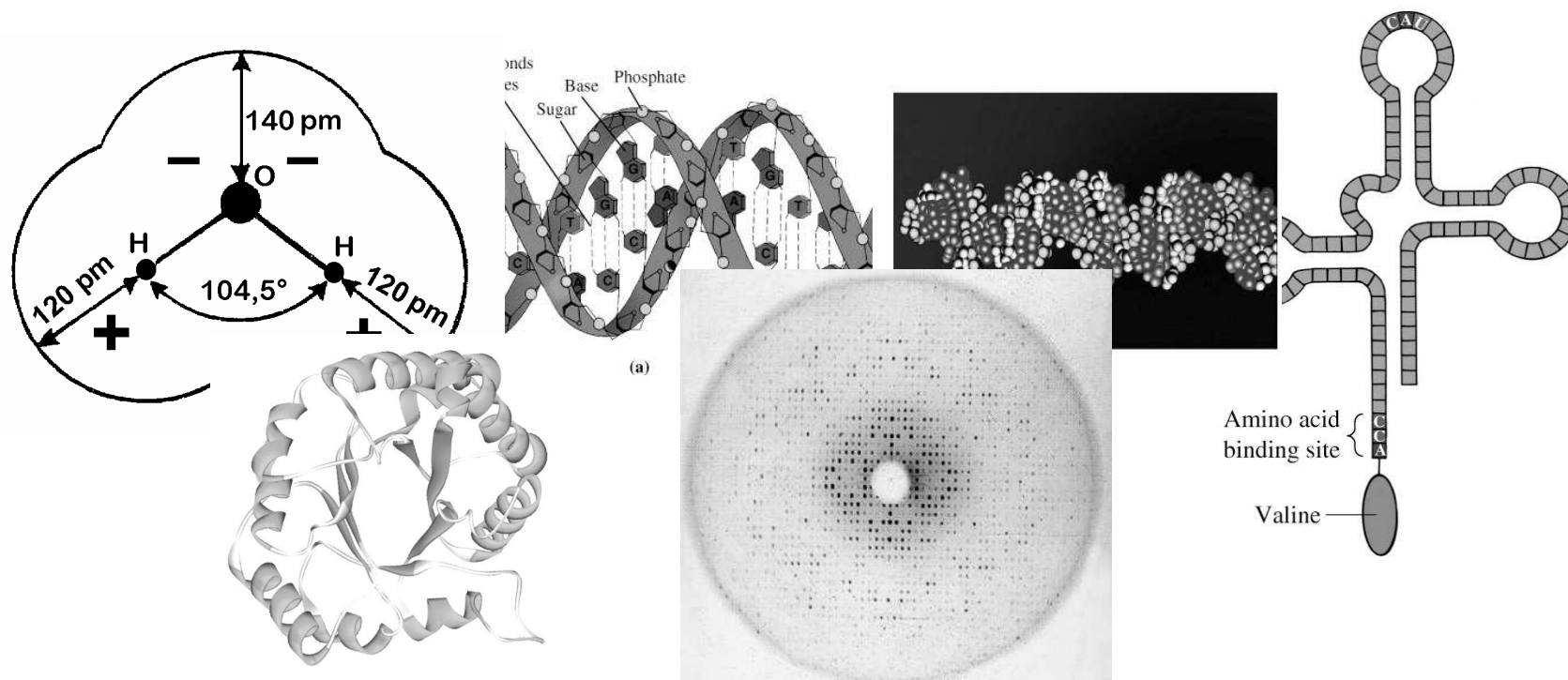


# Přednášky z lékařské biofyziky

Masarykova univerzita v Brně - Biofyzikální centrum



## Úvod do molekulární biofyziky I

# Struktura přednášky

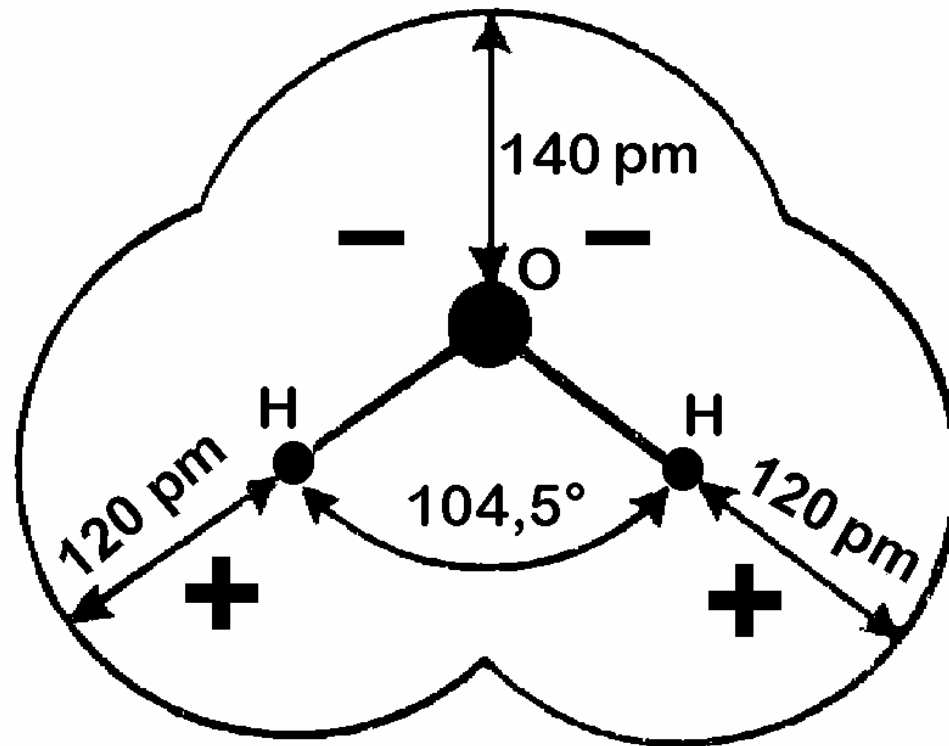
## Voda

**Vlastnosti koloidních roztoků**

**Struktura bílkovin**

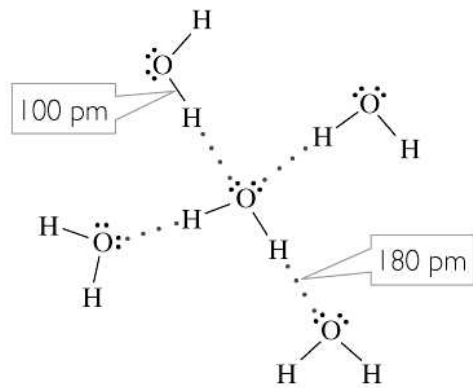
**Struktura nukleových kyselin**

# Voda

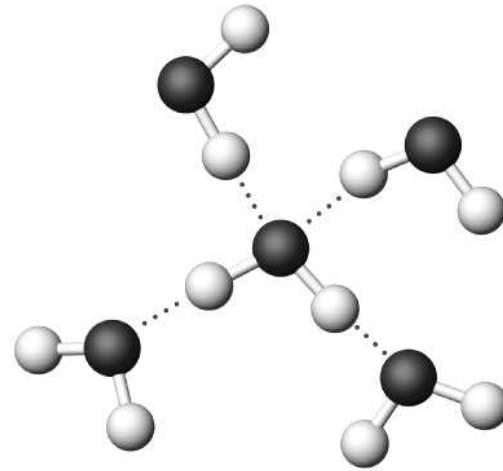


Molekuly vody jsou silně polární, mezi kyslíkem a vodíkem sousedících molekul vznikají vodíkové můstky spojující molekuly vody do shluků - clusterů

# Vodíková vazba mezi molekulami vody



(a)



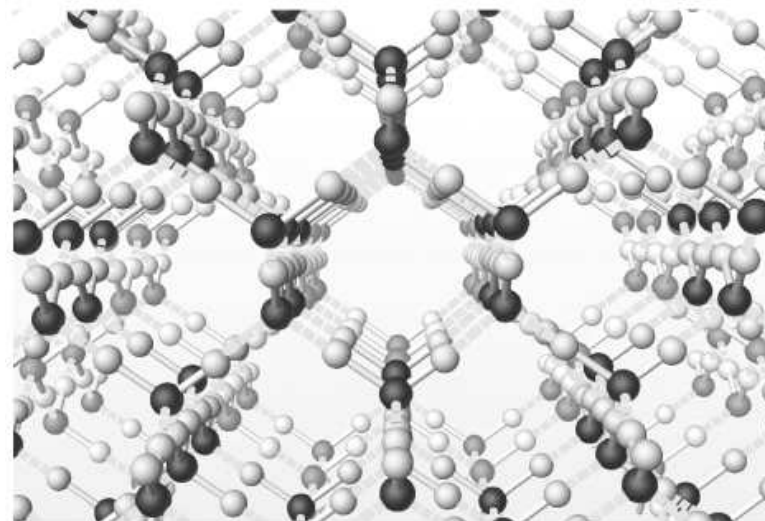
(b)

•Kapalná voda

Obrázky:

[http://cwx.prenhall.com/bookbind/pubbooks/hillchem3/media/ib/media\\_portfolio/11.html](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:

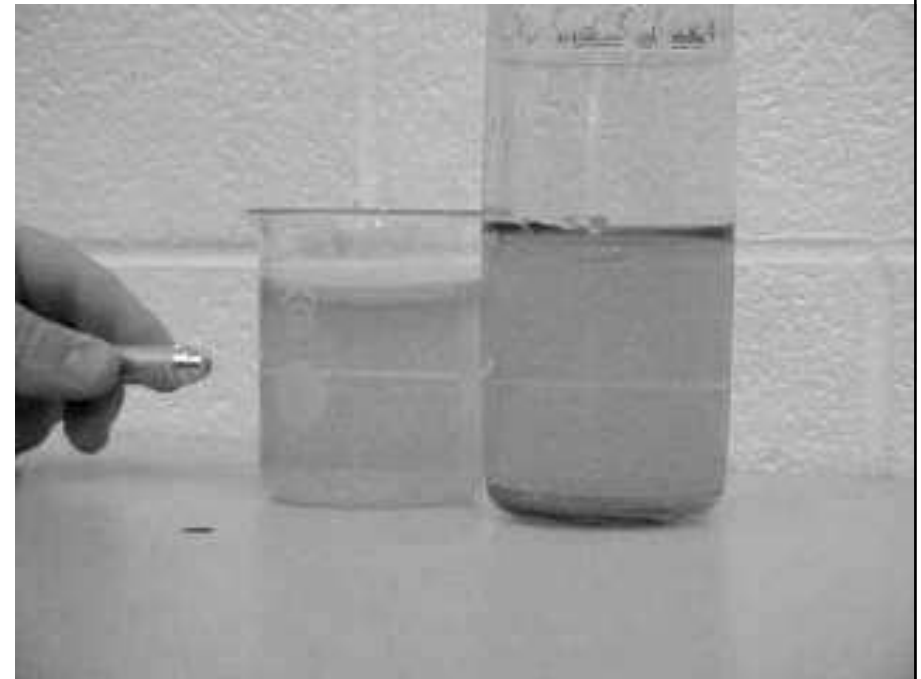
- Micelární (též asociační, částice udržované vcelku van der Waalsovými vazbami)
- Molekulární (částice udržované vcelku kovalentními vazbami)

# 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

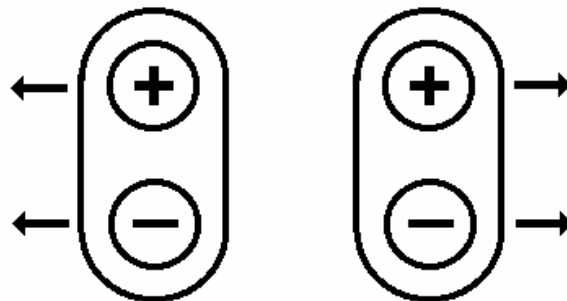
- Lyofilní (hydrofilní) – tvoří stabilní disperze
- Lyofobní (hydrofobní) – tvoří nestabilní disperze

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

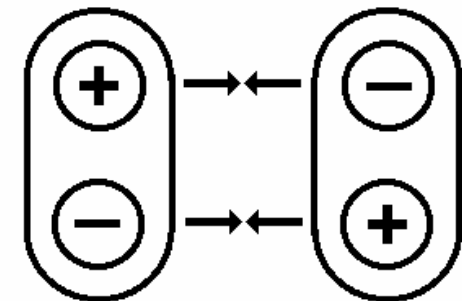
- Lineární (fibrilární – DNA, myosin, syntetické polymery.....též skleroproteiny – většinou nerozpustné ve vodě)
- Sférické (globulární – hemoglobin, glykogen ... též sféroproteiny – většinou rozpustné ve vodě)

# Další vazebné síly (vazby) uplatňující se v koloidních částicích

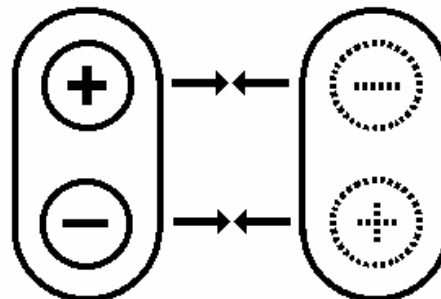
- Vodíkové vazby
- Hydrofobní interakce
- van der Waalsovy síly



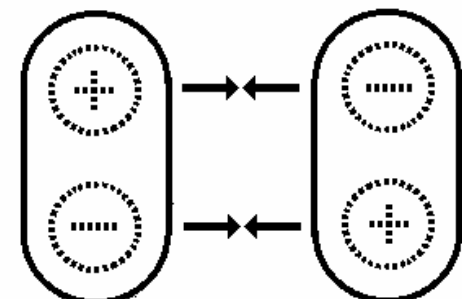
a) dipólové paralelní



b) dipólové antiparalelní



c) indukční

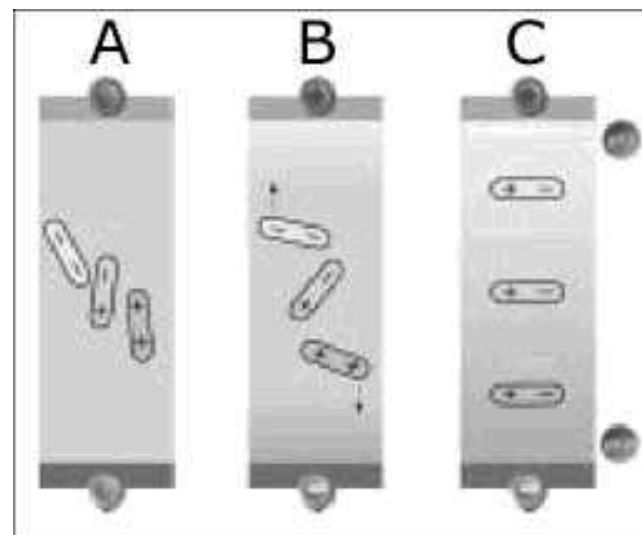
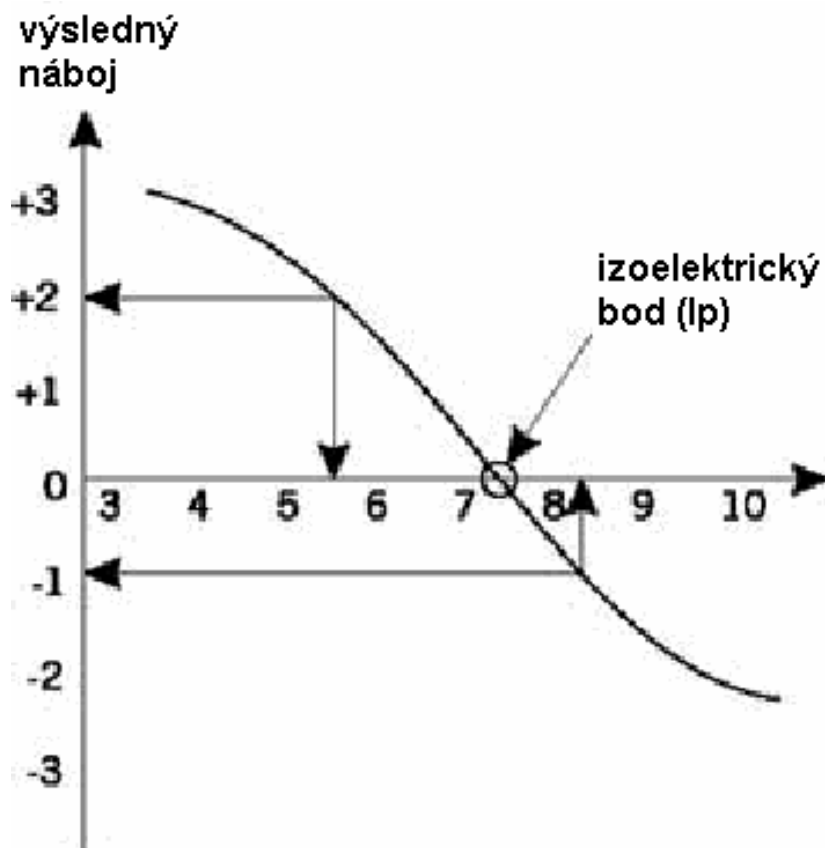


d) disperzní



# 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

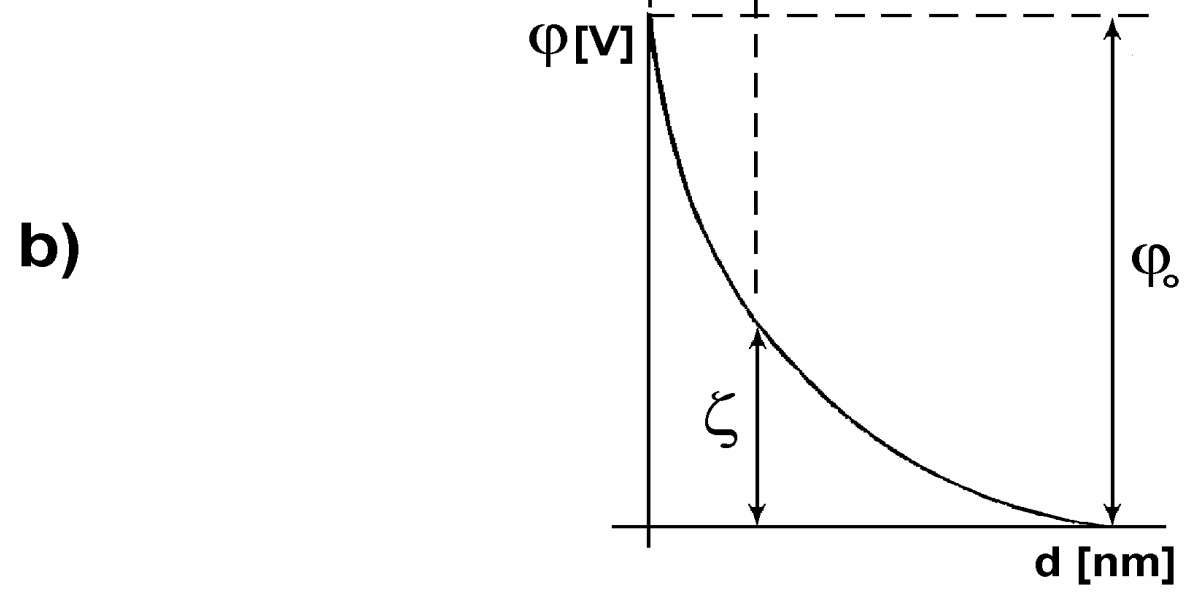
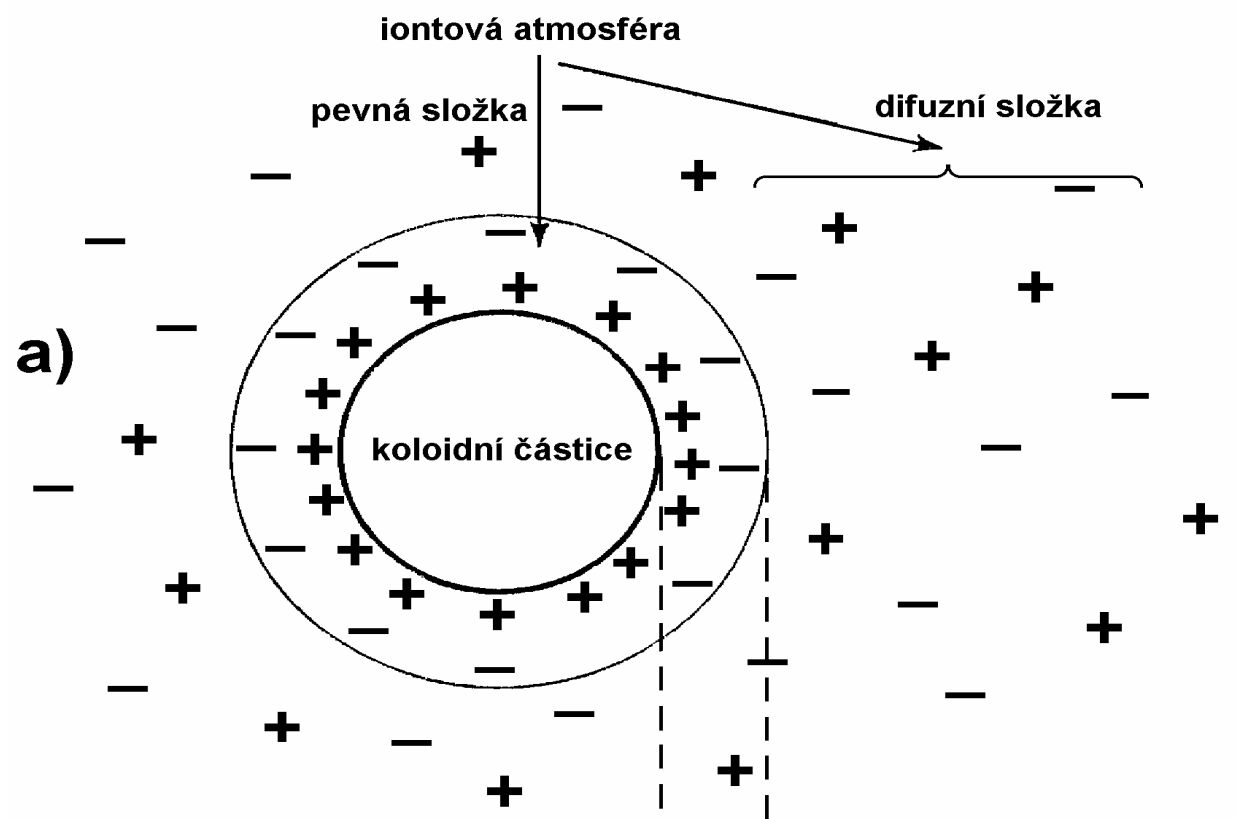
Dva mechanismy:

- 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

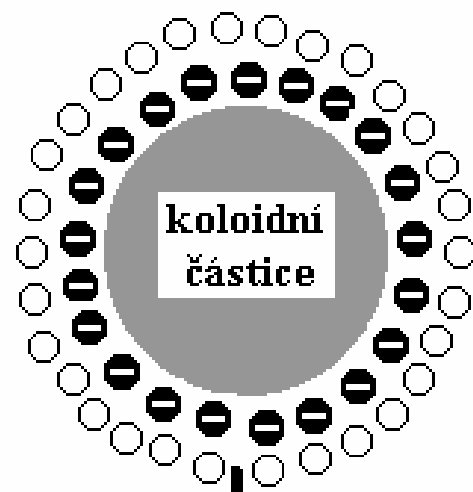
Ve zředěných elektrolytech lze rozlišit stálou, difuzní a elektroneutrální oblast.

Elektrokinetický potenciál –  $\zeta$  (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  $\eta$  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

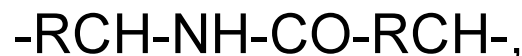
Tyto vlastnosti závisí na formě koloidu:

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

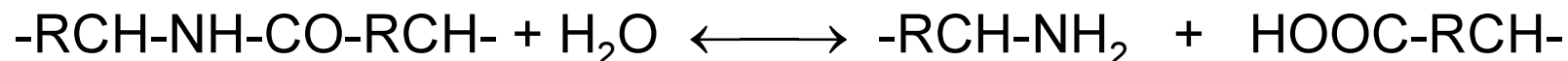
- Optické: Tyndallův jev (opalescence)
- Ultramikroskopie – před rozvojem elektronové mikroskopie bylo možno při pozorování v temném poli spatřit koloidní částice jako svítící body

# Struktura bílkovin

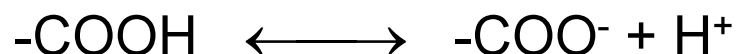
- Strukturními jednotkami bílkovin jsou aminokyseliny (AK), spojené peptidovou vazbou:



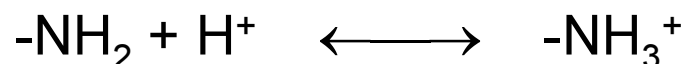
která může hydrolyzovat:



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

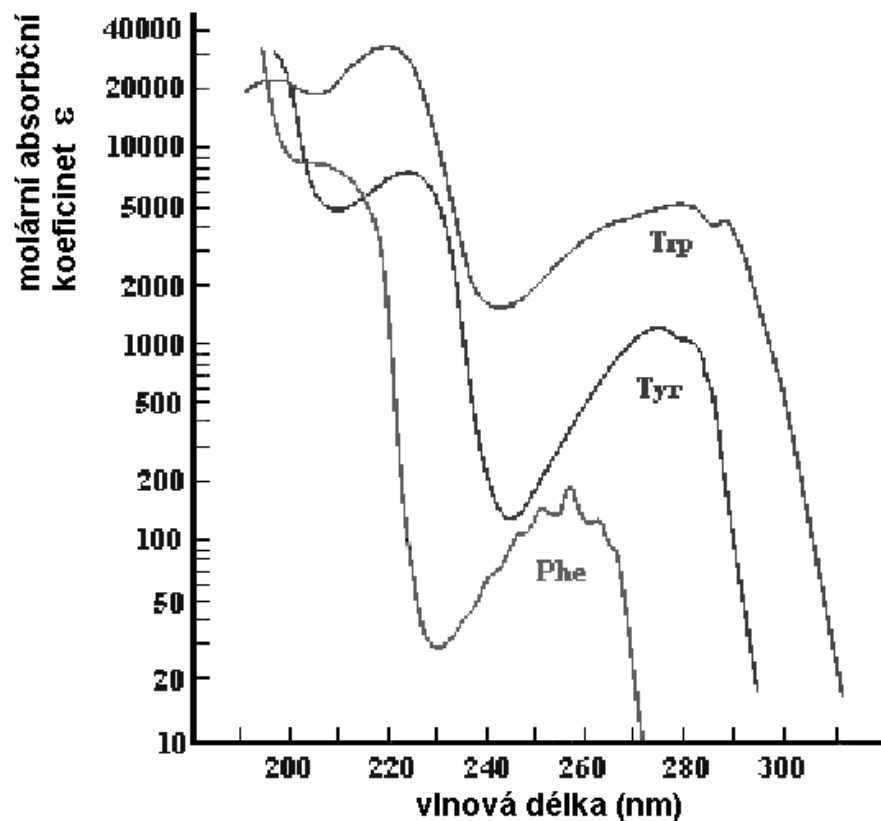


- AK lysin a arginin mají volnou aminoskupinu, která může protonizovat:



- 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-).



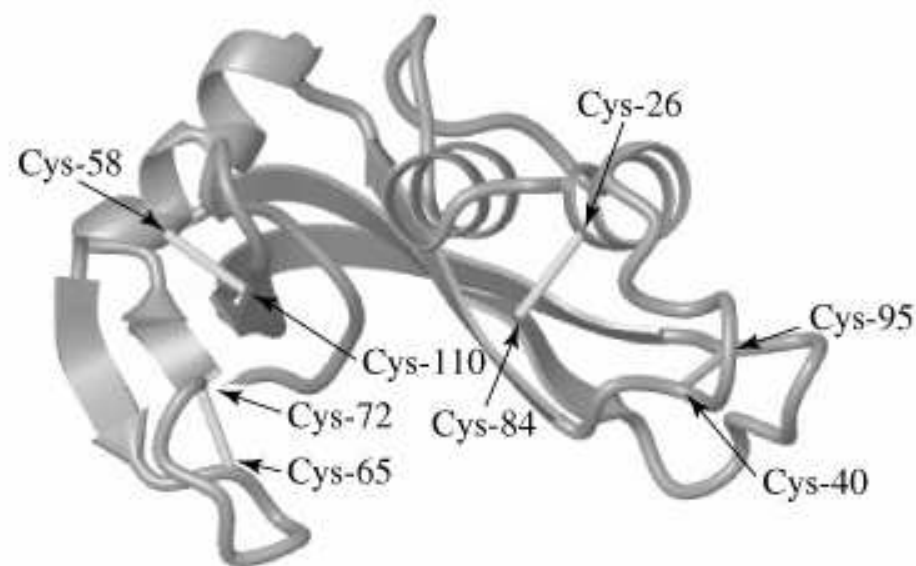


## Absorpce volných aromatických AK v UV oblasti

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



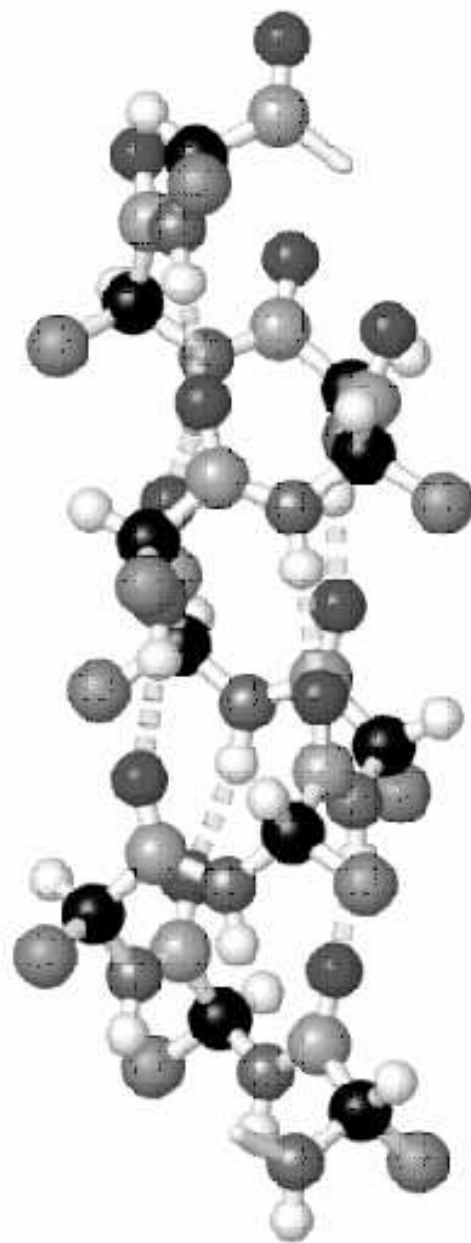
# Chemické složení bílkovin:

Dělení dle výsledku hydrolýzy:

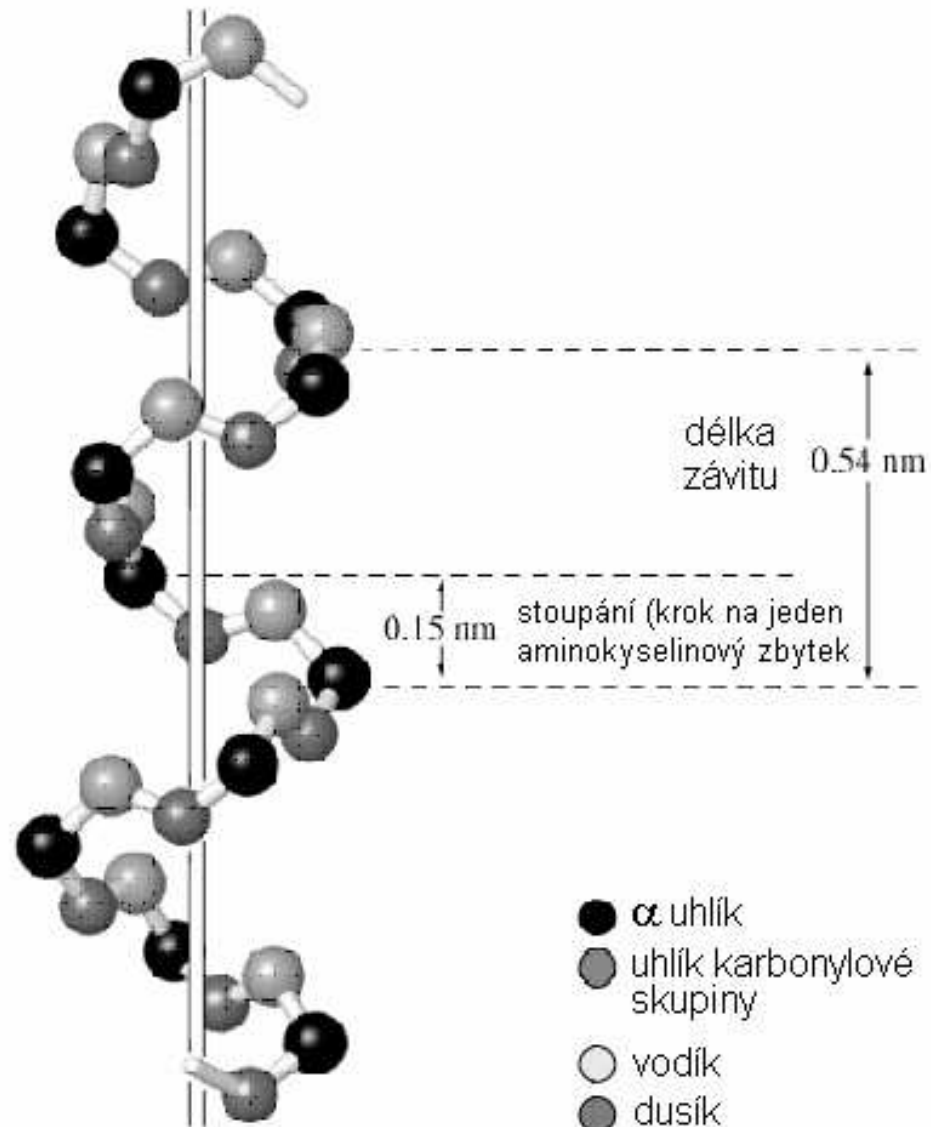
- Jednoduché (v hydrolyzátu jsou jen AK)
- Složené (v hydrolyzátu nejsou jen AK)
  - Nukleoproteiny
  - Hemoproteiny
  - Flavoproteiny
  - Metaloproteiny
  - Lipoproteiny

# Struktura bílkovin

- **Primární** (sled kovalentně vázaných AK zbytků)
- **Sekundární** (vzájemné prostorové uspořádání sousedních článků polypeptidového řetězce – dáno především vodíkovými vazbami)
  - $\alpha$ -helix
  - $\beta$ -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



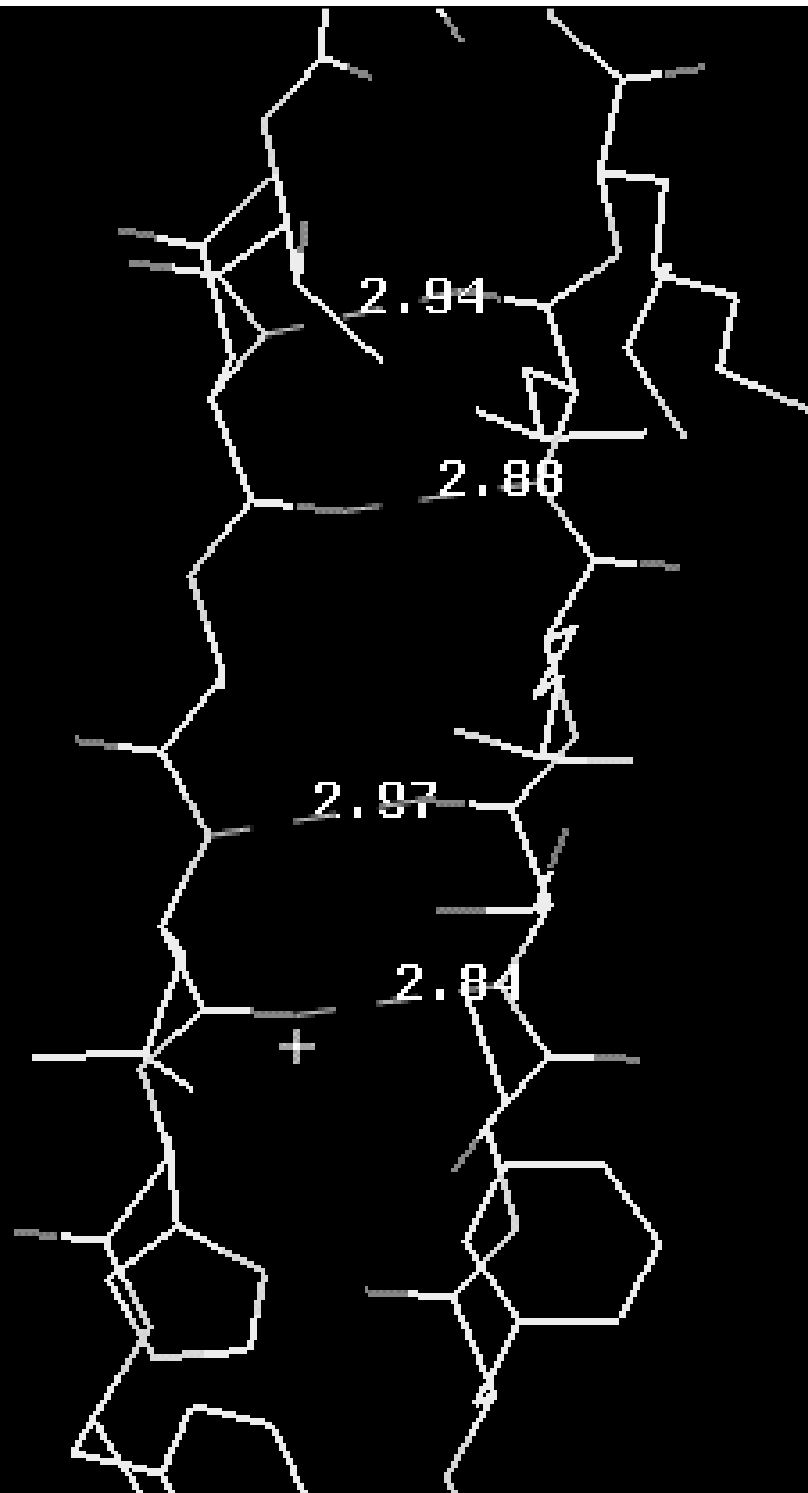
pravotočivá  $\alpha$  šroubovice



osa

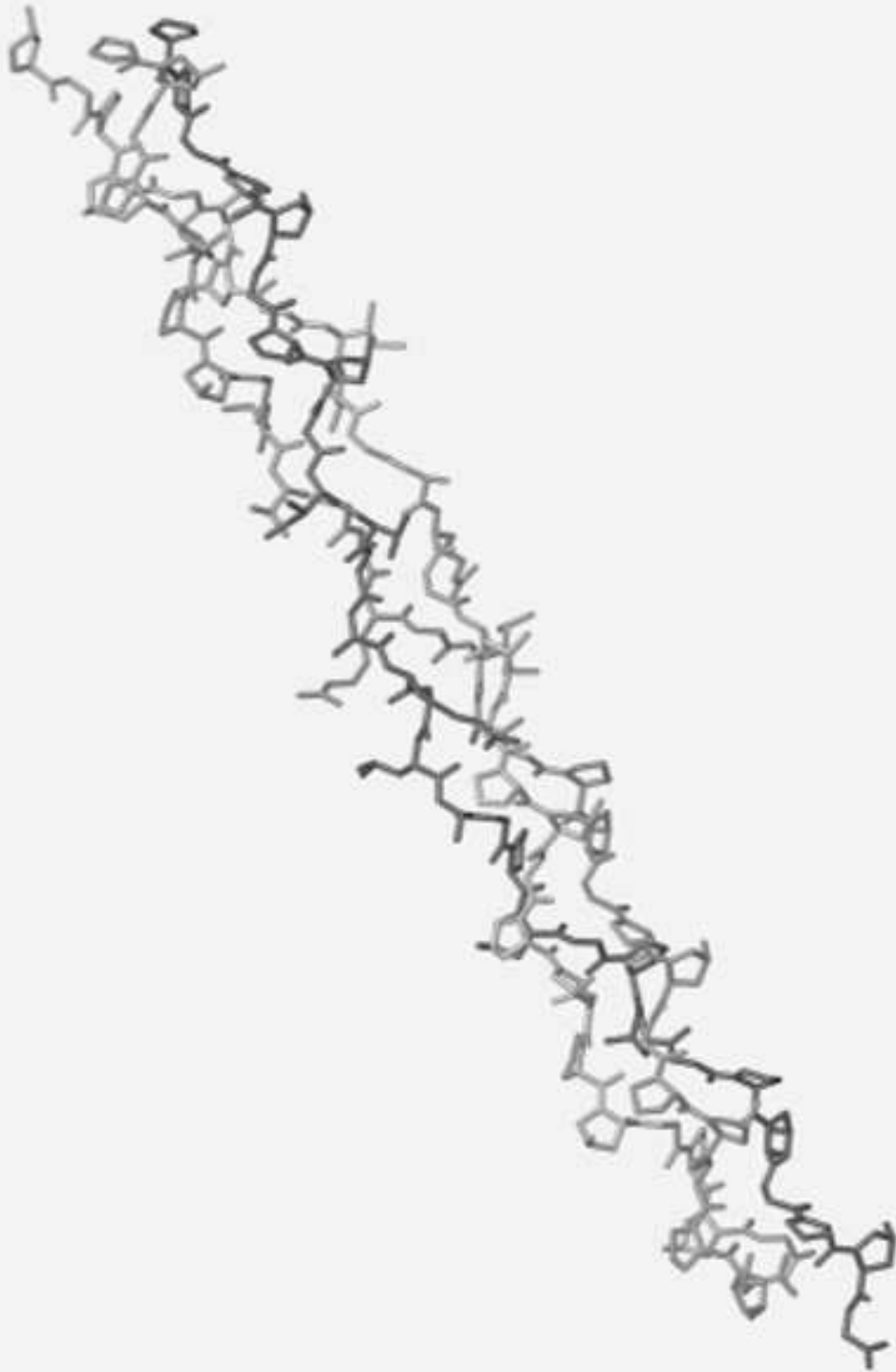
- $\alpha$  uhlík
- uhlík karbonylové skupiny
- vodík
- dusík
- kyslík
- vedlejší řetězec

•Podle: [http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media\\_portfolio/text\\_images/FG04\\_10.JPG](http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG04_10.JPG)



$\beta$ -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](http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG04_34.JPG)

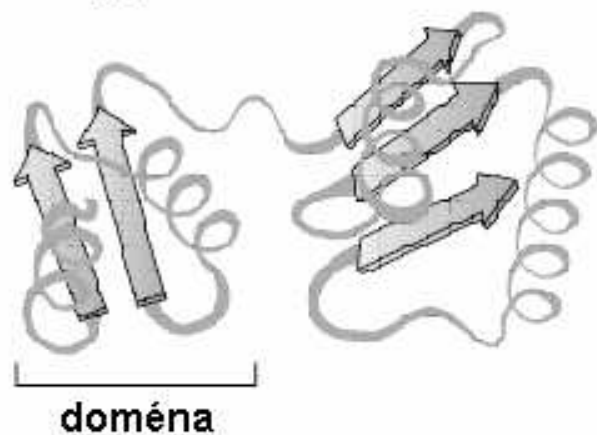
**(a) primární struktura**

–Ala–Glu–Val–Thr–Asp–Pro–Gly–

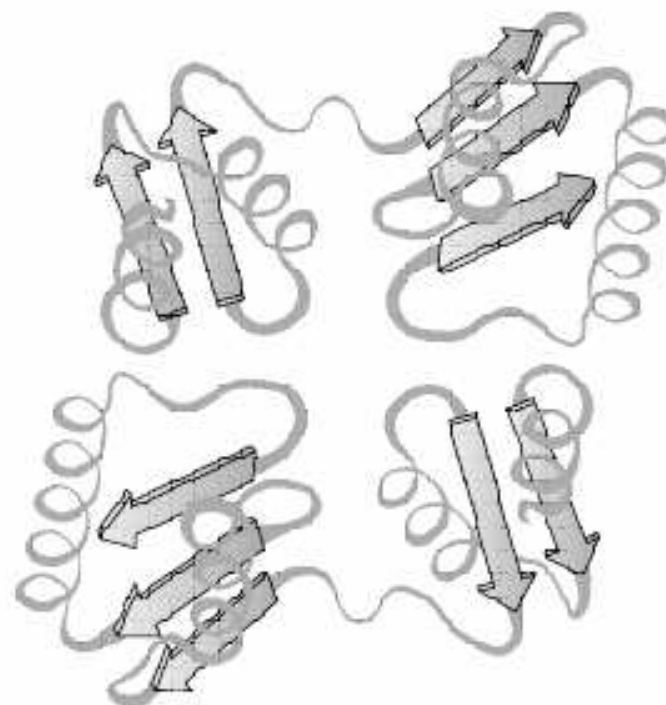
**(b) sekundární struktura**



**(c) terciární struktura**



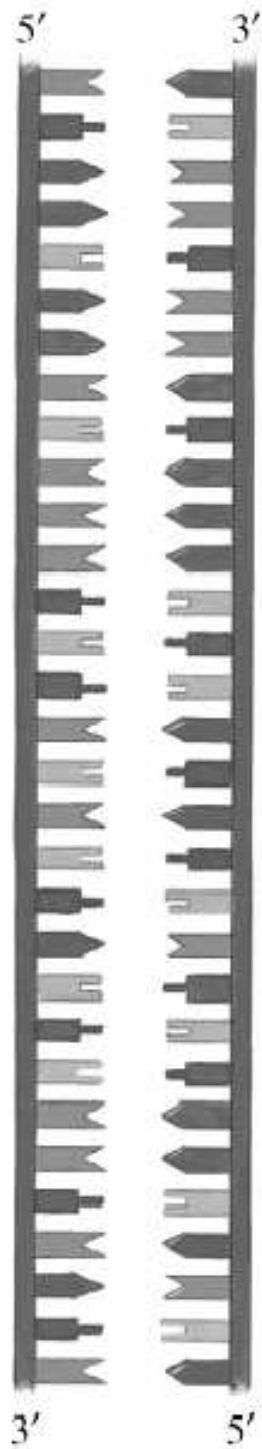
**(d) kvartérní struktura**



# Struktura nukleových kyselin

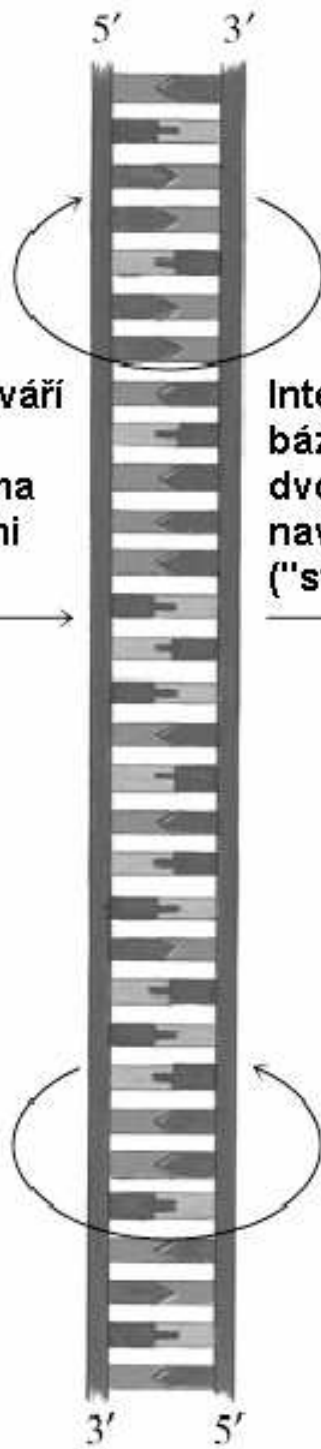
- Mononukleotidy tvoří:
  - Dusíkaté báze pyrimidinové (C, U, T) a purinové (A, G)
  - Cukr (ribóza, deoxyribóza)
  - Zbytek kyseliny fosforečné
- DNA: až statisíce podjednotek. M.h.  $10^7 - 10^{12}$
- RNA:
  - Informační (mediátorová, messenger)
  - Přenosová (transferová)
  - Ribosomální
  - (Virová)





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")

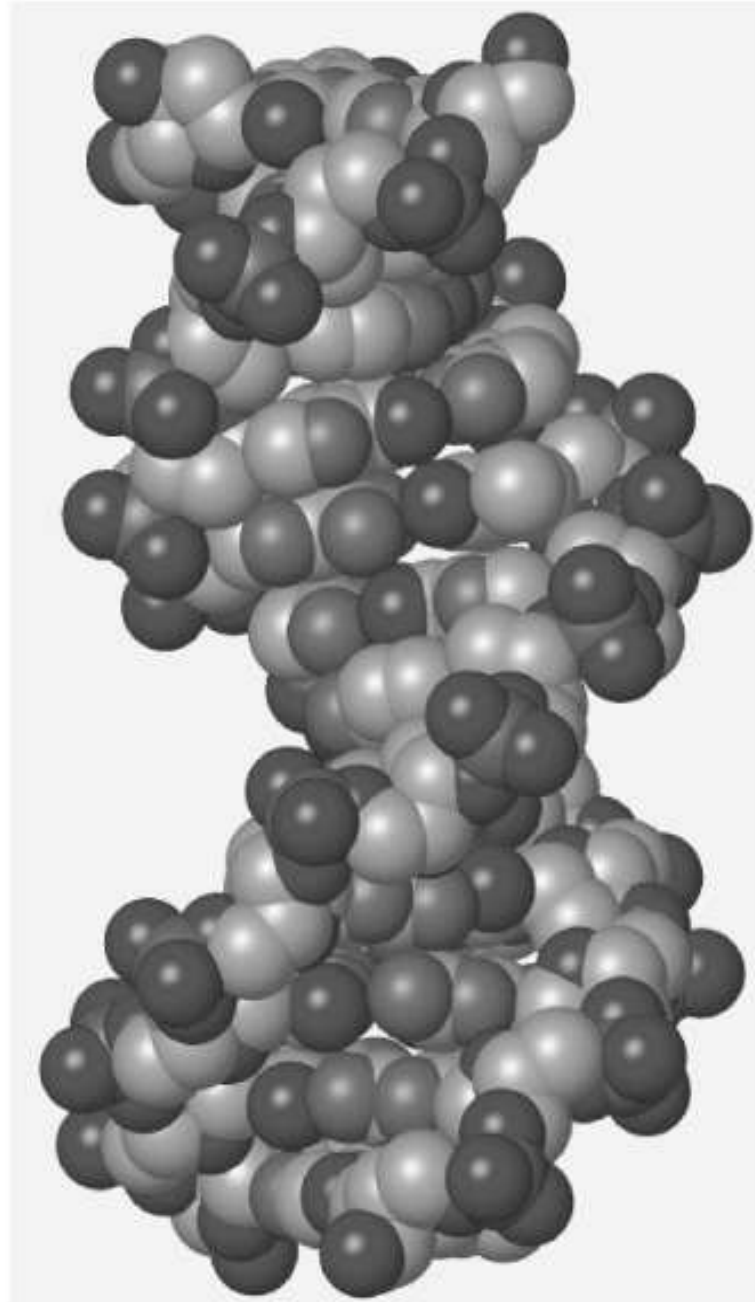


•[http://cwx.prenhall.com/horton/media\\_portfolio/text\\_images/FG19\\_13\\_90035.JPG](http://cwx.prenhall.com/horton/media_portfolio/text_images/FG19_13_90035.JPG)

(a)



(b)

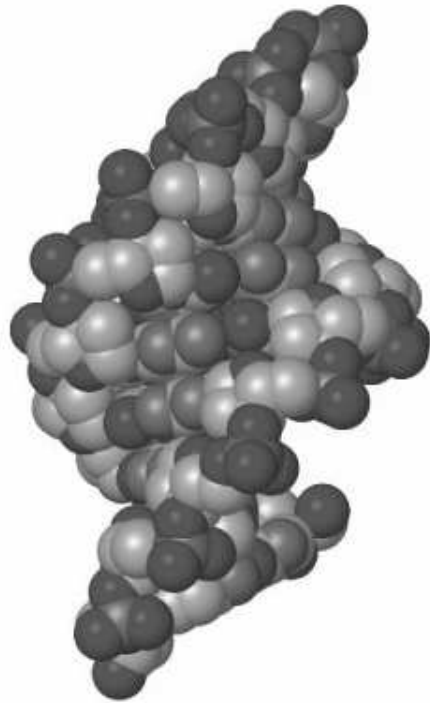


## B-DNA

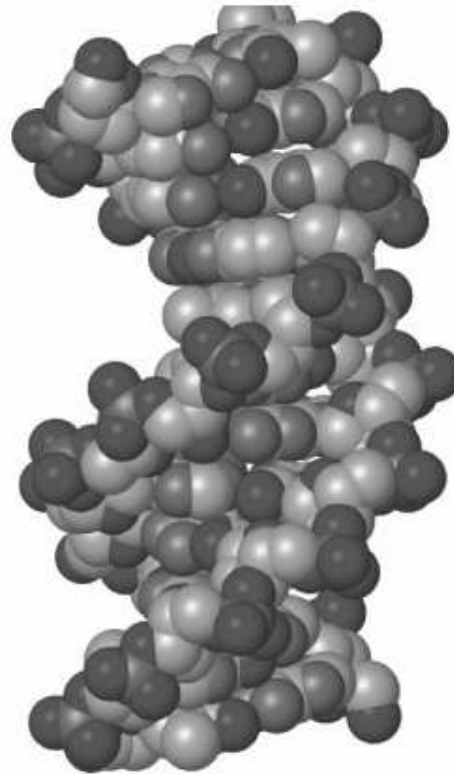
[http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media\\_portfolio/text\\_images/FG19\\_15aC.JPG](http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_15aC.JPG)  
G

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

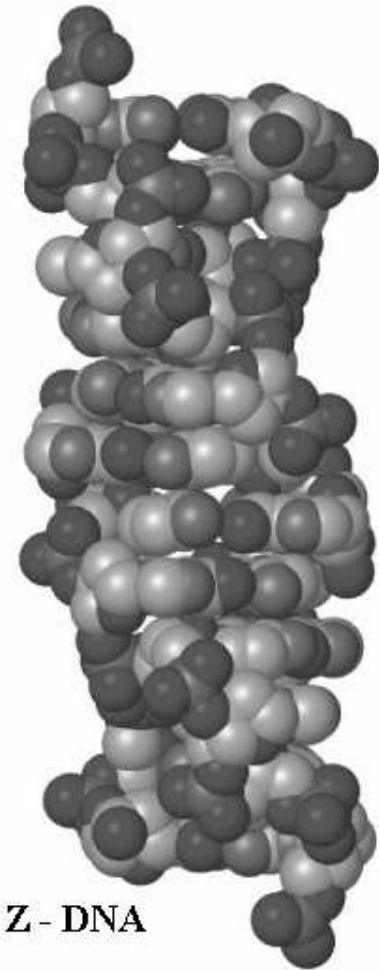
A - DNA



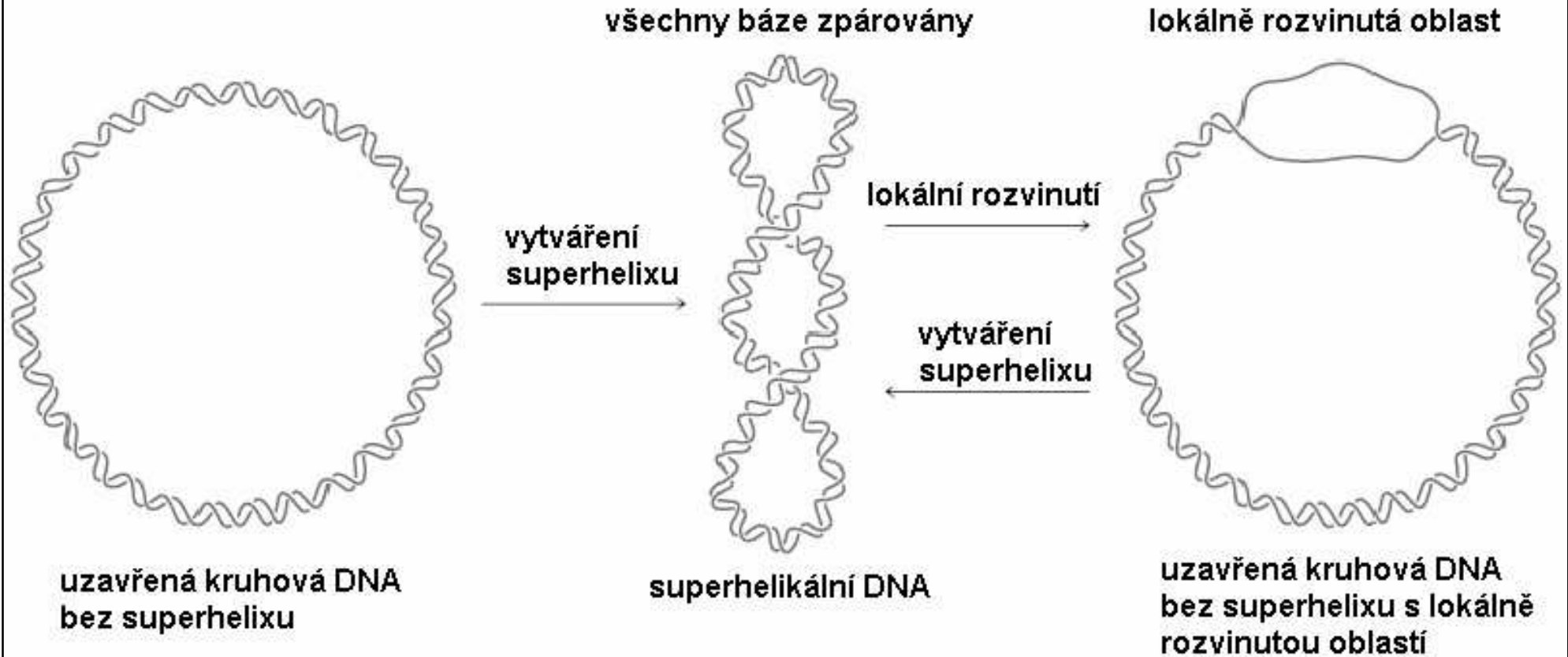
B - DNA



Z - DNA

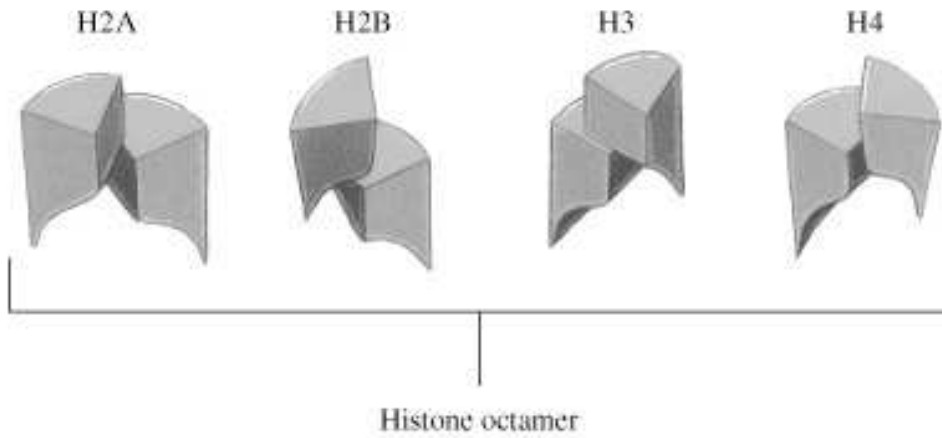


# Superhelikální struktura cirkulární DNA

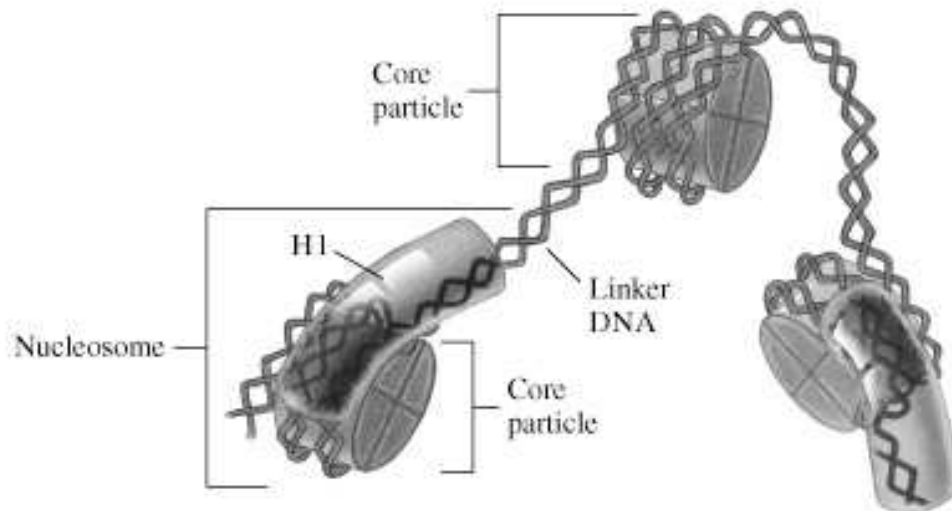


•Podle [http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media\\_portfolio/text\\_images/FG19\\_191C.JPG](http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_191C.JPG)

(a)



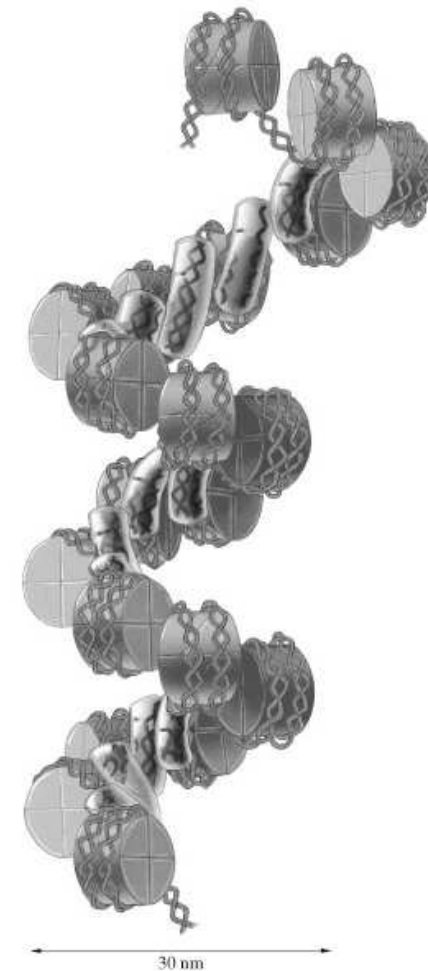
(b)

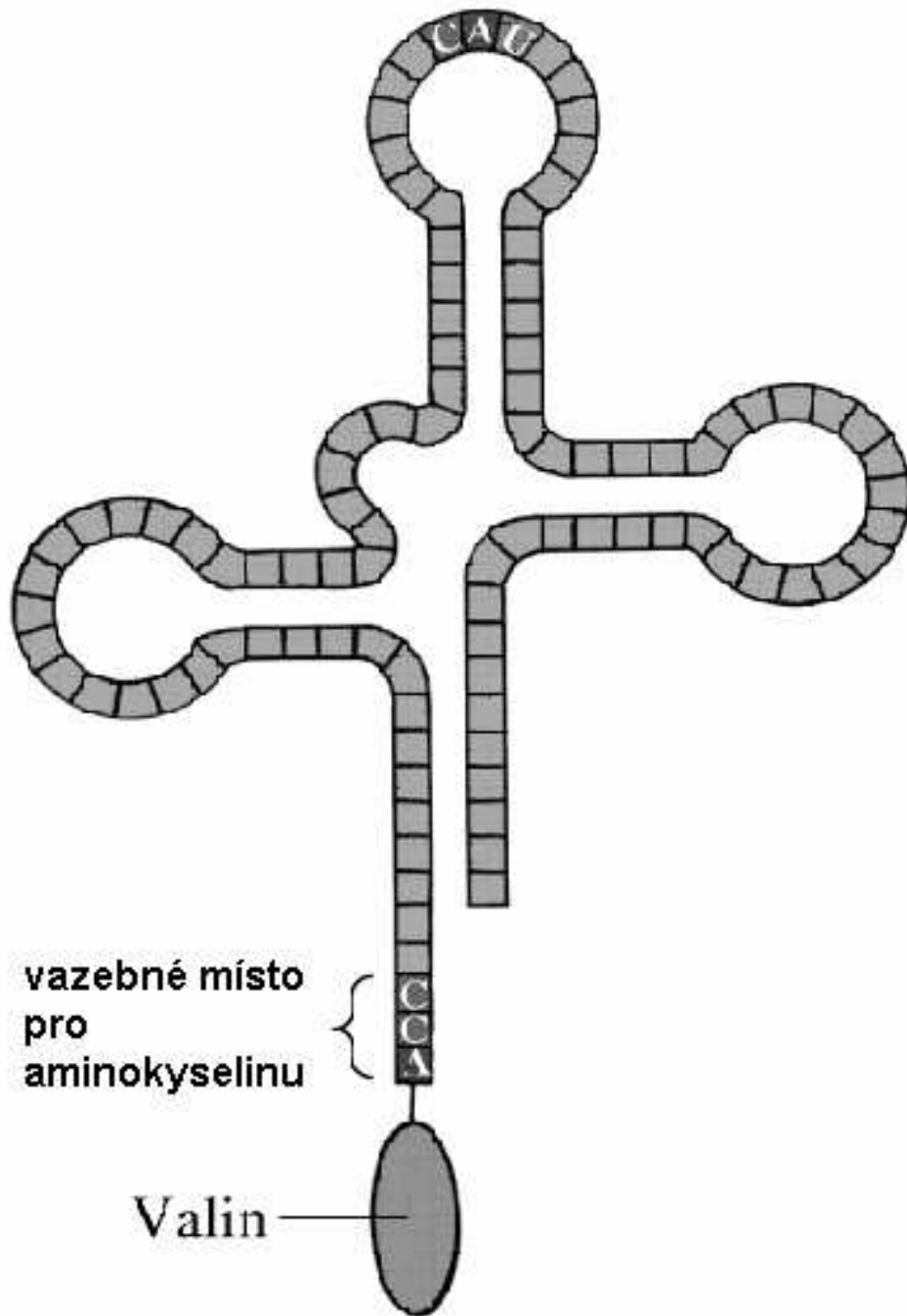


# Struktura chromatinu

[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_23_00742.JPG),

[http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media\\_portfolio/text\\_images/FG19\\_25\\_00744.JPG](http://cwx.prenhall.com/horton/medialib/media_portfolio/text_images/FG19_25_00744.JPG)

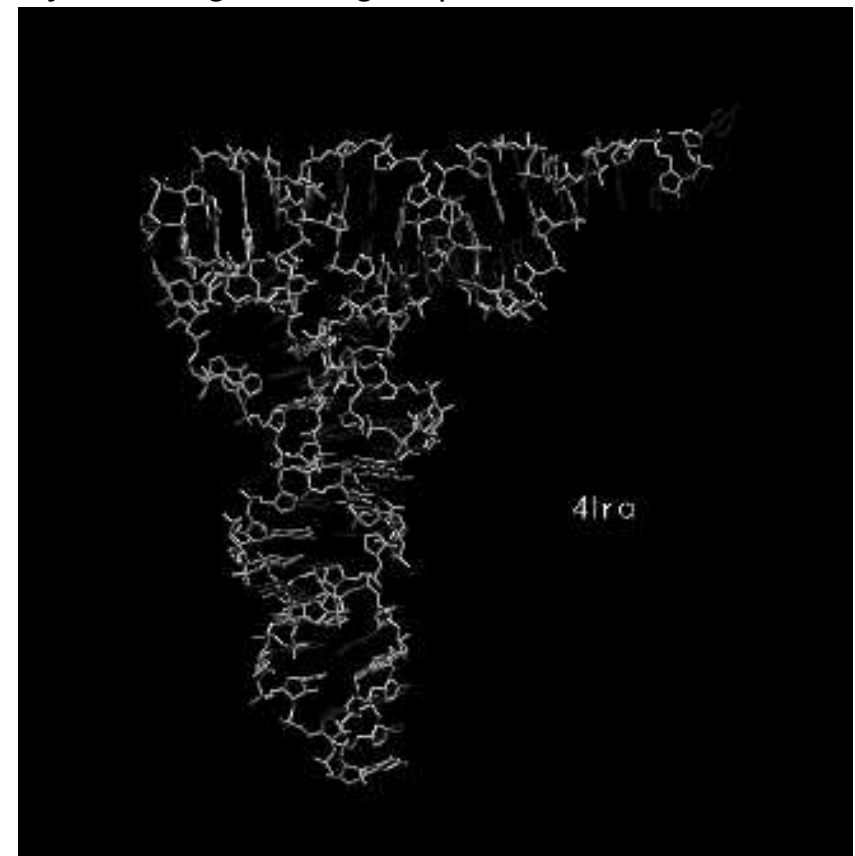


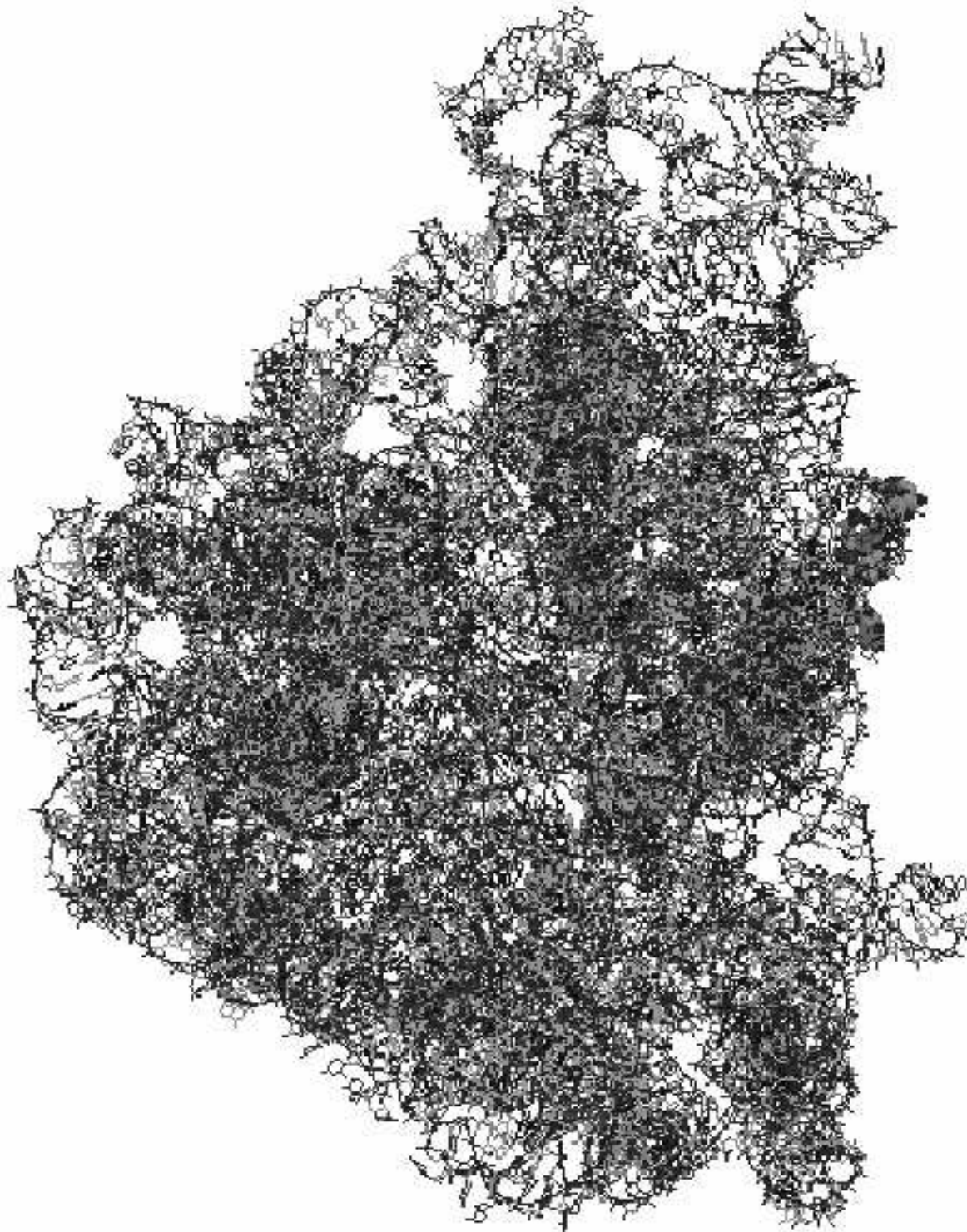


- Transferová RNA – schematický model

- t-RNA z kvasnic

- [http://cwx.prenhall.com/bookbind/pubbooks/hilchem3/medialib/media\\_portfolio/text\\_images/CH23/FG23\\_14.JPG](http://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%20Nail%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)

