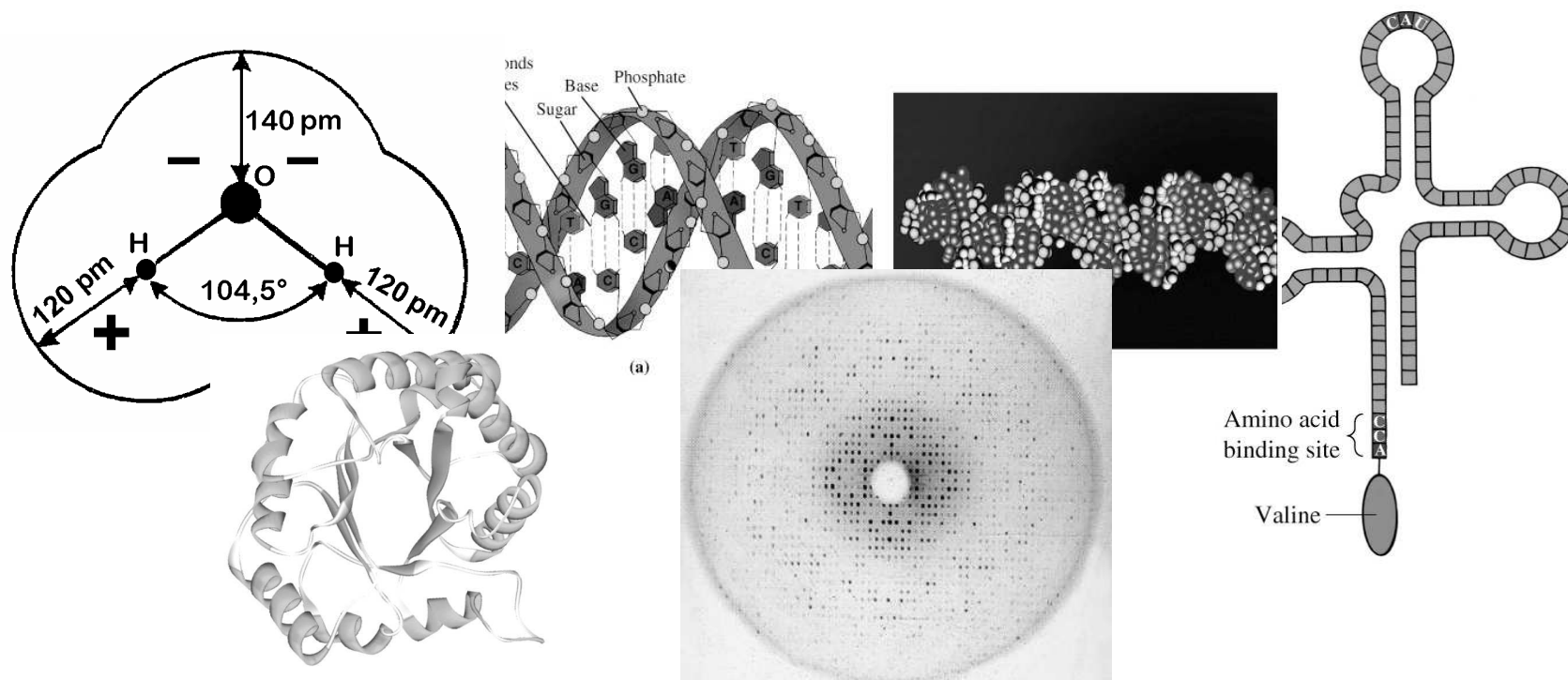


Přednášky z lékařské biofyziky

Masarykova univerzita v Brně - Biofyzikální centrum



Úvod do molekulární biofyziky I

Struktura přednášky

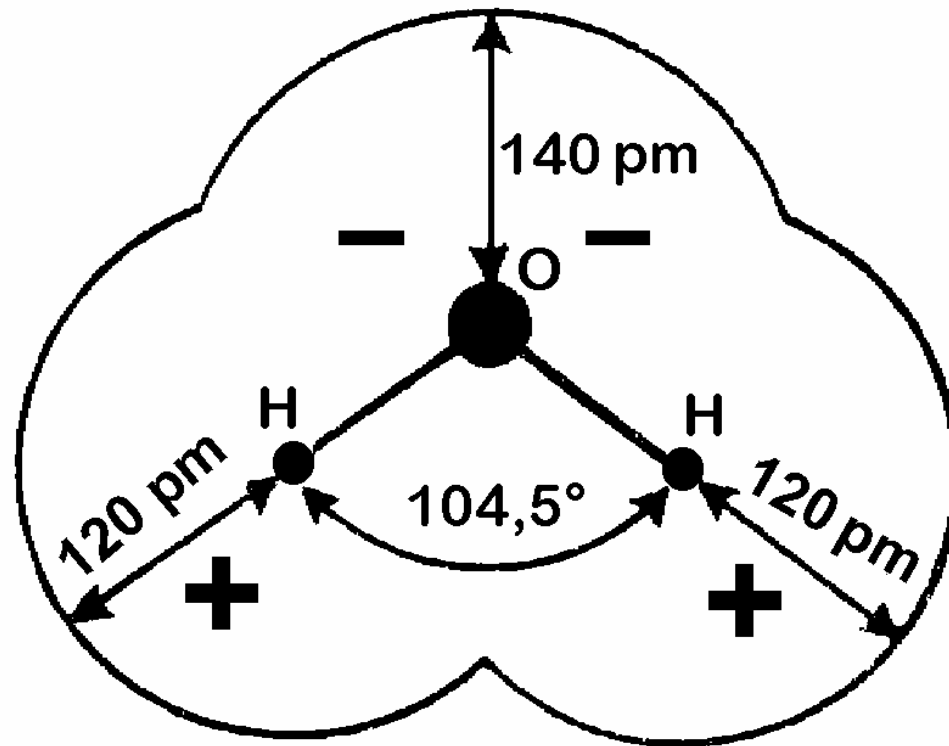
Voda

Vlastnosti koloidních roztoků

Struktura bílkovin

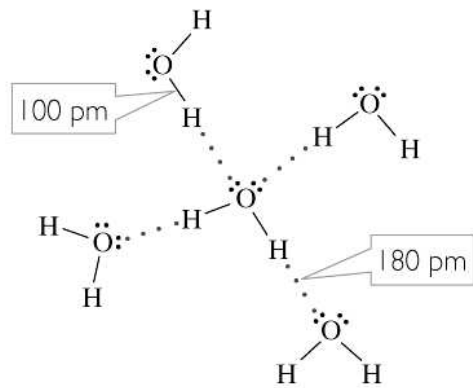
Struktura nukleových kyselin

Voda

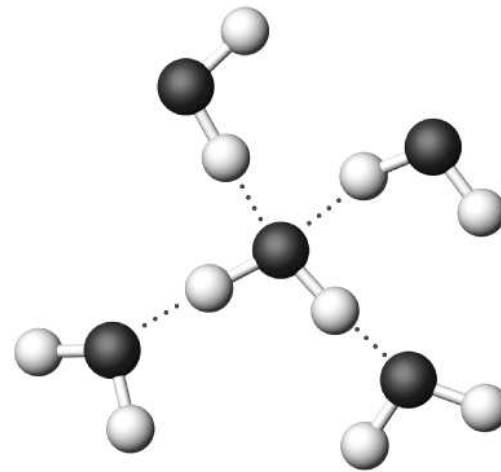


Molekuly vody jsou silně polární, mezi kyslíkem a vodíkem sousedících molekul vznikají vodíkové můstky spojující molekuly vody do shluků - clusterů

Vodíková vazba mezi molekulami vody



(a)



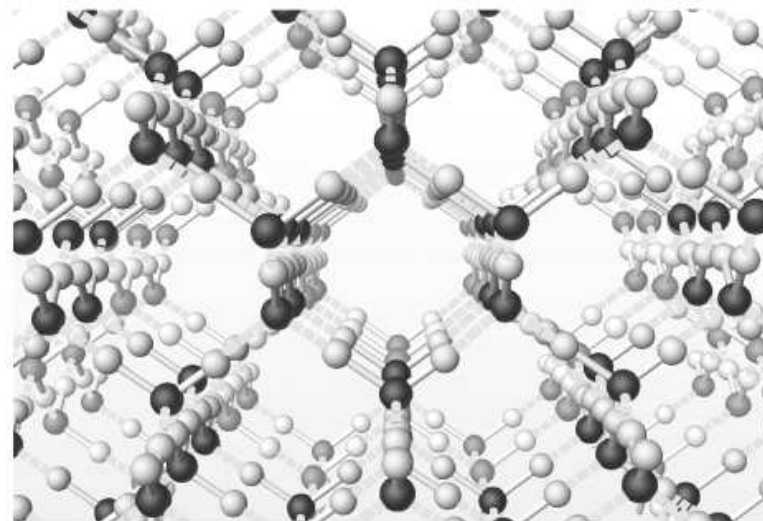
(b)

•Kapalná voda

Obrázky:

http://cwx.prenhall.com/bookbind/pubbooks/hillchem3/media/ib/media_portfolio/11.html

•Led



(a)



(b)

Koloidy a jejich rozdělení

Koloidy – též nepravé roztoky –
dispergované částice o rozměru zhruba 10
– 1000 nm.

Podle převažujících vazebných sil dělíme na:

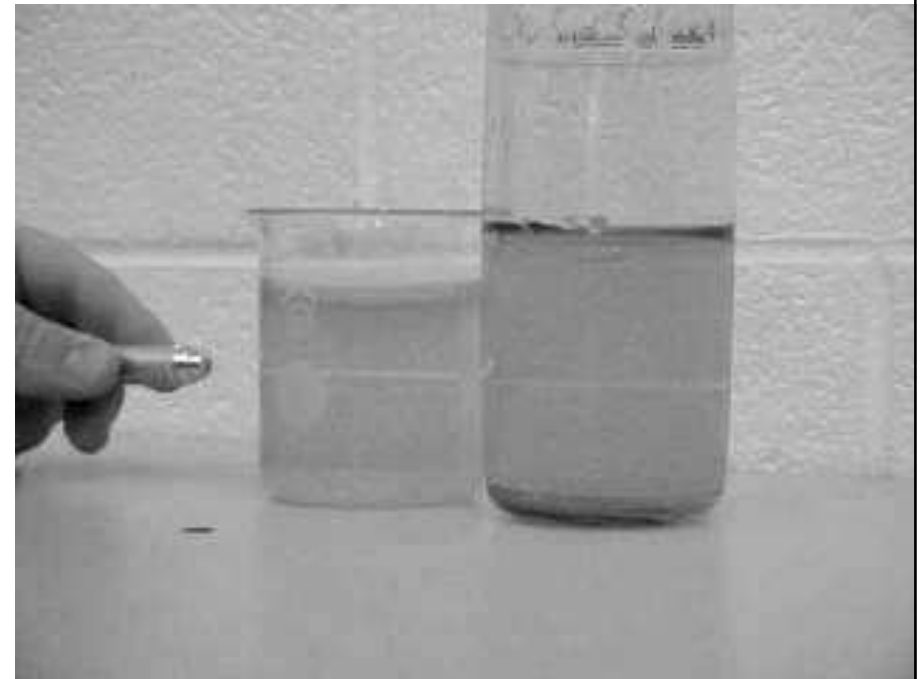
- Micelární (též asociační, částice udržované vcelku van der Waalsovými vazbami)
- Molekulární (částice udržované vcelku kovalentními vazbami)

Tyndallův jev v micelárním i molekulárním koloidu



- v roztoku koloidního zlata

<http://mrsec.wisc.edu/edetc/cineplex/gold/>



- v roztoku želatiny

<http://link.springer-ny.com/link/service/journals/00897/papers/0006002/620095mb.htm>

Další dělení koloidů

Podle afinity k rozpouštědлу

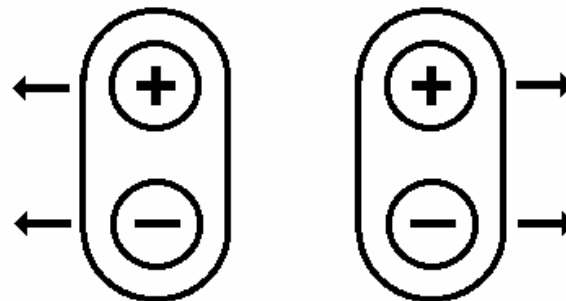
- Lyofilní (hydrofilní) – tvoří stabilní disperze
- Lyofobní (hydrofobní) – tvoří nestabilní disperze

Podle tvaru částic (tvar částic je ovlivňován i rozpouštědlem!)

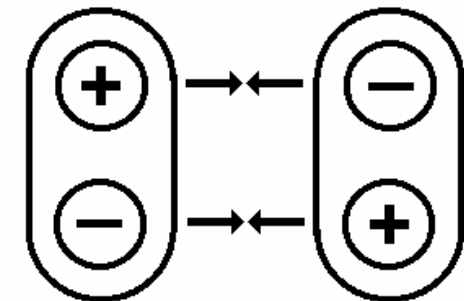
- Lineární (fibrilární – DNA, myosin, syntetické polymery.....též skleroproteiny – většinou nerozpustné ve vodě)
- Sférické (globulární – hemoglobin, glykogen ... též sféroproteiny – většinou rozpustné ve vodě)

Další vazebné síly (vazby) uplatňující se v koloidních částicích

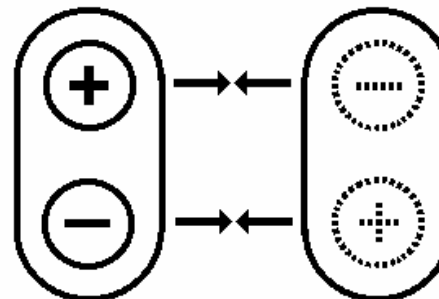
- Vodíkové vazby
- Hydrofobní interakce
- van der Waalsovy síly



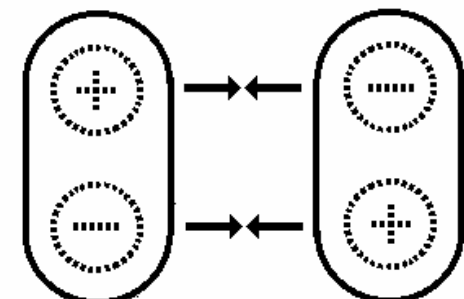
a) dipólové paralelní



b) dipólové antiparalelní



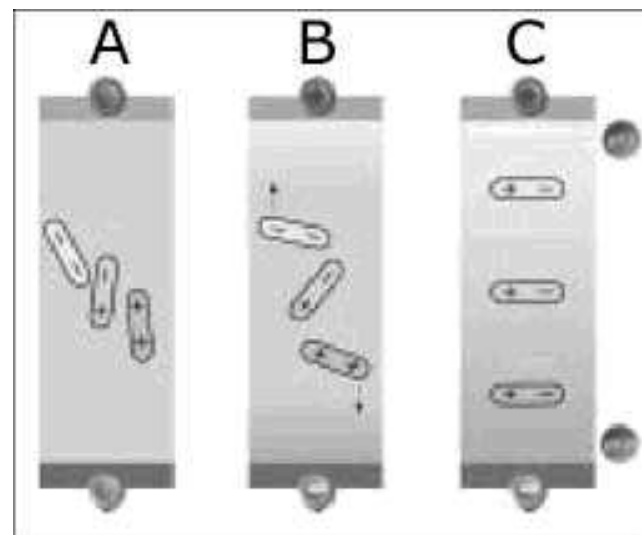
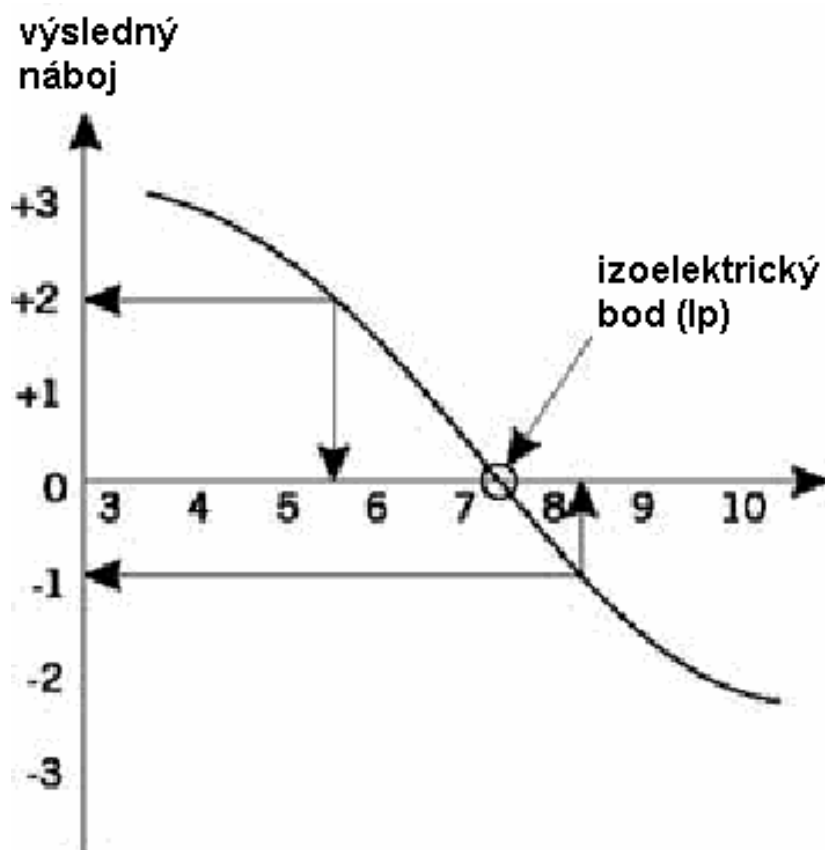
c) indukční



d) disperzní

Elektrochemické vlastnosti koloidů

- Některé molekulární i micelární koloidy jsou polyelektrolyty s amfoterními vlastnostmi (amfolyty)



U bílkovin jde o změny v počtu disociovaných skupin $-\text{NH}_3^+$ a $-\text{COO}^-$

Vznik elektrické dvojvrstvy na povrchu koloidní částice

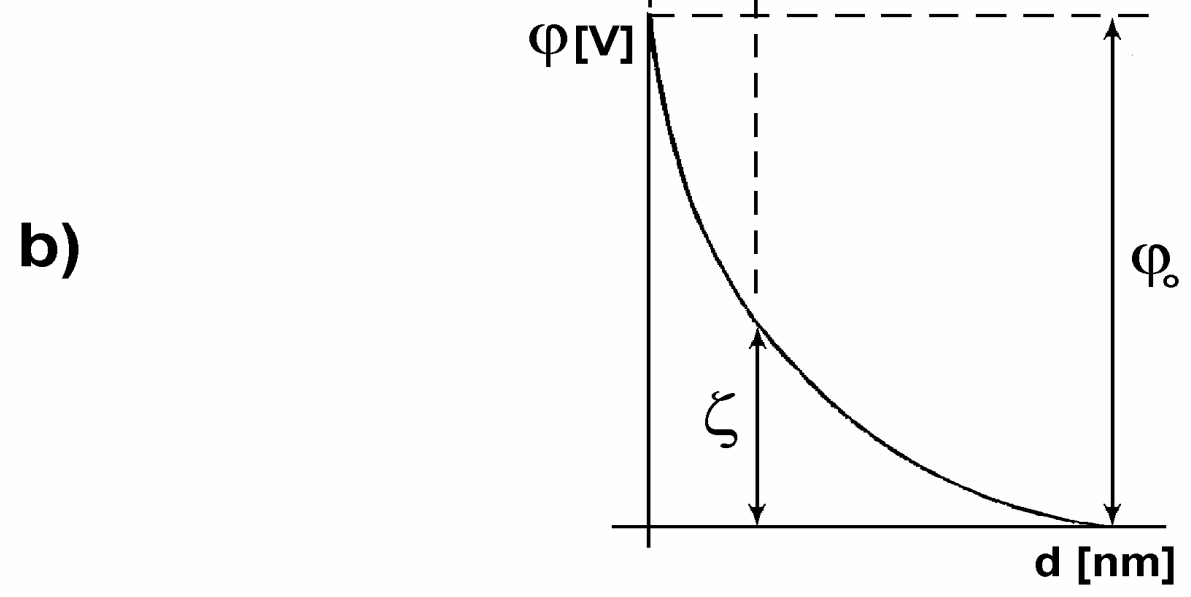
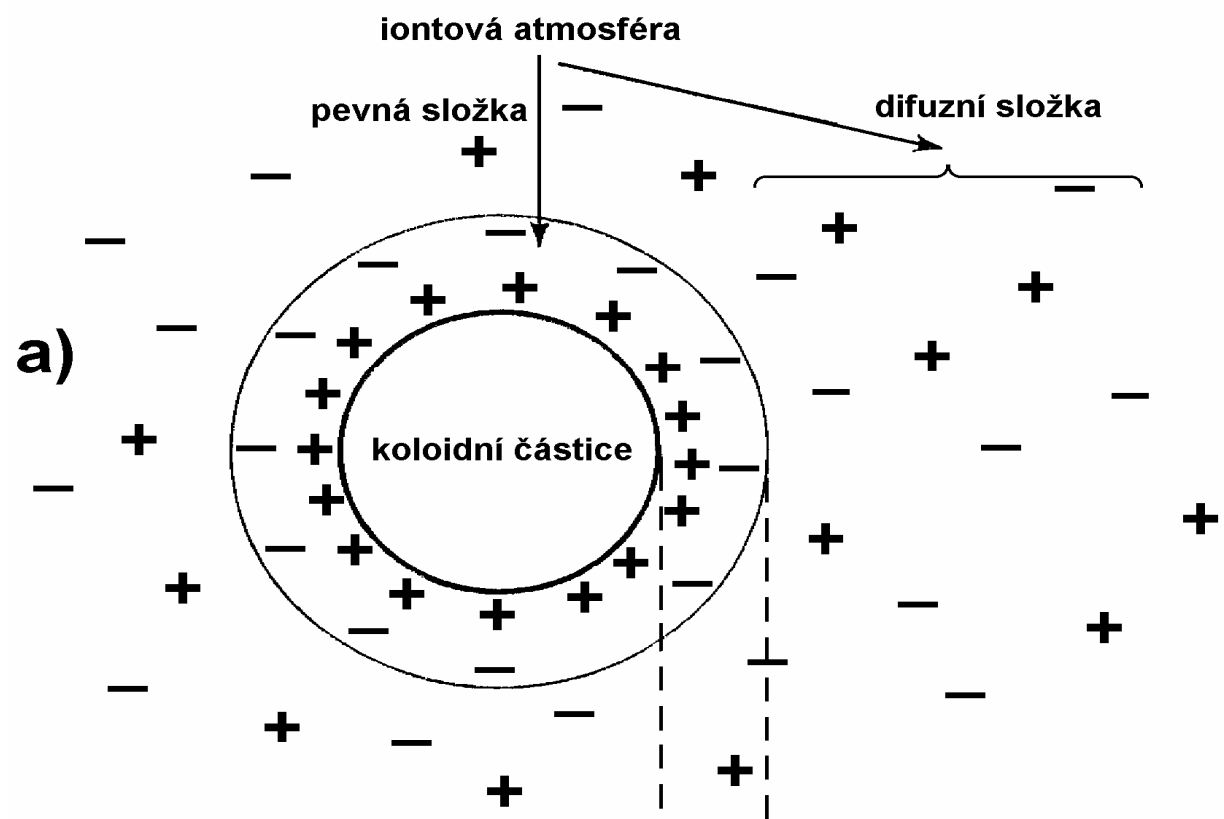
Dva mechanismy:

- Ionová adsorpce (může k ní dojít i u lyofobních koloidů)
- Elektrolytická disociace (převažuje u lyofilních koloidů)

Charakter dvojvrstvy na povrchu koloidní částice je odlišný u koncentrovaných a zředěných elektrolytů

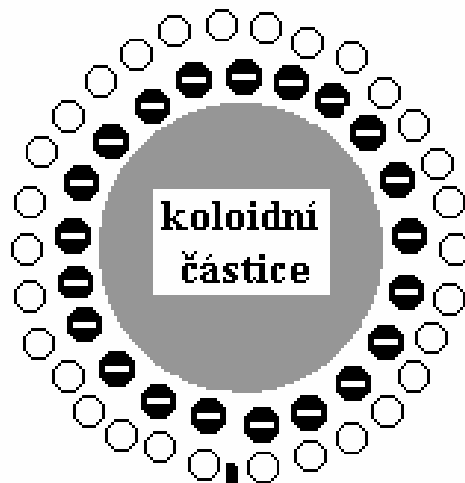
Ve zředěných elektrolytech lze rozlišit stálou, difuzní a elektroneutrální oblast.

Elektrokinetický potenciál – ζ (zeta)-potenciál



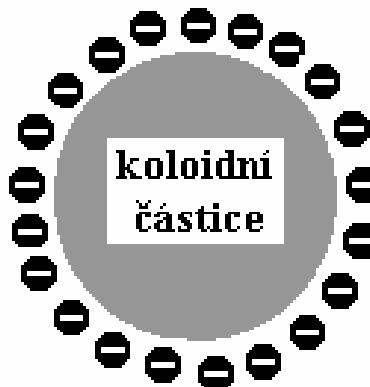
• Chování koloidních částic v závislosti na jejich náboji a hydrataci

hydrofilní
hydratovaná
elektricky nabitá = stabilní koloid



dehydratace

hydrofobní
nabitá



● elektrické náboje iontů

○ vázané molekuly vody - solvatační obal

vybití



hydrofilní
vybitá

vybití



dehydratace

flokulace



hydrofobní
vybitý = nestabilní koloid

Elektrokinetické jevy

- Elektroforéza – pohyb iontů v elektrickém poli. Při rovnoměrném přímočarém pohybu kulovitých částic o poloměru r je elektrostatická síla působící na částici v rovnováze se silou odporu prostředí. Síla odporu je dána Stokesovým vzorcem:

$$F = 6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta \cdot v$$

- Kde v je rychlost částice a η dynamická viskozita prostředí. Elektrické pole působí na částici silou:

$$F = z \cdot e \cdot E$$

- kde z je počet elementárních nábojů částice, e je elementární náboj ($1,602 \cdot 10^{-19}$ C) a E je intenzita elektrického pole v daném místě. Pro rychlost pohybu částice pak platí:

$$v = \frac{z \cdot e \cdot E}{6\pi \cdot r \cdot \eta}$$

Elektroforetická pohyblivost

- Lépe reprodukovatelnou veličinou je elektroforetická pohyblivost u , definovaná jako podíl rychlosti pohybu částice a intenzity elektrického pole. Platí:

$$u = \frac{v}{E} = \frac{z \cdot e}{6\pi \cdot r \cdot \eta}$$

Další vlastnosti koloidů

- Mechanické: pevnost, pružnost, viskozita – důsledky chemických vazeb a slabých chemických interakcí

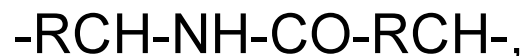
Tyto vlastnosti závisí na formě koloidu:

Sol (tekutý) nebo gel (tuhý). Tvorba gelu = že(ge)latinizace

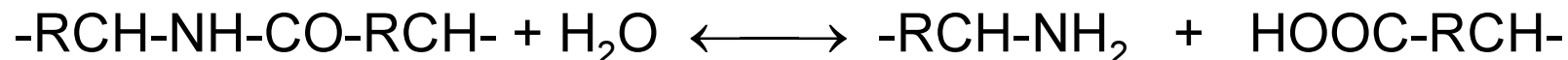
- Optické: Tyndallův jev (opalescence)
- Ultramikroskopie – před rozvojem elektronové mikroskopie bylo možno při pozorování v temném poli spatřit koloidní částice jako svítící body

Struktura bílkovin

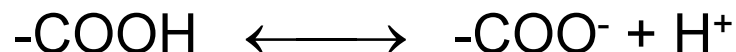
- Strukturními jednotkami bílkovin jsou aminokyseliny (AK), spojené peptidovou vazbou:



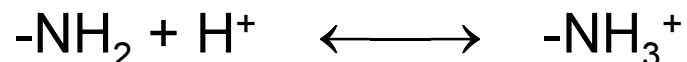
která může hydrolyzovat:



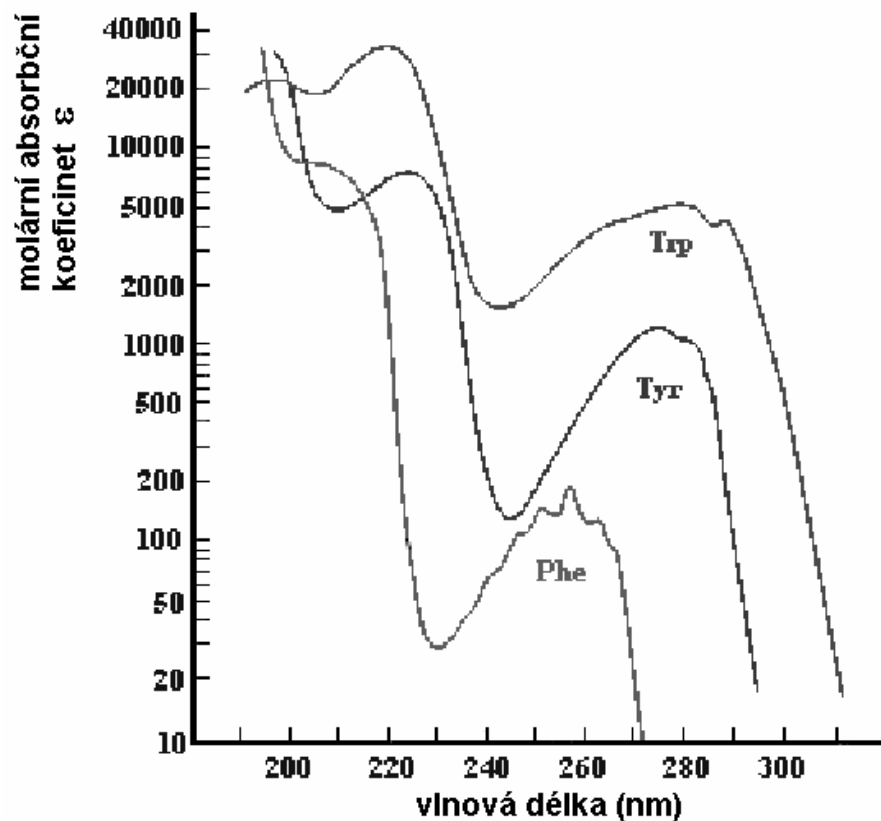
- Karboxylové a aminové skupiny mohou disociovat či protonizovat. Např. kyselina glutamová a asparagová mají volnou karboxylovou skupinu:



- AK lysin a arginin mají volnou aminoskupinu, která může protonizovat:



- V bílkovinách se běžně vyskytuje 20 AK, které členíme na AK s polárním a nepolárním postranním řetězcem.
- AK s aromatickým jádrem nebo heterocyklem (fenylalanin, tyrosin, tryptofan) silně absorbují UV světlo kolem 280 nm.
- Cystein obsahuje sulfhydrylovou skupinu (-SH), která dehydrogenací oxiduje a spojuje se sulfhydrylovými skupinami jiných cysteinových zbytků kovalentními disulfidickými můstky (-S-S-).

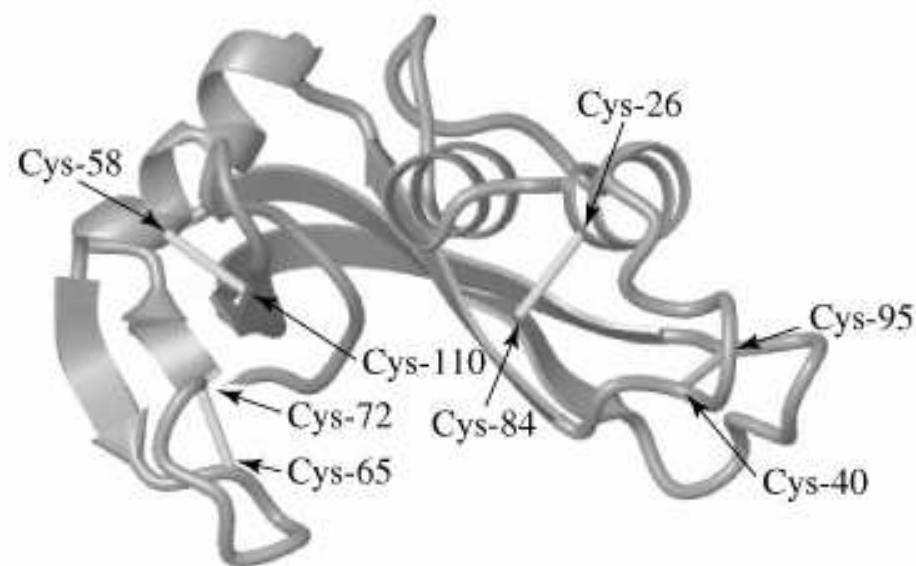


Absorpce volných aromatických AK v UV oblasti

•Podle: <http://www.fst.rdg.ac.uk/courses/fs460/lecture6/lecture6.htm>

Disulfidické můstky zpevňují strukturu (hovězí ribonukleáza A)

•http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG04_28a-b.JPG



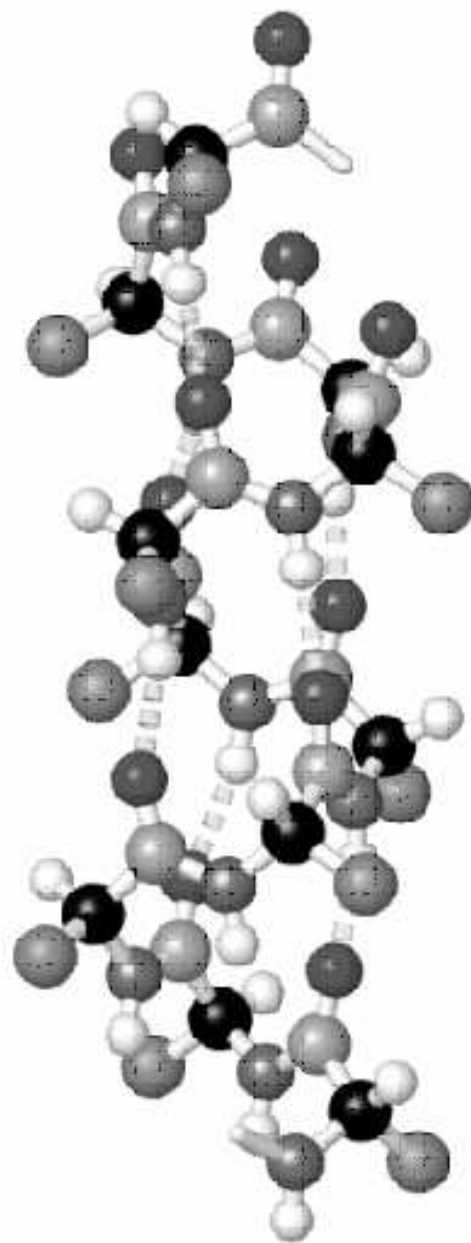
Chemické složení bílkovin:

Dělení dle výsledku hydrolýzy:

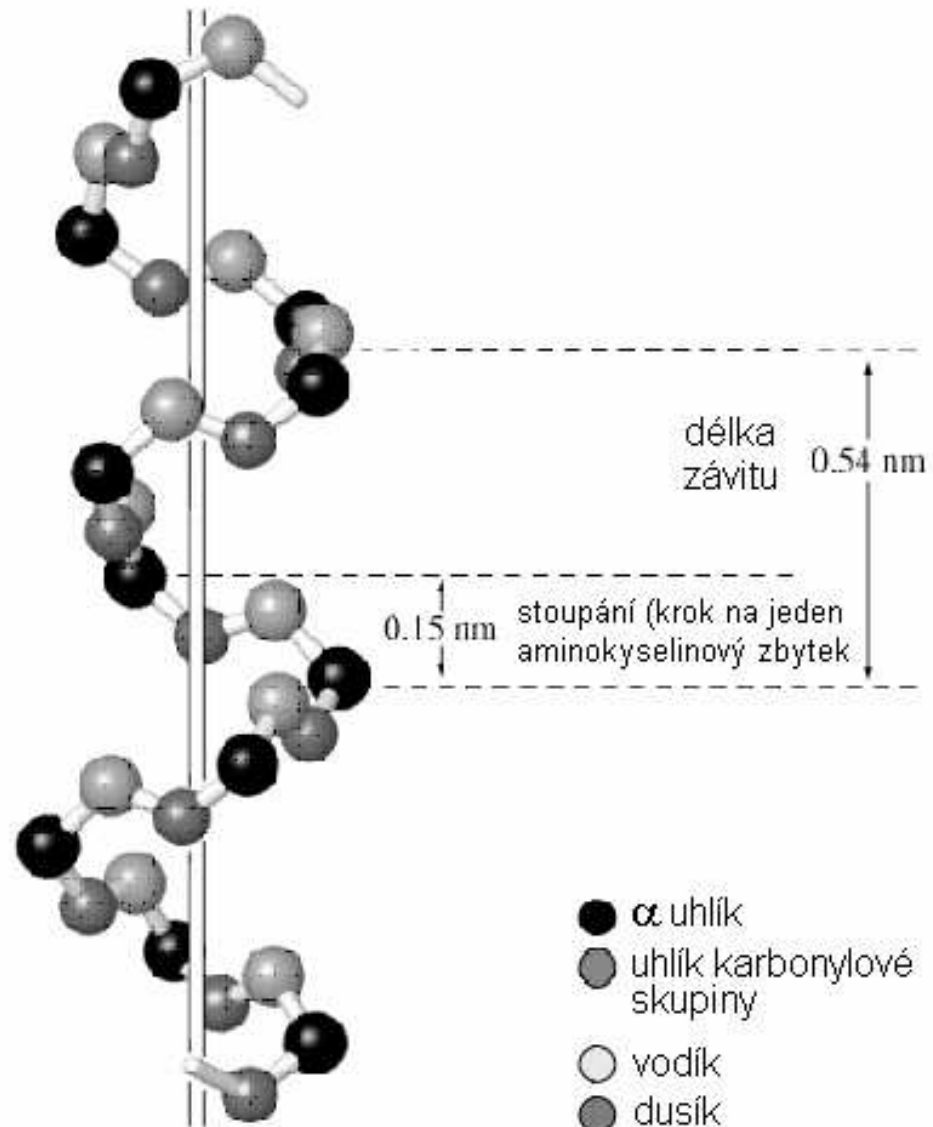
- Jednoduché (v hydrolyzátu jsou jen AK)
- Složené (v hydrolyzátu nejsou jen AK)
 - Nukleoproteiny
 - Hemoproteiny
 - Flavoproteiny
 - Metaloproteiny
 - Lipoproteiny

Struktura bílkovin

- **Primární** (sled kovalentně vázaných AK zbytků)
- **Sekundární** (vzájemné prostorové uspořádání sousedních článků polypeptidového řetězce – dáno především vodíkovými vazbami)
 - α -helix
 - β -struktura (skládání list)
 - jiné
- **Terciární** (prostorové uspořádání řetězce jako celku – dáno hydrofobními a vodíkovými vazbami, zpevněno -S-S- můstky)
- **Kvartérní** (způsob spojení jednotlivých polypeptidových řetězců ve vyšší celky – nekovalentně)
 - Homogenní – všechny protomery stejné
 - Heterogenní – protomery dvou i více typů



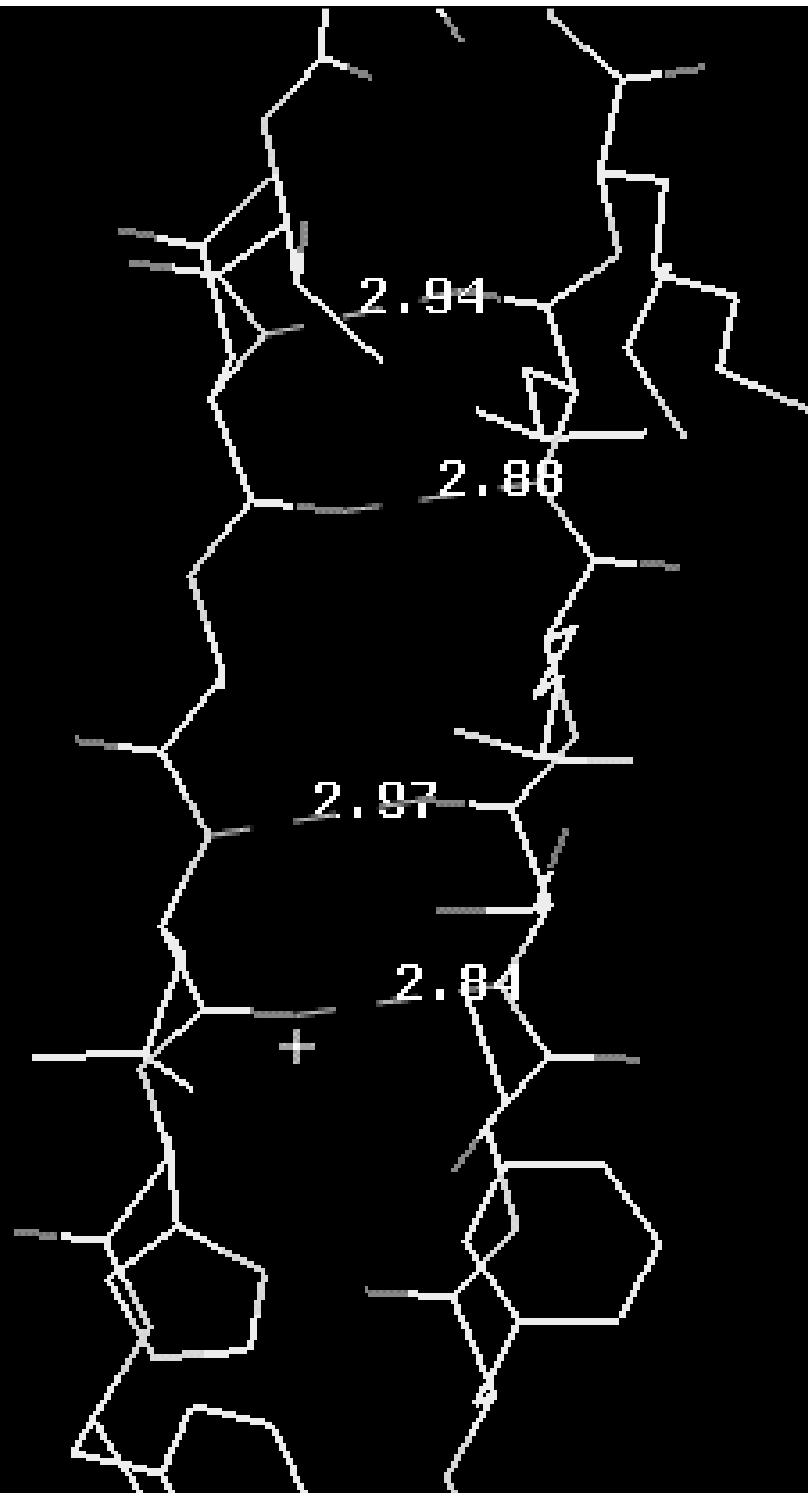
pravotočivá α šroubovice



osa

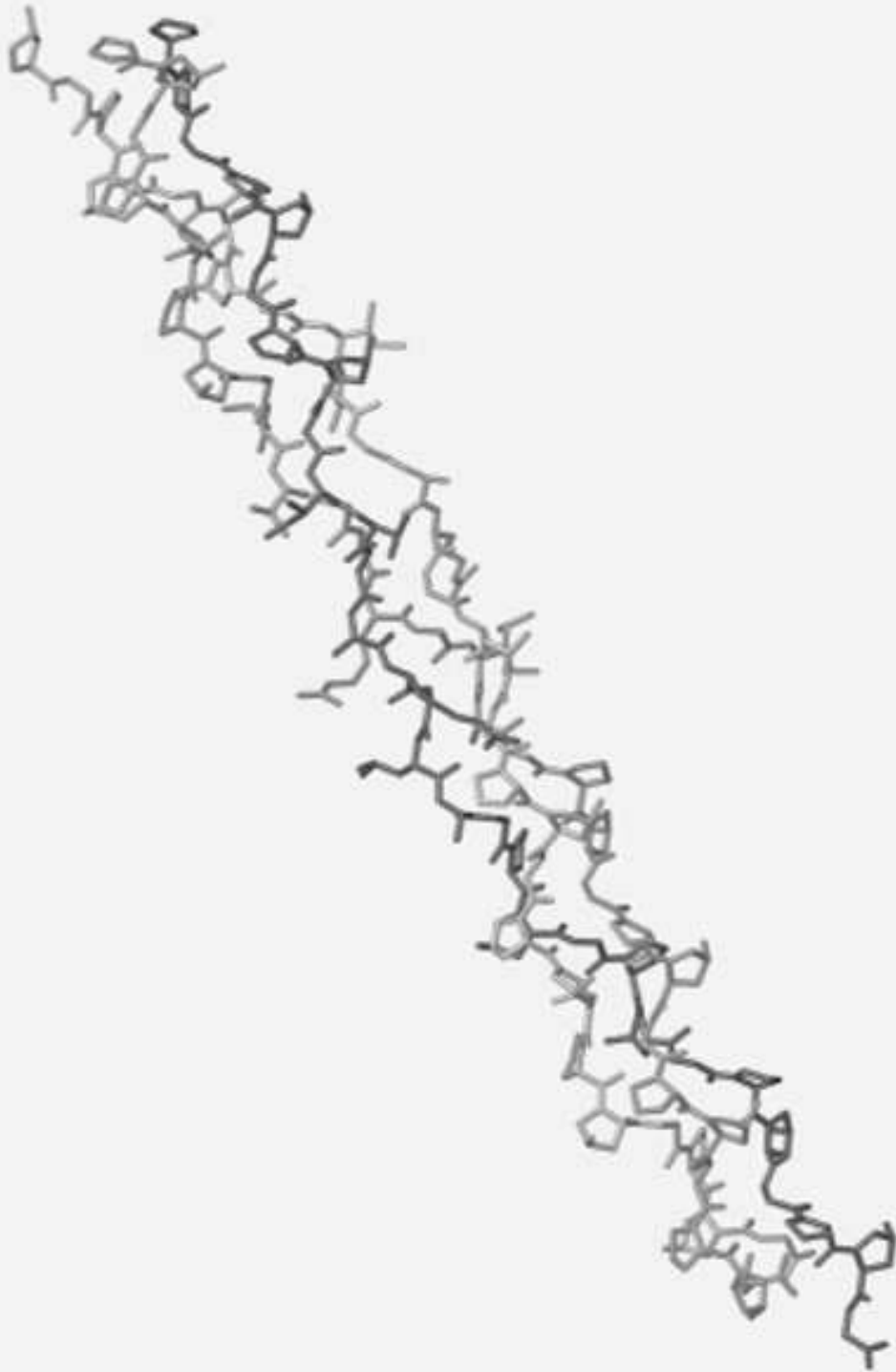
- α uhlík
- uhlík karbonylové skupiny
- vodík
- dusík
- kyslík
- vedlejší řetězec

•Podle: http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG04_10.JPG



β -struktura
(skládáný list –
antiparalelní
model)

[http://www-
structure.llnl.gov/Xray/tuto
rial/protein_structure.htm](http://www-structure.llnl.gov/Xray/tutorial/protein_structure.htm)



Trojité šroubovice kolagenu

http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG04_34.JPG

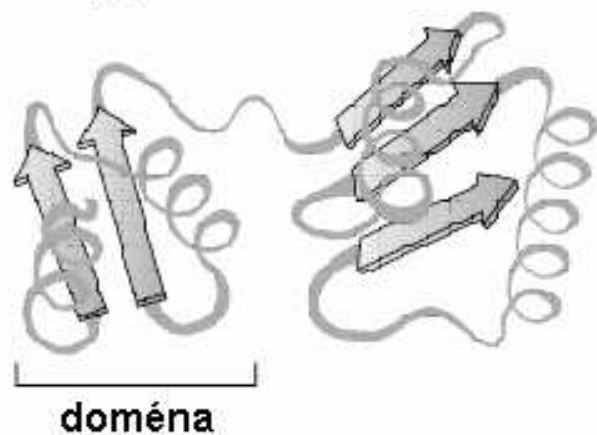
(a) primární struktura

–Ala–Glu–Val–Thr–Asp–Pro–Gly–

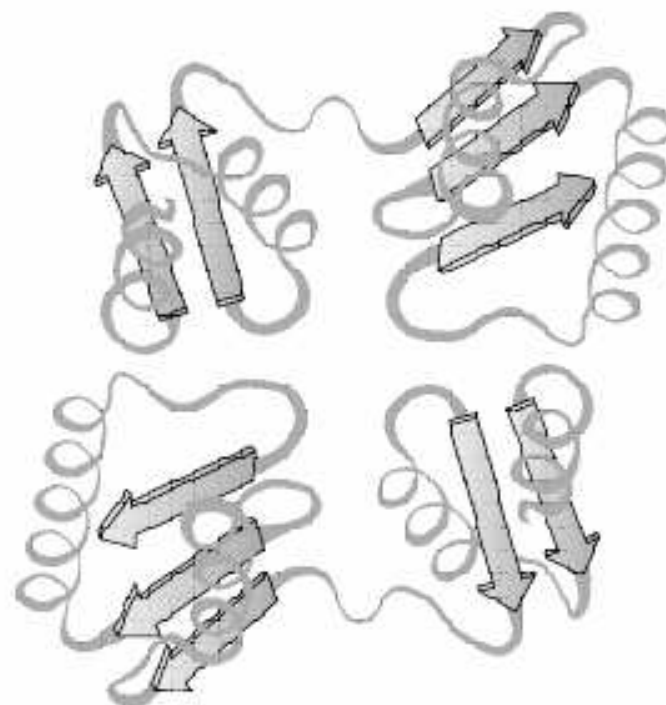
(b) sekundární struktura



(c) terciární struktura

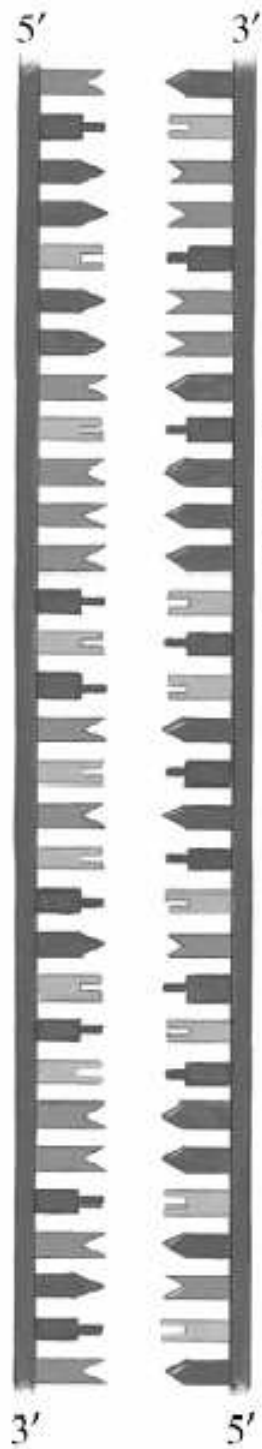


(d) kvartérní struktura



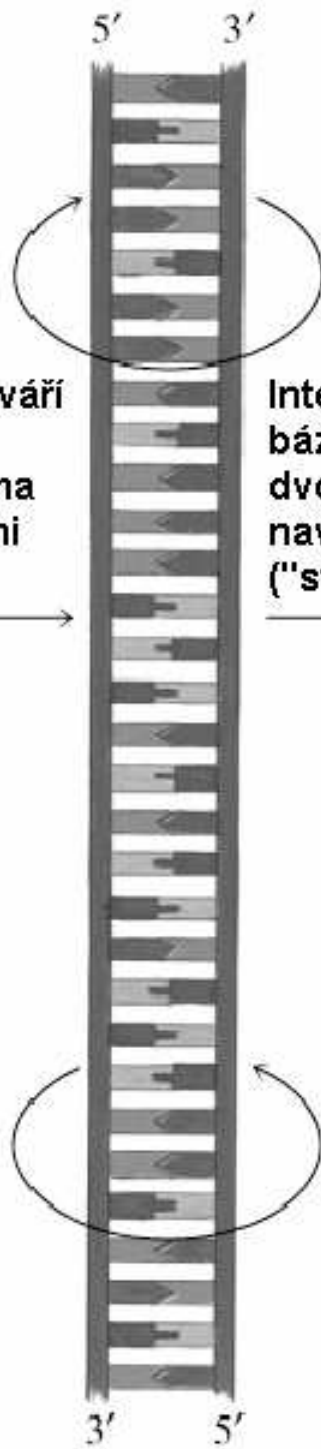
Struktura nukleových kyselin

- Mononukleotidy tvoří:
 - Dusíkaté báze pyrimidinové (C, U, T) a purinové (A, G)
 - Cukr (ribóza, deoxyribóza)
 - Zbytek kyseliny fosforečné
- DNA: až statisíce podjednotek. M.h. $10^7 - 10^{12}$
- RNA:
 - Informační (mediátorová, messenger)
 - Přenosová (transferová)
 - Ribosomální
 - (Virová)



Párování bází vytváří pravidelnou strukturu se dvěma komplementárními řetězci

A
T
G
C

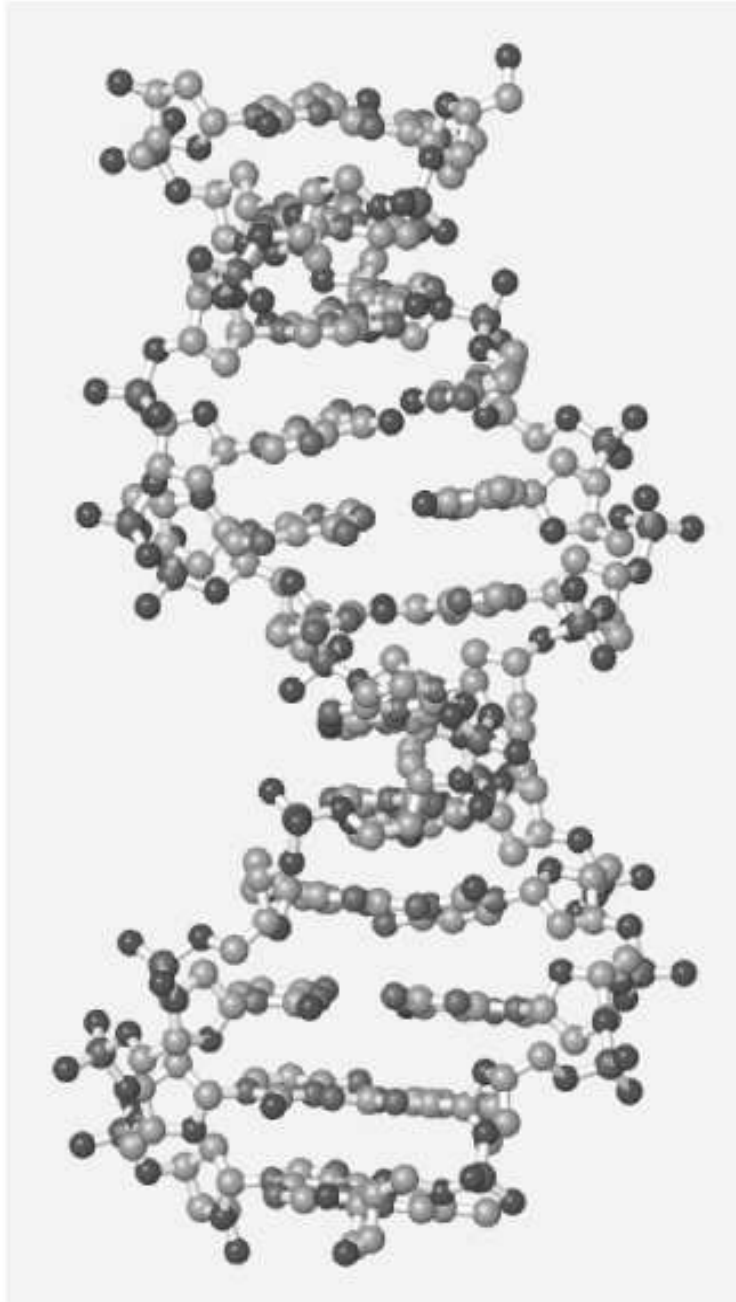


Interakce mezi páry bází vede k vytvoření dvoušroubovice s navrstvenými páry bází ("stacking")

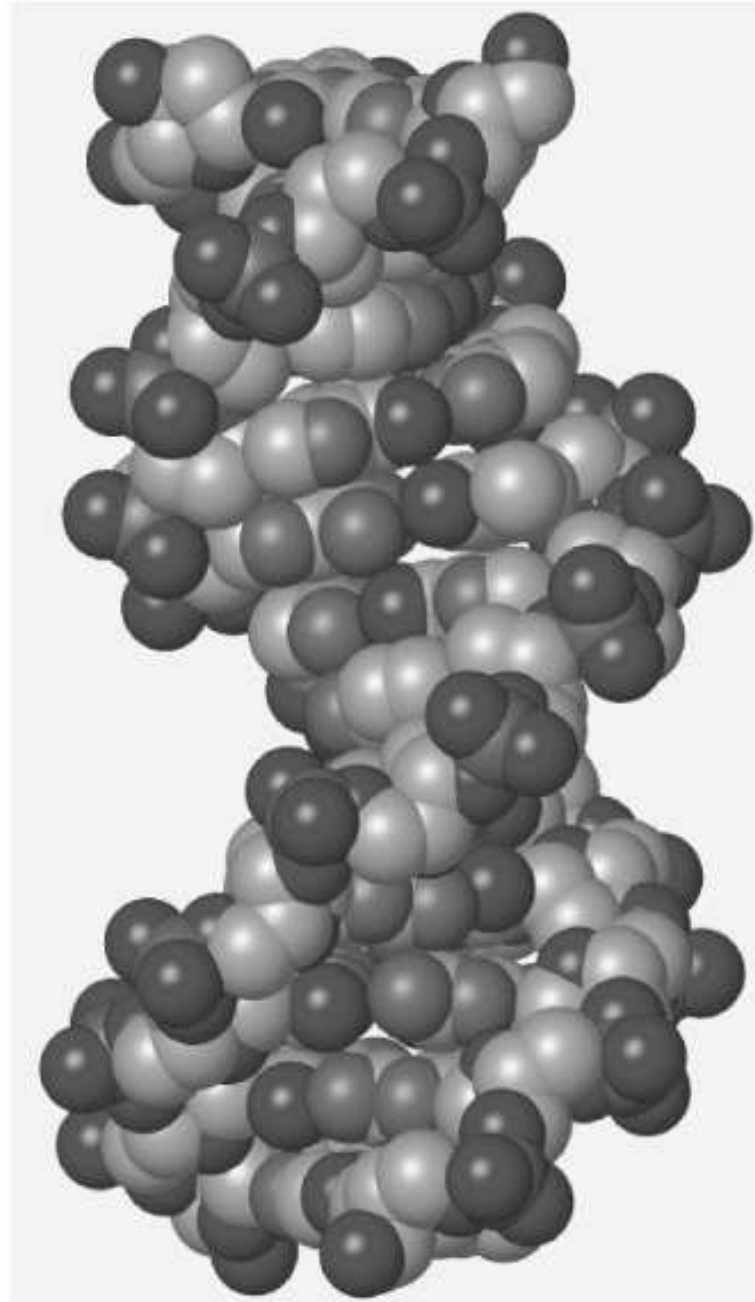


•http://cwx.prenhall.com/horton/media_portfolio/text_images/FG19_13_90035.JPG

(a)



(b)

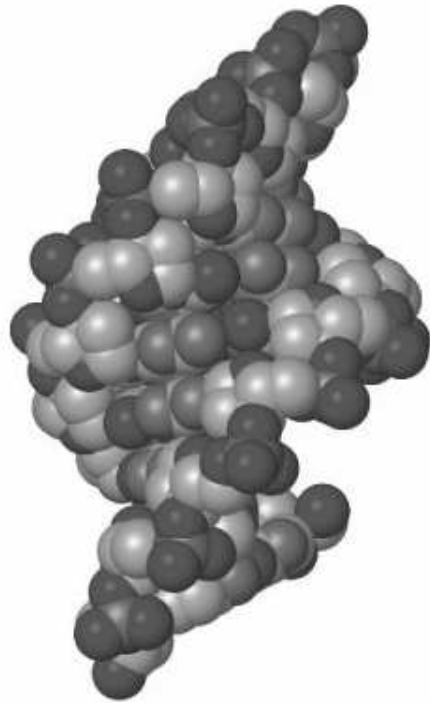


B-DNA

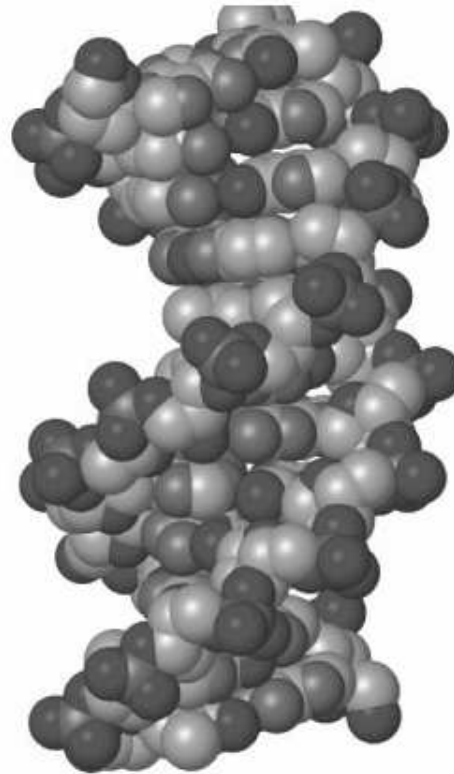
http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_15aC.JPG
G

A-DNA – dehydrovaná, B-DNA – běžně se vyskytující, Z-DNA – v sekvencích bohatých na CG páry

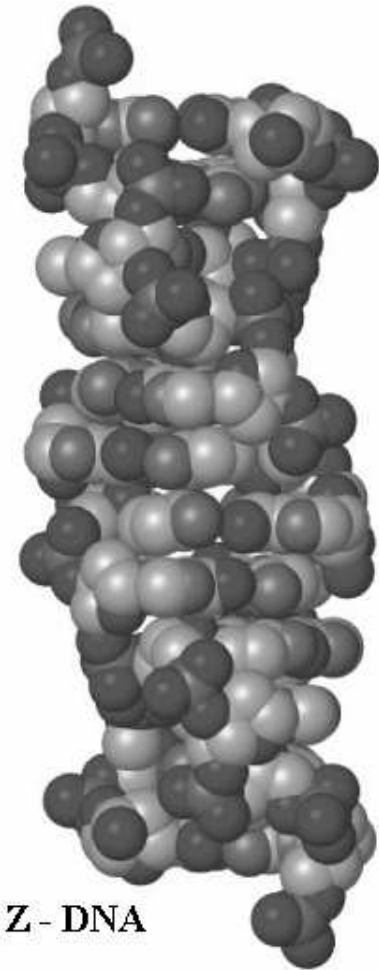
A - DNA



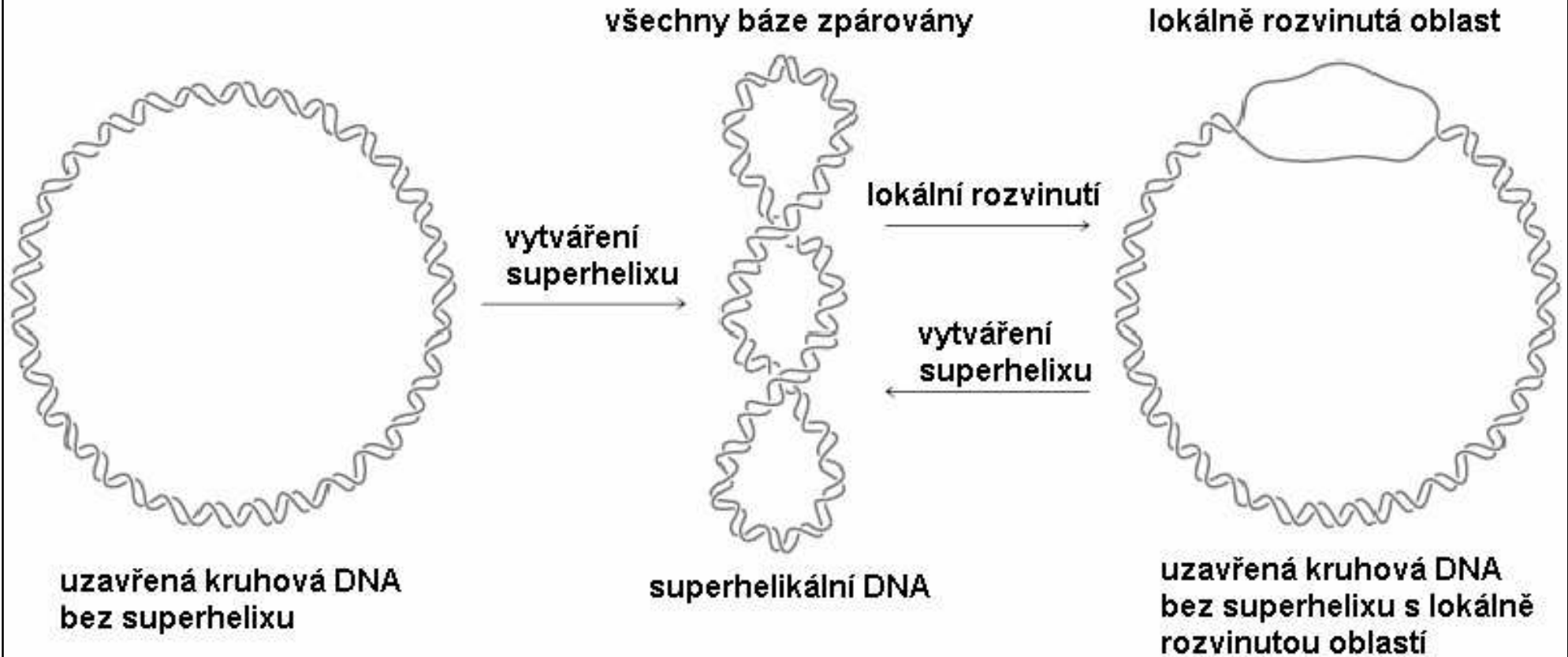
B - DNA



Z - DNA

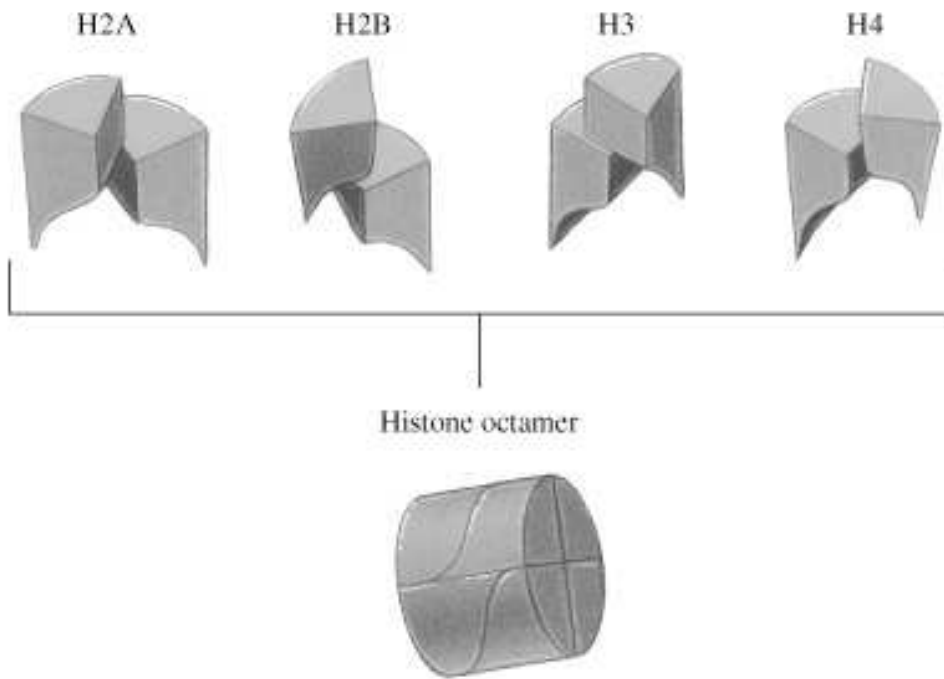


Superhelikální struktura cirkulární DNA

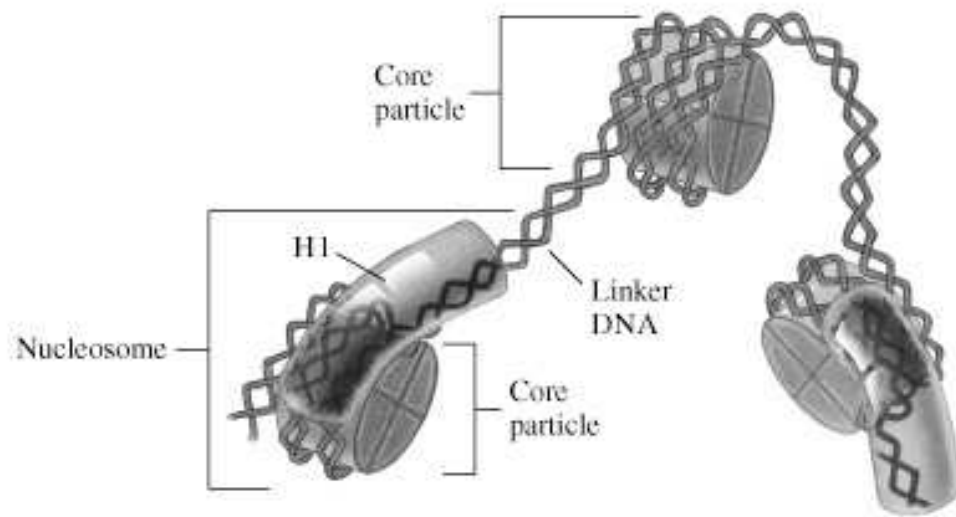


•Podle http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_191C.JPG

(a)



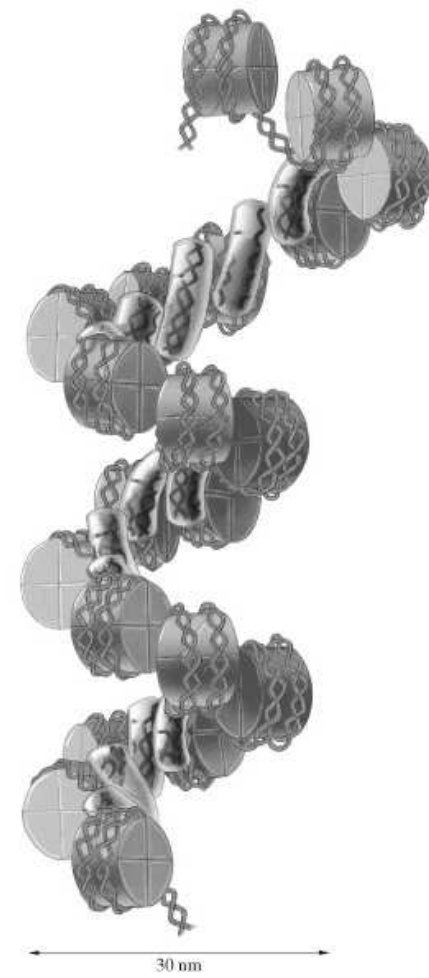
(b)

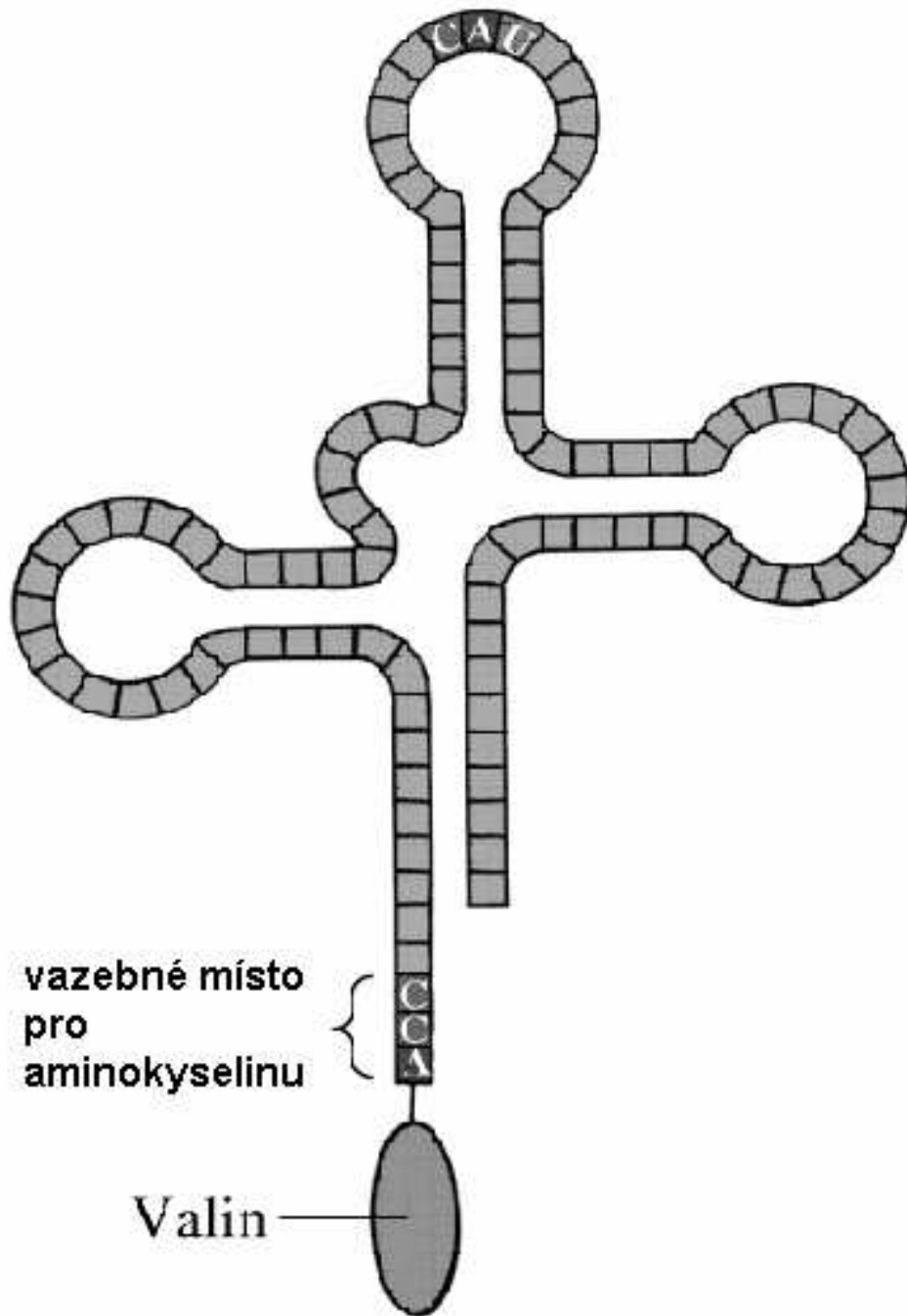


Struktura chromatinu

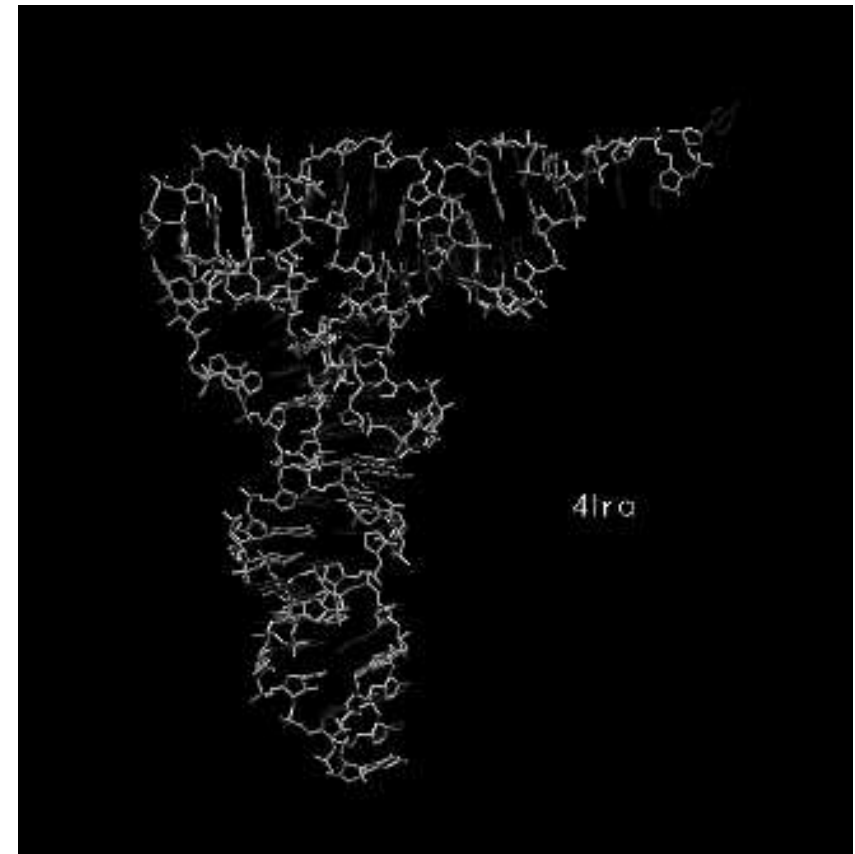
http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_23_00742.JPG,

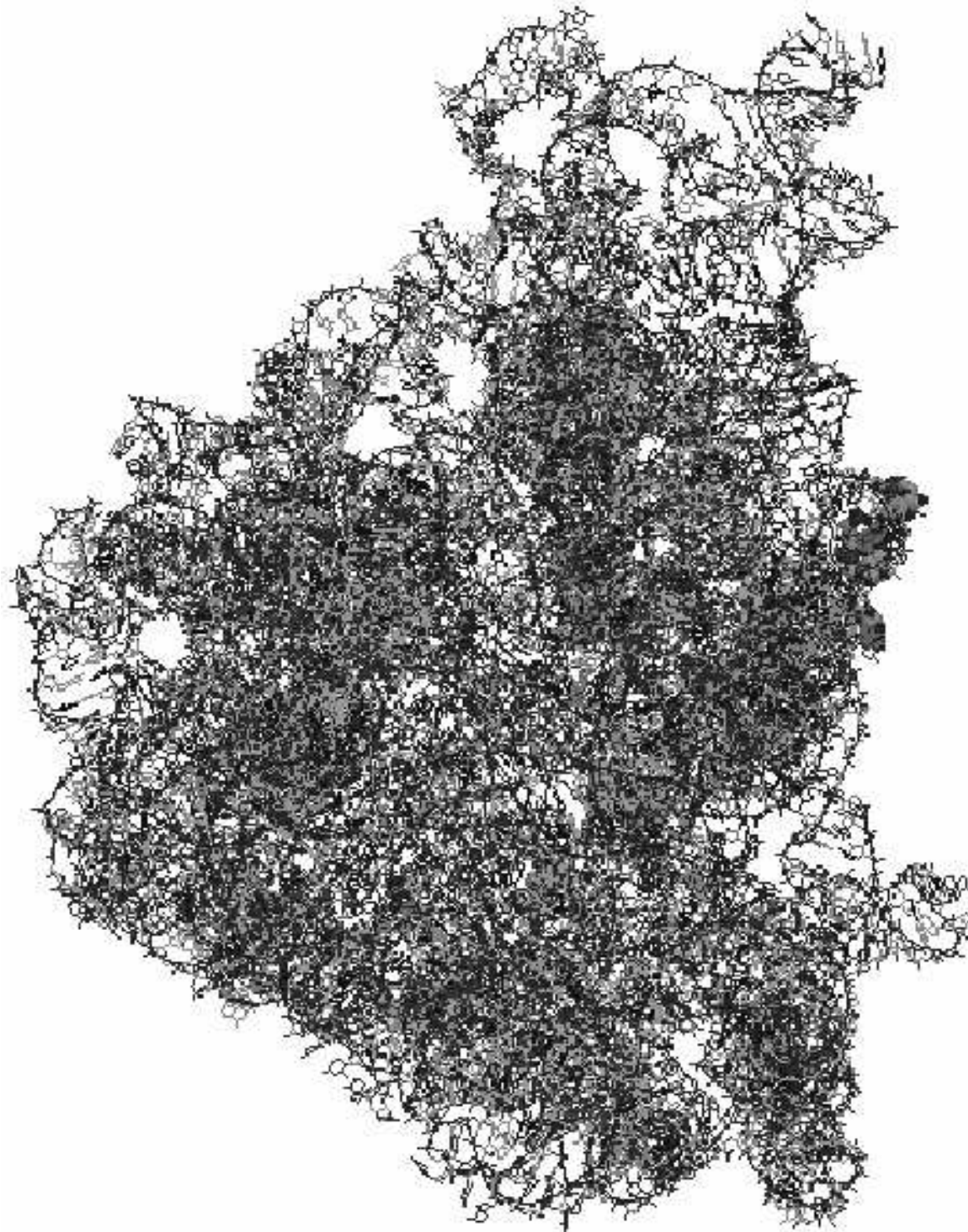
http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_25_00744.JPG





- Transferová RNA – schematický model
- t-RNA z kvasnic
- http://cwx.prenhall.com/bookbind/pubbooks/hilchem3/medialib/media_portfolio/text_images/CH23/FG23_14.JPG, <http://www.imb-jena.de/cgi-bin/ImgLib.pl?CODE=4tra>





Ribosomální RNA

<http://www.imb-jena.de/cgi-bin/htmlit.pl?color=ffffff&id=GI&src=1c2w.gif&name=Image%20Library%20Thumb%20ONail%201C2W>

Konformační změny a denaturace biopolymerů

- Změny sekundární, terciární, resp. kvartérní struktury biopolymerů se označují jako změny konformační.
- Mohou být reverzibilní i ireverzibilní.
- Funkční stav biopolymeru = nativní stav
- Nefunkční stav biopolymeru = denaturovaný stav

Denaturační faktory

- **Chemické:**
 - Změny pH
 - Změny koncentrace elektrolytů
 - Těžké kovy
 - Denaturační činidla narušující vodíkové vazby – močovina
- **Fyzikální:**
 - Zvýšená teplota
 - Ionizující záření
 - Ultrazvuk
- **Kombinace faktorů:** ionizující záření nebo ultrazvuk působí přímo i nepřímo (chemicky)

