

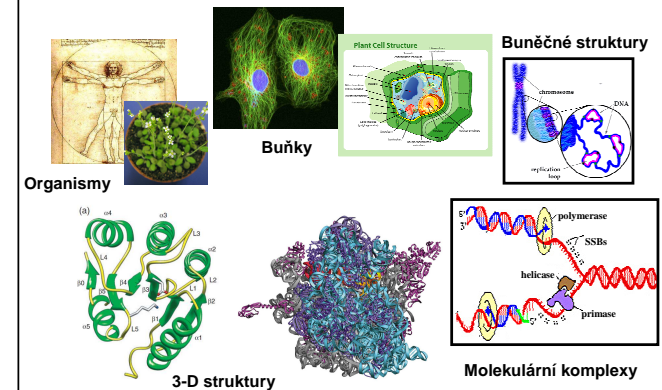
# Strukturní biologie

Jaromír MAREK,  
Centrum strukturní biologie,  
CEITEC MU

## Obsah

- Předmět studia
- Centrální dogma
- Techniky strukturní biologie
- Strukturní biologie a primární, sekundární, terciární a kvarterní struktury

## Subjekt studia (strukturní) biologie

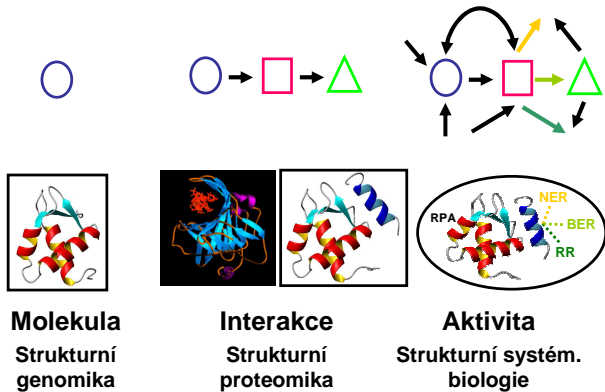


## Úrovně studia biologických systémů

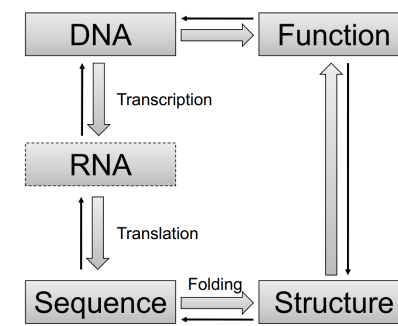
Organismus → Orgán → Tkáň → Buňka →  
Molekuly → Atomy

- Buňka se skládá z miliónů molekul
- K normální funkci buněk je nutná „komunikace“ mezi molekulami. Chyby v přenosu informací mohou způsobovat poruchy funkce („nemoce“)
- Pro pochopení principů vnitrobuněčného přenosu informací je zapotřebí znát atomární struktury molekul a cesty, kterými mezi sebou molekuly v buňkách interagují/komunikují

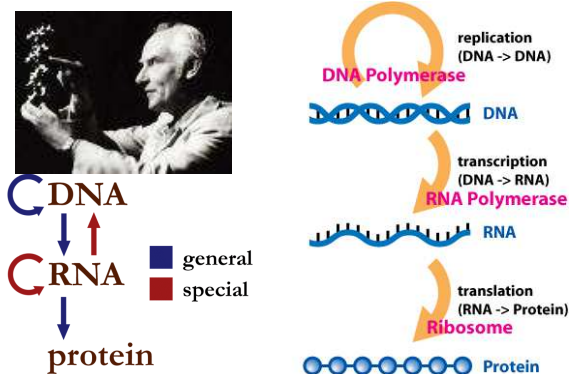
## Atomický přístup v biologii



## Centrální dogma strukturální biologie



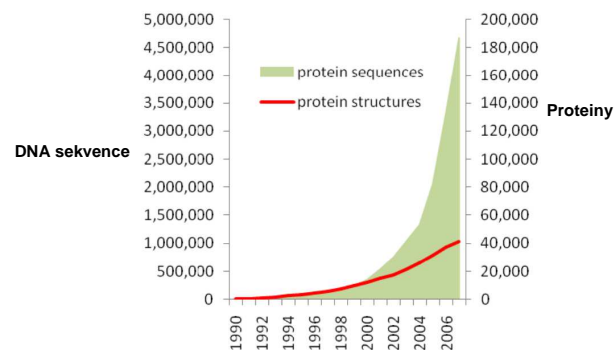
## Centrální dogma molekulární biologie



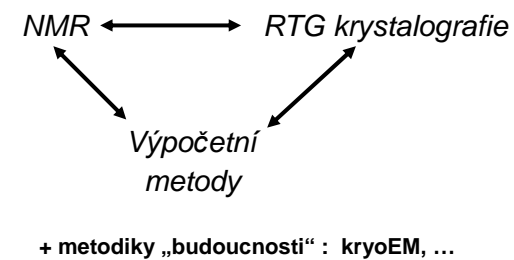
## Počet struktur k určení

Počet	Rozpustné/ globulární proteiny	Membránové proteiny
Sekvence	$10^7$	$10^6$
Exp. určené struktury	$10^5$	$10^3$
Proteinové sklady	$10^3$	$10^2$

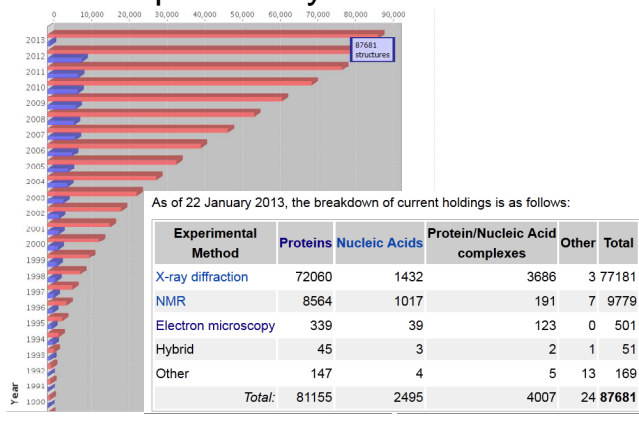
## Strukturální biologie v „postgenomické“ éře biologie



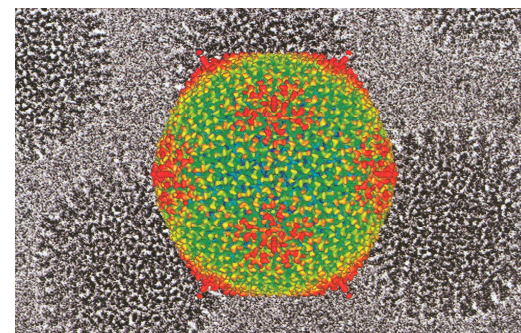
## Techniky strukturální biologie na atomárním rozlišení



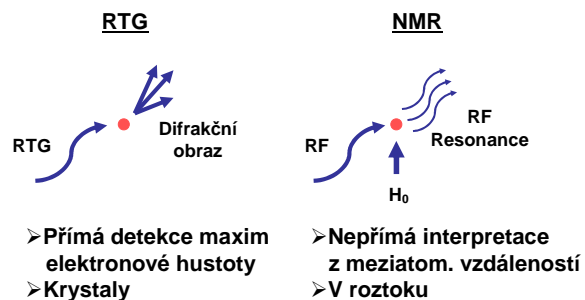
## Počet proteinových struktur v PDB



## kryoEM: biomakromolekulární ansámby



## Rozdílnost přístupů NMR a rentgenové krystalografie



## Vliv a interpretace pohybu v RTG krystalografii a NMR

RTG:

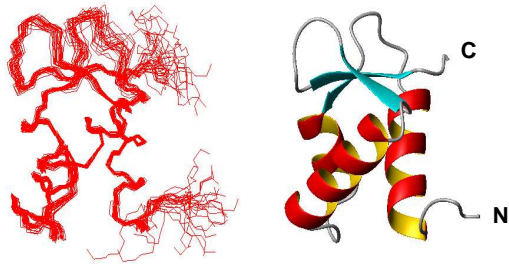
- Difúznost elektronových hustot
- Průměrná struktura + „teplotní“ kmity
- Alternativní/násobné pozice

NMR:

- Ostrost rezonančních signálů
- Ansámbl možných řešení -> průměrná struktura
- Možnost studia přechodů mezi různými konformacemi

## Strukturní dynamika

- Biopolymery jsou dynamické, a vesměs se vyskytují ve více než jediné možné prostorové konformaci
- Výsledky ani NMR, ani RTG experimentu nemohou být reprezentovány jedinou „správnou“ konformací



## Proč výpočetní strukturní biologie?

- Experiment (RTG+ NMR) ne vždy funguje: velikost, limitace, stabilita/flexibilita, (ne)krystalizovatelnost, ...
- Potenciálně velmi rychlá cesta ke (správné?) struktuře
- „Svatý Grál“ výpočetní strukturní biologie: ab-initio predikce 3-D struktur ze známé primární sekvence

```

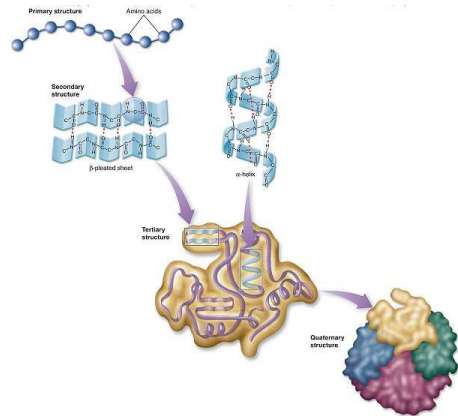
1  QQYTA KIKGR
11 TFRNE KELRD
21 FIEKF KGR
    
```

výpočet

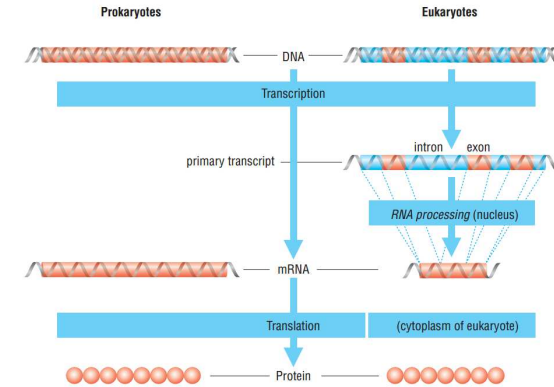


- Interpretace a vizualizace experimentálních výsledků: podobnost/rozdílnost struktur, povrchy/dutiny, mutace ...
- Dynamika, atomární mechanismus interakcí, QSAR, ...

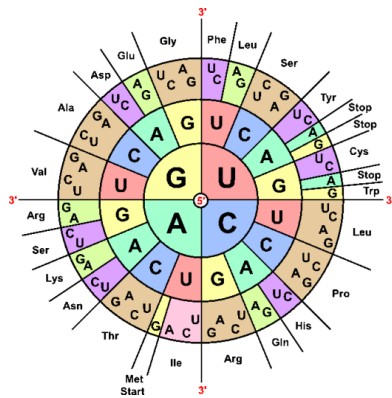
## Od sekvence ke 3-D struktuře



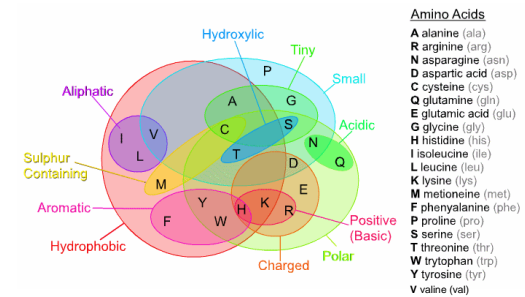
## Replikace DNA do primární struktury



## 20 geneticky kódovaných aminokyselin

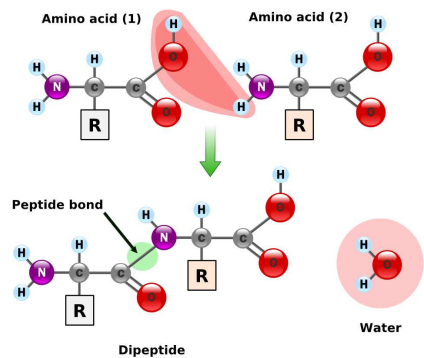


## Vlastnosti aminokyselin



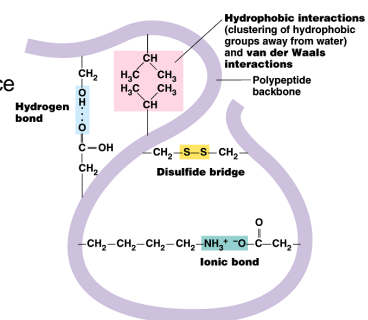
- Amino Acids**
- A alanine (ala)
  - R arginine (arg)
  - N asparagine (asn)
  - D aspartic acid (asp)
  - C cysteine (cys)
  - Q glutamine (gln)
  - E glutamic acid (glu)
  - G glycine (gly)
  - H histidine (his)
  - I isoleucine (ile)
  - L leucine (leu)
  - K lysine (lys)
  - M methionine (met)
  - F phenylalanine (phe)
  - P proline (pro)
  - S serine (ser)
  - T threonine (thr)
  - W tryptophan (trp)
  - Y tyrosine (tyr)
  - V valine (val)

## Polypeptidy

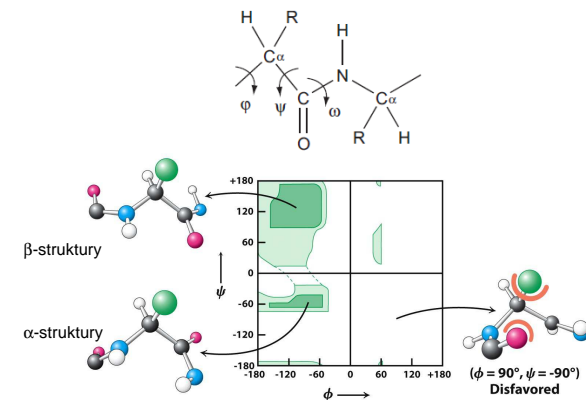


## Chemické interakce stabilizující proteiny

- kovalentní vazby  $C_{\alpha}$ -C
- vodíkové můstky
- elektrostatické interakce
- S-S můstky
- Hydrofobicita,
- vdW interakce



## Limitovaná konformační volnost proteinů



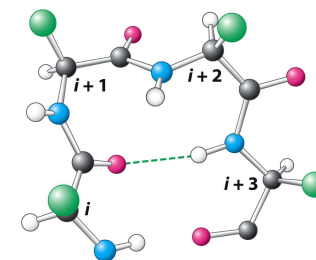
## Sekundární struktury proteinů

Určující interakce

- primární struktura – kovalentní vazby
- sekundární struktura – vodíkové můstky

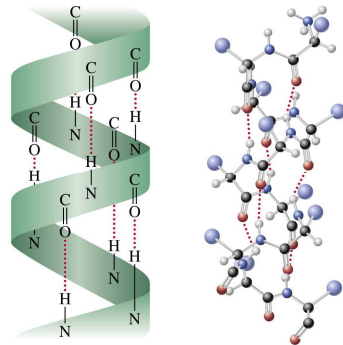
Nejjednodušší:

$\beta$ -otočka – 4AA + 1H-můstek

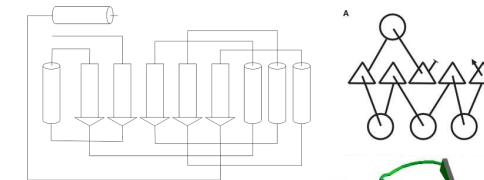


## Sekundární struktury proteinů: $\alpha$ -šroubovice

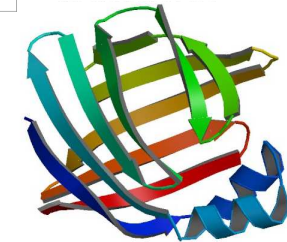
- H-můstky uvnitř AA vlákna (mezi každou čtvrtou AA)
- periodičita : 3.6 AA
- posun mezi AA : 1.5 Å
- délka „závitu“ : 5.4 Å
- průměrná délka: 3 otočky



## Struktura a topologie proteinů: (2D) zápis

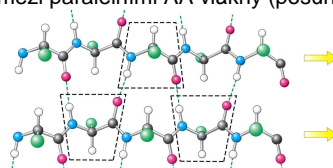


Sekundární struktura: 2D vs 3D

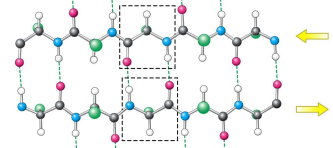


## Sekundární struktury proteinů: $\beta$ -listy

- H-můstky mezi paralelními AA vlákny (posun: 2AA ~ 7Å)

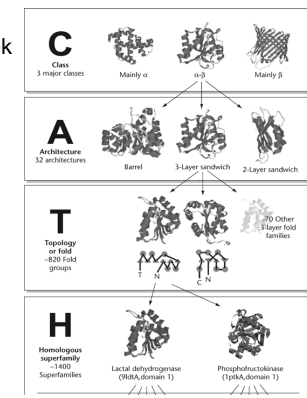


- H-můstky mezi protiběžnými AA vlákny



## Sekundární vs. terciární struktura proteinů

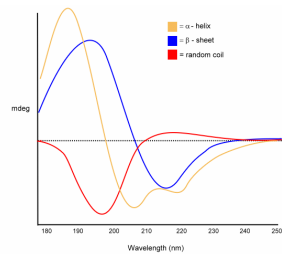
- SS stabilizují protein jako celek
- Rigidita – gen vs. struktura
- CATH klasifikace



## Sekundární struktura – přímé určení

- Definice – H-vazby
- Nepřímý indikátor– hodnoty úhlů  $\phi$  a  $\psi$

- ( $\alpha/\beta$ ) charakteristika SS:  
Cirkulární dichroismus



## Terciární struktura proteinů

- Stabilizace struktury – O-H...O můstky, S-S můstky, iont. interakce, kovové atomy/ionty, substráty, ...
- Sklad/folding proteinů
  - teoreticky nevyřešený problém
  - výsledek závislý na modelu
  - velké proteiny: experiment je nezastupitelný

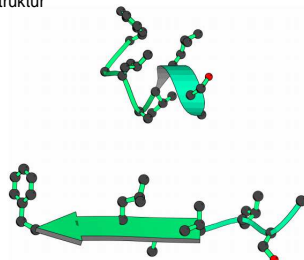


## Sekundární struktura - predikce

Metody predikce:

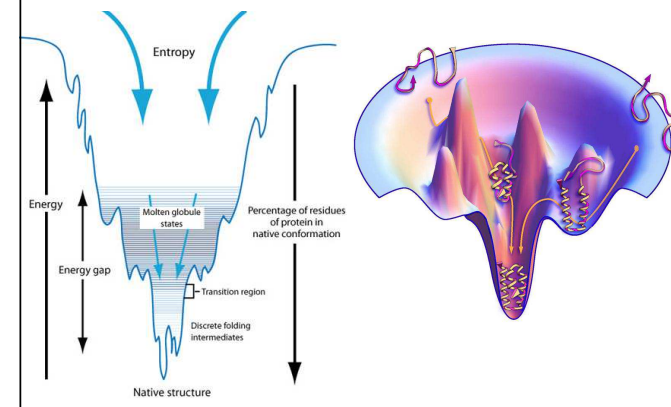
- pravděpodobnostně/statistické techniky
- homologie s experimentálně určenými strukturami

Limitovaná přesnost - konce  $\alpha/\beta$  struktur



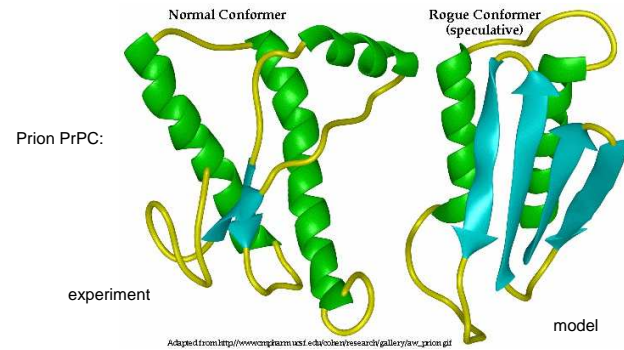
Oktapeptid GSLVALGF:

## Skládání proteinů

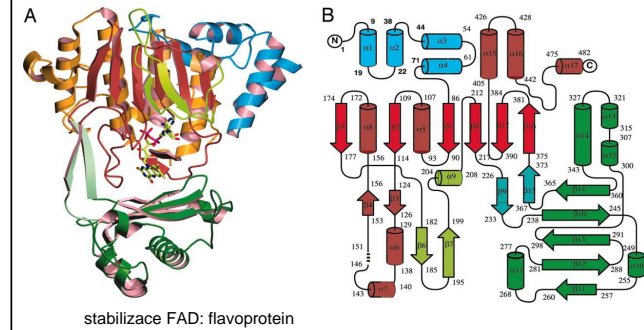




## Proteiny – alternativní konformace

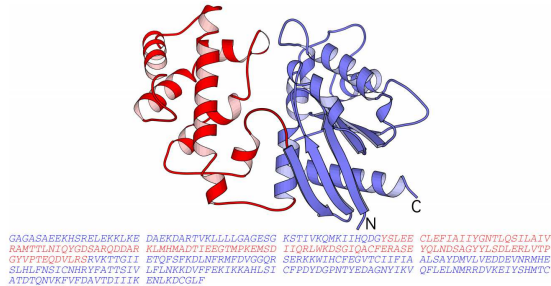


## Multidoménová struktura proteinů



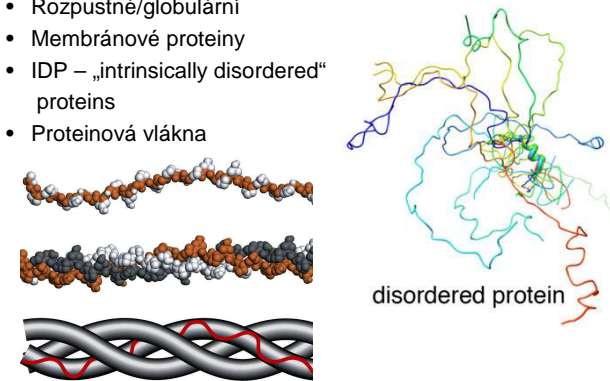
## Multidoménová struktura proteinů

- Domény – separátně uspořádané terciární struktury
- Evoluční původ – „gen v genu“, „protein u proteinu“

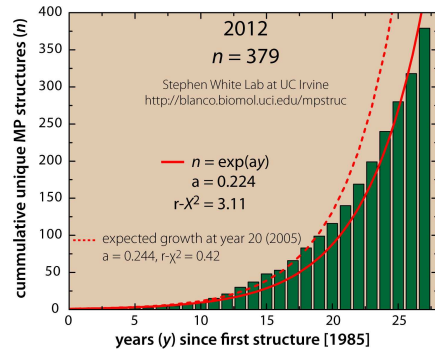


## Globulární a neglobulární proteiny

- Rozpustné/globulární
- Membránové proteiny
- IDP – „intrinsically disordered“ proteins
- Proteinová vlákna

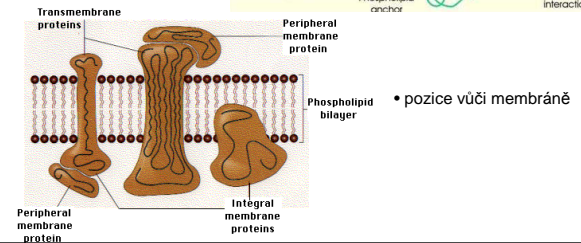
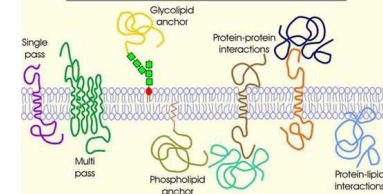


## Membránové proteiny



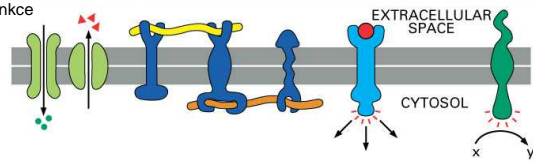
## Membránové proteiny – možné klasifikace

- průchod membránou

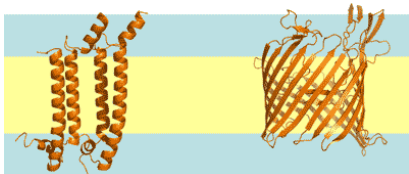


## Membránové proteiny – možné klasifikace

- funkce

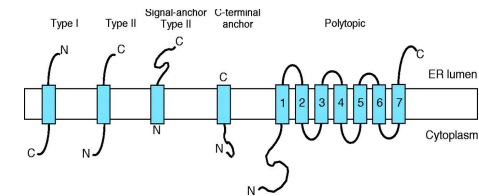


- převažující SS: proteiny  $\alpha/\beta$

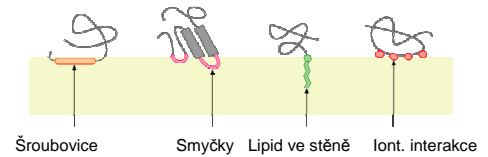


## Membránové proteiny – možné klasifikace

- Topologie



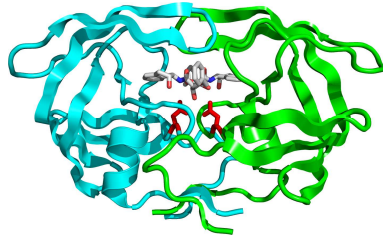
- Interakce



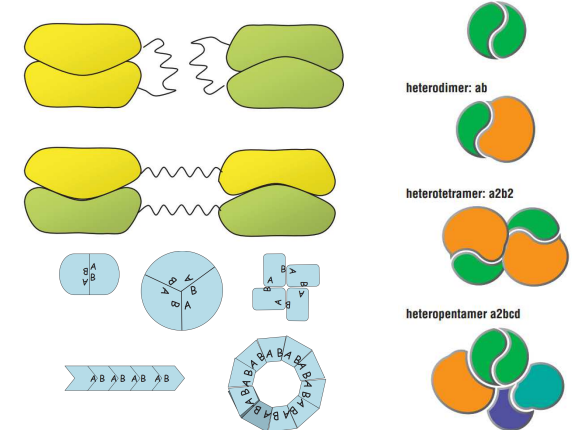
## Kvarterní struktura

- 2 a více řetězců/podjednotek
- Stabilizující interakce – shodné se silami stabilizujícími struktury terciární
- Podjednotky – shodné/neshodné – homo/hetero multimery

Homodimer HIV-1 proteasy s inhibítoem

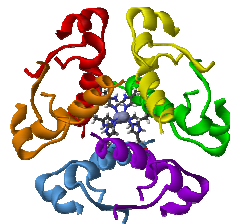
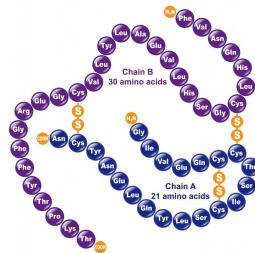


## Kvarterní + doménová struktura, multimery



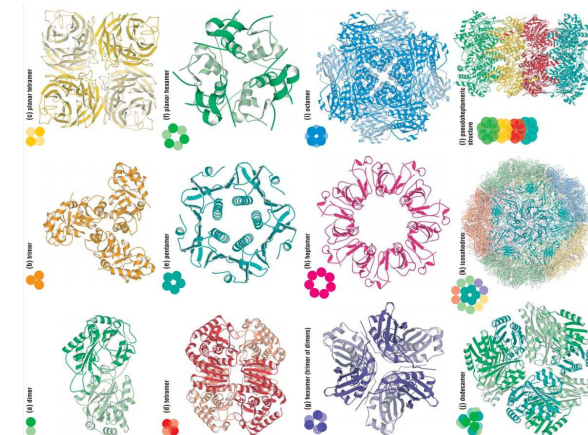
## Kvarterní struktura

- Dimer (?) + neshodné jednotky: inzulin



- Stabilizace struktury – 2 Zn ionty
- Metody určování kvarterní struktury – funkční multimery ?

## Kvarterní struktura + symetrie



# Kvarterní struktury + „kulová“ symetrie

