

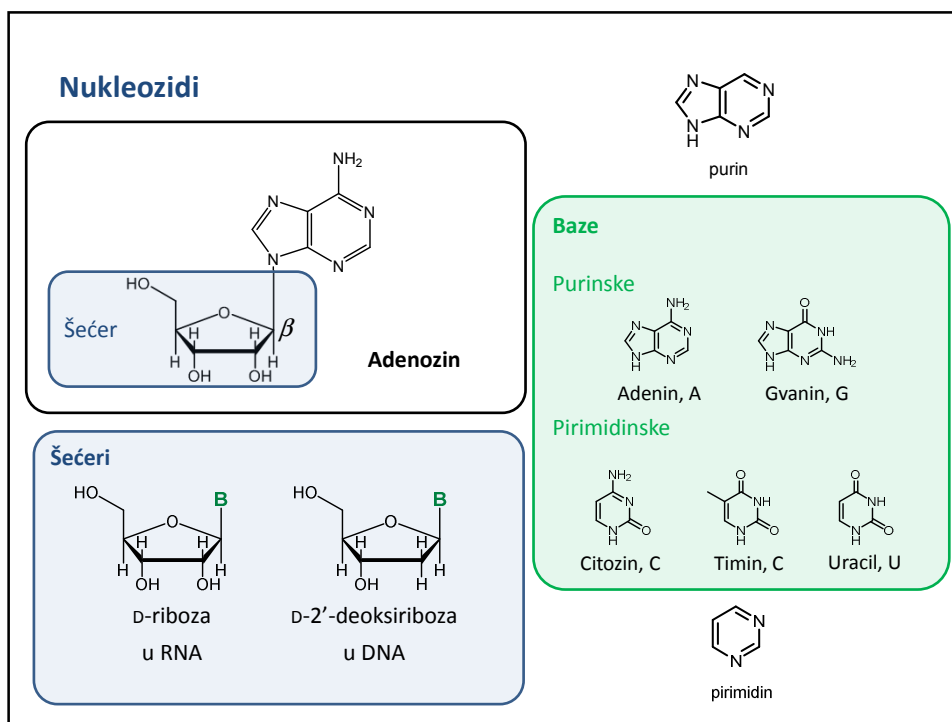
Osnove kemije prirodnih organskih spojeva

2. Nukleozidi, nukleotidi i polinukleotidi

Konformacija, sinteza i biosinteza nukleozida. Nukleotidi.
Sinteza i biosinteza nukleotida. Oligo- i polinukleotidi.
Sinteza i biosinteza oligo- i polinukleotida.

doc. dr. sc. Đani Škalamera

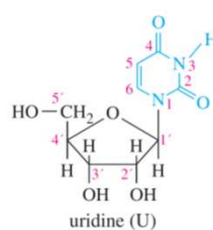
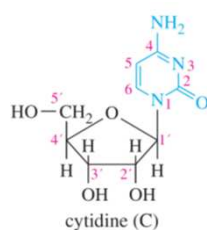
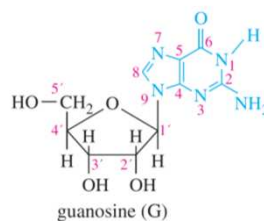
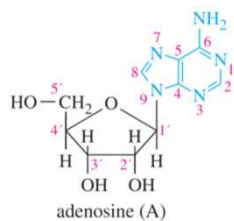
1



2

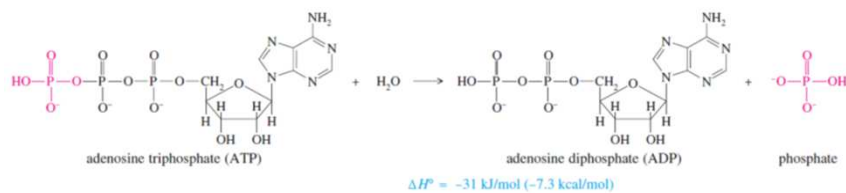
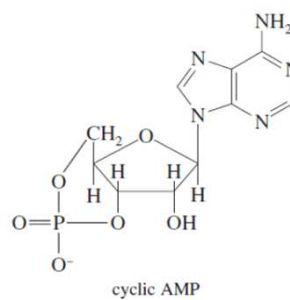
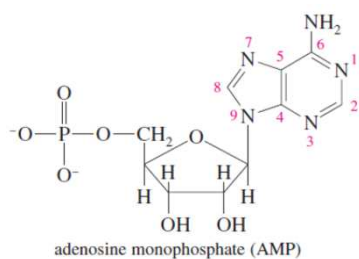
Nukleozidi

- brojanje (lokanti)



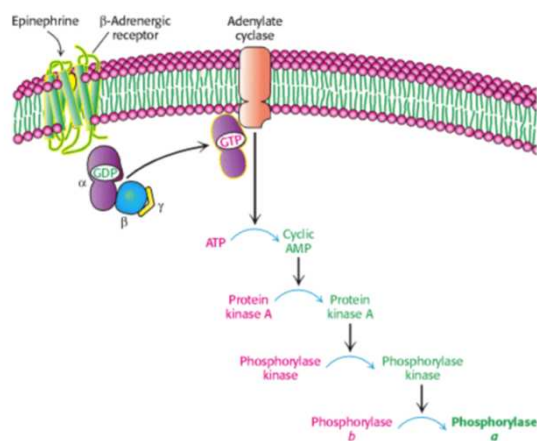
3

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida



4

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida

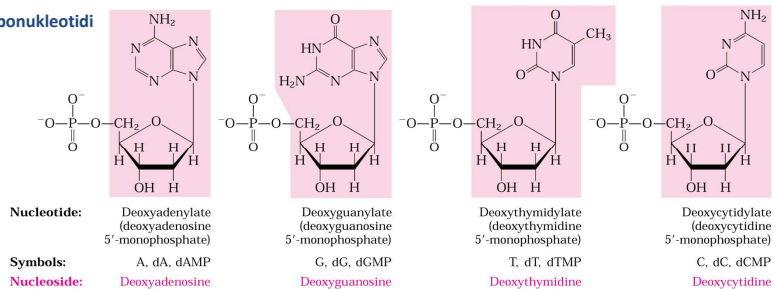


cAMP ima regulacijsku ulogu u razgradnji glikogena

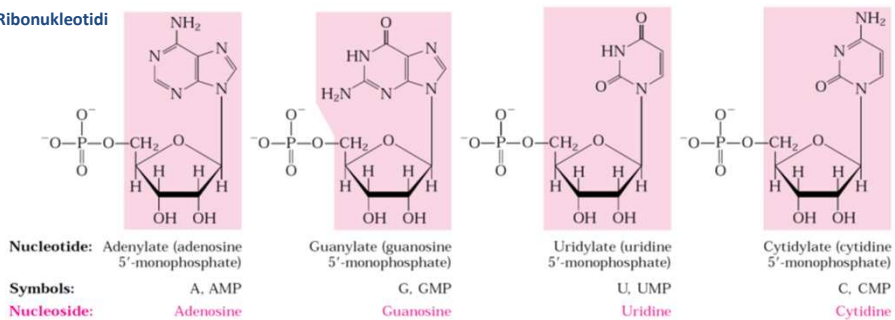
5

Nukleotidi – fosfatni esteri nukleozida

Deoksiribonukleotidi



Ribonukleotidi



6

Funkcije nukleotida

- Biosinteza nukleinskih kiselina
- Proizvodnja i prijenos energije
- Biosinteza proteina
- Regulatorne kaskade
- Intra- i interstanični prijenos signala
- Biosinteza nekih molekula
- ...

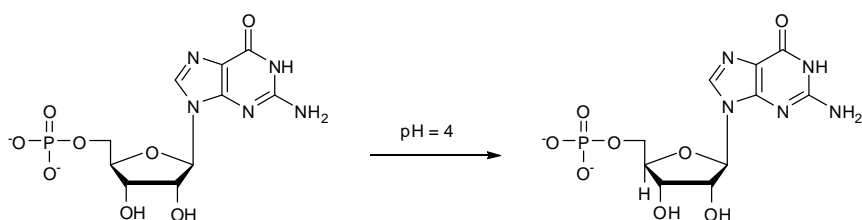
9

Svojstva nukleotida

- 1. Mononukleotidi su negativno nabijeni pri fiziološkom pH.**
- 2. Nukleotidi apsorbiraju UV svjetlo.**
- 3. Mnogi koenzimi su derivati nukleotida.**
- 4. Sintetski analozi nukleotida koriste se u kemoterapiji.**
- 5. Trifosfati nukleozida imaju visok potencijal prijenosa skupine.**
- 6. Neki nukleotidi su uključeni u prenošenje signala.**

10

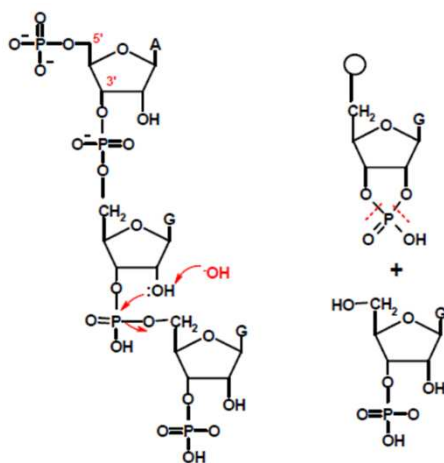
Stabilnost nukleotida u kiselim i bazičnim uvjetima



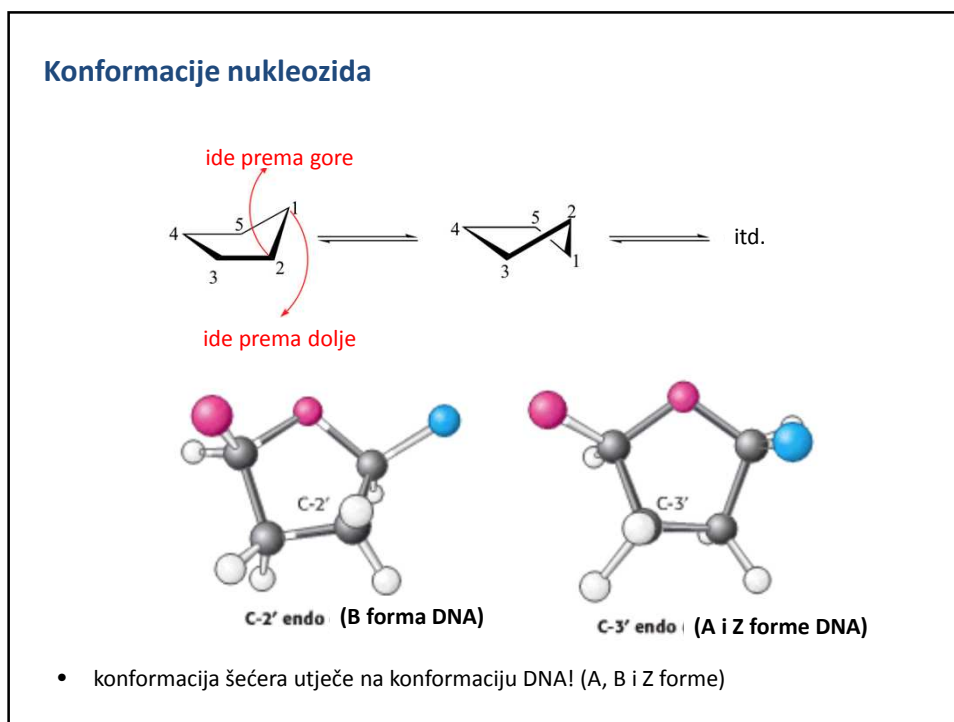
11

Stabilnost nukleotida u kiselim i bazičnim uvjetima

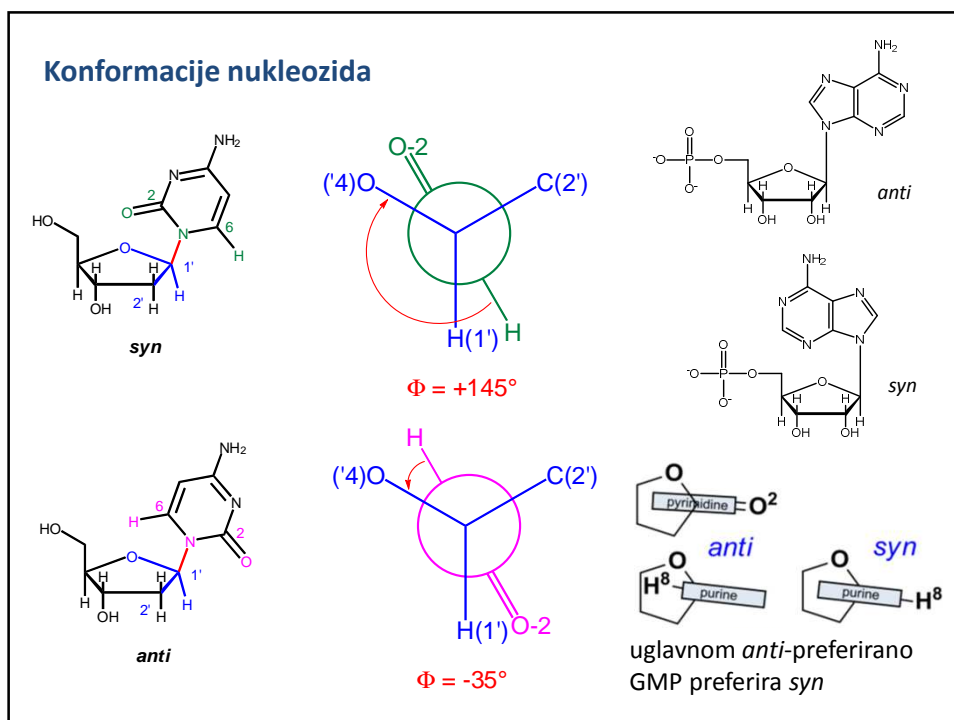
- RNA lako hidrolizira i u bazičnim uvjetima



12



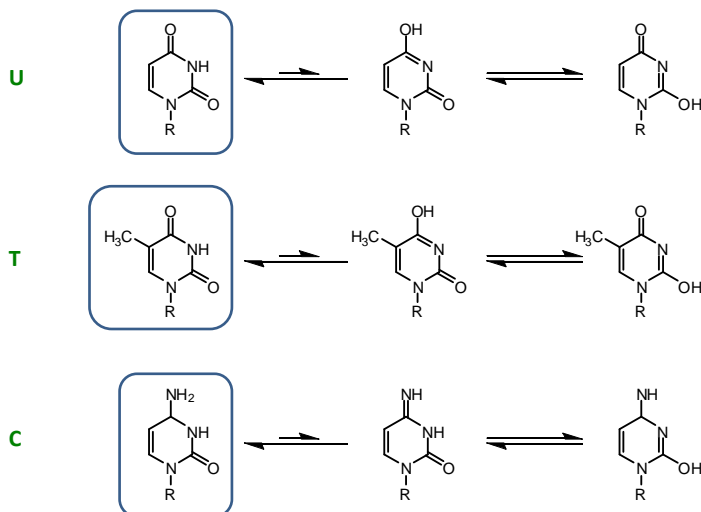
13



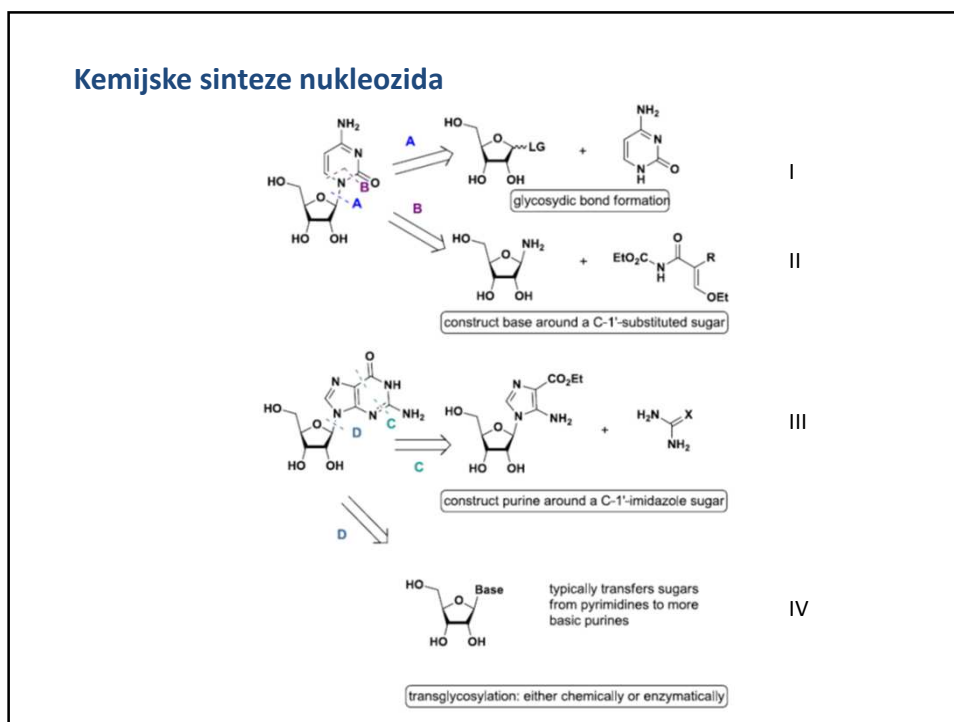
14

Tautomerija nukleobaza

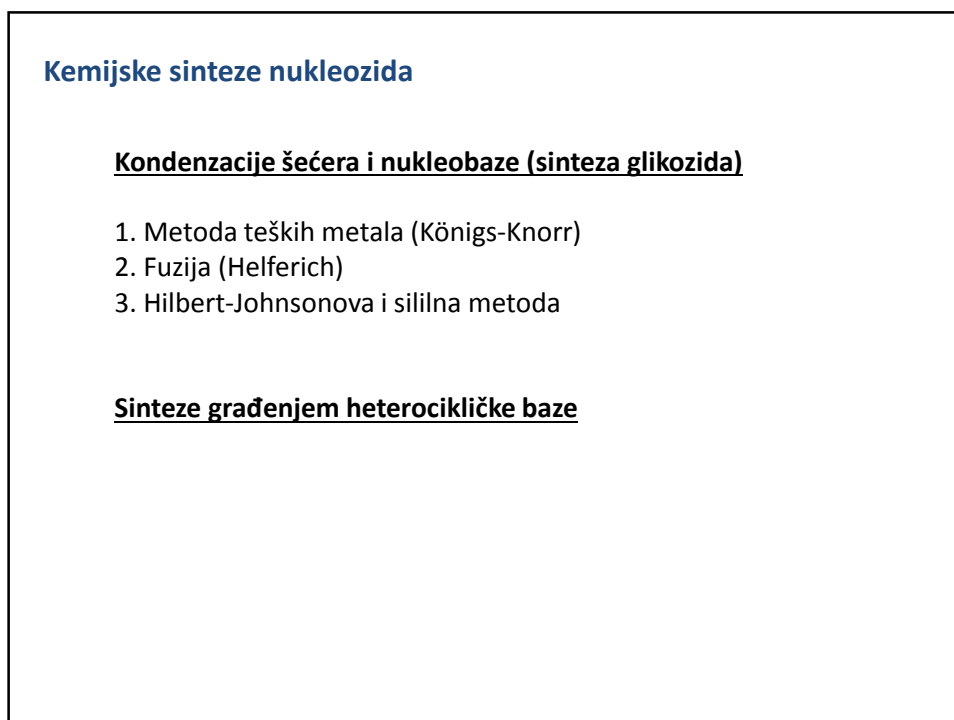
- tautomerna ravnoteža jako je pomaknuta na stranu keto-amino oblika kod C, odnosno diketo-oblika kod U i T



15



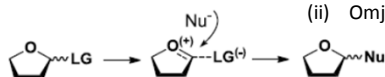
2



3

Kemijske sinteze nukleozida

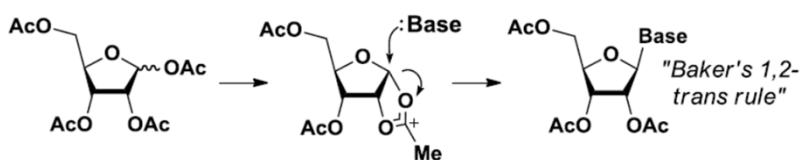
Stvaranje glikozidne veze



Problemi:

- (i) Regioselektivnost supstitucije na bazi (baza ima više nukleofilnih centara!)
- (ii) Omjer α/β anomera

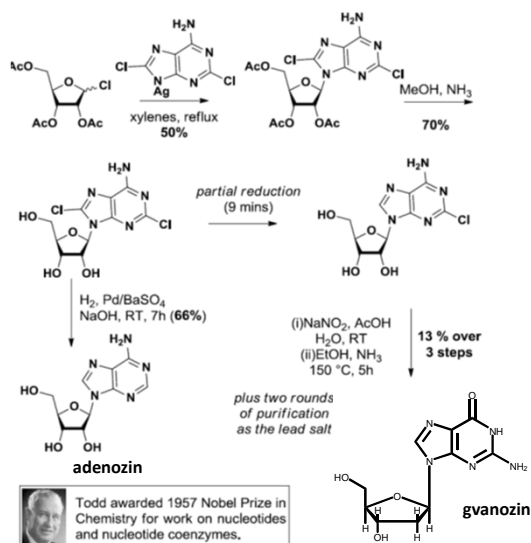
Sudjelovanje susjedne skupine u reakciji – usmjeravanje stereokemije reakcije:



4

Kemijske sinteze nukleozida

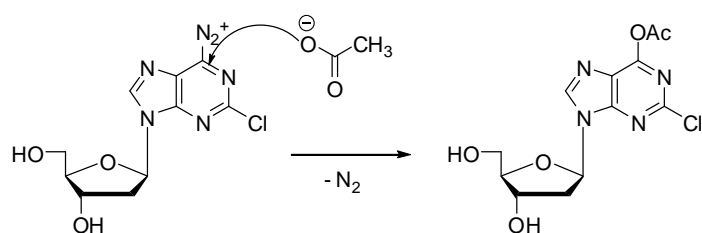
Primjer 1: reakcija metalne soli s C1' halogeniranim šećerom (Fischer-Helferich)



5

Kemijske sinteze nukleozida

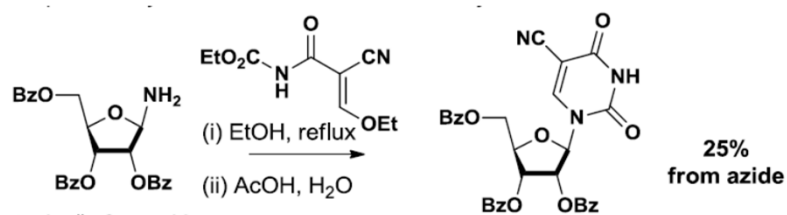
Primjer 1: reakcija metalne soli s C1' halogeniranim šećerom (Fischer-Helferich)



6

Kemijske sinteze nukleotida

Primjer 2: građenje heterocikla oko C1' dušika aminošećera



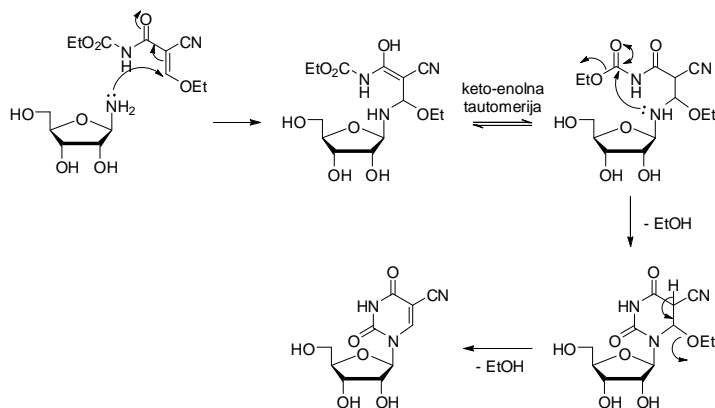
typically formed by
reduction of an azide
installed by S_N2

Shaw. *J. Chem. Soc.* **1958**, 42, 2294-2299.

7

Kemijske sinteze nukleotida

Primjer 2: građenje heterocikla oko C1' dužika aminošećera

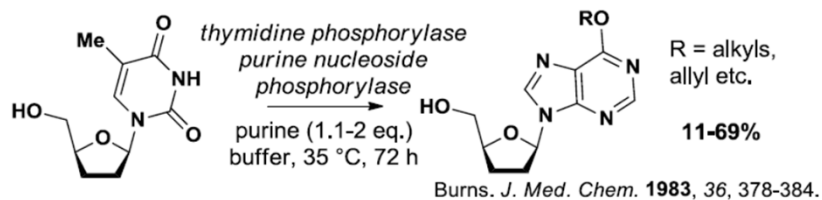


8

Kemijske sinteze nukleotida

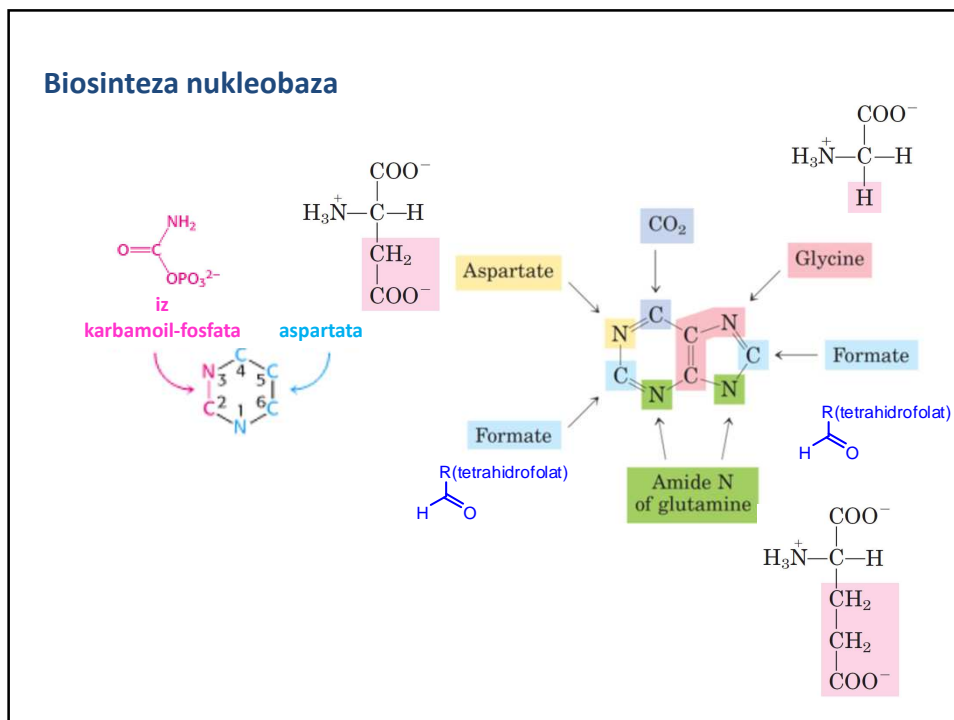
Primjer 3: transglikozilacija

- enzimska reakcija
- vrlo korisna metoda ukoliko želimo transferirati modificirani šećer na neku drugu bazu

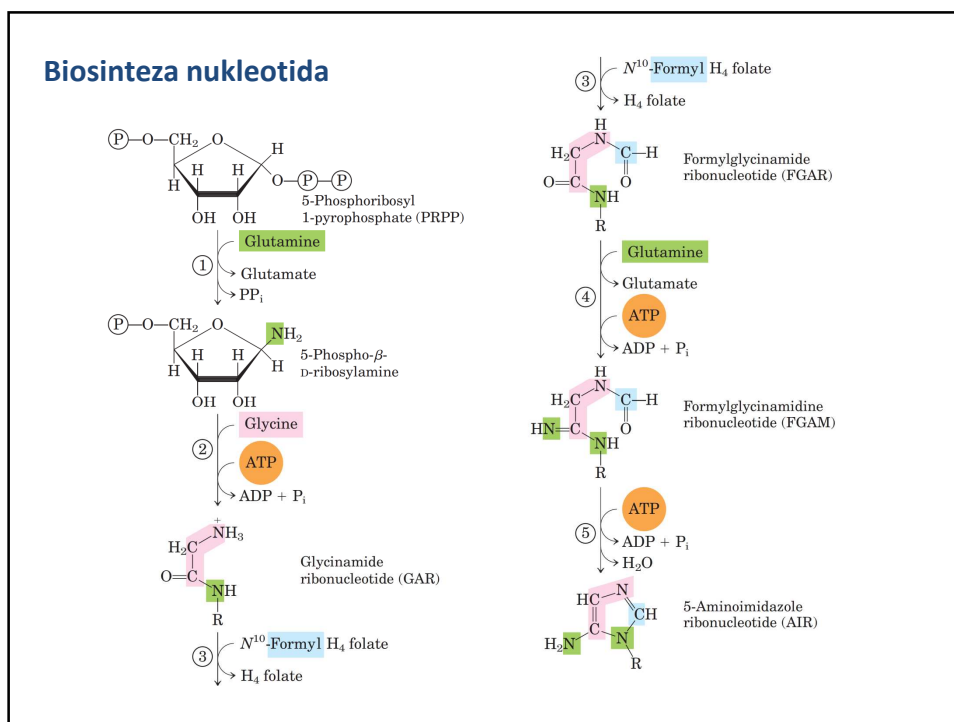


➤ kemijske sinteze nukleozida vrlo su važne jer omogućuju pripravu, ne samo prirodnih nukleozida, već i njihovih neprirodnih analoga, od kojih su mnogi naši primjenu kao lijekovi

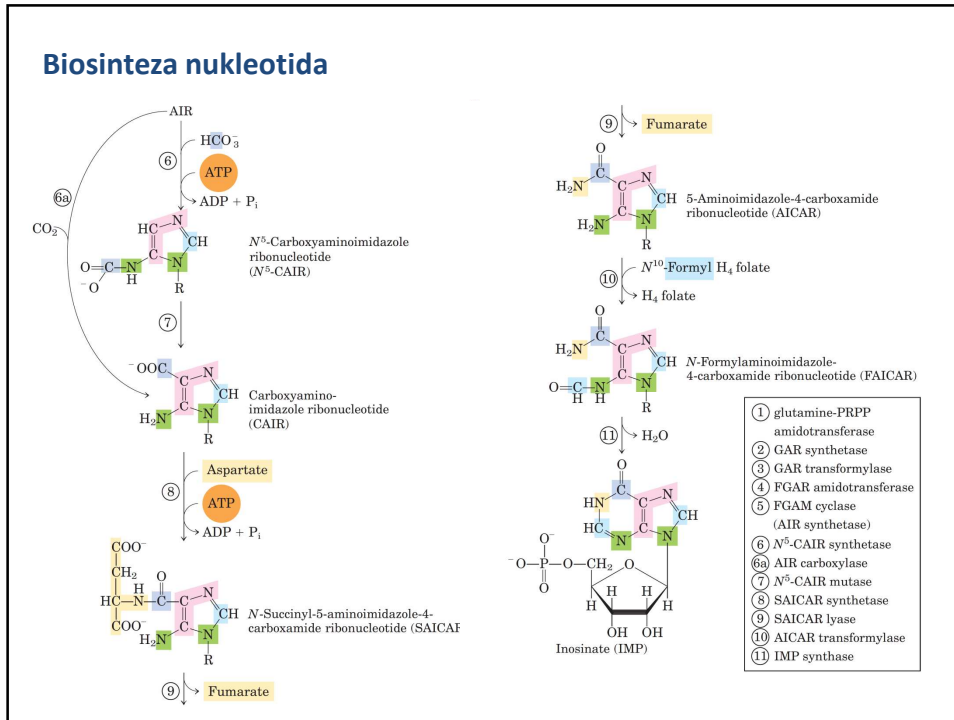
9



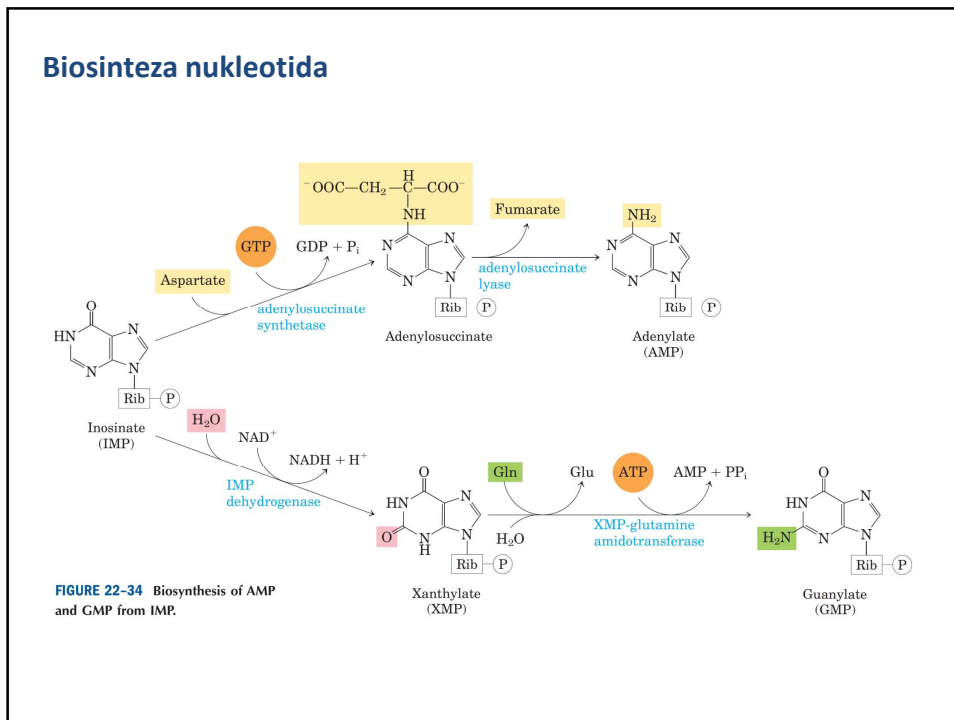
10



11



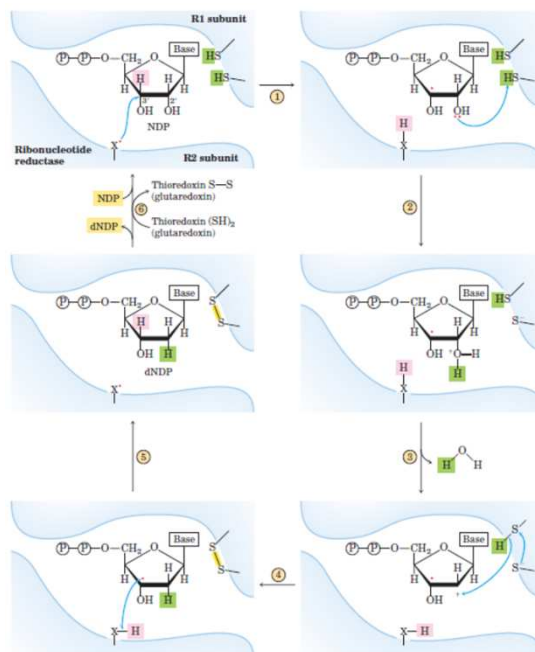
12



13

Biosinteza nukleotida

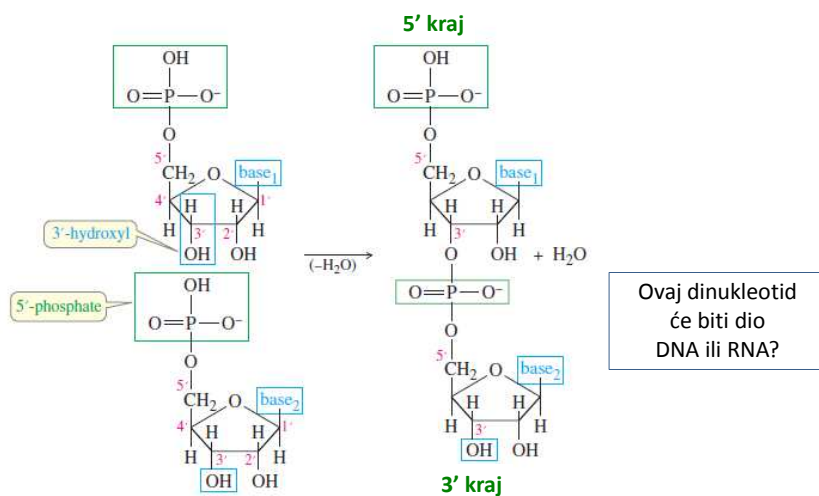
- biosinteza deoksinukleotida iz nukleotida



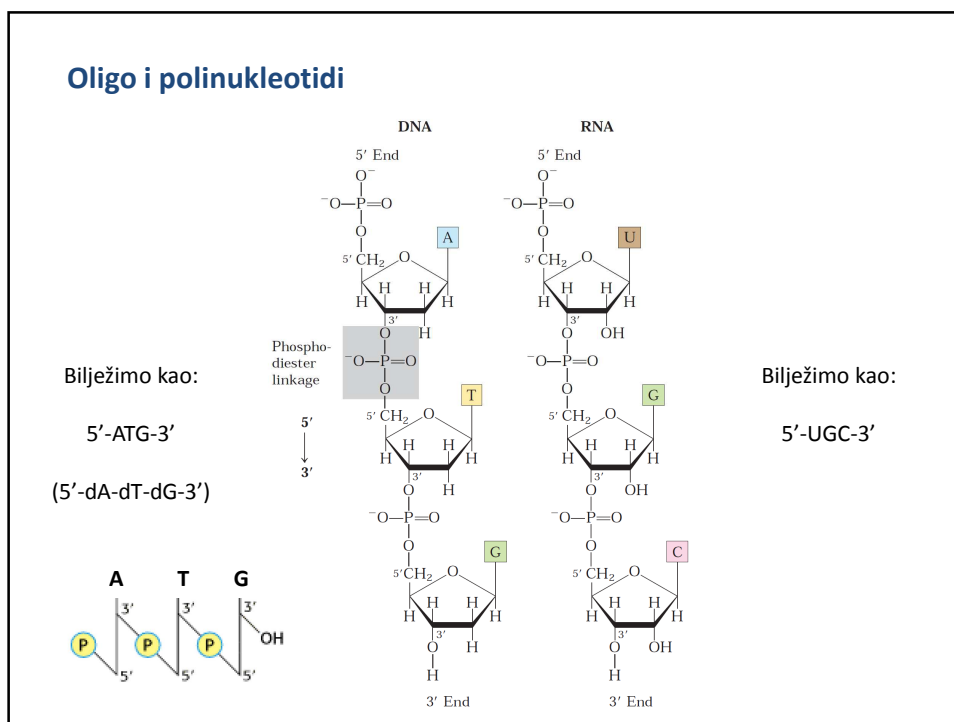
14

Oligo i polinukleotidi

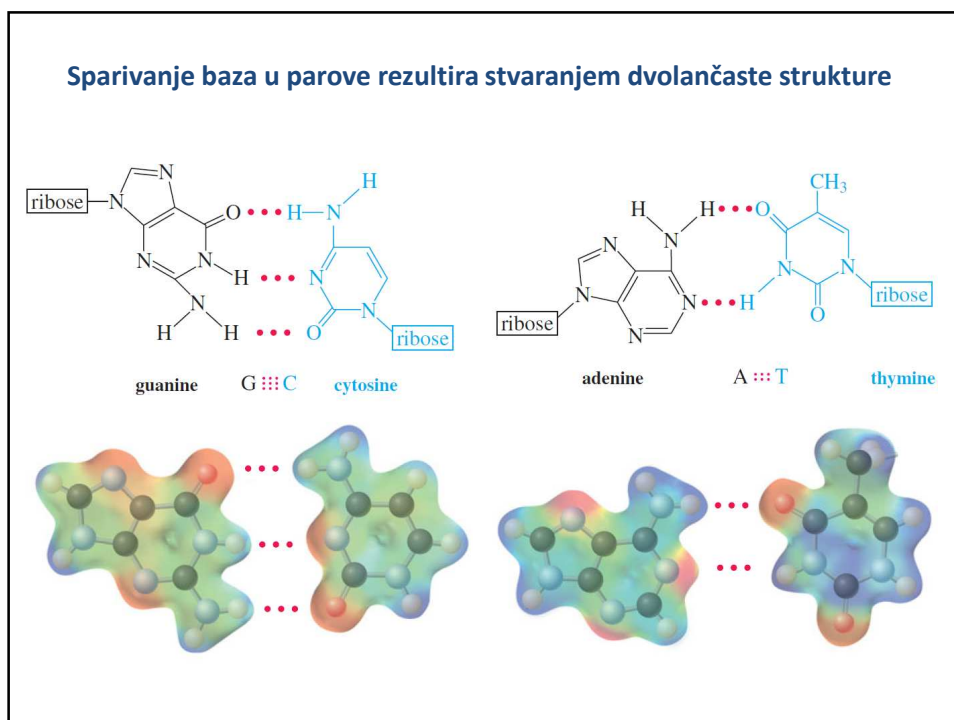
- oligonukleotidi 2-50 monomernih jedinica
- polinukleotidi >50 monomernih jedinica



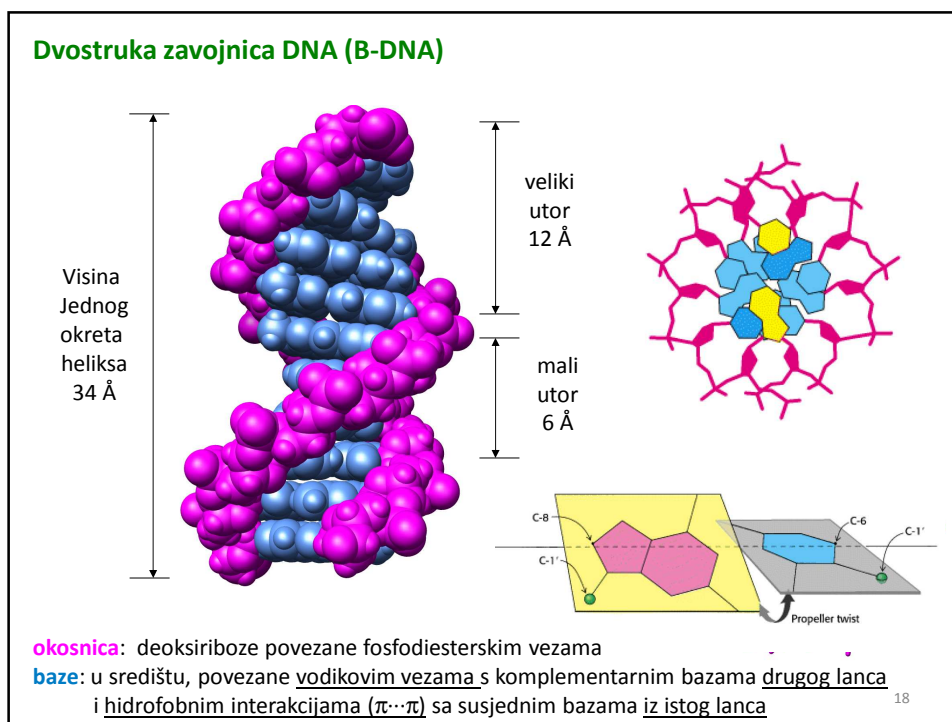
15



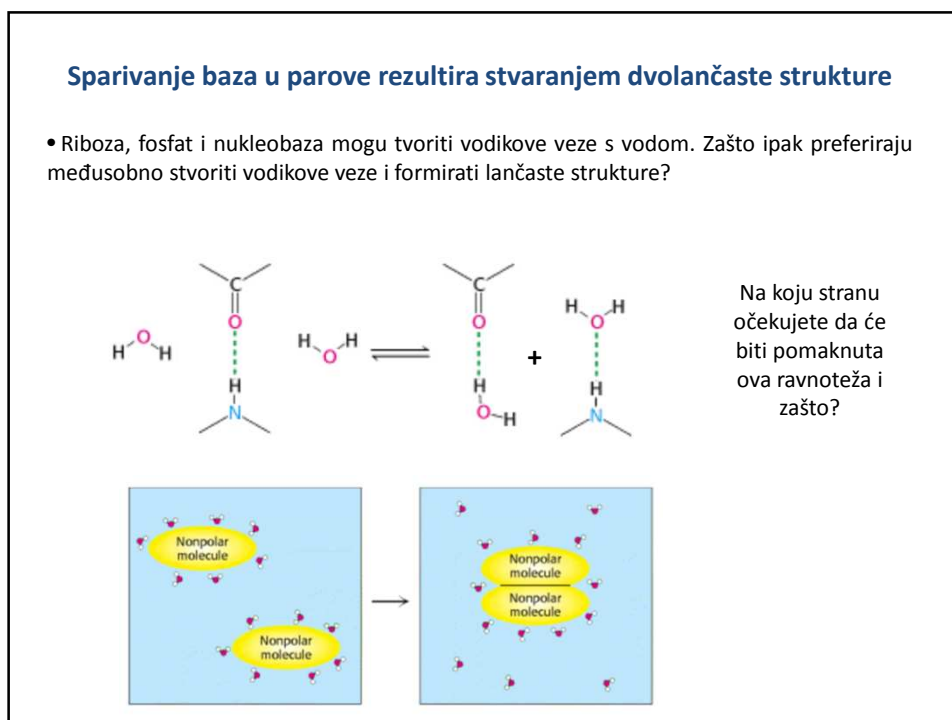
16



17



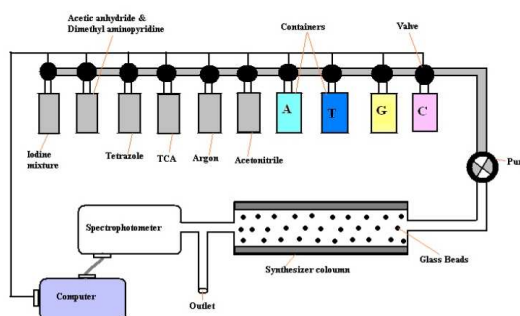
18



19

Kemijska sinteza oligonukleotida

- vrlo važna, jer omogućuje brz i jeftin pristup nukleotidnim slijedovima sa slijedovima baza koje god želimo
- nema ograničenja da sinteza mora ići iz smjera 5' prema 3' kao u biosintezi
- sinteza na **čvrstom nosaču** → u potpunosti automatizirana još od 1970-ih



20

Kemijska sinteza oligonukleotida

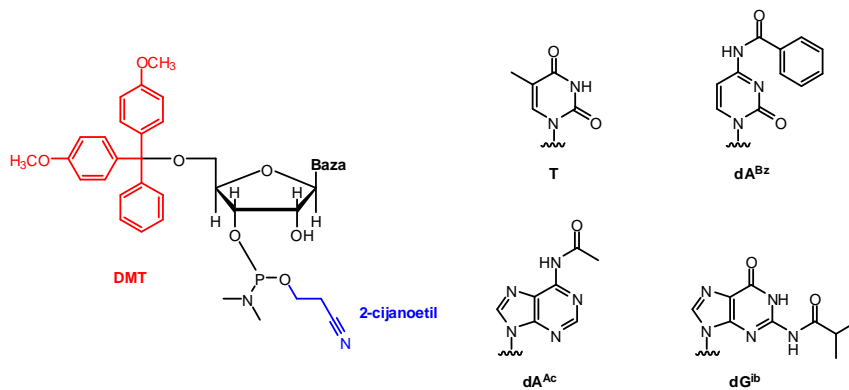
Zašto je sinteza na čvrstom nosaču bolja od sinteze u otopini?

- Ova strategija razvijena je ponajprije za sintezu peptida, ali našla je primjenu i u sintezi oligonukleotida
- netopljivi polimer (modificirani polistiren), silikagel – čvrsta faza
- sinteza na površini polimera, produkti su kovalentno vezani za polimer
- nečistoće i nusprodukti nisu vezani za polimer pa se lako ispiru
- najveća prednost je čistoća procesa i što ne postoji potreba za pročišćavanjem svih međuprodukata
- lako se automatizira
- do oligonukleotida od ~200 nukleotidnih jedinica (broj grešaka u sintezi akumulira se kako duljina oligonukleotida raste)
- Nobelova nagrada za kemiju 1984. godine – Robert Bruce Merrifield

21

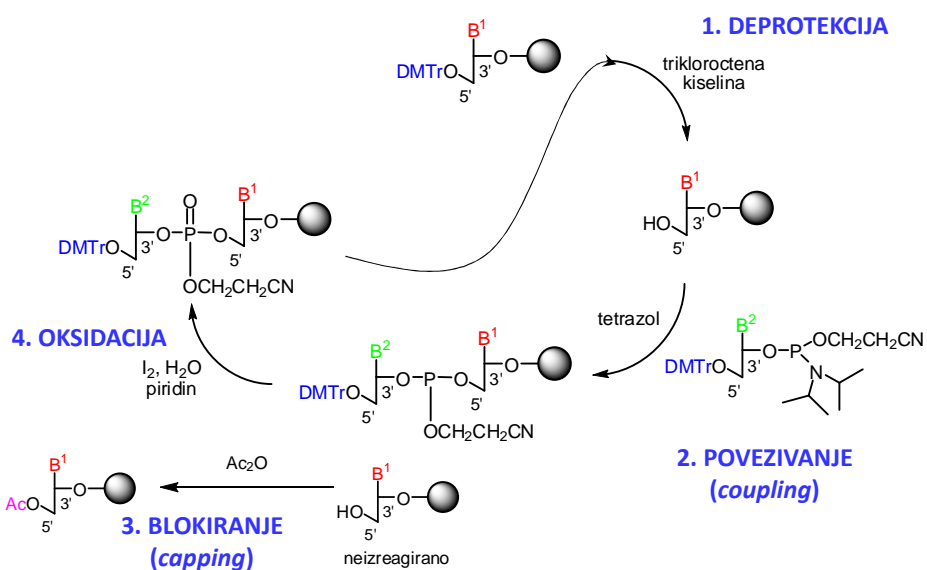
Sinteza oligonukleotida na čvrstom nosaču – fosforamiditna metoda

Gradivni blokovi



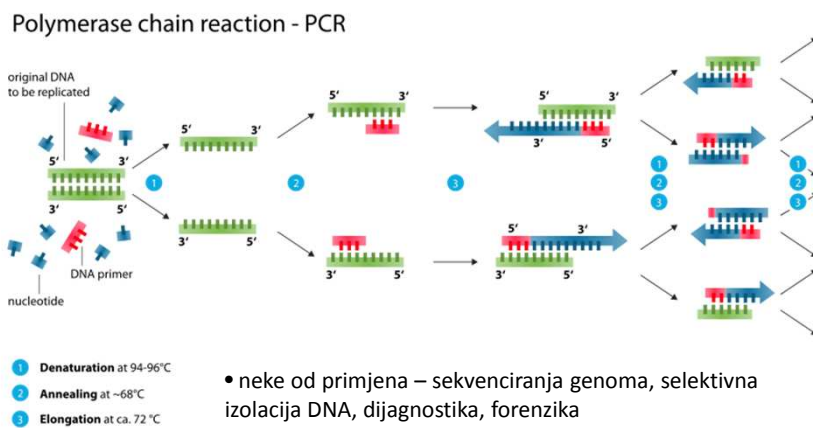
22

Sinteza oligonukleotida na čvrstom nosaču – fosforamiditna metoda



23

Sinteza oligo i polinukleotida lančanom reakcijom polimeraze



24

Zadatak

Nacrtajte strukturu sljedećih nukleotida:

- gvanozin trifosfat (GTP)
- deoksicitidin monofosfat (dCMP)
- ciklički gvanozin monofosfat (cGMP)

25

Domaća zadaća

1. Nacrtajte strukturu tetranukleotida koji je dio DNA, te ima sljedeću sekvencu:



2. Erwin Chargaff je otkrio da DNA sadrži ekvimolarne količine gvanina i citozina, te također i ekvimolarne količine adenina i timina. To je poznato kao Chargaffovo pravilo:



- (a) Što nam Chargaffovo pravilo govori o međusobnom odnosu količine gvanina i adenina u DNA? Da li vrijedi $G = A$?
- (b) Da li Chargaffovo pravilo tvrdi da je suma količine purinskih baza jednaka sumi pirimidinskih, tj. $A + G = C + T$?
- (c) Da li se Chargaffovo pravilo odnosi samo na DNA u obliku dvostruke zavojnice ili se može primijeniti i na svaki lanac zasebno, ukoliko se dvostruka zavojnica razdvoji na svoje komplementarne lance?