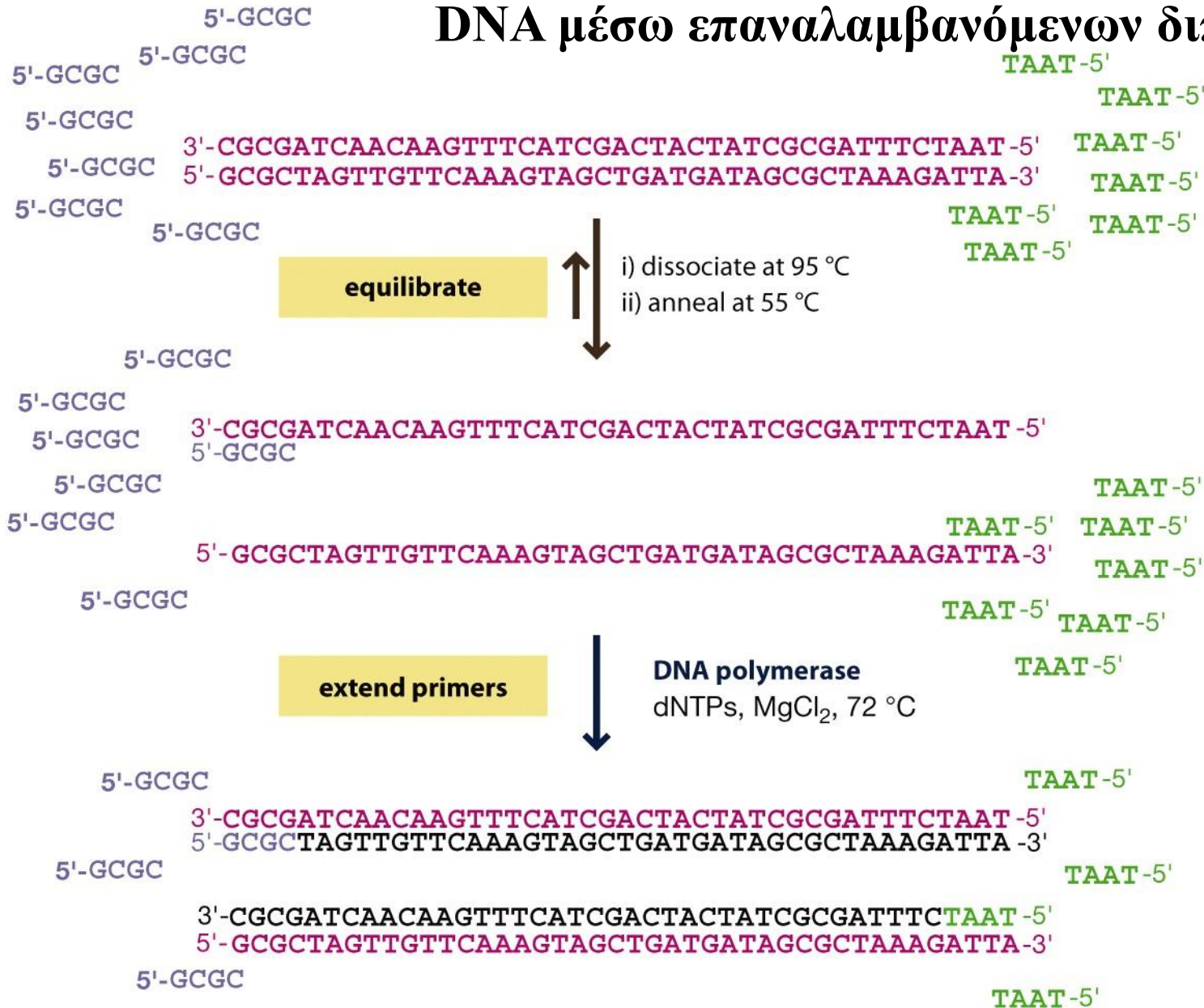


Figure 3.53 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ενσωματώνοντας νέες λειτουργικότητες στο DNA. 5-Υποκατεστημένα ανάλογα των dTTP (dX*TP) μπορούν να ενσωματωθούν από πολυμεράσες στους αυξανόμενους κλώνους DNA.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης πολλαπλασιάζει το DNA μέσω επαναλαμβανόμενων διπλασιασμών



Η ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ DNA

Ο αγώνας για το σπάσιμο του γενετικού κώδικα οδήγησε στην ανάπτυξη της σύνθεσης του DNA

Ο ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΜΟΡΙΩΝ DNA ΜΕ ΗΛΕΚΤΡΟΦΟΡΗΣΗ

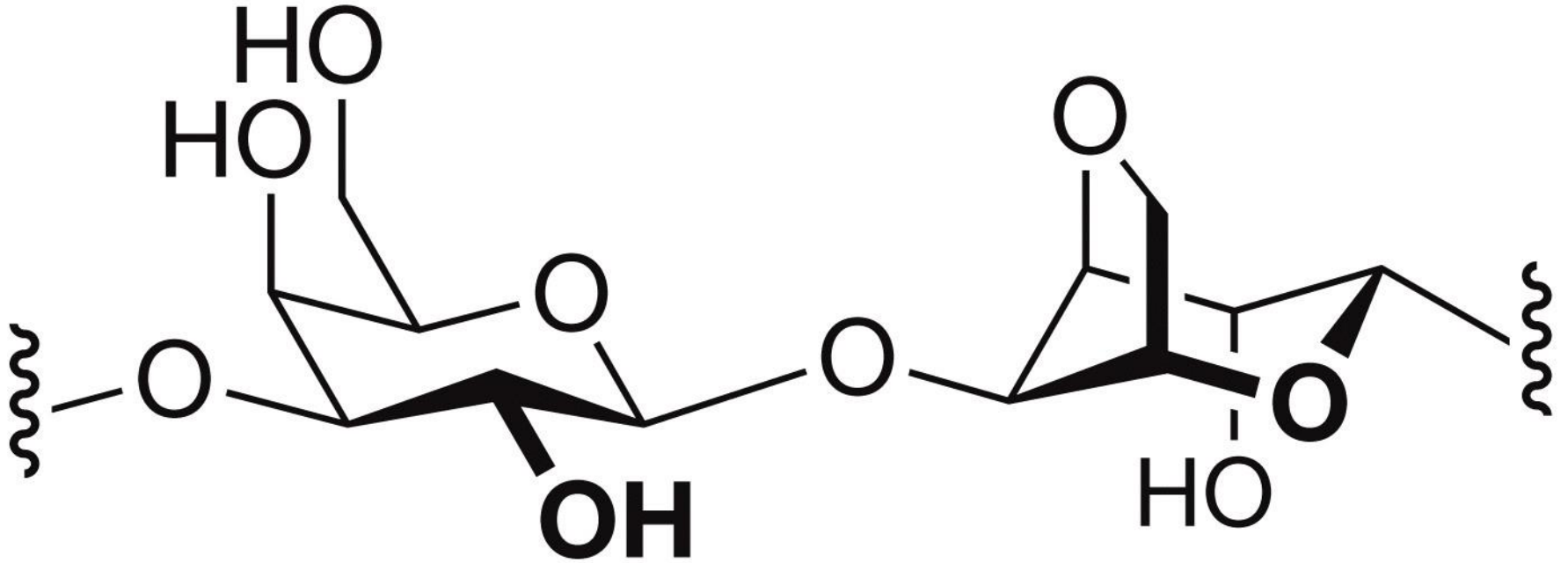
Οι επιστήμονες χρησιμοποιούν διαφορετικά κριτήρια για την καθαρότητα των βιολογικών μακρομορίων σε σχέση με τα μικρά οργανικά μόρια

Η πηκτή αγαρόζης χρησιμοποιείται για την ηλεκτροφόρηση μεγάλων μορίων DNA



Figure 3.80 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

agarose



D-galactose

3,6-anhydro-
L-galactose

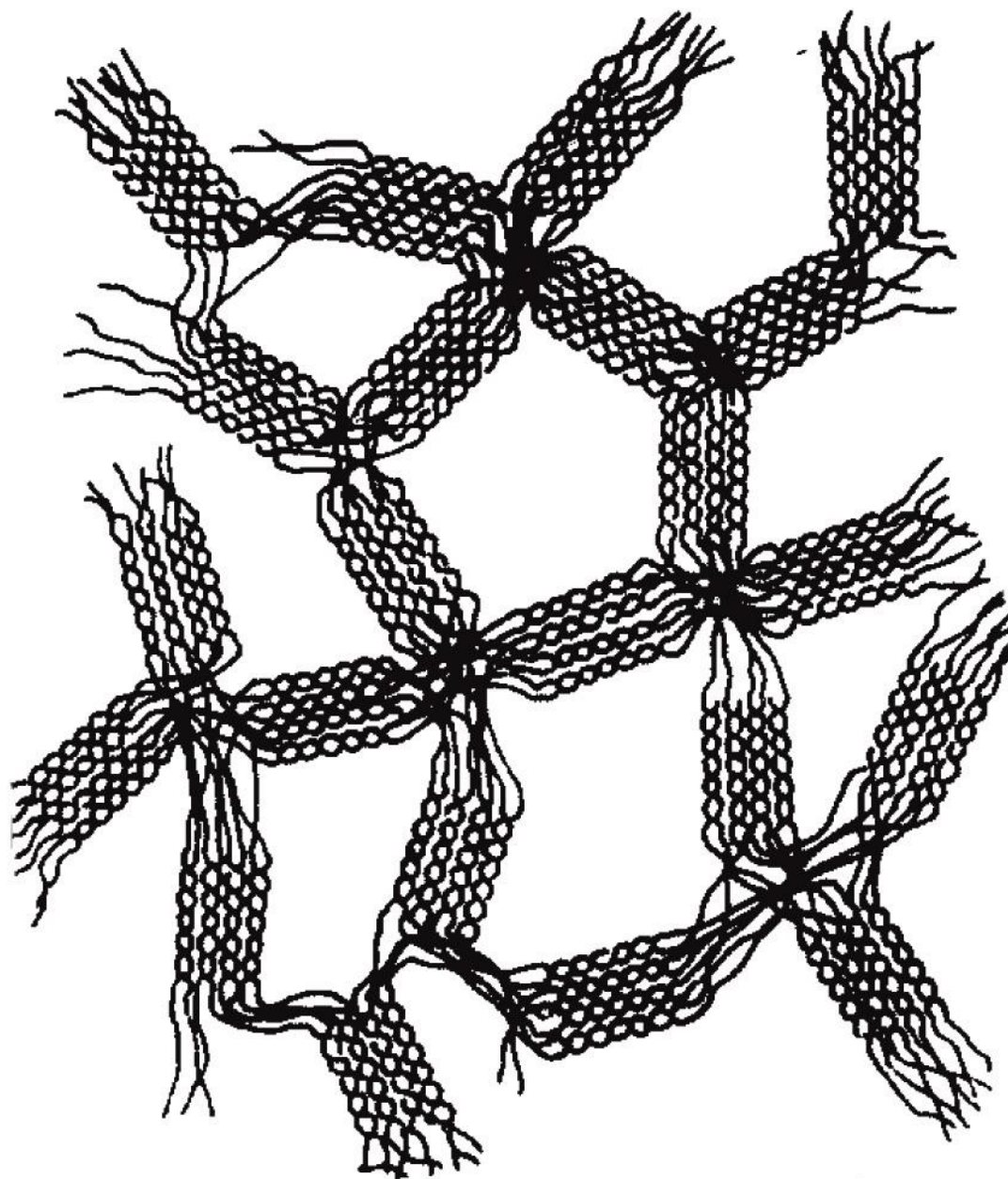
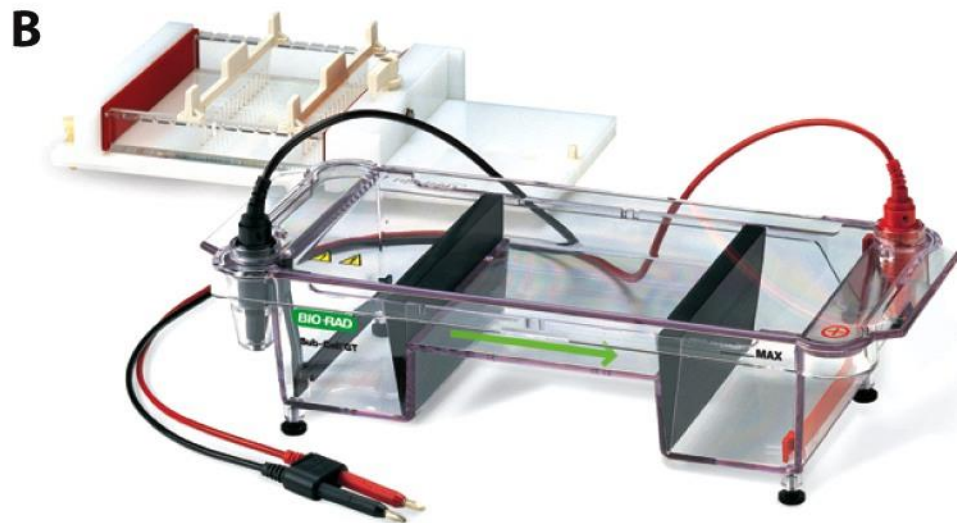
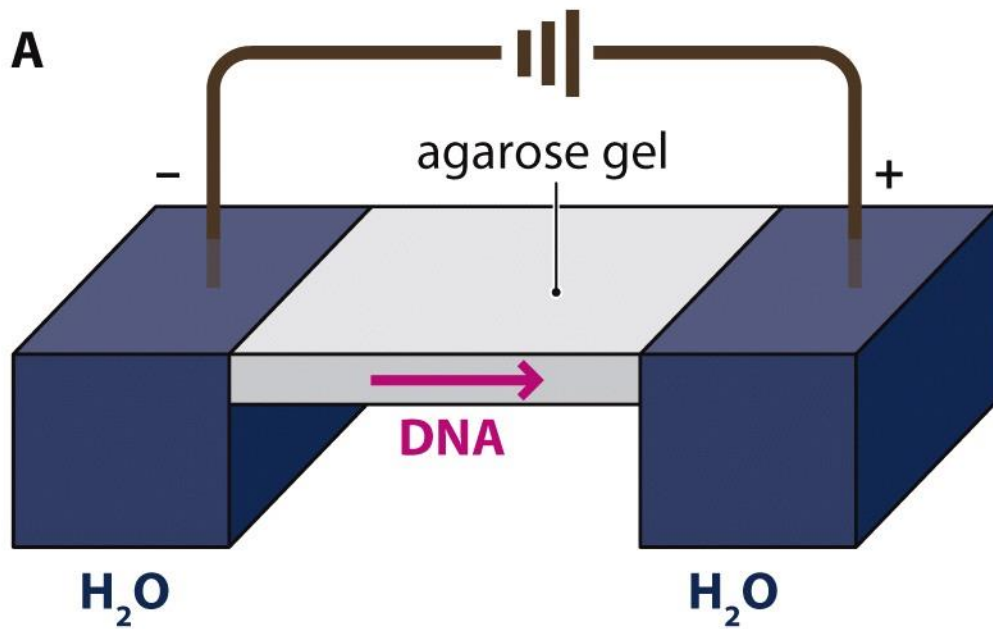


Figure 3.81b Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Table 3.2 Agarose content for separation of various lengths of DNA.

Agarose (%)	DNA size (bp)
0.3	60,000–5000
0.6	20,000–1000
0.7	10,000–800
0.9	7000–500
1.2	6000–400
1.5	4000–200
2.0	3000–100

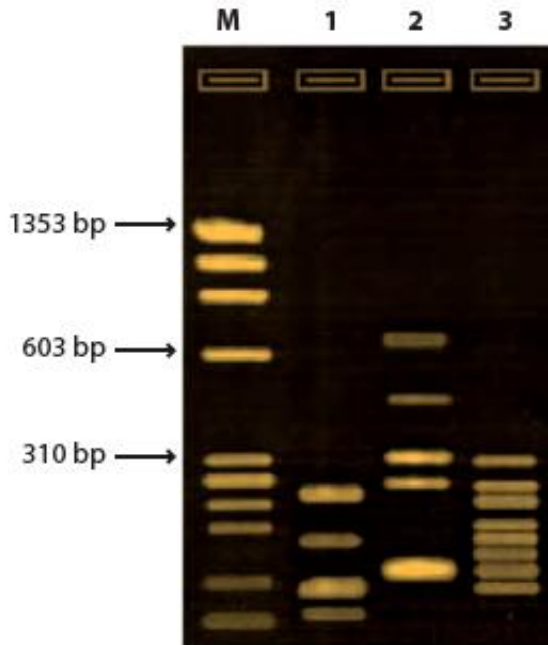
Table 3.2 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

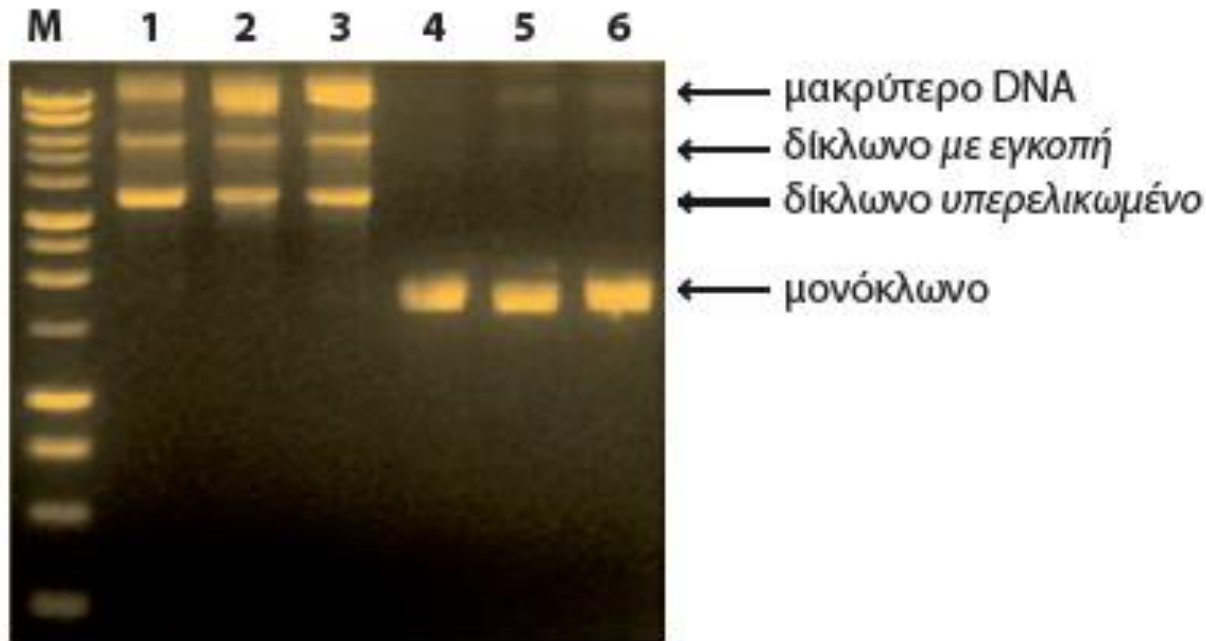


Μια οριζόντια πλατφόρμα πηκτής. Η πηκτική αγαρόζης τοποθετείται μεταξύ δύο δεξαμενών ρυθμιστικών διαλυμάτων, μια στο αρνητικό δυναμικό και μια στο θετικό δυναμικό. Τα αρνητικά φορτισμένα μόρια όπως το DNA κινούνται αργά μέσω της πηκτής προς το θετικό ρυθμιστικό διάλυμα

Figure 3.82 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

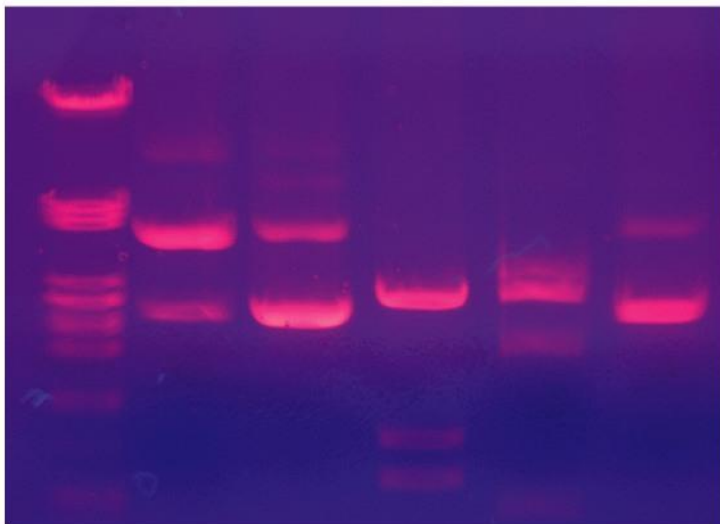
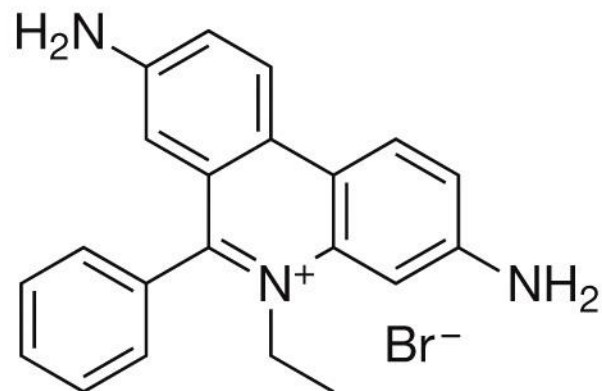
Το μικρότερο DNA κινείται γρηγορότερα. Τα μικρότερα τμήματα DNA μετακινούνται ταχύτερα μέσα στην πηκτική αγαρόζη. Η γραμμή M περιλαμβάνει ένα μίγμα «δεικτών» μεγέθους του DNA: 72, 118, 194, 234, 271, 281, 310, 603, 872, 1078 και 1353 bp. Οι γραμμές 1–3 περιλαμβάνουν προϊόντα πολλαπλασιασμού με PCR από διαφορετικά κλινικά δείγματα του *Mycobacterium tuberculosis*. Το δείγμα DNA φορτώνεται σε «πηγαδάκια», που είναι τα ορθογώνια σημεία στην κορυφή κάθε γραμμής.





Και το μέγεθος και το σχήμα επηρεάζουν την κινητικότητα του DNA. Ένα μονόκλωνο πλασμίδιο κινείται ταχύτερα από ένα δίκλωνο πλασμίδιο ίδιου μήκους. Η μετακίνηση του δίκλωνου πλασμιδίου—εξαρτάται από την τοπολογία και το σχήμα. Ένα εγκομμένο, χαλαρωμένο πλασμίδιο μετακινείται πιο αργά σε σχέση με το υπερελικωμένο πλασμίδιο, που είναι πιο συμπαγές (γραμμές 1–3). Η γραμμή M περιλαμβάνει τους δείκτες μεγέθους DNA. Στις άλλες γραμμές, το DNA έχει περίπου 6200 βάσεις (μονόκλωνο DNA) ή ζεύγη βάσεων (δίκλωνο DNA)

ethidium bromide



Βρωμιούχο αιθίδιο. Το βρωμιούχο αιθίδιο είναι μια φθορίζουσα ένωση που παρεμβάλλεται στο DNA και χρησιμοποιείται για να χρώσει το DNA στις πηκτές αγαρόζης. Το βρωμιούχο αιθίδιο είναι μεταλλαξιογόνο, αλλά πωλείται ως homidium για τη θεραπεία των τρυπανοσωμικών μολύνσεων σε βοοειδή.

Figure 3.85 (part 1 of 2) Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΑΝΑΣΥΝΔΥΑΣΜΕΝΟΥ DNA

Η μοριακή βιολογία συνδέει τα μόρια DNA με βιολογικούς φαινότυπους

Όταν αλλάζετε το DNA, αλλάζετε το αντίστοιχο mRNA, οδηγώντας τελικά σε μια διαφοροποιημένη πρωτεΐνη. Με τη σειρά του, αυτό το πρωτεϊνικό ανάλογο μπορεί να έχει μια διαφορετική λειτουργία και να οδηγεί σε έναν αξιοσημείωτα διαφορετικό, νέο οργανισμικό φαινότυπο.

Η υβριδοποίηση και η ενζυμική διάσπαση του DNA μπορούν να είναι πολύ εξειδικευμένες διαδικασίες. Αυτός ο συνδυασμός γενικών και εξειδικευμένων σε αλληλουχίσεις τεχνικών επιτρέπει την κλωνοποίηση (cloning) συγκεκριμένων γονιδίων σε πλασμίδια.

Μια επανάσταση στη βιολογία.

Η προσέγγιση μέσω σύνθεσης στην αναπτυξιακή βιολογία στοχεύει μια πρωτεΐνη υποδοχέα που αποκωδικοποιείται από το γονίδιο *ROR2*. Αποκοπή του γονιδίου *ROR2* στον ποντικό οδηγεί στη σύνθεση μιας περιορισμένης πρωτεΐνης και κατά συνέπεια σε μικρότερα δάκτυλα (τα βέλη δείχνουν τα εκκλίποντα τμήματα οστών).

wild type



Ror2-W749X



Οι ενδονουκλεάσες περιορισμού κόβουν το DNA σε συγκεκριμένα σημεία και διευκολύνουν την επανασύνδεση

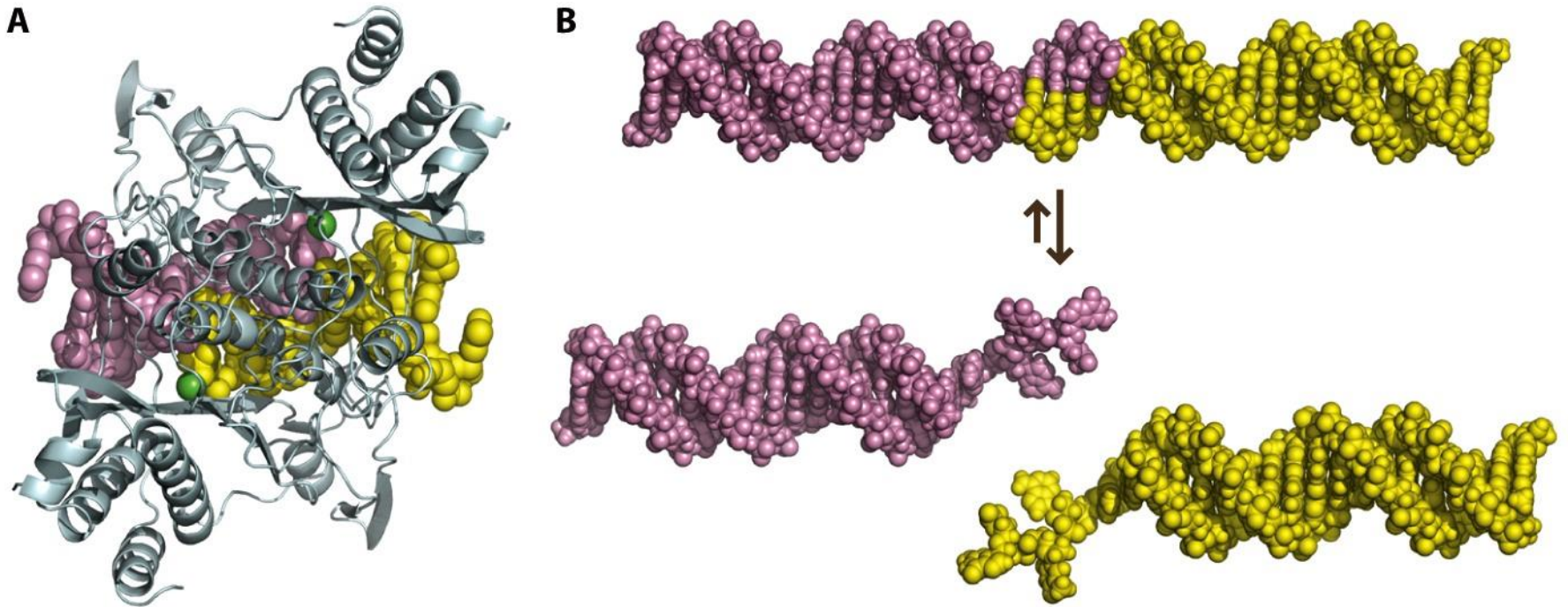
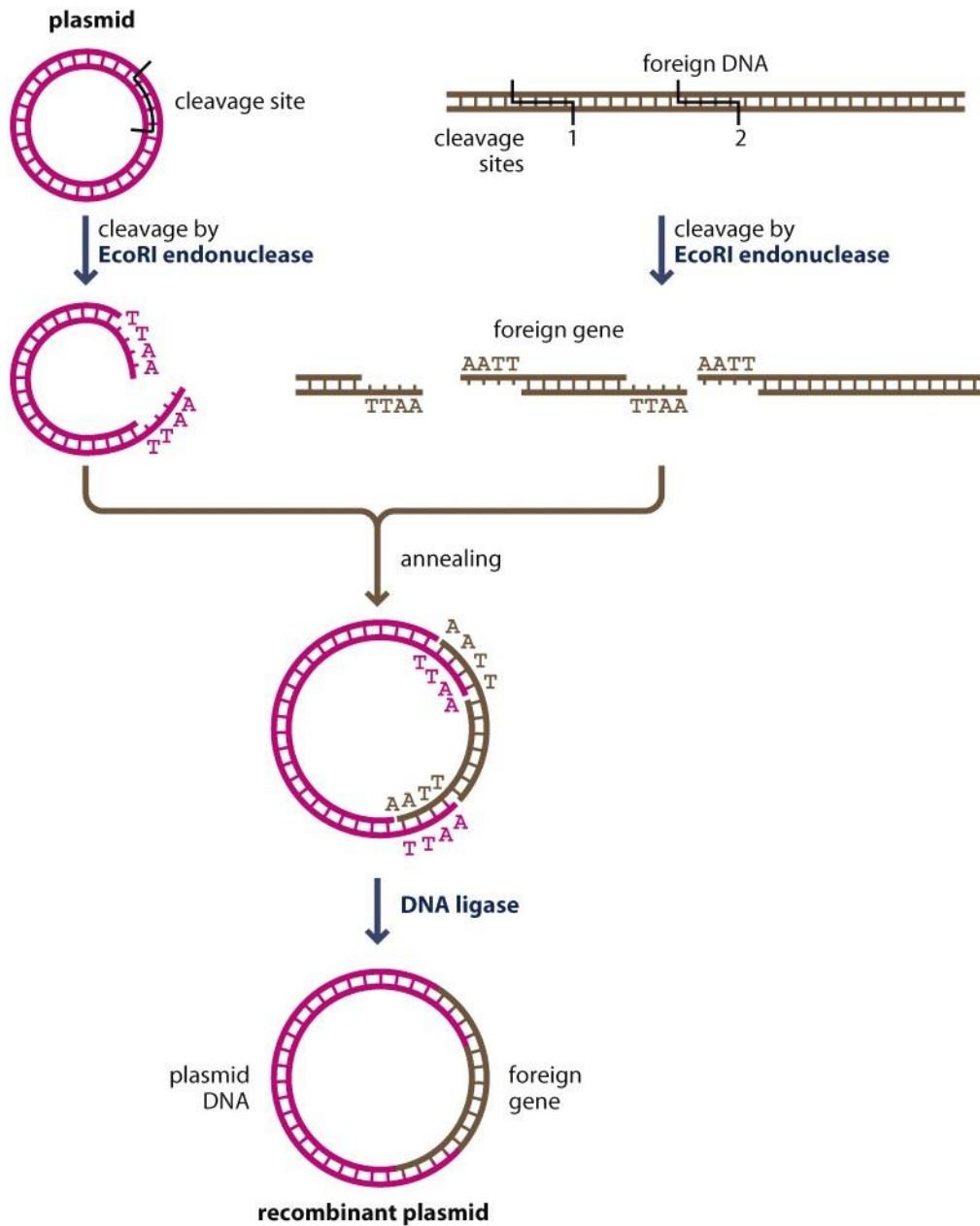


Figure 3.96 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Τεχνολογία

ανασυνδυασμένου DNA.

Ένας συνδυασμός από ένζυμα περιορισμού και DNA λιγάση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να κλωνοποιήσει το DNA σε πλασμιδιακούς φορείς. Πολλά πρωτεϊνικά φαρμακευτικά σκευάσματα βασισμένα σε ανθρώπινες πρωτεΐνες περιλαμβάνουν το όνομα «ανασυνδυασμένο» για να δείξουν πως έχουν παραχθεί σε μη ανθρώπινα κύτταρα χρησιμοποιώντας τεχνολογία ανασυνδυασμένου DNA. Για παράδειγμα rhGH σημαίνει ανασυνδυασμένη ανθρώπινη αυξητική ορμόνη

Η ΦΩΤΟΧΗΜΕΙΑ ΤΩΝ ΝΟΥΚΛΕΪΚΩΝ ΟΞΕΩΝ

Η υπεριώδης ακτινοβολία προάγει τον [2+2] φωτοδιμερισμό των βάσεων θυμίνης και ουρακίλης

Η υπεριώδης ακτινοβολία μπορεί να προάγει [2+2] αντιδράσεις φωτοκυκλοπροσθήκης μεταξύ των βάσεων θυμίνης στις αλληλουχίες 5'-TT-3', οδηγώντας σε ενδοκλωνικές διασυνδέσεις φτιαγμένες από κυκλοβουτανικούς δακτυλίους. Πιο συγκεκριμένα, αυτές οι βλάβες παράγονται με ακτινοβολία UV-B και UV-C σε μήκη κύματος κάτω από τα 320 nm

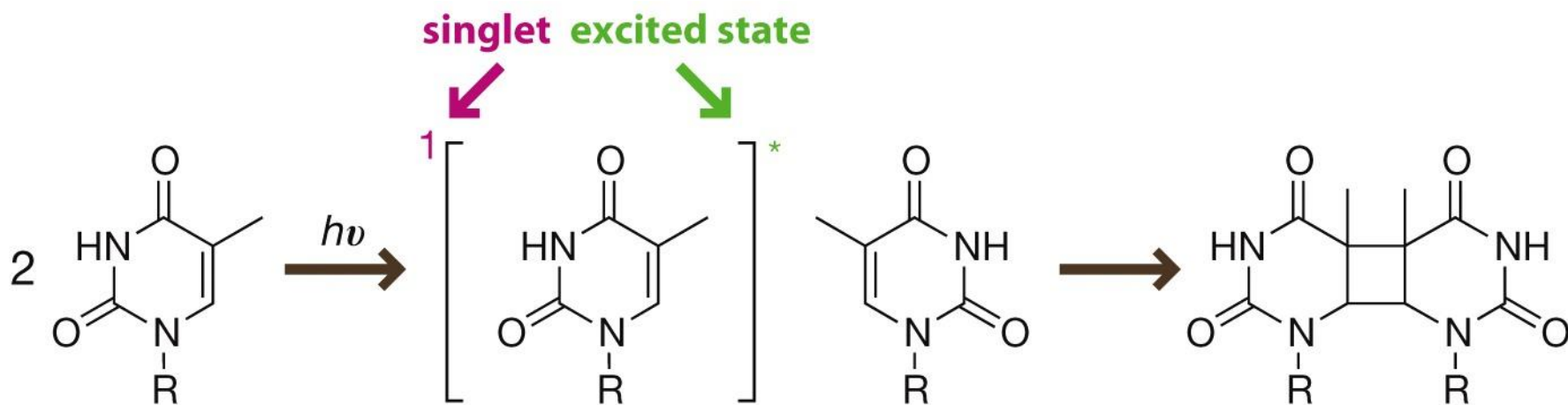
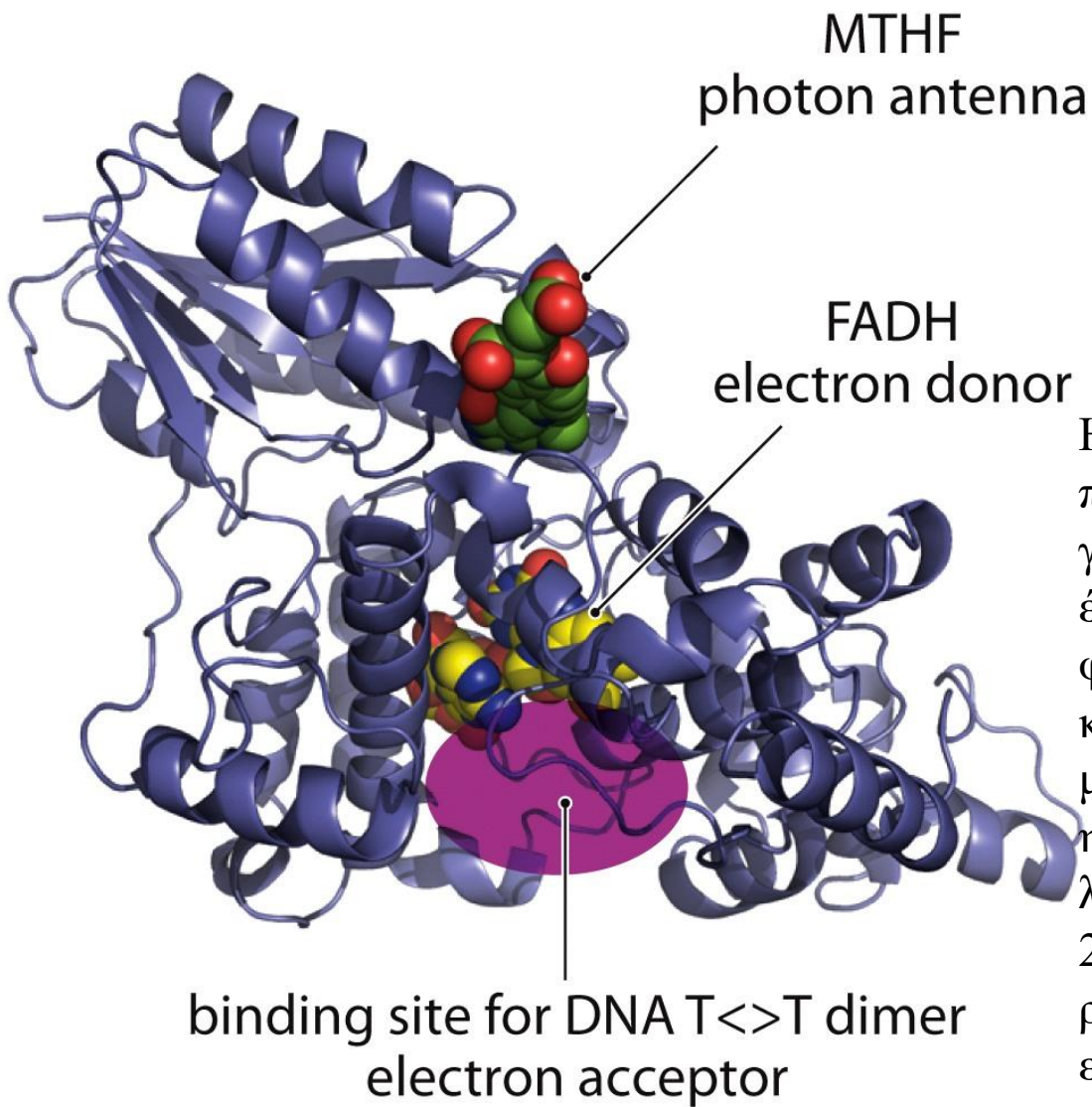


Figure 3.103 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Τα διμερή της θυμίνης στο DNA μπορούν να επιδιορθωθούν

Η DNA φωτολύαση του *Escherichia coli* προσλαμβάνει δύο επιπλέον μόρια για να διασπάσει τα διμερή της θυμίνης: ένα ισχυρό χρωμοφόρο που απορροφά φως (μεθύλενο τετραϋδροφυλλικό οξύ) και ένα οξειδοαναγωγικά δραστικό μόριο που προσφέρει και δέχεται ένα ηλεκτρόνιο. Οι βακτηριοστατικές λάμπες υπεριώδους εκπέμπουν φως στα 254 nm, που είναι ιδανικό για τον διμερισμό της θυμίνης, αλλά όχι για την επιδιόρθωση από την DNA φωτολύαση

Ο μηχανισμός της DNA φωτολυάσης. Ο μηχανισμός για τη διάσπαση ενός διμερούς θυμίνης από την DNA φωτολυάση περιλαμβάνει μεταφορά ηλεκτρονίου

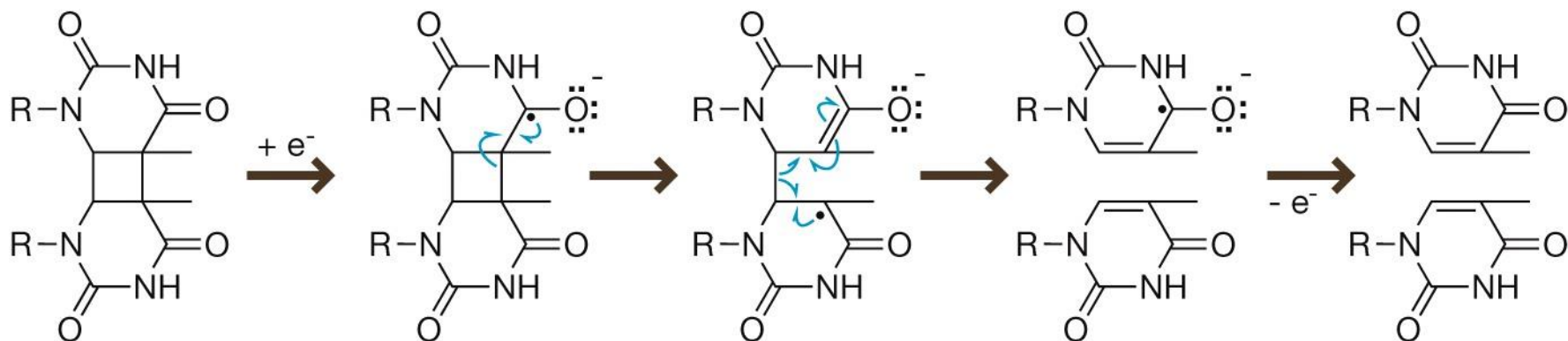
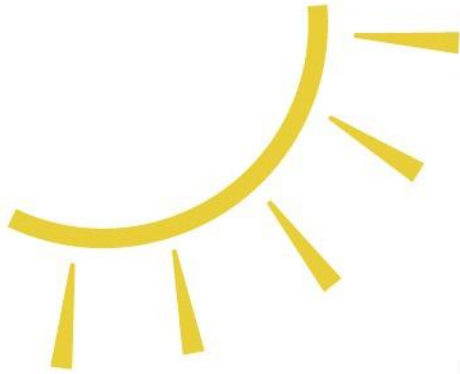
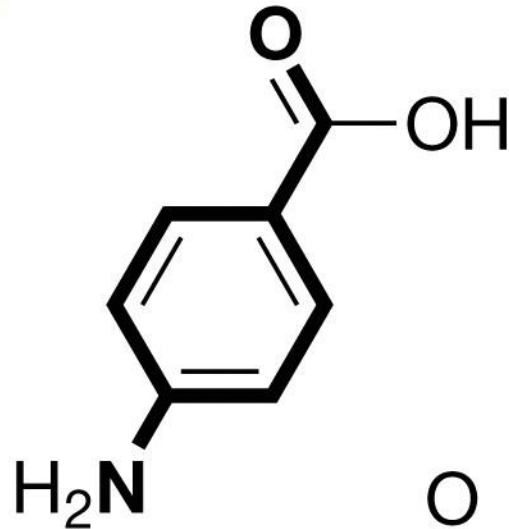


Figure 3.106 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

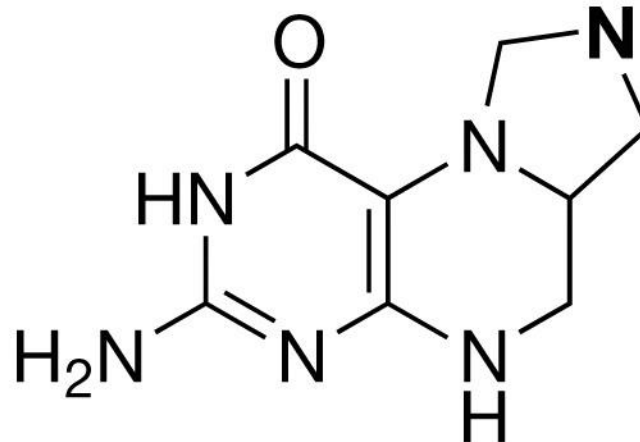
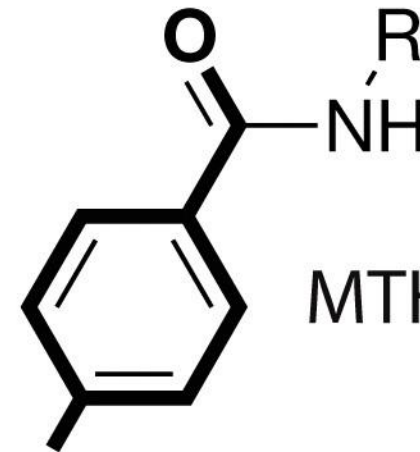


Τα προστατευτικά αντιηλιακά χρησιμοποιούν το ίδιο χρωμοφόρο όπως η DNA φωτολύση του *E. coli*. PABA, π-αμινοβενζοϊκό οξύ· MTHF, μεθύλενο τετραϋδροφυλλικό οξύ.

PABA

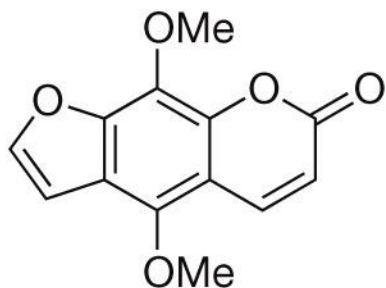


MTHF

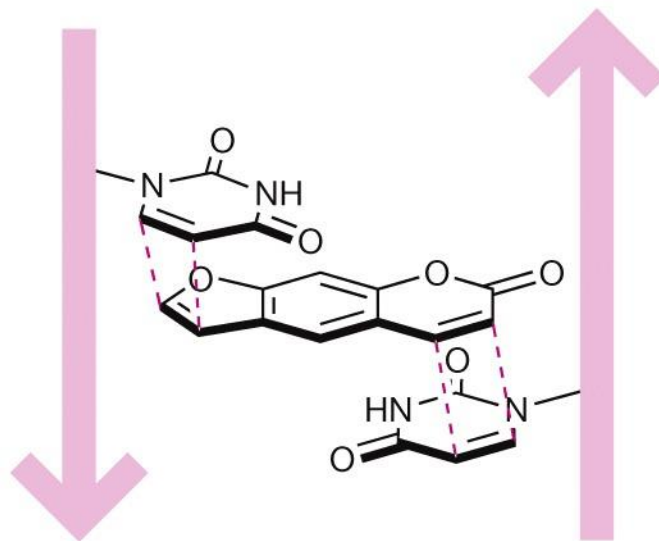


Τα ψωραλένια παρεμβάλλονται μεταξύ των ζευγών βάσεων του DNA και φωτοδιασυνδέουν τους απέναντι κλώνους

A



5,8-dimethoxypsoralen



B

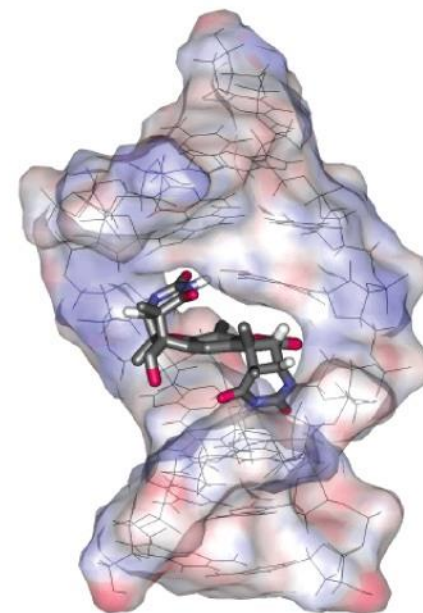


Figure 3.108 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

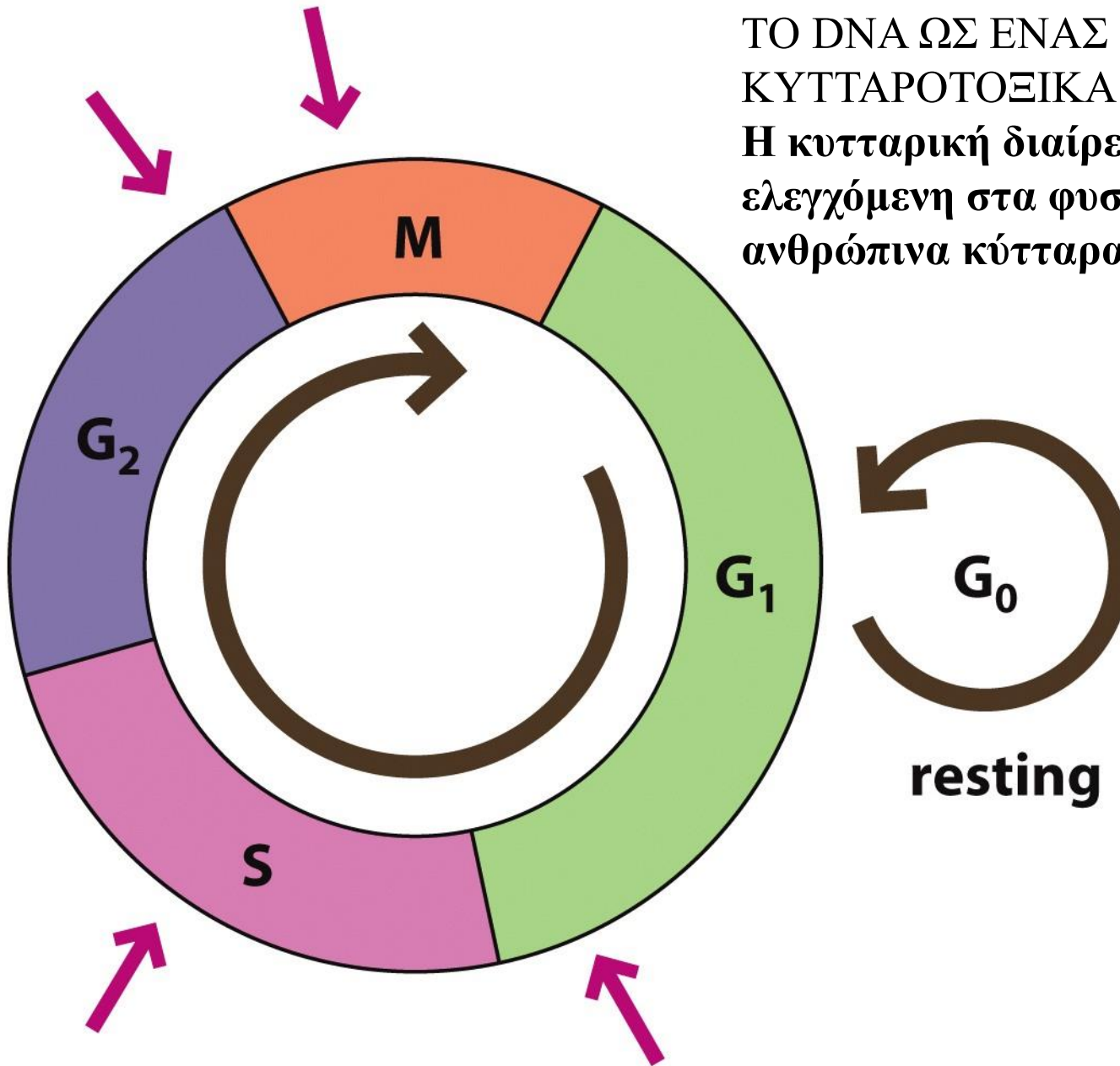
Η διασύνδεση κλώνων του DNA με τα ψωραλένια. (A) Τα έλαια στη φλούδα των περσικών μοσχολέμονων είναι πλούσια σε ψωραλένια όπως το 5,8 διμεθοξυψωραλένιο. Τα ψωραλένια μπορούν να παρεμβληθούν μεταξύ των ζευγών των βάσεων. (B) Καθένας από τους φωτοδραστικούς διπλούς δεσμούς του ψωραλενίου μπορεί να εμπλακεί σε φωτοχημικές [2+2] κυκλοπροσθήκες με πυριμιδίνες στο δίκλωνο DNA.



Figure 3.109 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

**Παράξενα σημάδια και γραμμικές ερυθματώδεις
κυστοειδείς πλάκες με υπερχρωματισμό στην κοιλιά.
Από χυμό μοσχολέμονου που στίφθηκε στο σώμα κατά τη
διάρκεια ηλιοθεραπείας**

ΤΟ DNA ΩΣ ΕΝΑΣ ΣΤΟΧΟΣ ΓΙΑ
ΚΥΤΤΑΡΟΤΟΞΙΚΑ ΦΑΡΜΑΚΑ
Η κυτταρική διαίρεση είναι υψηλά
ελεγχόμενη στα φυσιολογικά
ανθρώπινα κύτταρα



*Τα διαιρούμενα
ανθρώπινα κύτταρα
πρέπει να περάσουν
τα σημεία
ελέγχου ή να
πεθάνουν*

Figure 3.110 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

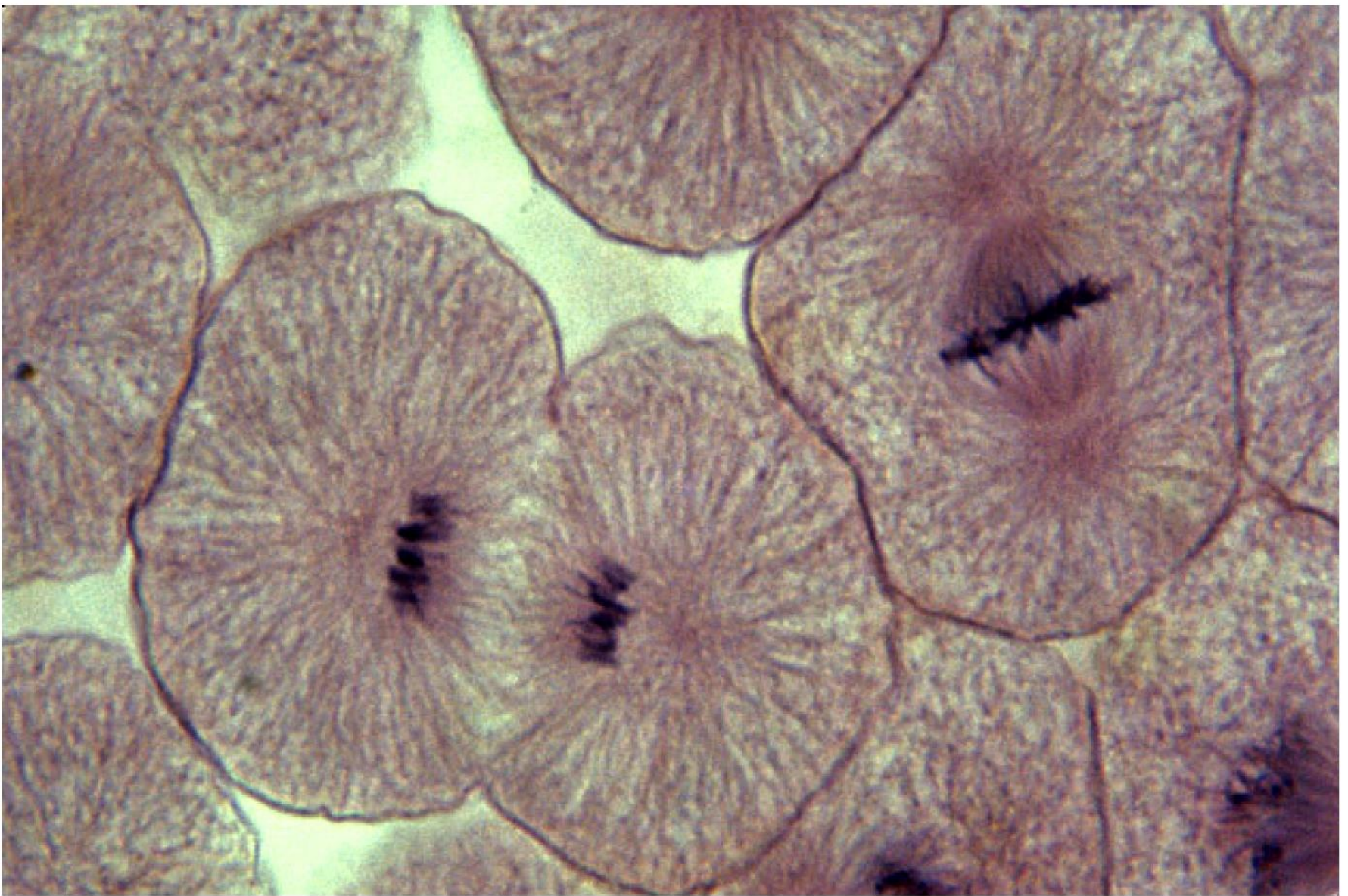


Figure 3.111 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Εμβρυϊκά βλαστιδιακά κύτταρα κορεγόνων (whitefish) σε διάφορα στάδια της μίτωσης. Το κύτταρο κάτω αριστερά είναι στο μεταφασικό στάδιο της μίτωσης

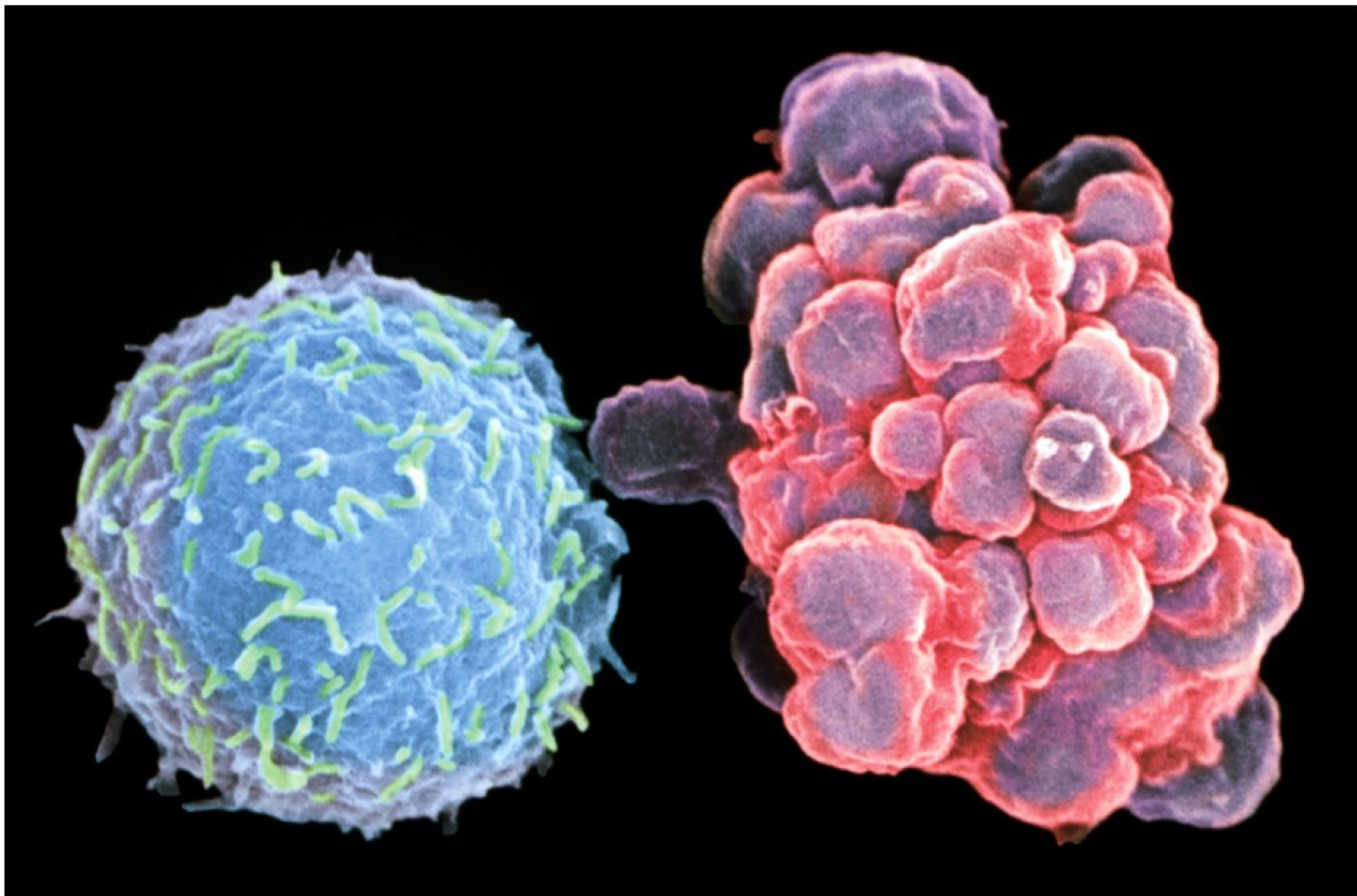
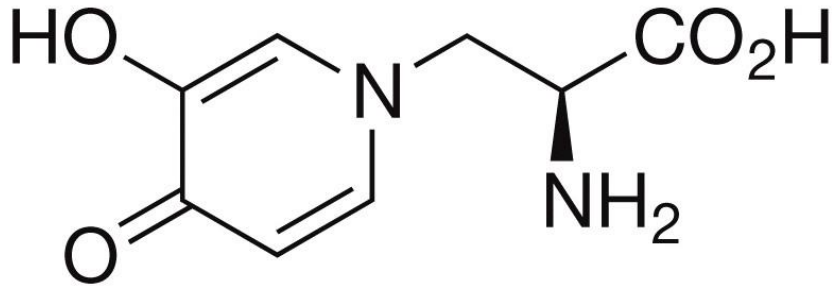
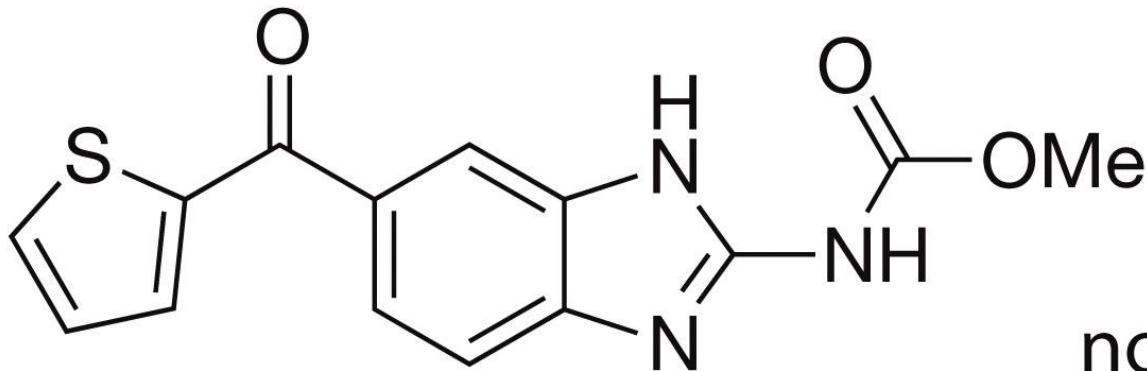


Figure 3.112 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ένα φυσιολογικό λευκό αιμοσφαίριο (αριστερά) και ένα αποπτωτικό λευκό αιμοσφαίριο (δεξιά). Το αποπτωτικό κύτταρο επιδεικνύει χαρακτηριστικές «κύστες» στην κυτταρική μεμβράνη στα τελευταία στάδια του θανάτου.



mimosine



nocodazole

Figure 3.113 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Συγχρονιστές του κυτταρικού κύκλου. Η μιμοζίνη και το νοκοδαζόλιο σταματούν τα κύτταρα σε συγκεκριμένα σημεία του κυτταρικού κύκλου χωρίς να προκαλέσουν απόπτωση.

Η παραδοσιακή χημειοθεραπεία στοχεύει το DNA ταχέως διαιρούμενων κυττάρων, καρκινικών ή μη

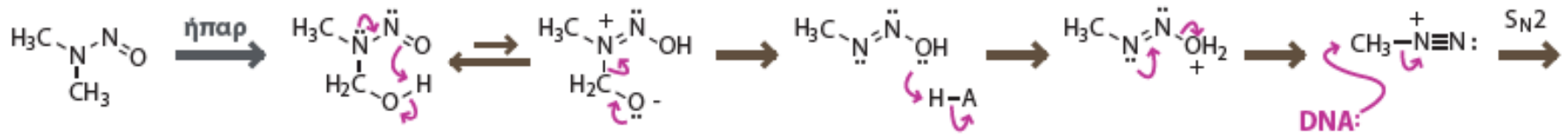
Η βλάβη του DNA δεν είναι θανατηφόρα για τα περισσότερα κύτταρα· είναι θανατηφόρα μόνο για τα κύτταρα που συμμετέχουν στον κυτταρικό κύκλο. Τα περισσότερα από τα κύτταρα στο ανθρώπινο σώμα—μυϊκά κύτταρα, νευρώνες και λοιπά—δεν εμπλέκονται σε κυτταρικό κύκλο, δεν εξελίσσονται μέσω σημείων ελέγχου και δεν υφίστανται απόπτωση ως απόκριση σε μοριακή βλάβη.

Table 3.3 Growth rate versus curability with traditional chemotherapy.

Cancer	Doubling time (days)	Curability
Burkitt's lymphoma	1	+
Choriocarcinoma	2	+
Acute lymphocytic leukemia	3	+
Hodgkin's lymphoma	4	+
Testicular embryonic carcinoma	5	+
Colon cancer	80	-
Lung cancer	90	-
Breast cancer	100	-/+

Τα απλά αλκυλιωτικά μέσα είναι ιδιαίτερα μεταλλαξιογόνα

Η αλκυλίωση των βάσεων του DNA αποτρέπει την ακριβή αντιγραφή κατά τη διάρκεια της φάσης S του κυτταρικού κύκλου. Τα ανθρώπινα κύτταρα διαθέτουν πολλούς ευφυείς μηχανισμούς επιδιόρθωσης για να επισκευάσουν τις βλάβες με βλάβες, αλλά ακόμα και οι καλύτεροι μηχανισμοί επιδιόρθωσης δεν μπορούν να εντοπίσουν όλες τις μεταλλάξεις. Οι περισσότερες μεταλλάξεις είναι πιθανόν να είναι «σιωπηρές», γιατί μόνο το 1% του ανθρώπινου γονιδιώματος εκφράζεται σε πρωτεΐνες. Σε άλλες περιπτώσεις, τα θυγατρικά κύτταρα θα είναι μη βιώσιμα.



Ο κίνδυνος των N-νίτροζο ενώσεων. Ο μεταβολισμός της N-νιτροζοδιμεθυλαμίνης δημιουργεί το μέθυλο διαζωνιακό ιόν, έναν ισχυρό αλκυλιωτικό παράγοντα.

ascorbic acid

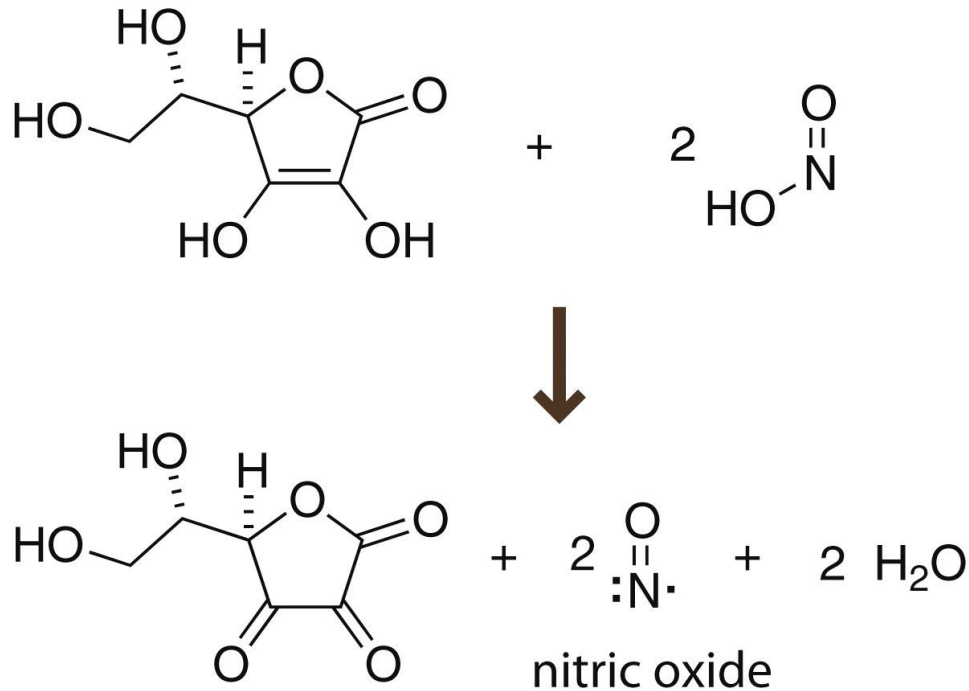
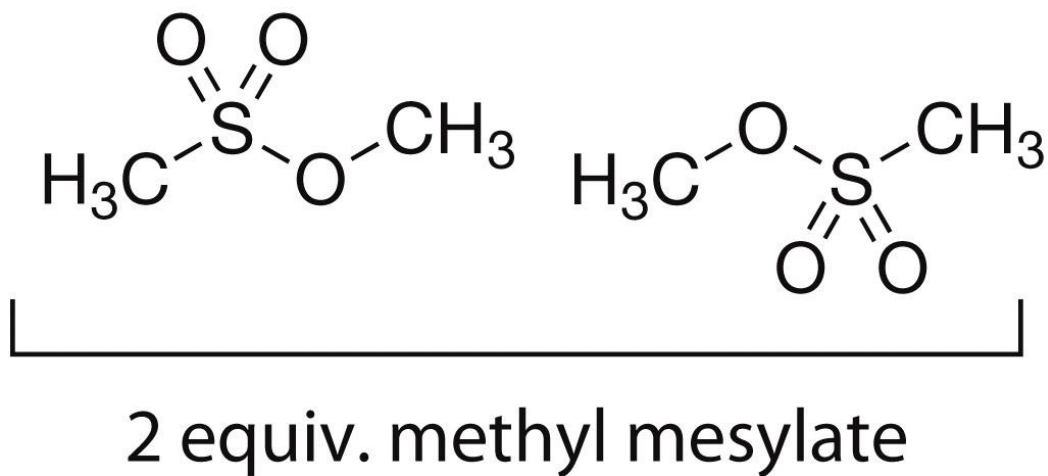
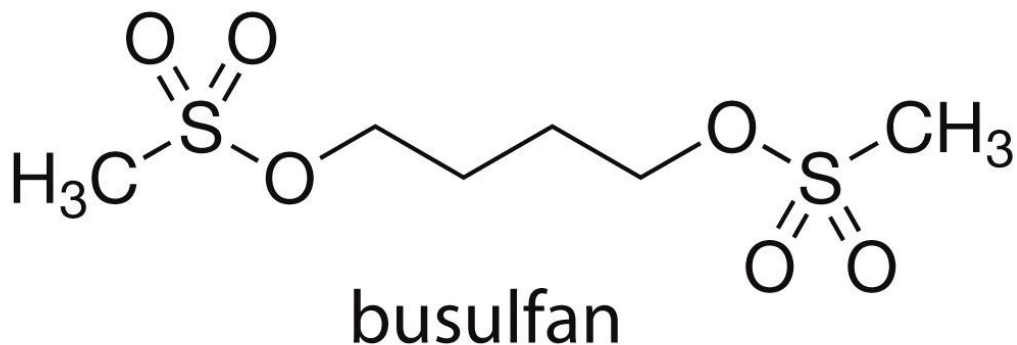


Figure 3.126 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Σώζοντας το μπείκόν σας.

Το ασκορβικό οξύ αντιδρά ταχύτερα από τις αμίνες με το νιτρώδες οξύ. Αντί να σχηματιστούν *N*-νίτροζο ενώσεις, το νιτρώδες οξύ μετατρέπεται σε μονοξείδιο του αζώτου



**Κυτταροτοξικότητα
έναντι
μεταλλαξιογένεσης .**
 Η απλή διμεθυλική
 βουσουλφάνη είναι
 πολύ πιο κυτταρο-
 τοξική από δύο μόρια
 του μεθυλικού
 μεθυλεστέρα
 επειδή μπορεί να
 διασυνδέσει κλώνους
 DNA.

Figure 3.127 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

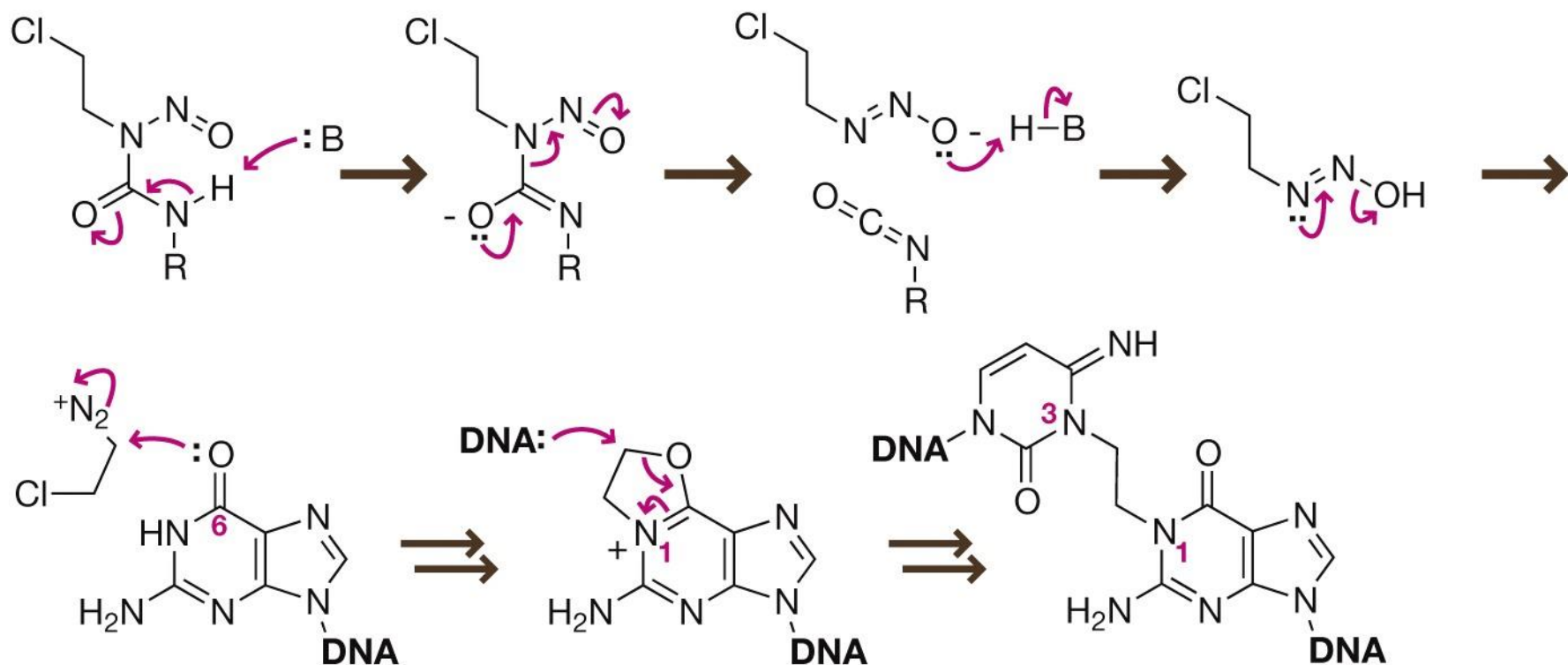


Figure 3.129 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Διασυνδέσεις από τις CNUs. Οι

χλωροαιθύλο νιτροζουρίες σχηματίζουν διακλω-
νικές διασυνδέσεις μεταξύ των βάσεων G και C.

Το 1775 ένας χειρουργός του Λονδίνου με το όνομα Percival Pott παρατήρησε στους καπνοδοχοκαθαριστές την υψηλή συχνότητα ενός **καρκινώματος του δέρματος** («soot wart» ή καρκίνος των καπνοδοχοκαθαριστών). Αυτοί οι καρκίνοι της οσχεϊκής περιοχής είναι γνωστό σήμερα πως δημιουργούνται από την έκθεση σε μόρια με συμπυκνωμένους βενζολικούς δακτυλίους που ονομάζονται πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs). Οι PAHs σχηματίζονται μέσω της ατελούς καύσης του κάρβουνου, του πετρελαίου, των τροφών και άλλων οργανικών ενώσεων. Οι PAHs με μια χαρακτηριστική γωνιακή διάταξη που ονομάζεται «περιοχή κόλπου» («bay region») οξειδώνονται από τα μεταβολικά ένζυμα των θηλαστικών για να δώσουν καρκινογόνες ενώσεις.

Οι εποξειδικοί αλκυλιωτές του DNA είναι ισχυρά μεταλλαξιογόνοι

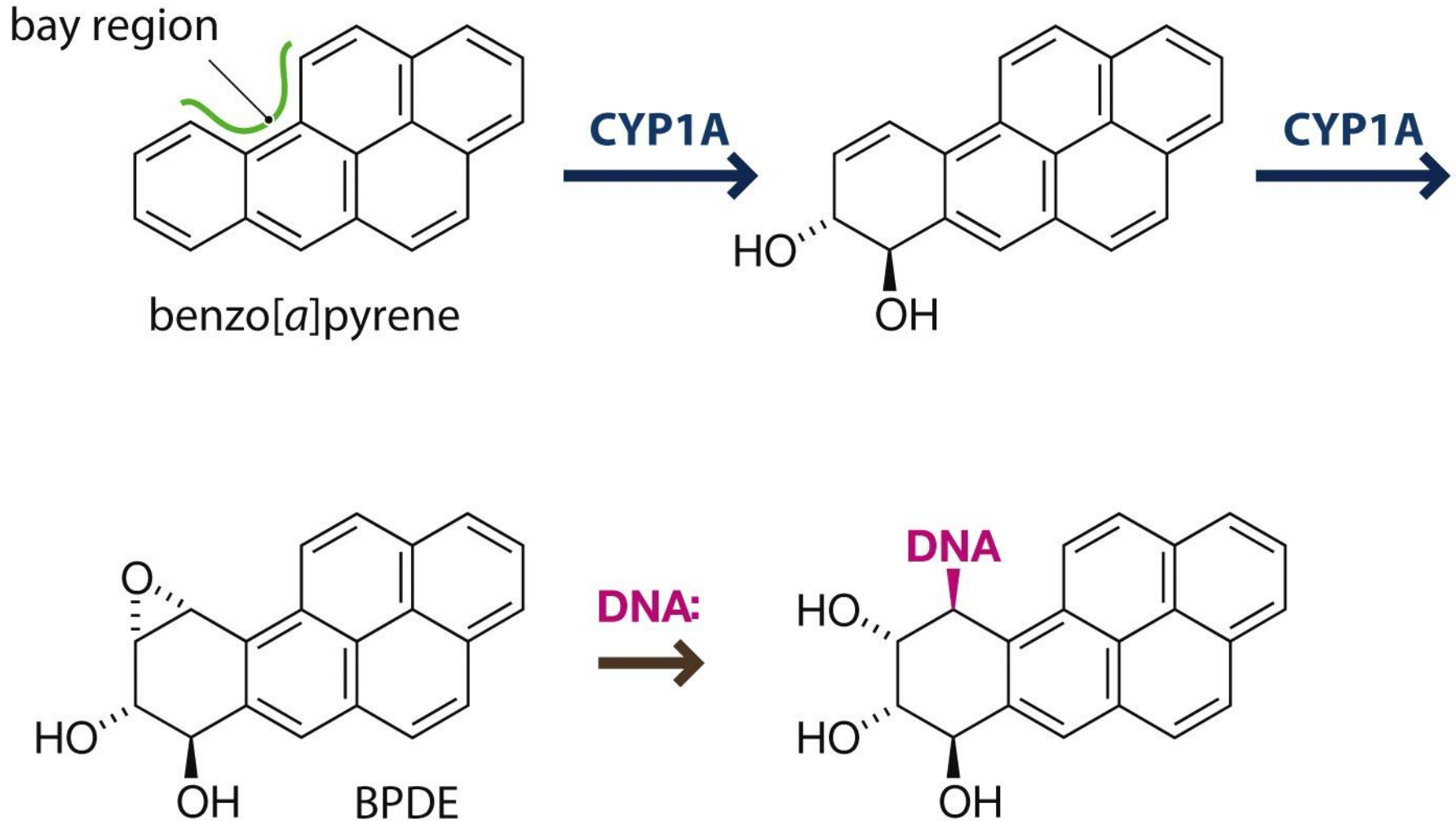


Figure 3.132 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Ογκογονικότητα (tumorigenicity).

Επαναλαμβανόμενες εφαρμογές
βενζο[α]πυρενίου μπορεί να
οδηγήσουν σε
έκρηξη δερματικών καρκίνων σε
ποντικούς



Figure 3.134 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Φυσικά καρκινογόνα. Ο μύκητας *Aspergillus flavus*, που παράγει αφλατοξίνες, μολύνει πολλά είδη τροφίμων, όπως τα φυστίκια και το καλαμπόκι

Μεταβολική ενεργοποίηση της αφλατοξίνης B1. Η μεταβολική εποξείδωση της αφλατοξίνης B1 οδηγεί σε ένα πολύ δραστικό εποξείδιο.

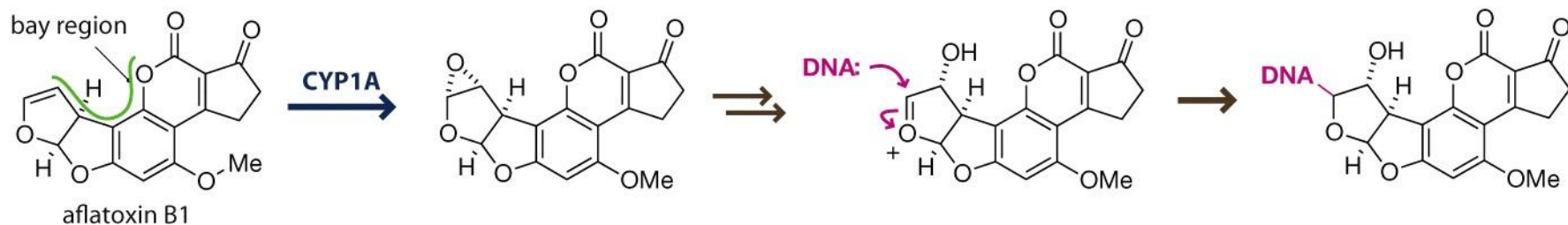


Figure 3.135 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Οι αζιριδινακοί δακτύλιοι είναι σχετικά εκλεκτικοί αλκυλιωτές του DNA



Figure 3.136 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Μουστάρδες Θείου. Οι μουστάρδες θείου αντιδρούν μέσω επισουλφονιακών ιόντων με τάση. Τα επισουλφονιακά ιόντα αντιδρούν ταχύτατα με το νερό και παράγουν υδροχλωρικό οξύ, μπορούν όμως να αντιδράσουν και με πρωτεΐνες και DNA

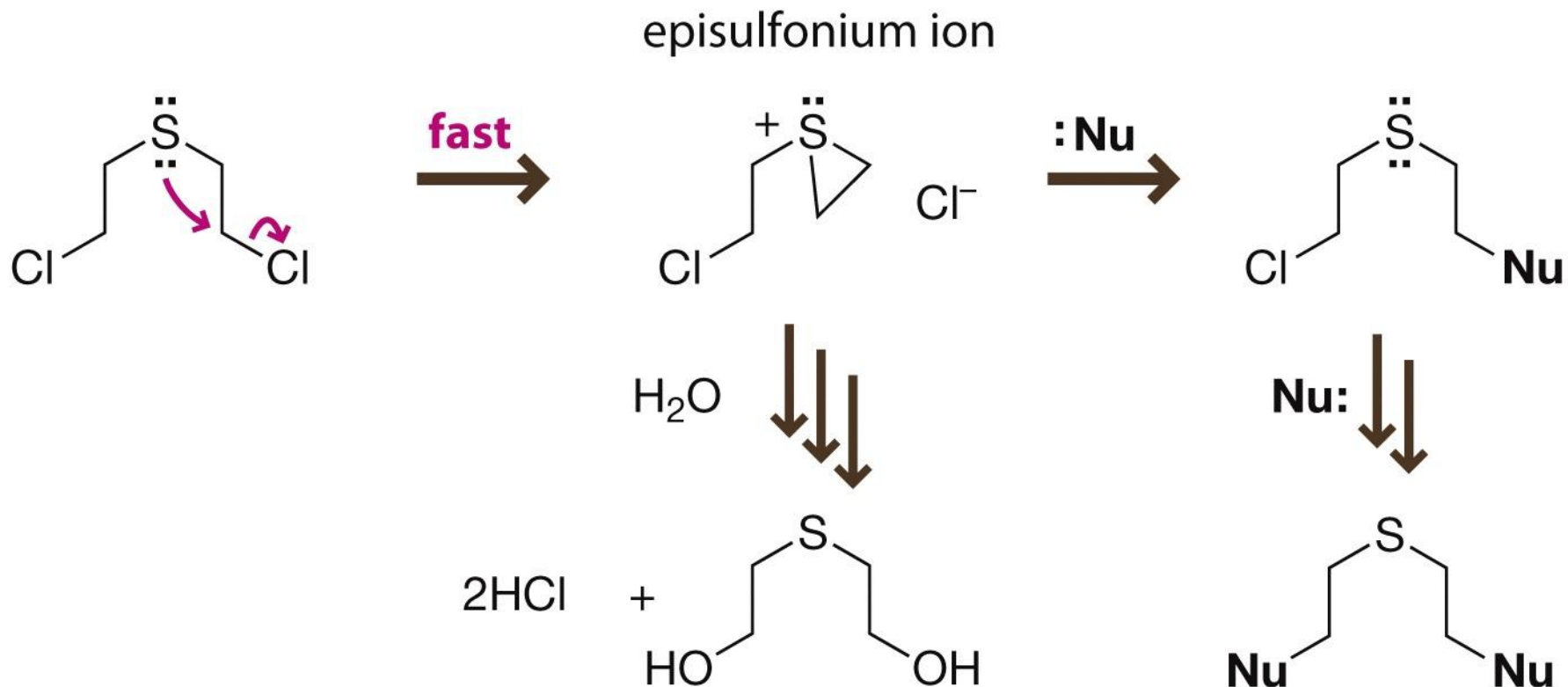


Figure 3.137 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Αζωτούχες μουστάρδες. Οι αζωτούχες μουστάρδες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του καρκίνου δημιουργούν αζιριδινιακά ιόντα με τάση.

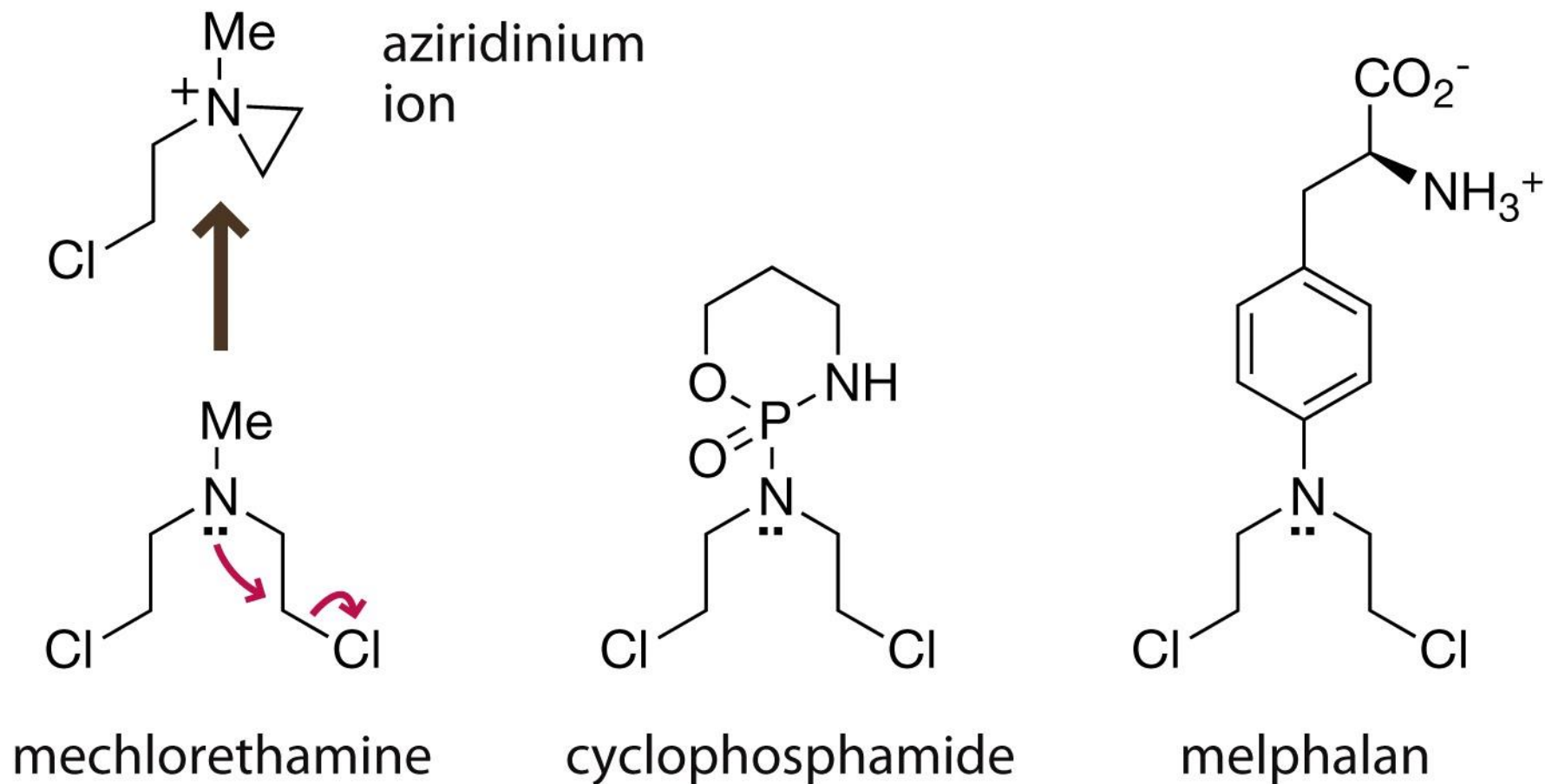


Figure 3.138 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

A



Οι κυκλοπροπανικοί δακτύλιοι
μπορούν να λειτουργήσουν
ως ηλεκτρονιόφιλα που μοιάζουν
με συσκευές με ελατήρια

Περισσότερα καρκινογόνα
στη Φύση. Τα ζώα που τρέφονται
με τη φτέρη
bracken (A) αναπτύσσουν
εντερικούς όγκους

B



Figure 3.140 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Η ιδιαίτερη δραστηριότητα των κυκλοπροπυλοκαρβίνυλο παραγώγων. Οι κυκλοπροπυλοκαρβίνυλο ομάδες σχηματίζουν άμεσα καρβοκατιόντα. Τα πυρηνόφιλα μπορούν κάποιες φορές να διανοίξουν τα κυκλοπροπυλοκαρβίνυλο κατιόντα με εκτόνωση της τάσης του δακτυλίου. Το φυσικό προϊόν πτακιλοζίτης είναι σε θέση να σχηματίσει ένα κυκλοπροπυλοκαρβίνυλο κατιόν.

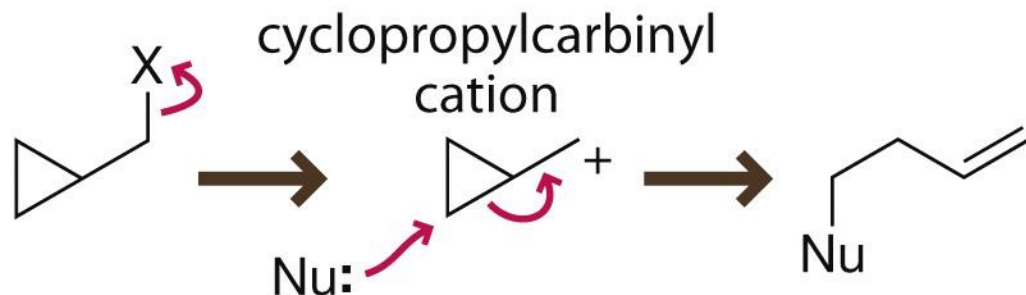
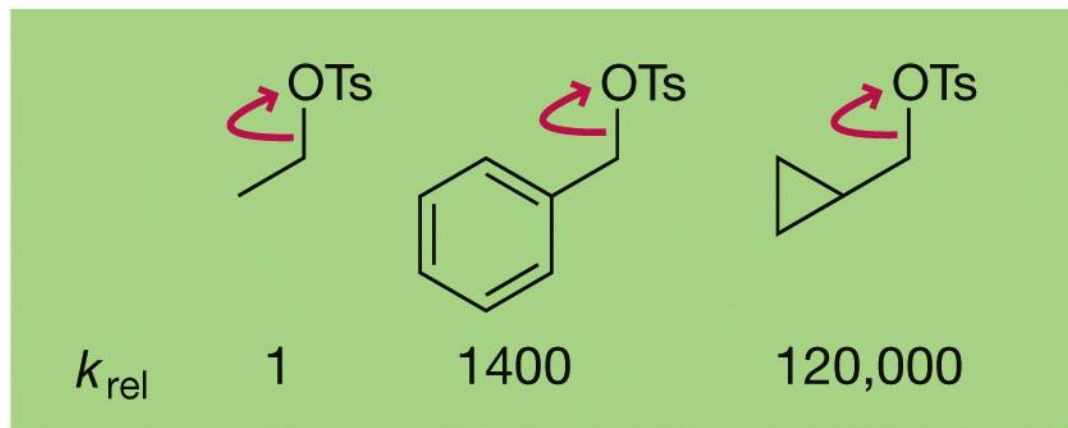
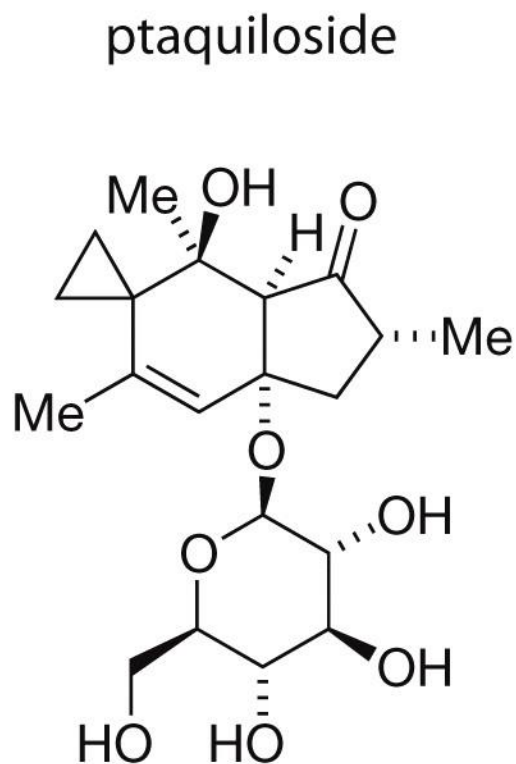


Figure 3.141 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Ο μηχανισμός ενεργοποίησης του πτακιλοζίτη. Η απόσπαση E1cB και ο SN1 ιονισμός οδηγούν σε ένα κυκλοπροπυλοκαρβίνυλο κατιόν που αλκυλιώνει το DNA. Η αντίδραση συνολικά καθοδηγείται θερμοδυναμικά από την εκτόνωση της τάσης του δακτυλίου και την απόκτηση αρωματικότητας

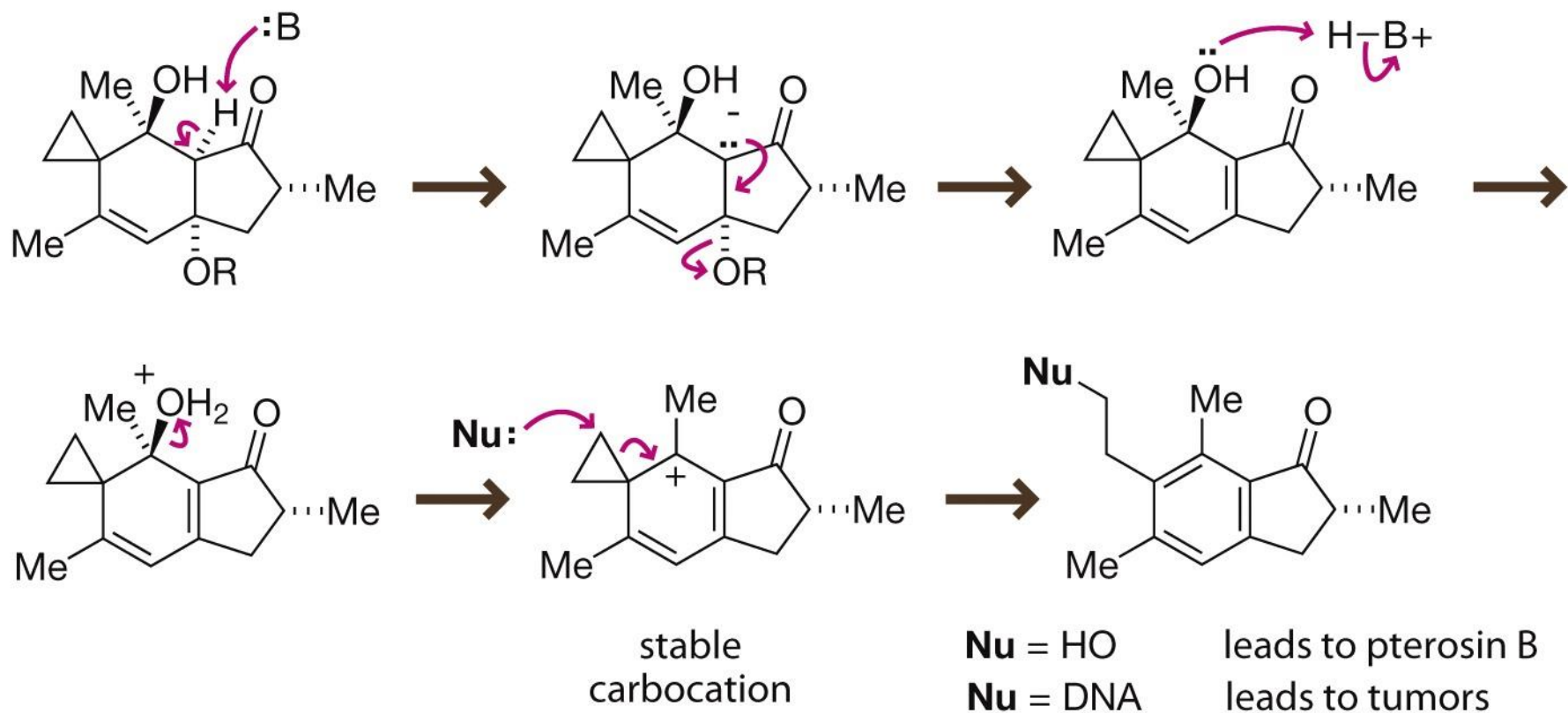
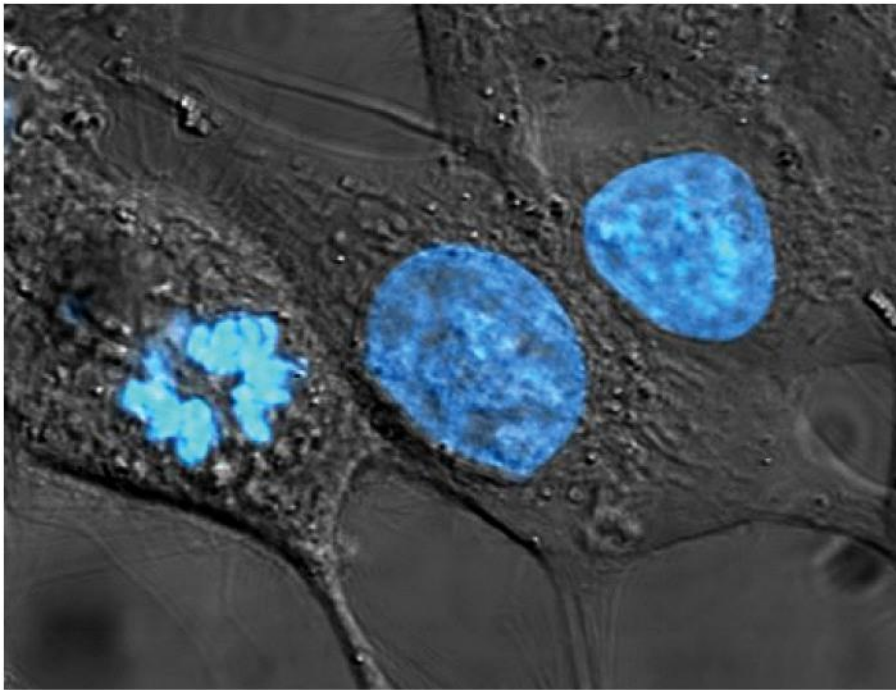


Figure 3.142 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



Πυρηνική χρώση. (A) Η Hoechst 33258 χρησιμοποιείται ευρέως για να χρώσει τον πυρήνα κυττάρων θηλαστικών. (B) Η Hoechst 33258 φθορίζει όταν είναι προσδεμένη στη μικρή αύλακα του DNA.

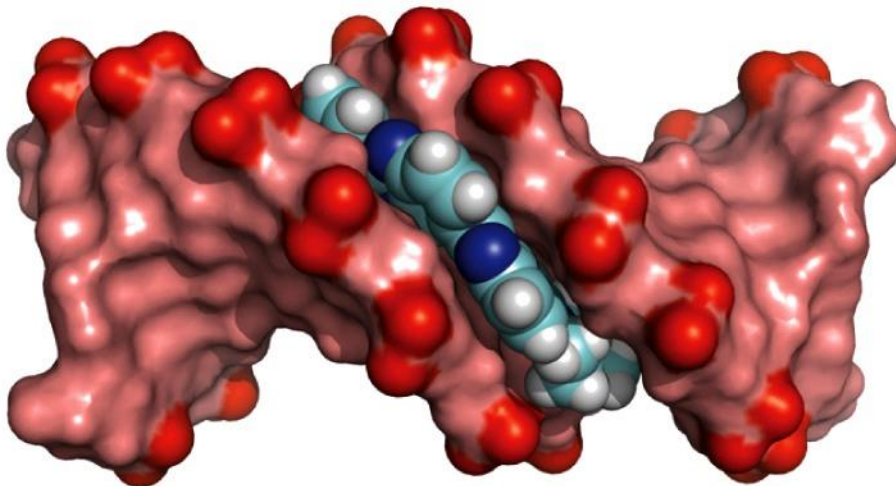


Figure 3.143 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

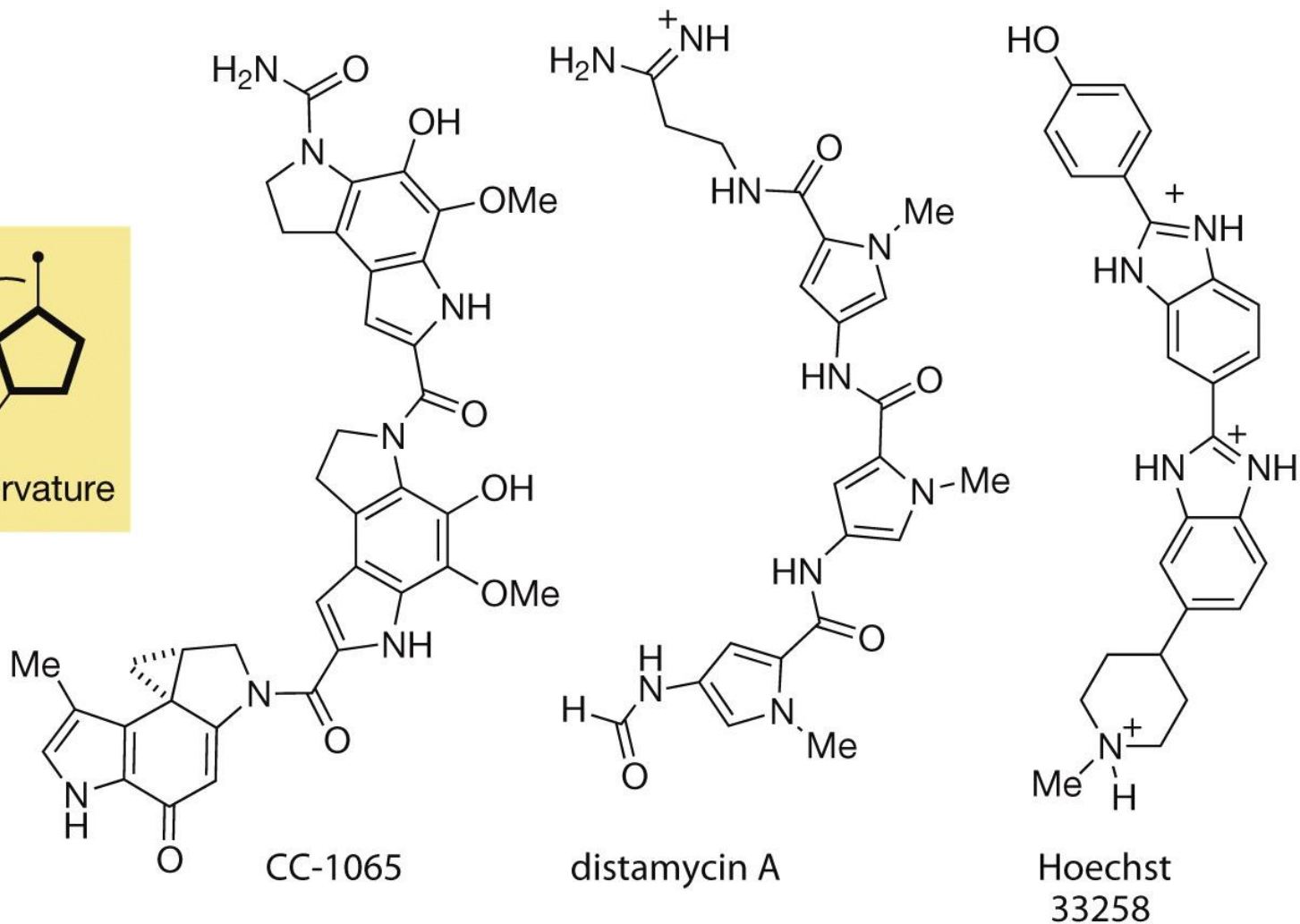
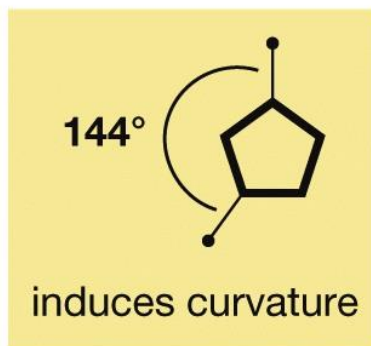


Figure 3.144 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

Κοινά χαρακτηριστικά των ενώσεων που δεσμεύονται στη μικρή αύλακα. Πολλές ενώσεις που δεσμεύονται στη μικρή αύλακα έχουν πενταμελείς δακτυλίους και δεσμούς που μπορούν να περιστραφούν και τις βοηθούν να υιοθετήσουν επίπεδα, καμπυλωμένα σχήματα

Αναστρέψιμη DNA αλκυλίωση. Το CC-1065 σχηματίζει ένα σταθερό αλλά αναστρέψιμο προϊόν ομοιοπολικής προσθήκης μέσα στη μικρή αύλακα του DNA.

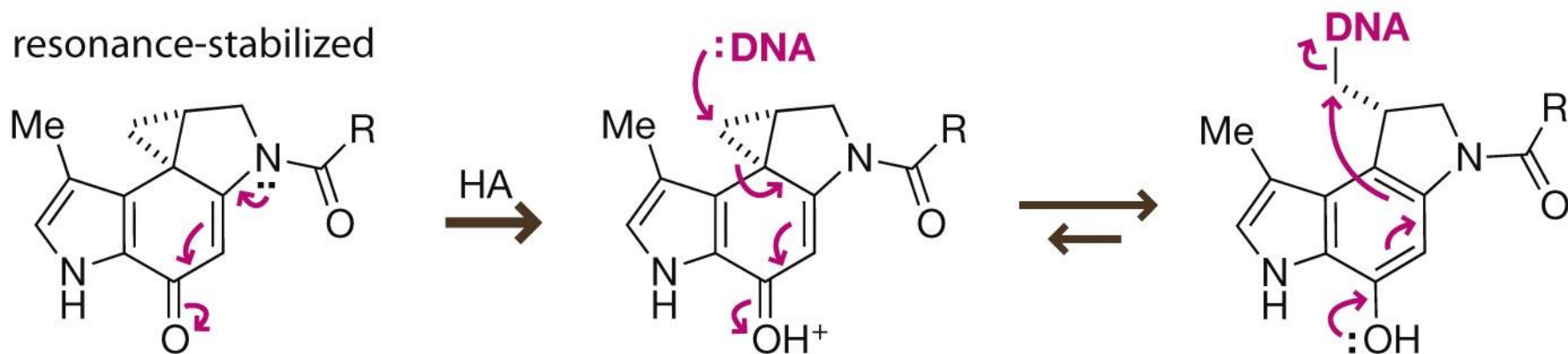
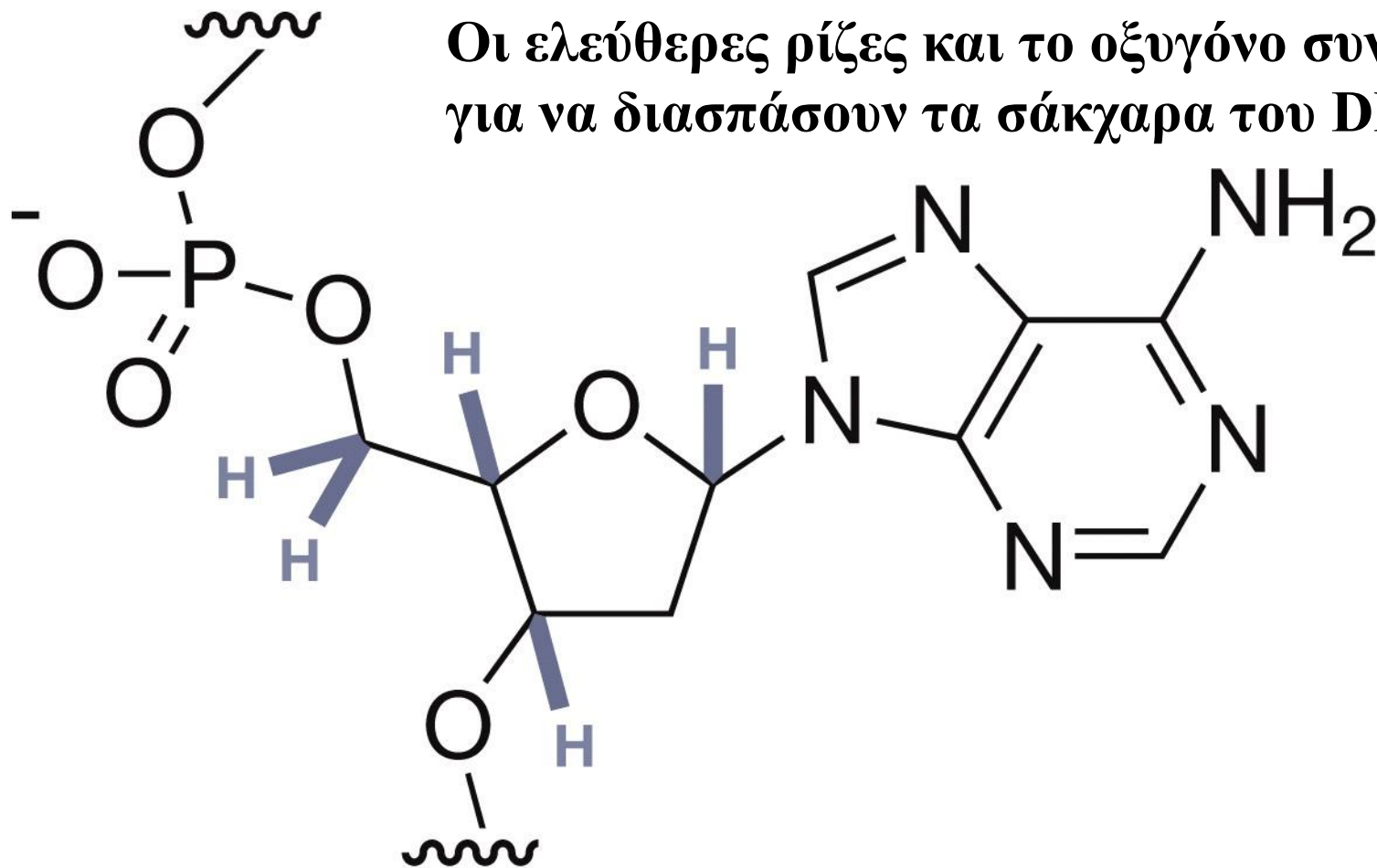
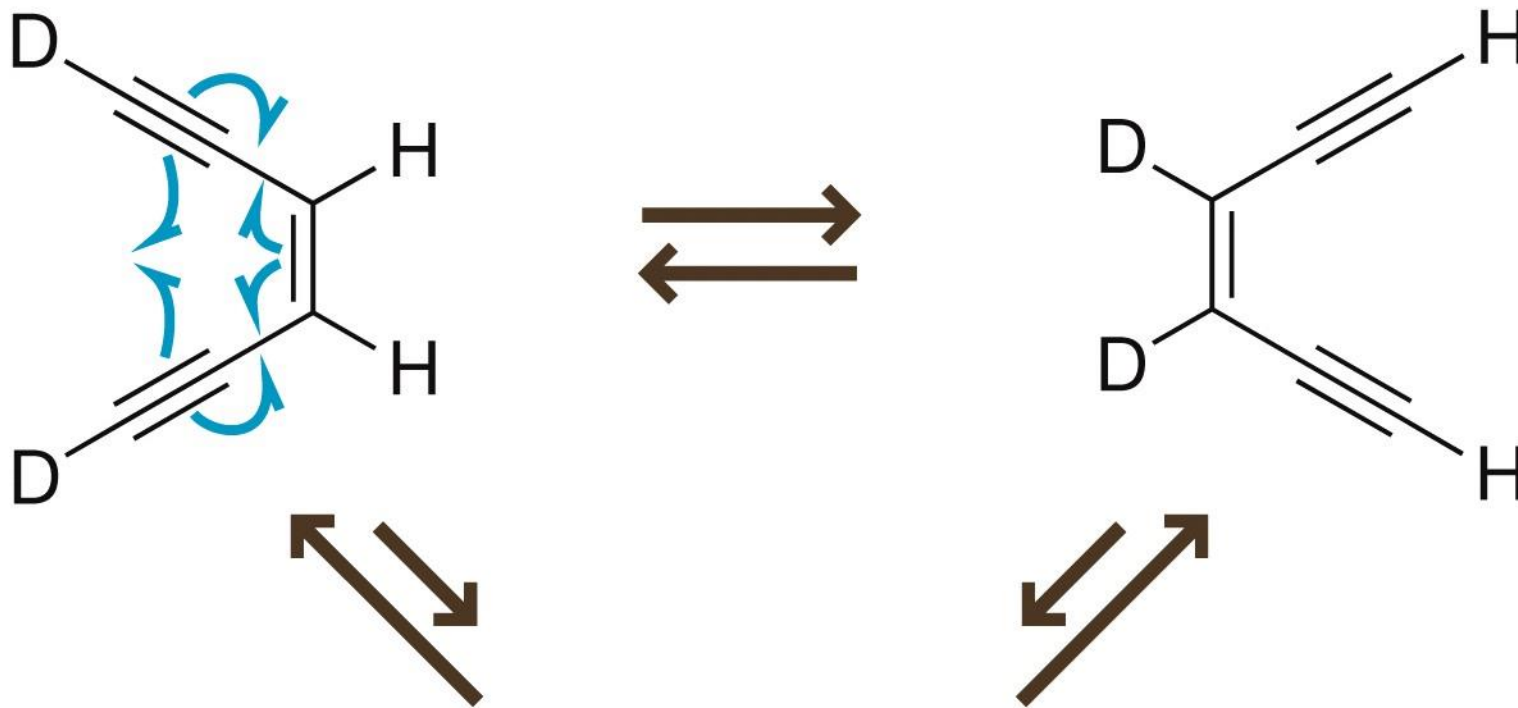


Figure 3.145 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)

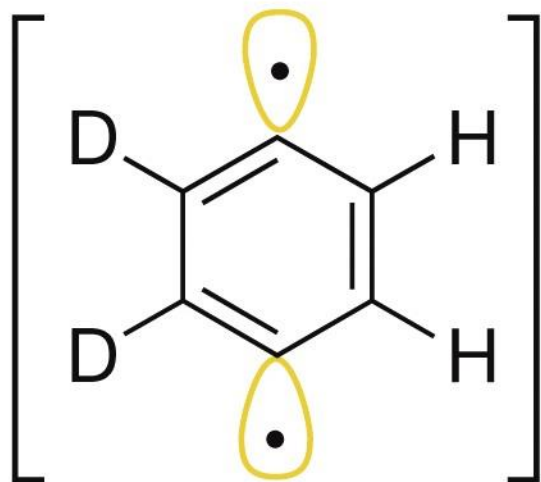
Οι ελεύθερες ρίζες και το οξυγόνο συνομοτούν
για να διασπάσουν τα σάκχαρα του DNA



relatively weak C–H bonds
≤ 93 kcal mol⁻¹

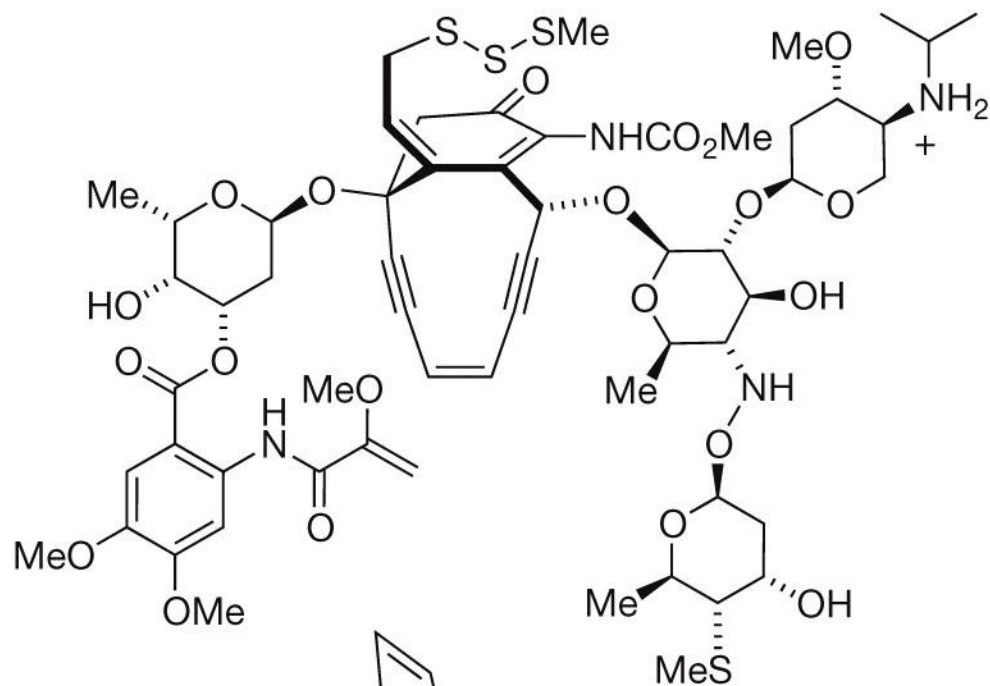
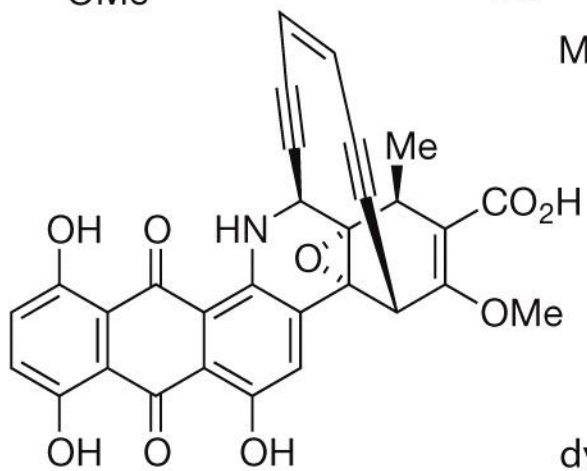
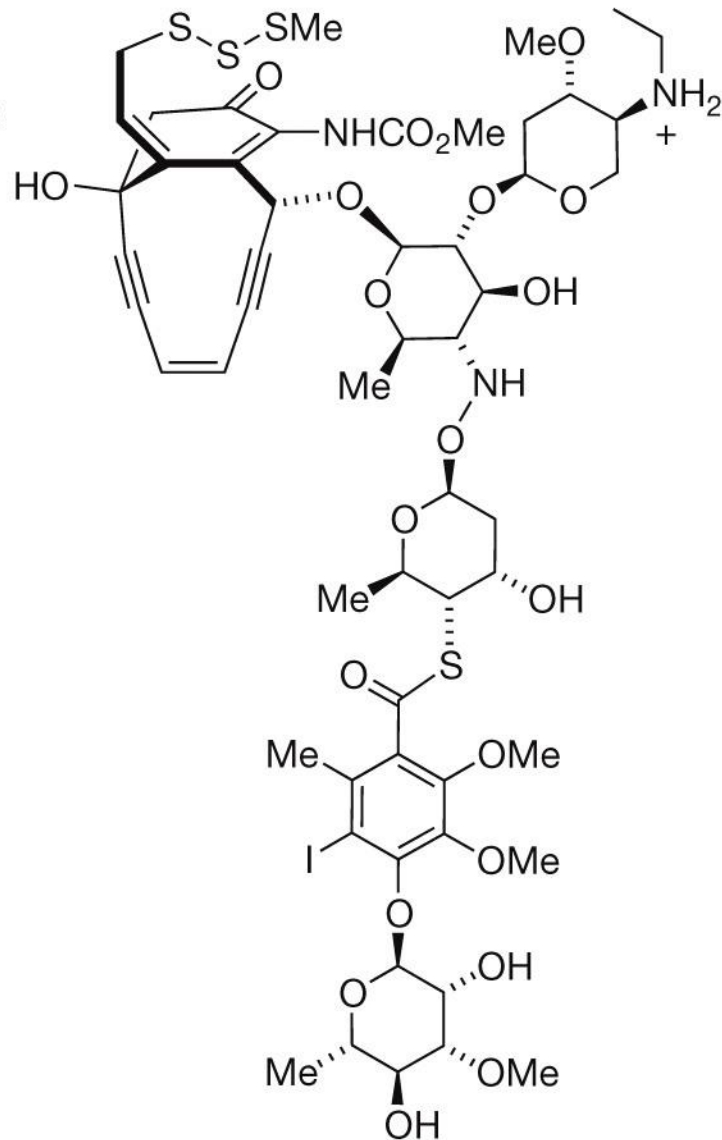


para-benzyne



Τα ενεδωνικά
αντικαρκινικά
αντιβιοτικά διασπών
και τους δύο
κλώνους του DNA
μέσω διριζών παρα-
βενζυνίου

esperamicin A1

calicheamicin γ_1 

dynemicin A

Βιοαναγωγική ενεργοποίηση. Η αναγωγή του κεντρικού κινονικού δακτυλίου της κινόνης της δυνεμισίνης προκαλεί την έναρξη της διάνοιξης του εποξειδικού δακτυλίου, οδηγώντας ουσιαστικά σε μια κυκλοποίηση Bergman της ενεδιωνικής ομάδας.

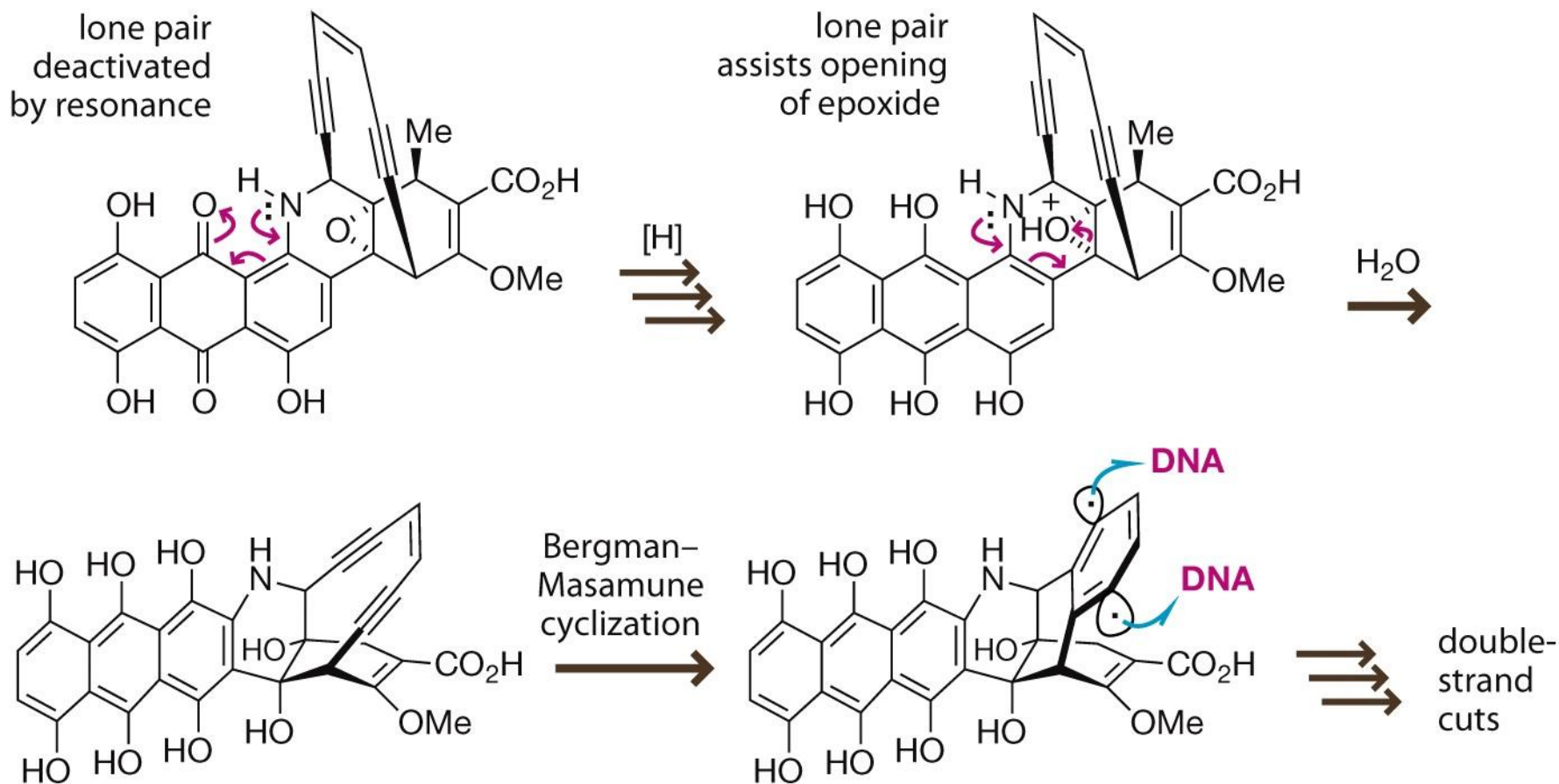
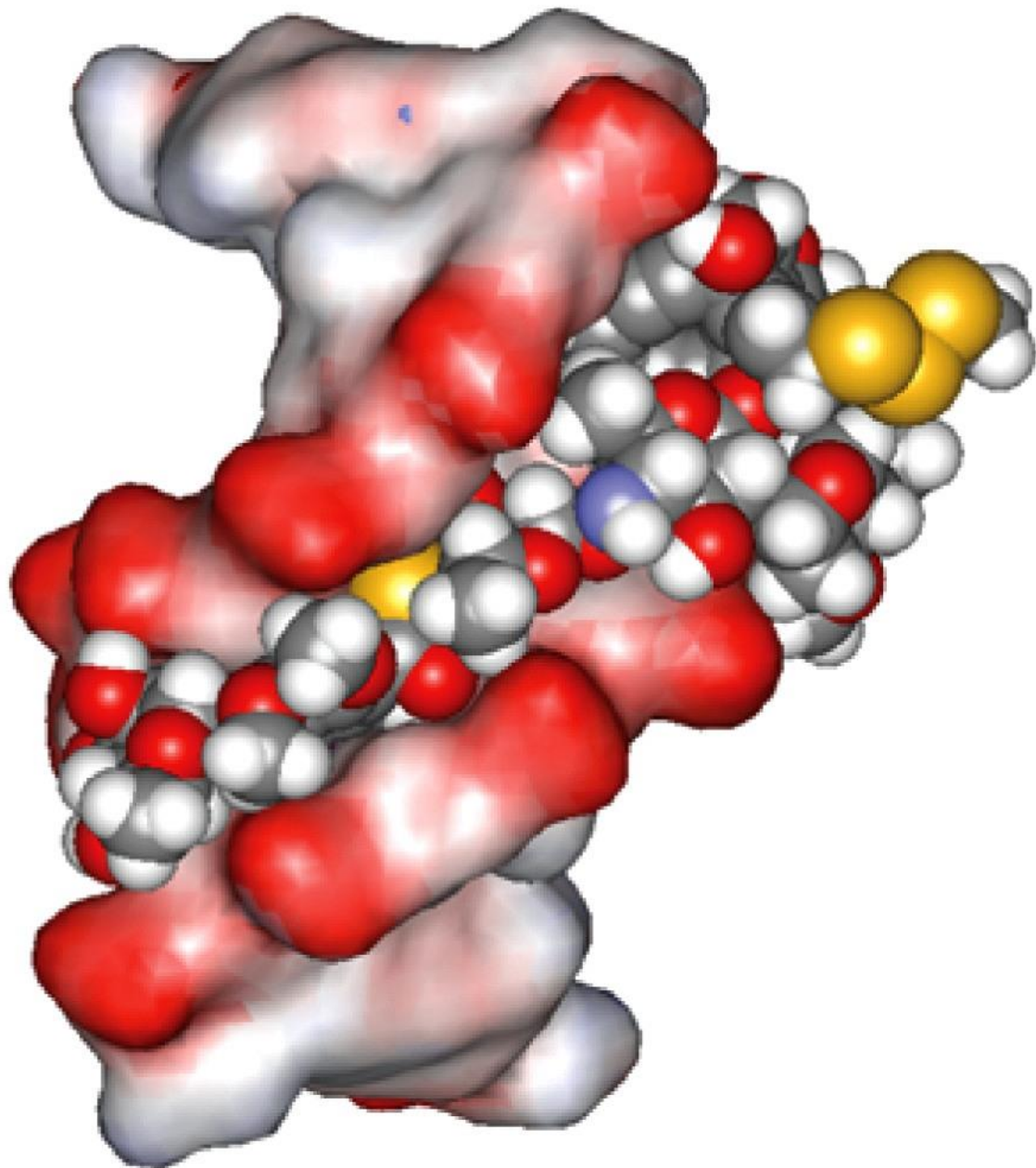


Figure 3.150 Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology (© Garland Science 2013)



**Εφαρμοστό
ταίριασμα.** Η
ολιγοσακχαριτική
ομάδα της
χαλικεαμισίνης
προσδένεται στη
μικρή αύλακα του
DNA. Ο τρισουλφι-
δικός πυροκροτητής
(κίτρινο) της
χαλικεαμισίνης
είναι άμεσα
προσβάσιμος σε
άλλες θειόλες όπως η
γλουταθειόνη.