

C4182

Biochemie II

02-Nukleové kyseliny a proteosyntéza

FRVŠ **1647/2012**

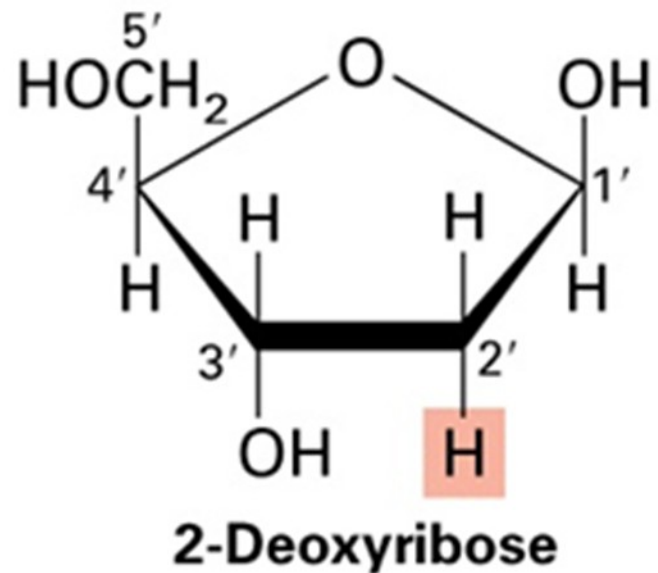
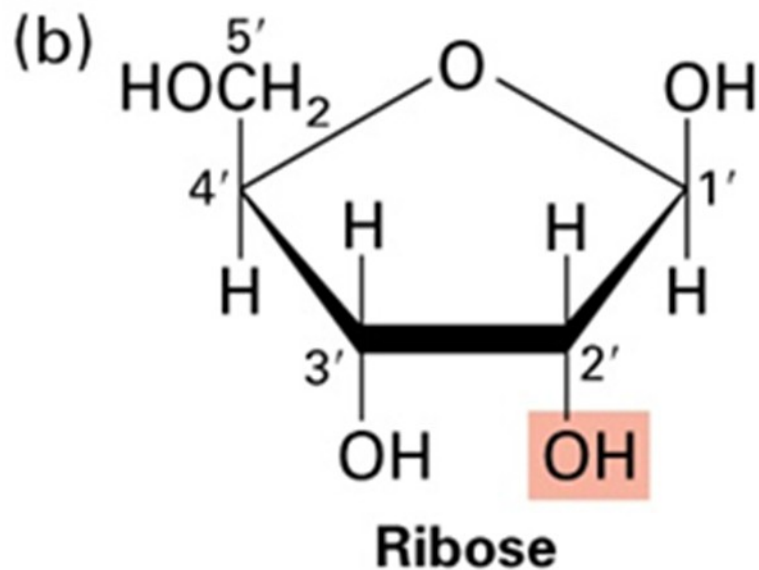
Obsah

- Struktura nukleových kyselin, stavební kameny.
- Báze a jejich tautomerní formy, nukleosidy, nukleotidy
- DNA, RNA a její typy, jejich primární a sekundární struktury, komplementarita bazí.
- Eukaryontní a prokaryontní genom.
- Metody studia. Denaturace a renaturace DNA, hybridní struktury, chemické metody stanovení sekvence DNA (Maxam-Gilbertova metoda).

Složení nukleových kyselin

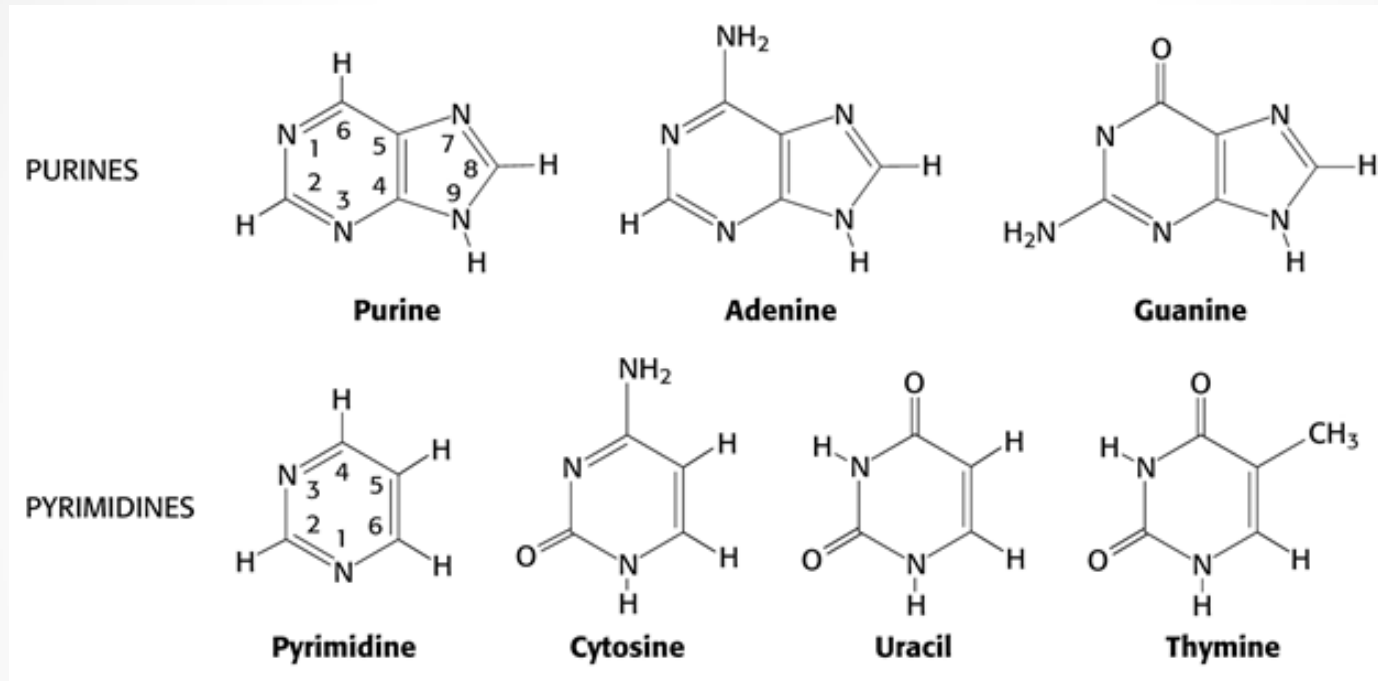
- Stavební kameny
 - Dusíkaté báze – purinové, pyrimidinové
 - Sacharid - pentosy ribosa, deoxyribosa
 - H_3PO_4
- Struktura
 - Báze + monosacharid = (d)Nukleosid
 - (d)Nukleosid + 5'-fosfát = (d)Nukleotid
 - (d)Nukleosid – di a trifosfáty
-

Pentosy



- Číslování pozic

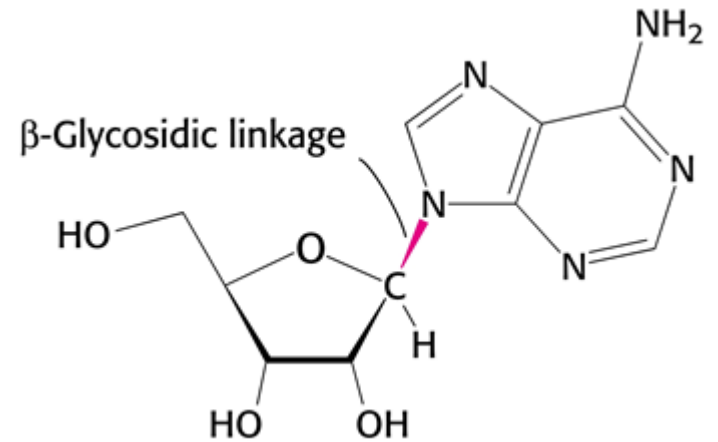
Báze - deriváty purinu a pyrimidinu



- Číslování pozic
- Vyskytují se 4 báze
 - 2 purinové a 2 pyrimidinové
 - alternují uracil (obsažen v DNA, nikoli v RNA) a thymin (naopak)
 - Další sporadicky se vyskytující báze

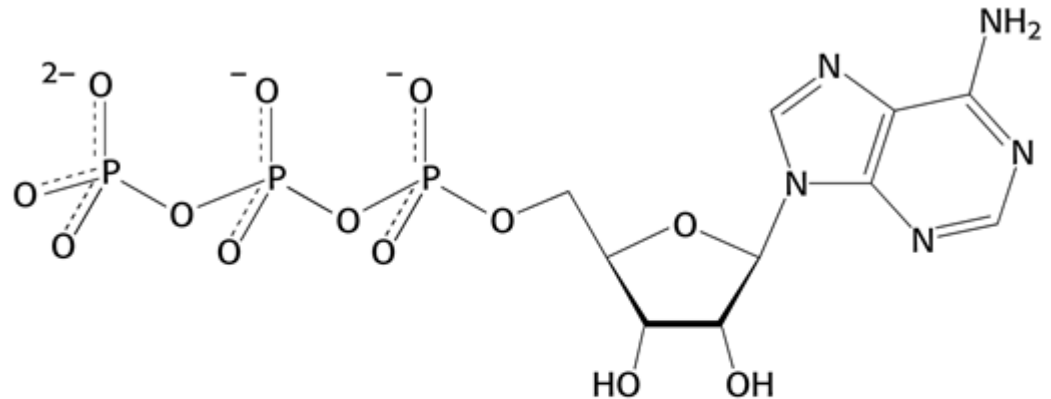
Nukleosidy

- N-glykosidy
- Nomenklatura
 - Adenosin, guanosin
 - Cytidin, thymidin, uridin
 - Ev. deoxy-



Nukleotidy

- Fosfátový ester na C₅,
- Nomenklatura – (d)Nukleosid(mono)fosfáty
 - AMP, GMP
 - CMP, TMP, UMP
- Další fosforylace
 - anhydridy
 - (d)Nukleosiddifosfáty
 - (d)Nukleositrifosfáty

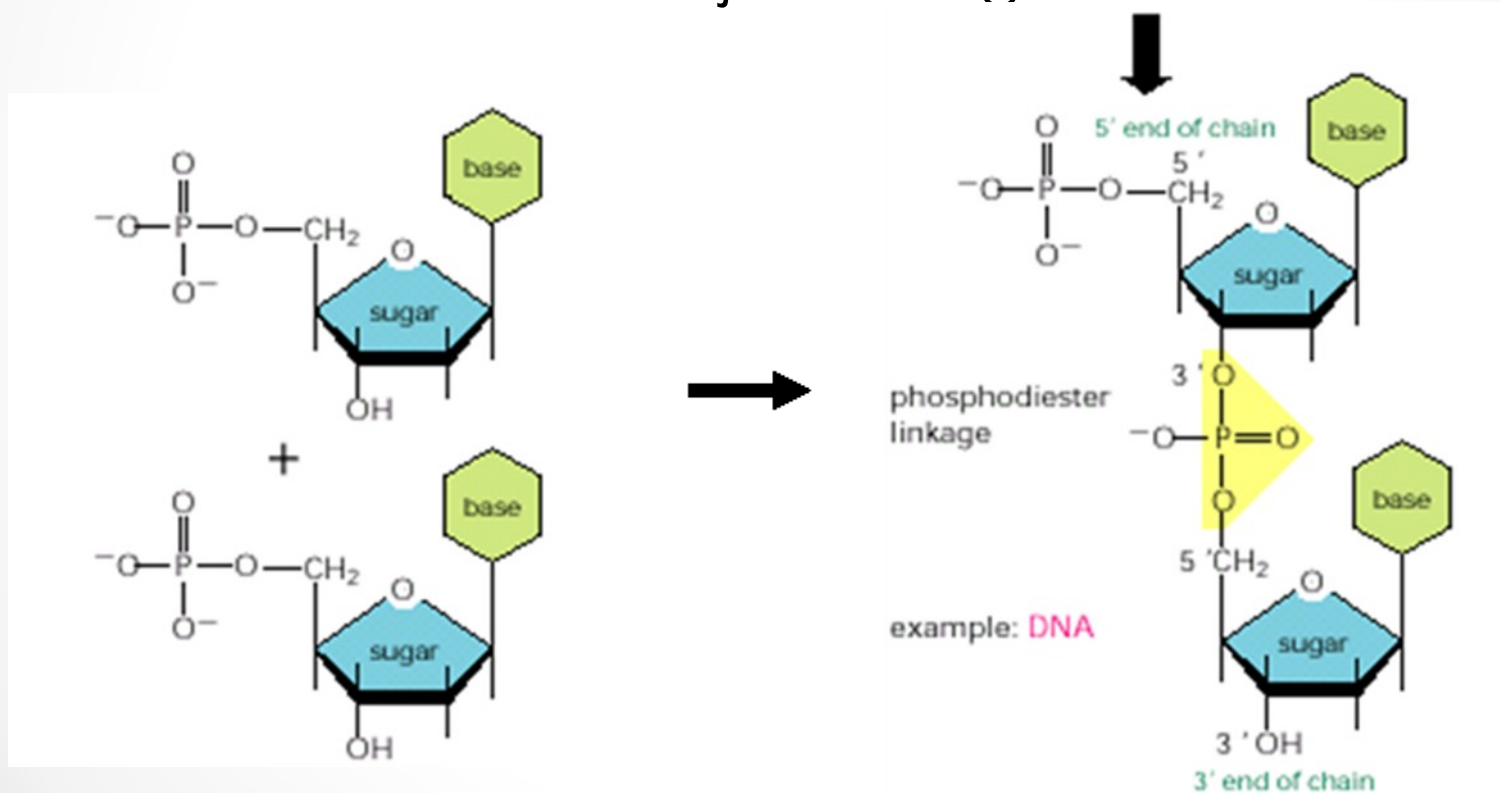


Oligo- a polynukleotidy

- Spojování nukleotidů
 - Fosfodiesterová vazba
 - Potřeba energie
- Sekvence nukleotidů – bazí
 - Primární struktura
 - Potřeba informace
- Směr čtení
 - 5' a 3' konce

Formální řetězení nukleotidů

- Fosfodiesterová vazba
- Skutečná reakce složitější – energie



Vyšší strukturní úrovně

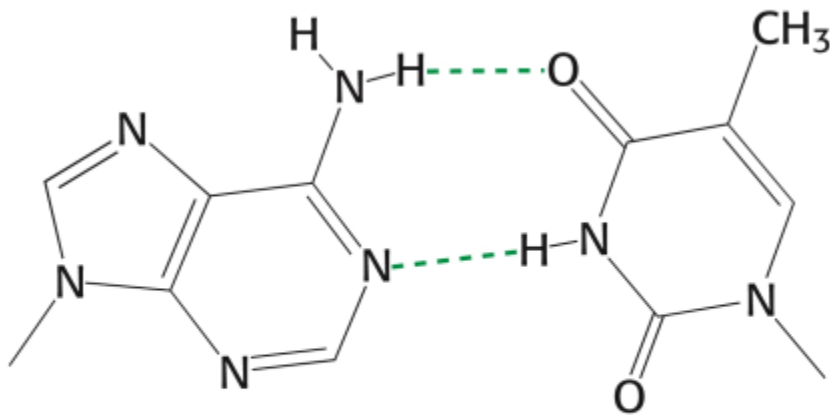
- Odlišnost DNA a RNA
 - Vývojové aspekty - RNA svět
 - Stabilita DNA
- Chemické složení
 - Deoxyribosa x ribosa
 - Thymin x uracil
- Velikost molekuly
 - RNA relativně malé proti DNA
 - Výjimka RNA viry
- Složitost struktury
 - DNA povšechně dimer

Struktura DNA

- Etapy
- Chragaffova pravidla – poměr bazí v DNA
 $A+G=T+C$ $A=T$ $G=C$ $A+C=G+T$
- J. Donohue – báze v tautomerních ketoformách
- R. Franklinová – RTG difrakční analýza
- J. Watson, F. Crick (1953) – dvojšroubovice

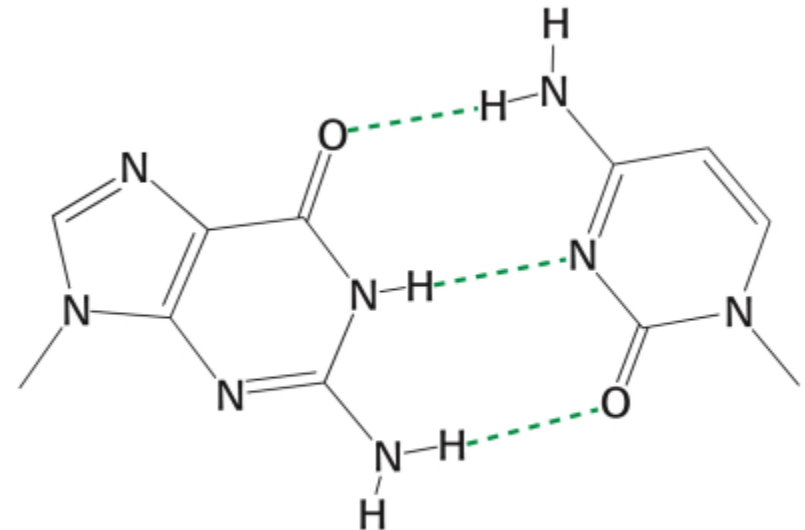
Struktura DNA

- Komplementarita bazí
 - Energeticky výhodné párování
 - H-můstky 2 u A-T, 3 u G-C
 - Nemí zcela automatické



Adenine (A)

Thymine (T)

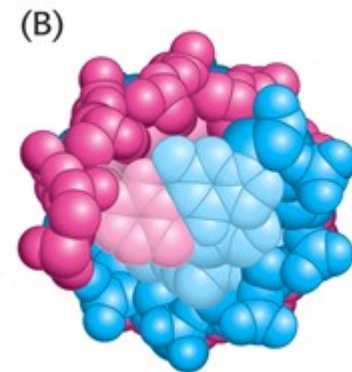
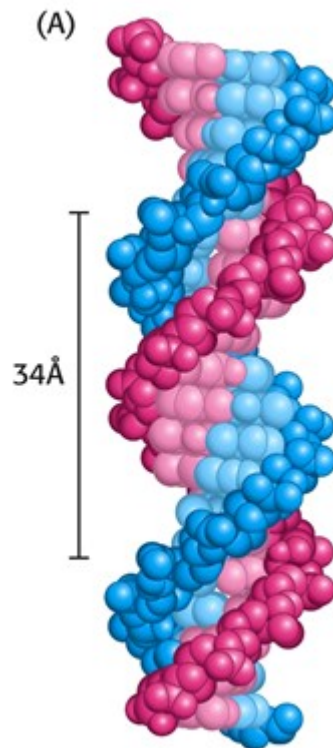


Guanine (G)

Cytosine (C)

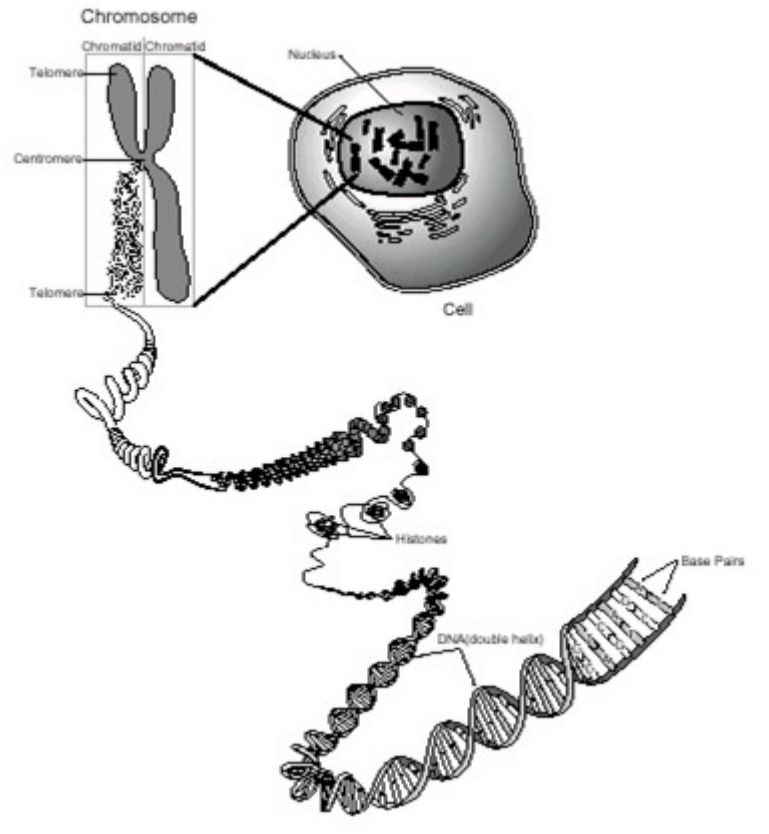
Struktura DNA

- Sekundární struktura
 - Šroubovice
- Vlákňité molekuly
- Dimer
 - Antiparalelní
 - Malý a velký zárez
- Jiné typy šroubovic



Struktura DNA

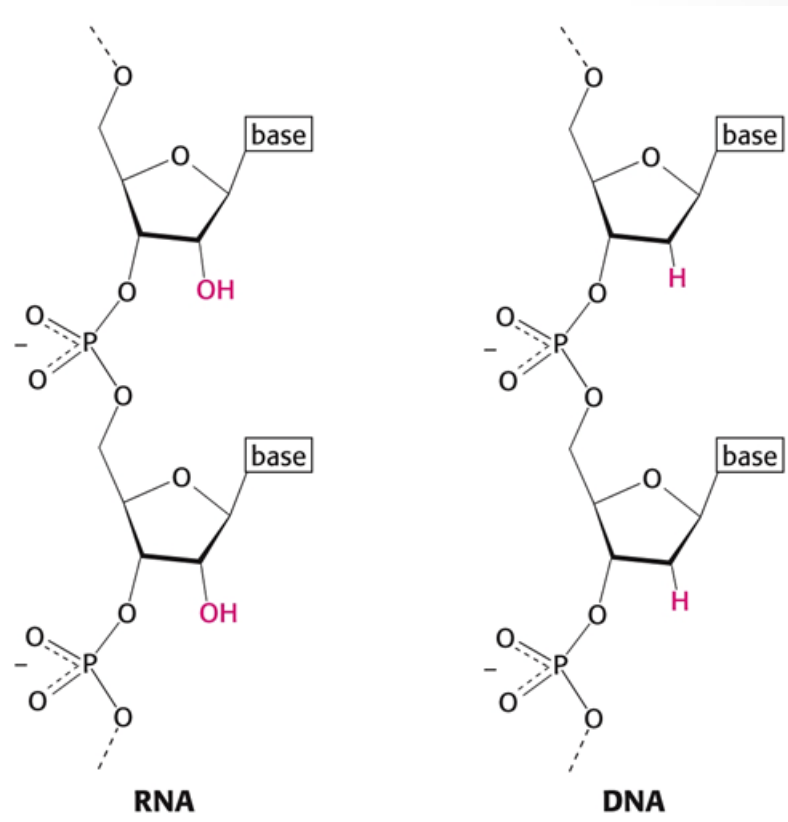
- Poskládání molekuly DNA u eukaryontů
 - Úloha histonů
 - Bazicita x fosfáty



Struktura RNA

- Všeobecně jednovláknová
 - Výjimka některé viry

- Srovnání RNA s DNA



Formy RNA

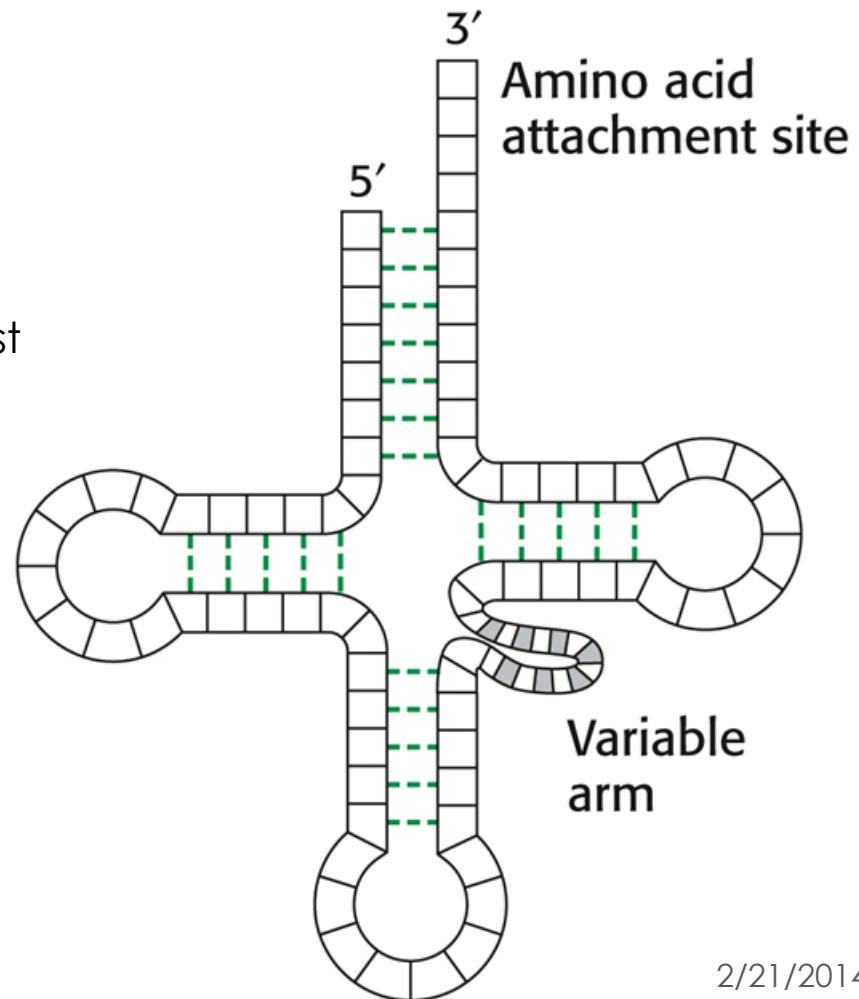
- mRNA
 - mediátorová, messenger
 - informační – 5-10 %
- rRNA
 - ribosomální – 80 %
- tRNA
 - transferová, přenosová – 10-15 %
 - 60 tRNA

TABLE 5.2 RNA molecules in *E. coli*

Type	Relative amount (%)	Sedimentation coefficient (S)	Mass (kd)	Number of nucleotides
Ribosomal RNA (rRNA)	80	23	1.2×10^3	3700
		16	0.55×10^3	1700
		5	3.6×10^1	120
Transfer RNA (tRNA)	15	4	2.5×10^1	75
Messenger RNA (mRNA)	5		Heterogeneous	

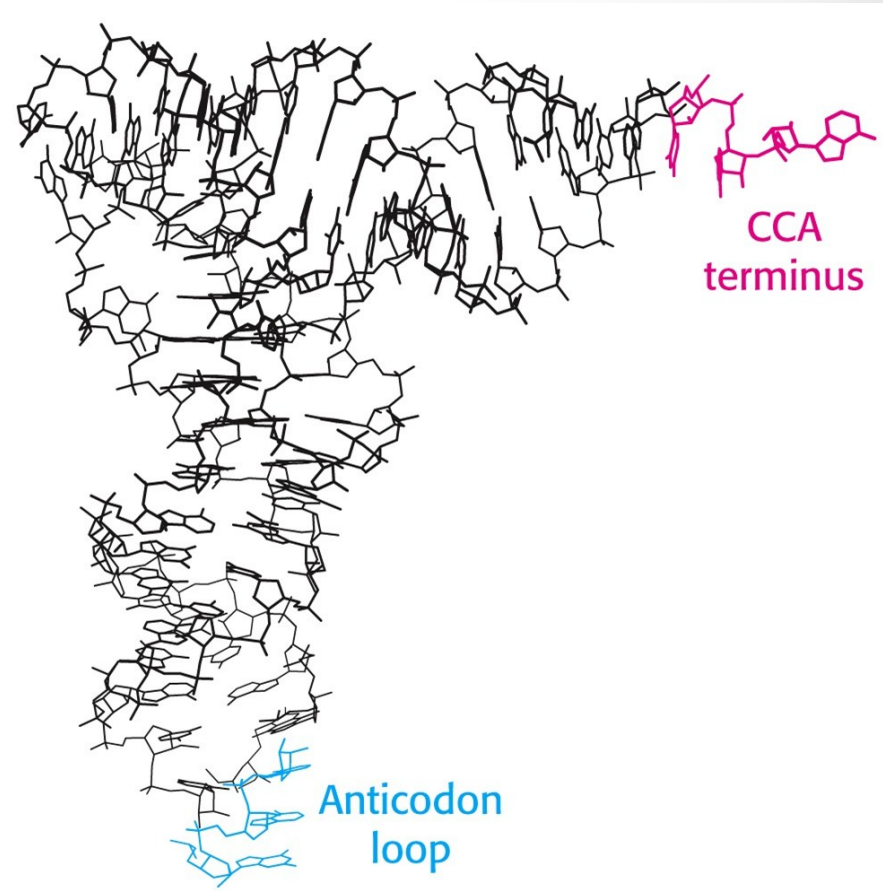
Struktura t-RNA

- Projekce do roviny
 - Jetelový list
- Typické úseky
 - Otevřené rameno
 - Antikodonové rameno
 - Variabilní – rozlišovací vl.astnost
 - Neobvyklé nukleotidy
 - Vysoká specifická



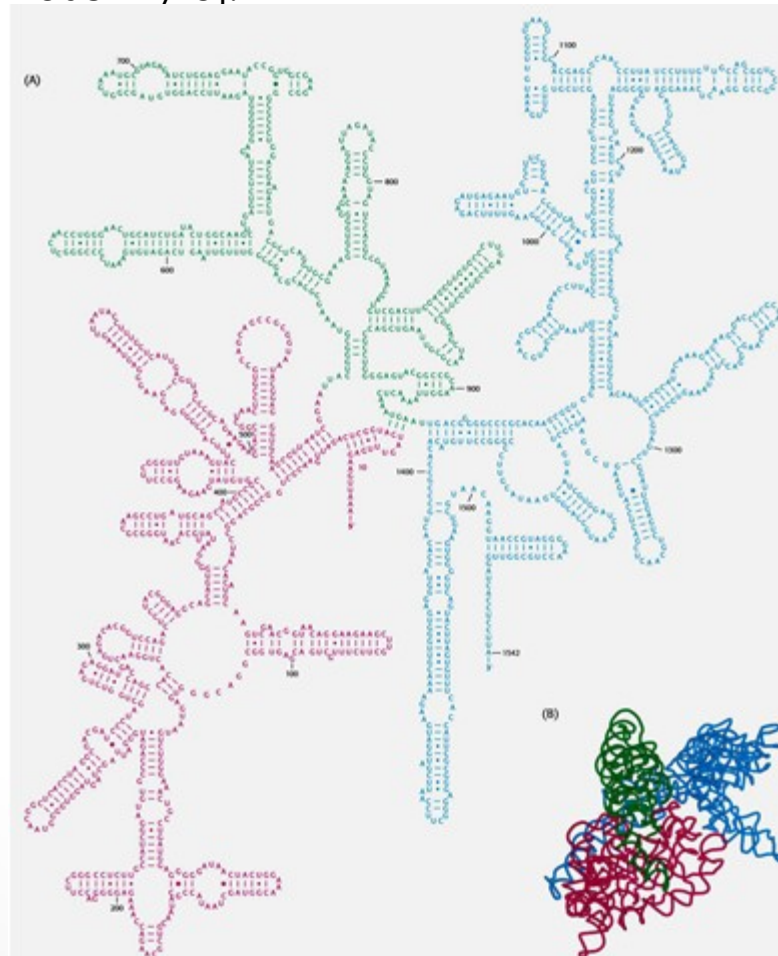
Struktura t-RNA

- Prostorová projekce
- Typické úseky
 - Otevřené rameno
 - Antikodonové rameno



Struktura rRNA

- Jednovláknno s množstvím komplementárních úseků
 - Typické struktury – vlásenky aj.



Denaturace a renaturace DNA

- Oddělování bazí – zánik H-můstků – vliv T
 - Světelná absorpce vyšší u oddělených bazí, interakce ji snižuje
 - Sledování procesu oddělování bazí - řetězců
- Vratný proces
 - Hybridizace řetězců
 - Nástroj studia – homologie
 - Metody – PCR, genové inženýrství aj.
 - Podle stupně oddělení

Denaturace a renaturace DNA

- Spektra DNA
- Proces denaturace DNA

