



BIOFYZIKÁLNÍ CHEMIE I

Část 1

Libuše Trnková



Téma

- Strategie a taktika biofyzikální chemie
- Zvláštnosti živých organismů
- Význam nekovalentních interakcí (NI) pro biologické systémy a jejich popis
- Elektrostatické interakce
- Vodíková vazba a význam ve struktuře biomolekul
- Charakterizace strukturální úrovně biomolekul
- Modelování vdW interakce
- Lennard-Jonesův potenciál
- Peptidová vazba (aminokyseliny)
- Ramachandrovův diagram proteinů

Biofyzikální chemie

Interdisciplinární obor

fyzikální chemie biologických soustav - strategie mezi

- biofyzikou (termodynamika, bioenergetika)
- biochemií (kinetika a farmakokinetika)
- analytickou chemií (struktura a způsob detekce)
- bioelektrochemií (redox, ET, senzory)
- bioinformatikou (statistika, zpracování velkého množství dat)

- Vnáší do obrovského souboru poznatků o živých soustavách řád
- Umožňuje hlubší pochopení jejich souvislostí
- Dává všeobecný pohled na biologii
- Udává taktiku a strategii ve výzkumu biologicky významných molekul
- Řeší kvalitativní a kvantitativní problémy v biologických a biochemických laboratořích
- Teoretická biochemie (?)



Zvláštnosti živých organismů

- patří do otevřených systémů (TD hledisko)
- enzymová (fermentativní) katalýza
- tvorba bioelektrických potenciálů (nerovnoměrné rozdělení iontů)
- vzájemnost biologických struktur a chemických reakcí
- tvorba vysokých koncentrací volných radikálů a silně excitovaných molekul, které vyvolávají řadu specifických procesů
- struktura a biologická účinnost

Význam nekovalentních interakcí (NI) pro biologické systémy

Chemie - existence of kapalin

Fyzika - existence of molekulárních krystalů

Biologie - dominantní

je těžké najít biologický proces, kde NI nehrají důležitou roli)

- nutná podmínka života
- molekulární rozpoznávání
- struktura a funkce makromolekul (DNA, proteiny and jejich komplexy)

- Zázrak biologických systémů - biopolymery tvoří **základní strukturní i funkční aparát složitých biologických systémů**
- V podstatě jednoduchá lineární struktura (jednorozměrná) je svinuta do prostorové (trojrozměrné) struktury – o svinutí do správné 3D struktury rozhodují o tom
- slabé meziatomové interakce nekovalentní podoby
 - intermolekulární
 - intramolekulární



Význam NI pro biologické systémy

- Zázrak biologických systémů – **přenos informace**
 - genetická informace:** DNA ► RNA ► protein, rozhodující role párování komplementárních bází prostřednictvím vodíkových vazeb
 - mezibuněčná informace:** hormony či molekulární modulátory (např. neurotransmitery) ► receptory, rozhoduje o tom komplex nekovalentních interakcí
- Základ některých jevů – **imunita**
 - rozhoduje dokonalé rozpoznání doplňkových struktur
 - partnerství antigen - protilátka

Význam nekovalentních interakcí pro biologické systémy

- Zázrak biologických systémů – **enzymová katalýza**
 - ♠ urychlení reakce (enzymy jako biopolymerní katalyzátory urychlují reakce i o mnoho řádů)
 - ♠ vysoká účinnost
 - ♠ substrátová specificita (výběr substrátu)
 - ♠ specificita účinku (řízení reakce k jedinému produktu)
substrát (S)+ enzym (E) (aktivní místo, sled konformačních změn v enzymu využívající vazebné energie substrátu) rozhoduje soubor nekovalentních interakcí mezi S a E a uvnitř molekuly E

Význam NI pro biologické systémy



- Zázrak biologických systémů – vznik nadmolekulárních útvarů
 - ♠ bílkoviny s kvartérní strukturou
 - ♠ multienzymové jednotky
 - ♠ nukleosomové komplexy histonů s DNA
 - ♠ lipoproteinové částice
 - ♠ nadmolekulární útvary typu biomembrán



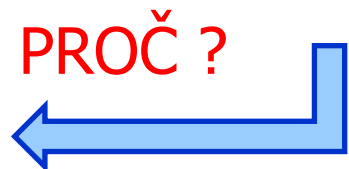
PROČ tak velký význam NI

Kovalentní vazba

- Vysoká vazebná energie (termodynamický aspekt)
- Vysoká aktivační energie (kinetický aspekt)
- NEVRATNÉ DĚJE

Nekovalentní vazba

- Požadavky na intra- a intermolekulové interakce i třeba s vysokou aktivační energií aby byly
- VRATNÉ DĚJE



PROTOŽE



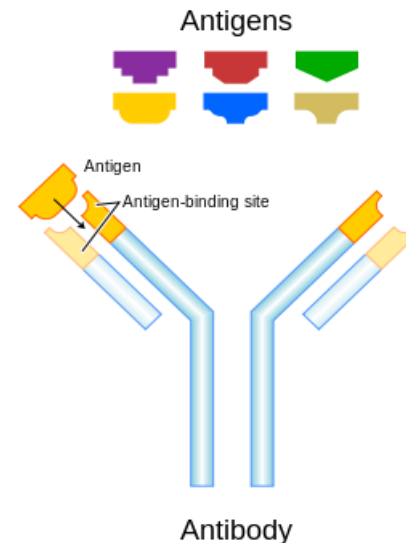
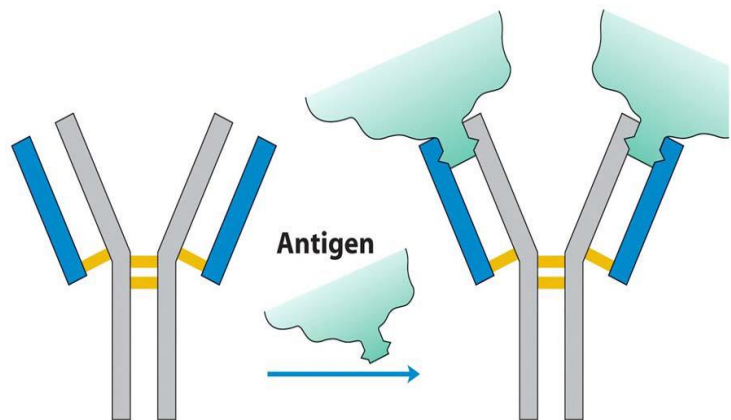
Význam NI pro vratné děje

PROTOŽE

- Vnitřní dynamika molekul biopolymerů (změna struktury → změna biol. aktivity s ohledem na vnější podmínky)
- **Oddělovat a znovu spojovat**
 - ♠ přenos genetické informace, hormon či neurotransmitter navázaný na receptor musí být schopen se zase oddělit, molekula na enzym se musí po přeměně na produkt oddělit)
 - ♠ součásti lipoproteinu jsou navzájem udržovány slabě, protože mají funkci transportní pro přenos nerozpustných lipidů krevním řečištěm;
 - ♠ histony mohou být v nukleosomech vázány jen takovou silou, aby bylo možné tyto komplexy „rozplést“ při replikaci a transkripci;
 - ♠ kvartérní struktura hemoglobinu nemůže být „natvrdo“ propojena kovalentními vazbami, protože při vazbě O₂ se prostorové stavby podjednotek mění (na rozdíl od imunoglobulinů)

Požadavky na sílu vazeb

- škála asociačních konstant je široká (10^4 až 10^{12})
- 10^4 slabá – vratná, 10^{12} silná – nevratná
- ač relativně slabé, mohou se kombinovat a energie vazeb se v hrubé aproximaci sčítají a hodnoty asociačních konstant násobí





Motto pro NI

- Not despite the weakness but because of weakness the noncovalent interactions play a key role in biodispciplines
- Ne přes slabosti, ale z důvodu slabosti nekovalentní interakce hrají klíčovou roli v bio-disciplínách



NI a J. Watson

On the role of noncovalent interactions in DNA

On the one hand, they should be strong enough to ensure the preferential binding but on the other hand they should be weak enough to allow disruption of bonding

NI a P. Hobza

NA musí plnit zdánlivě protichůdné podmínky, jako v pohádce o chytré horákyni: přijít ani ve dne, ani v noci, ani ustrojená, ani nahá, ani pěšky ani na voze.



Typy NI v živých organismech

Vodíková vazba

vazebná energie (kJ/mol)

- vodné prostředí (H_2O , led) $-\text{O}-\text{H} \cdots \cdots \text{O}=\text{C}$ 17
- u peptidových vazeb $=\text{N}-\text{H} \cdots \cdots \text{O}=\text{C}$ 15
- u neutrální a nabité skupině $-\text{COO}^- \cdots \cdots \text{HO}-\text{CH}_2-$ 15

Elektrostatické interakce

- ion-ion $-\text{COO}^- \cdots \cdots +\text{H}_3\text{N}-$ 20-30
- permanentních dipólů $-\text{C}^{\delta+}=\text{O}^{\delta-} \cdots \cdots \text{C}^{\delta+}=\text{O}^{\delta-}$ 2

Londonovy disperzní interakce

- mezi dvěma atomy C 0,11

Patrové interakce

- mezi dvěma aromatickými kruhy 6



Typy NI v živých organismech

Hydrofobní interakce

- mezi dvěma methylovými skupinami 1,2
- mezi dvěma postranními řetězci 6



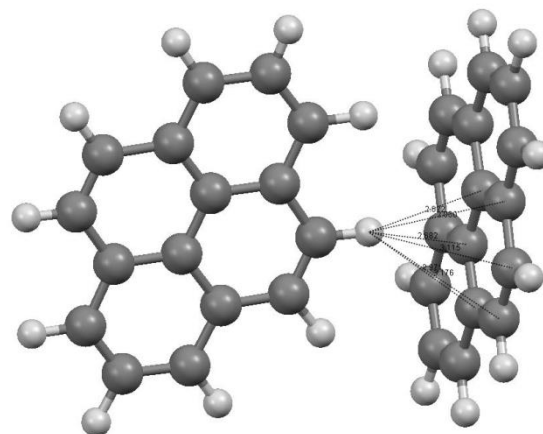
Charakterizace NI

- Elektrostatické (coulombické) interakce
- Vodíkové vazby
- van der Waalsovy interakce
 - ♠ permanentní dipól – permanentní dipól
 - ♠ permanentní dipól – indukovaný dipól
 - ♠ Londonovy disperzní síly (LDS)
 - ♠ patrové interakce ($\pi - \pi$ interakce)
- Hydrofobní interakce

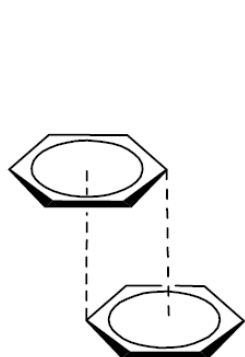
Interakce $\pi - \pi$

Geometrické motivy:

- Offset-face-to-face(OFF)
- Edge-to-face(EF)
- Face-to-face(FF)

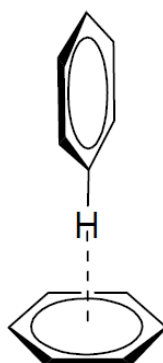


Sevzrůstající aromatickou plochou převládá OFF motiv (polycyklické aromáty)

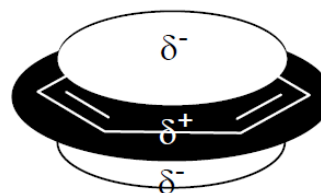


"face-to-face"

~0,35 nm



"edge-to-face"



kvadrupól benzenového jádra



Charakterizace NI

- problém rozlišení příspěvku NI
- neoznačovat jako nevazebné nebo slabé ?
- hledisko termodynamiky - Gibbsovy energie (interakce povahy enthalpické a entropické) $\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$
- hledisko síly interakce NI (jako funkce r^{-x})
 - $x \leq 3$ interakce dalekého dosahu
 - $x > 3$ interakce krátkého dosahu
- hledisko struktury biopolymeru – interakce lokální v polymerním řetězci (i a $i+1$) a interakce nelokální (kontaktní)

Přehled NI z přednášek doc. Kubáčka

Nekovalentní interakce - souhrn

Typ interakce	Příklad	Vazebná energie (kJ/mol)
vodíkové vazby: voda (led)	$-O-H \dots O=$	17
peptidové vazby	$=N-H \dots O=C$	15
mezi neutrální a nabitou skupinou	$-COO^- \dots HO-CH_2-$	15
elektrostatické interakce ion - ion	$-COO^- \dots ^+H_3N-$	20-30
interakce dvou permanentních dipólů	$C^{\delta+}=O^{\delta-} \dots C^{\delta+}=O^{\delta-} \dots$	2
Londonovy dispersní interakce	mezi dvěma alifatickými atomy C	0,11
patrové interakce	mezi dvěma aromatickými kruhy Phe	6
hydrofobní interakce	mezi dvěma methylovými skupinami	1,2
	mezi dvěma postranními řetězci valinu	6

Typy nekovalentních interakcí

Electrostatické

$R(\mu, Q, \dots); T(\mu, Q,)$

$$\sim r^{-3}$$

Indukce (polarizace)

$R(\mu, Q); T(\alpha)$

$$\sim r^{-5}$$

Londonova disperze

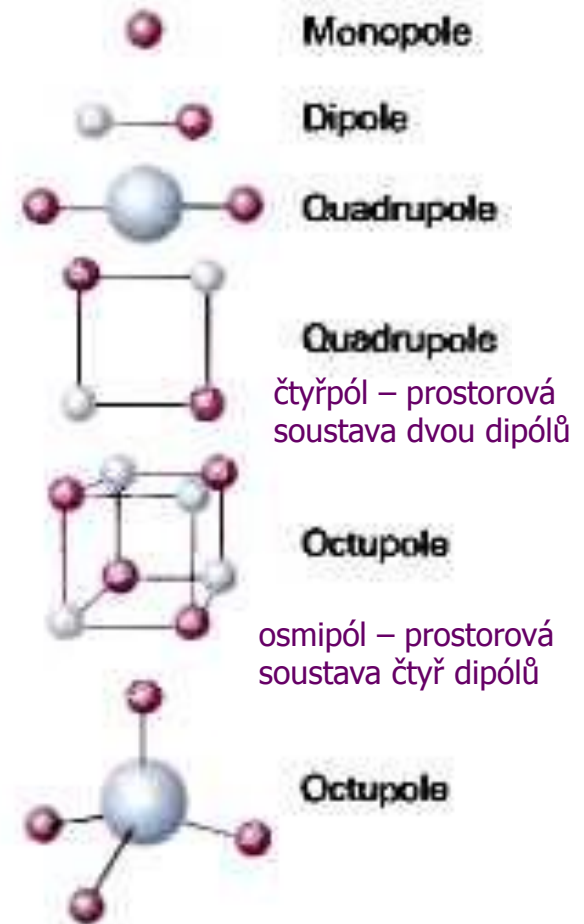
$R(\alpha) ; T(\alpha)$

$$\sim r^{-6}$$

Repulse

$$\sim r^{-12}$$

$$\Delta E = E^E + E^I + E^D + E^R$$



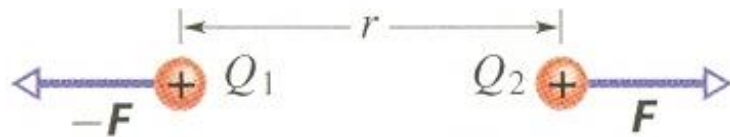
Elektrostatické (coulombické) interakce

- jsou relativně silné, řídí se Coulombovým zákonem
- mají největší dosah

Dvě skupiny:

- ♣ nespecifické (klasické) elektrostatické interakce
(se ↑ nebo se ↓ pH destabilizující efekt na nativní bílkovinu)
- ♣ specifické elektrostatické interakce
(iontové páry, solné můstky, záleží na jejich počtu, může být stabilizující vliv na nativní stav, 5 iontových párů na 150 AK, energetický příspěvek na jeden iontový pár je 4 -12 kJ/mol)

Coulombův zákon (1874)



(a) odpuzování



(b) odpuzování



(c) přitahování

$$F_e = k \cdot \frac{|Q_1 \cdot Q_2|}{r^2}$$

$$k = \frac{1}{4 \cdot \pi \cdot \epsilon} \quad \epsilon = \epsilon_0 \cdot \epsilon_r$$

$$\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ C}^2 \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$$

$$k \cong 9 \cdot 10^9 \text{ N} \cdot \text{m}^2 \cdot \text{C}^{-2}$$

$$E_e = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{Q_1 Q_2}{r}$$

elementární náboj: $e = 1,602 \cdot 10^{-19} \text{ C}$
(náboj elektronu a protonu)

ϵ_0 permitivita vakua, ϵ_r relativní permitivita
(lat. *permittere* = povolovat)

van der Waalsovy interakce

permanентní dipól – permanентní dipól

(interakce van der Waalsovy-Debyeovy)

$$E_{d-d} = - \frac{2 \mu_1^2 \mu_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 k_B T r^6} = Br^{-6}$$

$$\mu = Q \cdot l$$

μ_1, μ_2 jsou elektrické dipólové momenty, r je vzdálenost mezi dipóly

k_B je Boltzmannova konstanta $(1,380\,6488 \pm 0,000\,0013) \times 10^{-23} \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}$

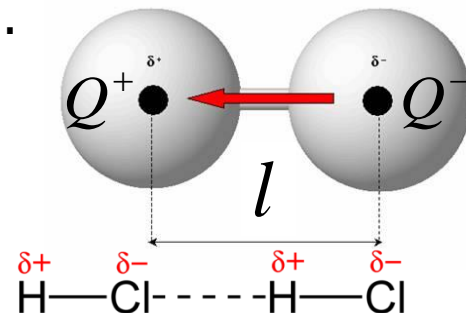
$$\epsilon_0 = 8,854 \cdot 10^{-12} \text{ C}^2 \cdot \text{N}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$$

$$1 \text{ D} = 3,33564 \cdot 10^{-30} \text{ C}\cdot\text{m}$$

příklad: karbonyl.....kARBonyl uspořádnání hlava k patě

$$\mu = 1,3 \text{ D} \quad r = 0,5 \text{ nm} \quad \epsilon = 4$$

$$E = 9,3 \text{ kJ/mol}$$



van der Waalsovy interakce

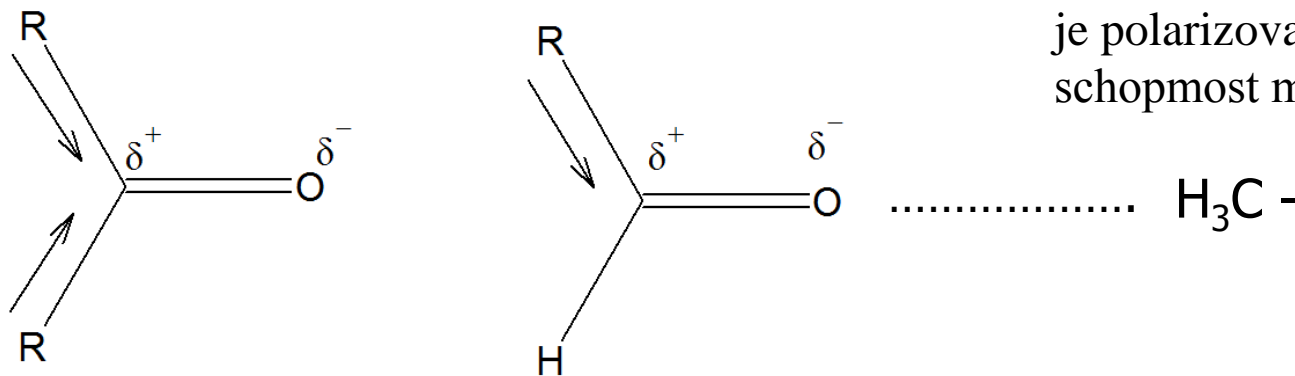
permanentní dipól – indukovaný dipól

(interakce van der Waalsovy-Keesomovy)

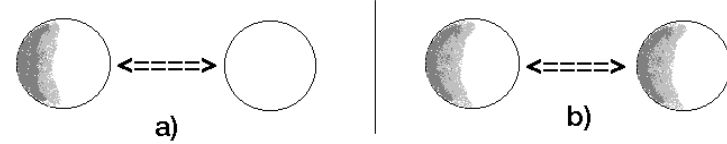
$$E_{d-id} = - \frac{\alpha_2 \mu_1^2 + \alpha_1 \mu_2^2}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$$

α

je polarizovatelnost molekuly
schopnost molekuly tvořit dipól



Jsou slabší jako jsou interakce van der Waalsovy-Debyeovy



van der Waalsovy interakce

Londonovy disperzní interakce

(interakce van der Waalsovy-Londonovy)

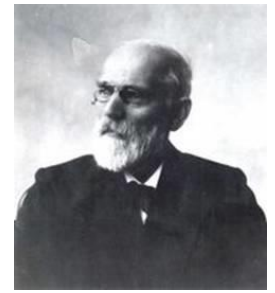
$$E_{disp} = - \frac{3 I_1 I_2 \alpha_2 \alpha_1}{2(4\pi\epsilon_o)^2 (I_1 + I_2) r^6}$$

přechodný dipól – přechodný dipól (oscilující)

I je ionizační energie molekuly (pro většinu malých molekul okolo 10 eV)

- ♣ nebýt těchto slabých sil, nemohly by zkapalnit vzácné plyny (neon vře při -246 °C
fluktuace elektronové hustoty ► přechodný (okamžitý) dipól, ten vyvolá v sousedním atomu přechodný dipól opačně orientovaný
- ♣ působí mezi vrstvami v grafitu či při stabilizaci dvojšroubovice DNA
- ♣ molekuly rozpouštědla se navzájem přitahují - nezbytná podmínka kapalné fáze

Četnost těchto interakcí je obrovská a u bílkovin to mohou být i nespecifické interakce
- CH₃ ...H₃C- skupin, dočasně převažující náboj na uhlíku, druhý na vodících



Johannes Diderik van der
Waals (1837 - 1923)

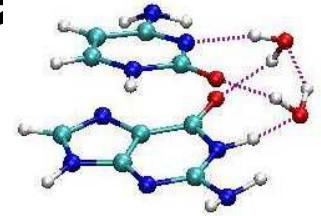
van der Waalsovy interakce

- pozadí vzniku vWI je elektrostatická interakce (neoperuje s celistvými násobky elementárního náboje)
- síly krátkého dosahu
- Rozdělení:
 - (♠ ion – permanentní dipól)
 - ♠ permanentní dipól – permanentní dipól
 - ♠ permanentní dipól – indukovaný dipól
 - ♠ indukovaný dipól – indukovaný dipól (disperze)
Londonovy (disperzní) síly (LDS)
 - ♠ patrové interakce ($\pi - \pi$ interakce)

Dominantní u dihelixů DNA a některých úseků RNA

van der Waalsovy interakce

patrové (*stacking*) interakce (π - π interakce)



- v jednom řetězci nad sebou i mezi řetězci sousedními
- zodpovědné jsou disperzní síly (náročný způsob výpočtu, metody zahrnující korelační energii)
- význam těchto interakcí pro stabilitu DNA dlouho podceňován
- DFT metody byly teprve na počátku svého bouřlivého rozvoje a neschopnost těchto metod popsat řádně tyto interakce ještě dlouho poté nebyl všeobecně známý fakt
- v současné době však již převažuje názor, že celkový příspěvek patrových interakcí je pro stabilitu DNA přinejmenším stejně významný, jak bylo např. ukázáno na přesných výpočtech patrových a vodíkových interakcí v krystalové struktuře oligomeru DNA



van der Waalsovy interakce

■ Netušená síla slabých vazeb

Nekovalentní interakce v biodisciplínách (Pavel Hobza, Zdeněk Havlas)
Vesmír 89, 594, 2010/10

Zajímavost: pravé a nepravé vodíkové vazby – VV patří mezi nejsilnější typy NI, (20-40 kJ/mol)

D-H.....A (D donor, A akceptor – přebytek elektronů)
lineární uspořádání, D je elektronegativnější než H,

Model VV – (CT model) elektrony z A jdou do antivazebného orbitalu donorové vazby DH, zvýšením elektr. hustoty v antivazebném orbitalu vede k oslabení vazby D-H, k jejímu prodloužení a tedy ke zmenšení vazebné vibrace - **červený posun**

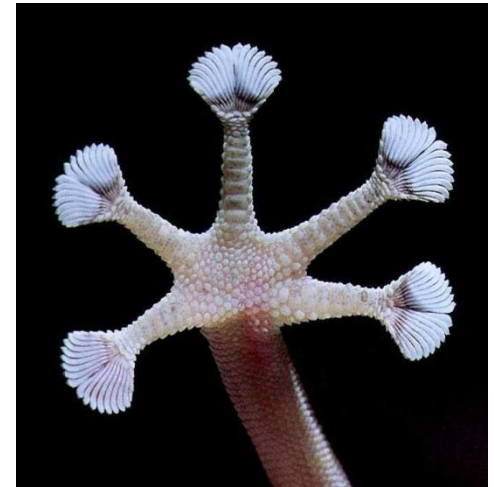
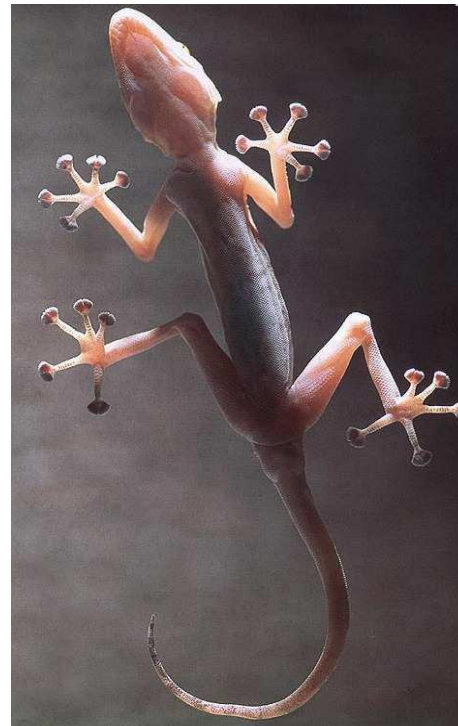
Ale bylo dokázáno, že vznik VV může být doprovázen také nárůstem vazebné vibrace D-H - **modrý posun**. **NEPRAVÁ VV**

Oprava IUPAC definice VV

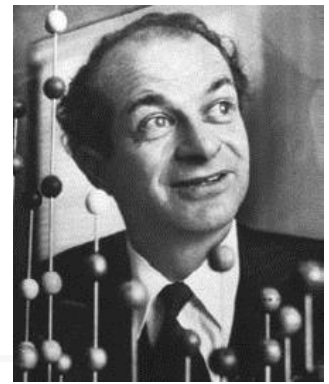
van der Waalsovy interakce



Microscopy has shown that a gecko's foot has nearly 500 000 keratinous hairs or setae. A setae is 10x more effective in adhesion than expected. Adhesive force values support the hypothesis that individual setae operate by van der Waals forces



Vodíkové vazby

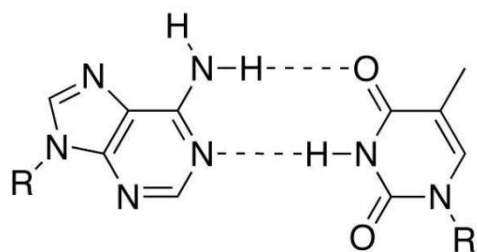


Linus Carl Pauling

- pozadí vzniku VV je elektrostatická interakce
 $D-H \cdots A$ (D donor vodíku, A akceptor vodíku)
- lineární, ale také ohnutá (není rigidní)
- FCH parametry vazby: 0,2-0,3 nm; 10-30 kJ/mol
- Stabilizující i destabilizující vliv (VV uvnitř biomolekuly i vliv vody)
- Vliv alkoholu (-OH skupina může teoreticky vázat 3 VV, reálně váže 2,4VV) by vlastně měla stabilizovat molekulu bílkoviny, je tomu ale naopak
- VV nejsou dominantní silou při vzniku nativní struktury, ale jakmile se tato struktura vytvoří, přispívají k její stabilitě

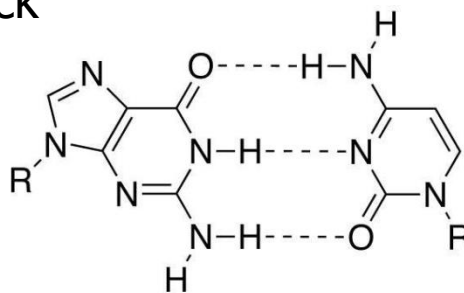
Vodíková vazba

Watson-Crick



Adenin

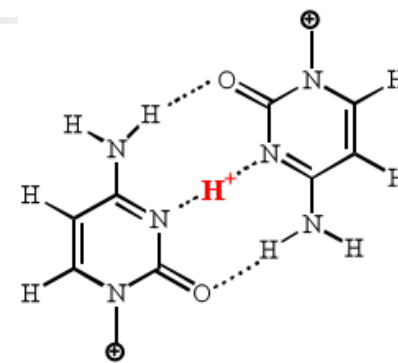
Thymin



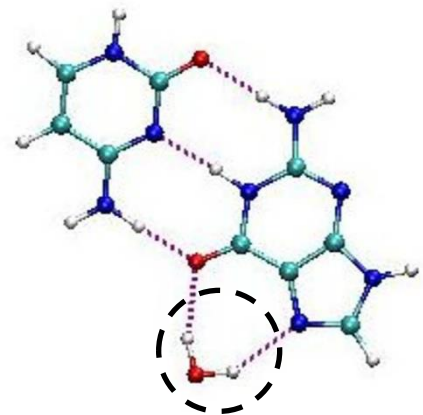
Guanin

Cytosin

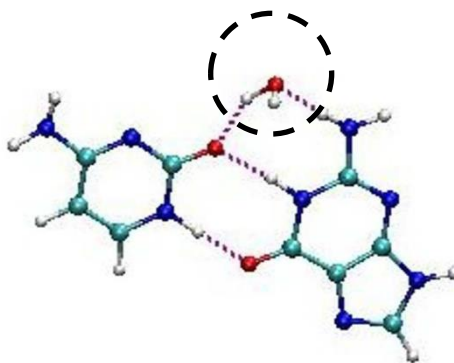
Hoogsteen



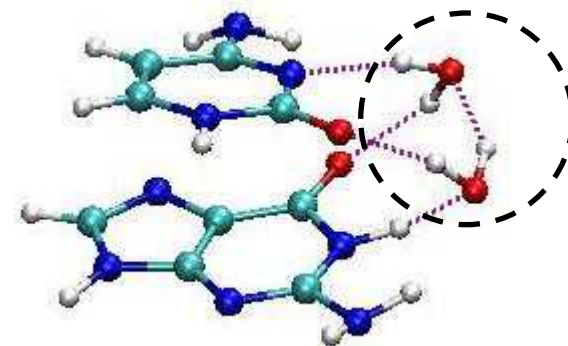
C.C+ base pair



Struktura monohydratovaného páru GC (globální minimum)



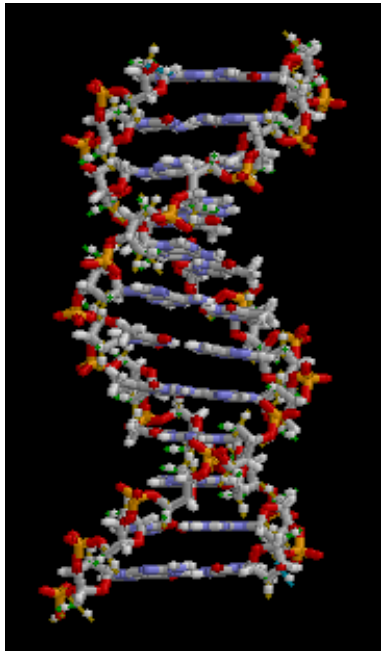
Struktura monohydratovaného páru GC ,kdy se na párování mezi bázemi podílí molekula vody



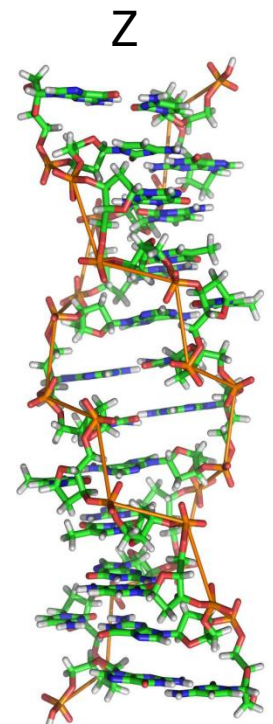
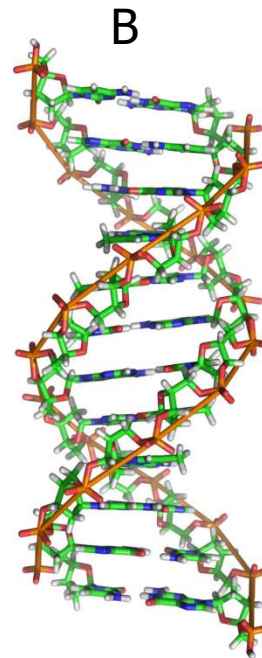
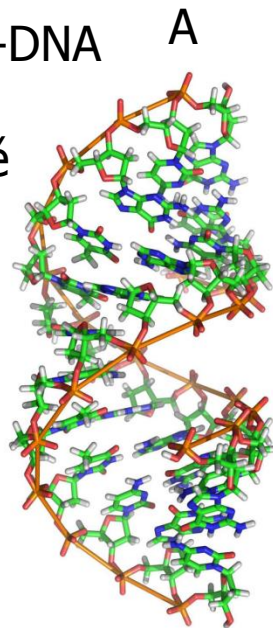
Struktura dihydratovaného páru GC v patrovém uspořádání

Vodíková vazba

- ♣ stabilizace dvoušroubovicové struktury DNA
- ♣ správné párování bází a tedy i pro bezchybnou replikaci a transkripci DNA Teoretické výpočty prováděné na párech bází ukazují, že kromě elektrostatických sil je pro tvorbu vodíkové vazby důležitý i přenos náboje a že vazba má částečně i kovalentní charakter

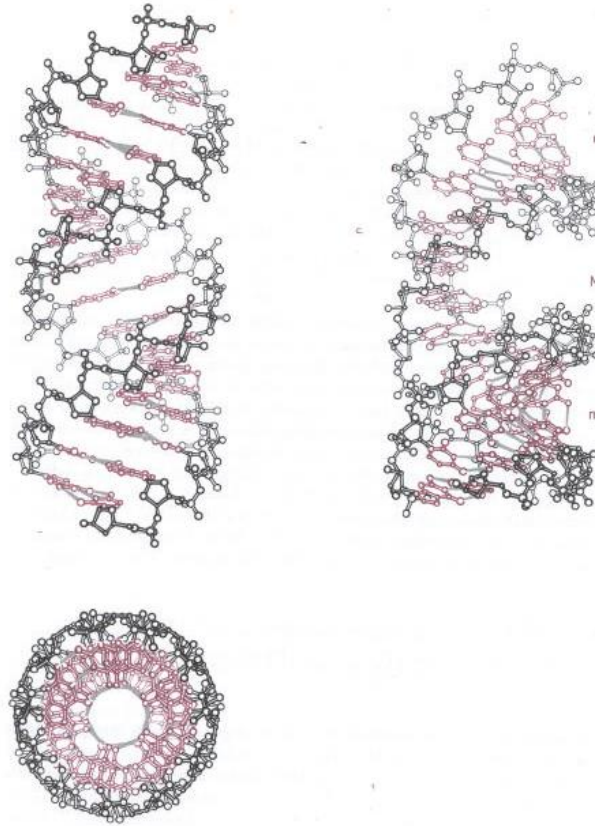
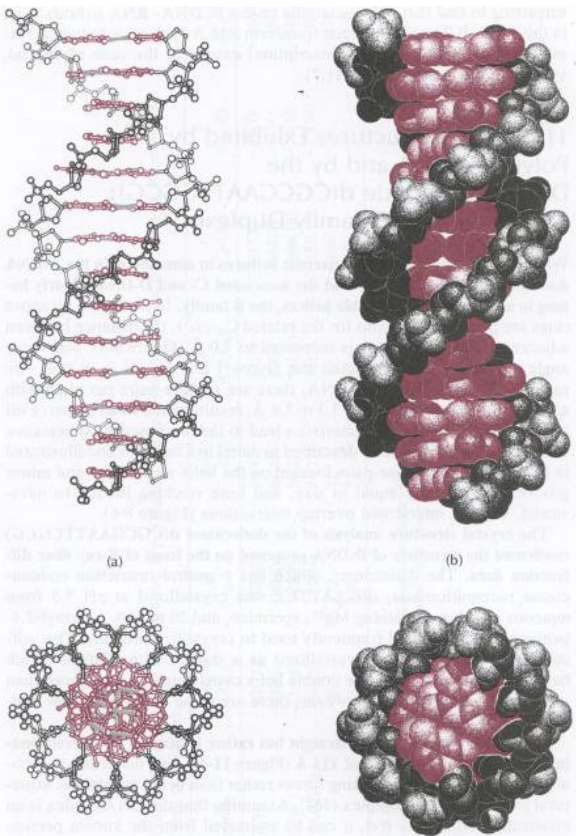


Struktura A-, B- a Z-DNA
Cukrfosfátová páteř
naznačena oranžově

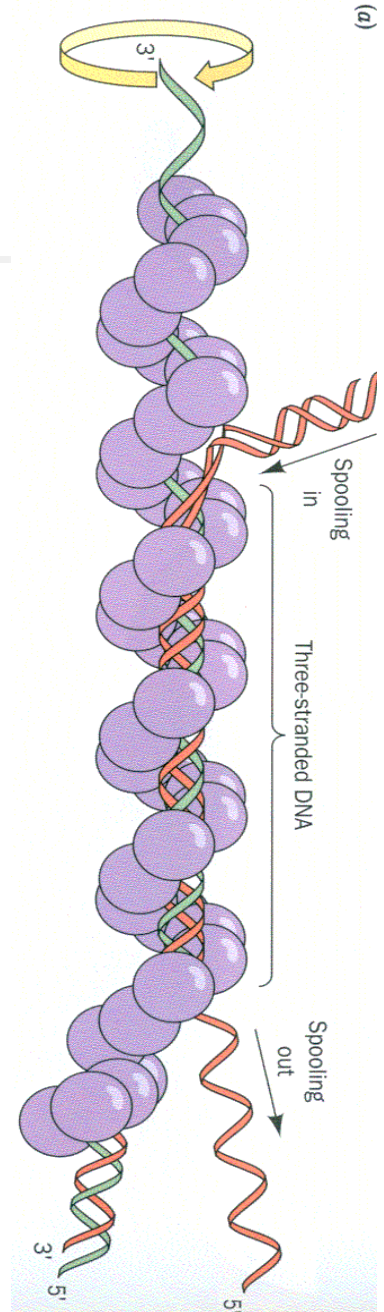


DNA formy

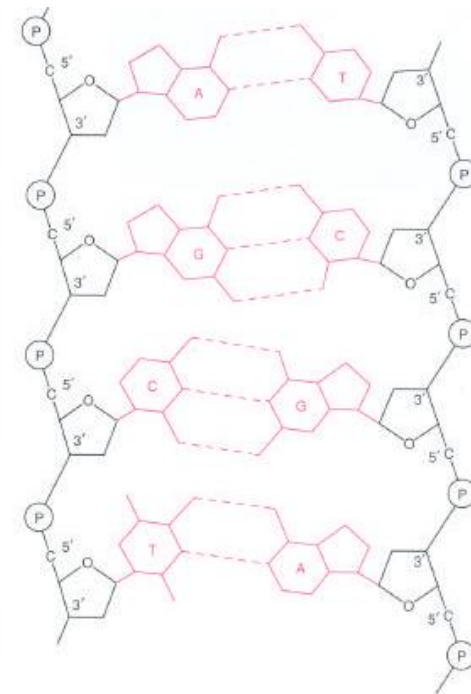
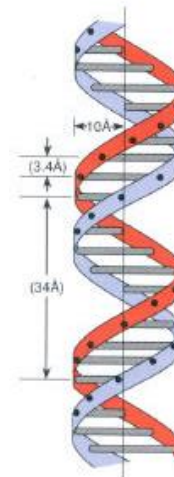
B-DNA **dvoujšroubovice** **A-DNA**



trojšroubovice



Dvojitá dvoušroubovice DNA

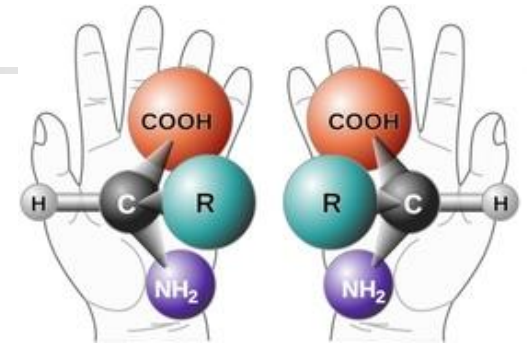
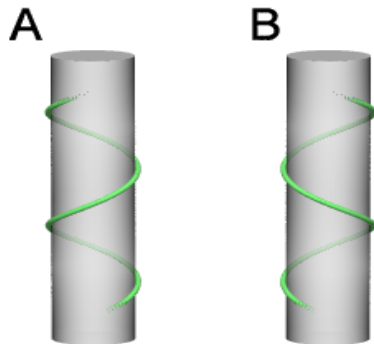


PRAVDA O OBJEVU STRUKTURY DVOJITÉ ŠROUBOVICE DNA

některý z článků o objevu - pravda o Rosalind Franklinové

Prostorové uspořádání biopolymerů

■ Chirální stavební jednotky



Chiralita označuje asymetrii prostorového rozložení objektu
Konfigurace - uspořádání

■ Geometrické uspořádání center

Konformace – prostorové tvary

- Gibbsova energie nejmenší (enthalpické nebo entropické interakce)
- hierarchie – sekundární, doménové, terciární, kvartérní, nadmolekulární
- prostorové uspořádání závisí na interakci s okolím (voda a ionty)
- kooperativa struktury biopolymeru
- konformační impulzy (nekompetitivní inhibice enzymů, homotropní allosterický efekt u enzymů nebo u hemoglobinu)
- specifické interakce s okolím

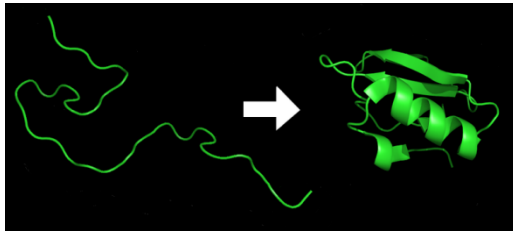
Prostorové uspořádání biopolymerů

- **Stabilita, svinování, denaturace** (změna tepelné kapacity biopolymeru při denaturaci je stejná ať se jedná o denaturaci teplem, kyselinou, močovinou, nebo GHI , tenzidem)
- **DENATURACE** – každá podstatná změna prostorového uspořádání, která vede ke ztrátě jeho biologické aktivity
- **PROBLÉM FCH CHÁPANÉ DENATURACE** – plně denaturovaný stav – statistické klubko (random coil)
- **PROBLÉM ZTRÁTY BIOLOGICKÉ FUNKCE** – příčiny ztráty jeho aktivity (! rozpletení dvoušroubovice a není ztráta aktivity)

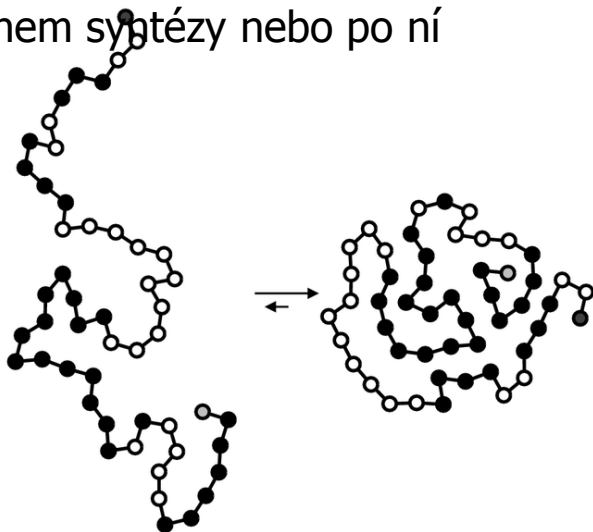
DENATURACE JE JEV BYTOSTNĚ NEBIOLOGICKÝ

Vytváření nativních struktur

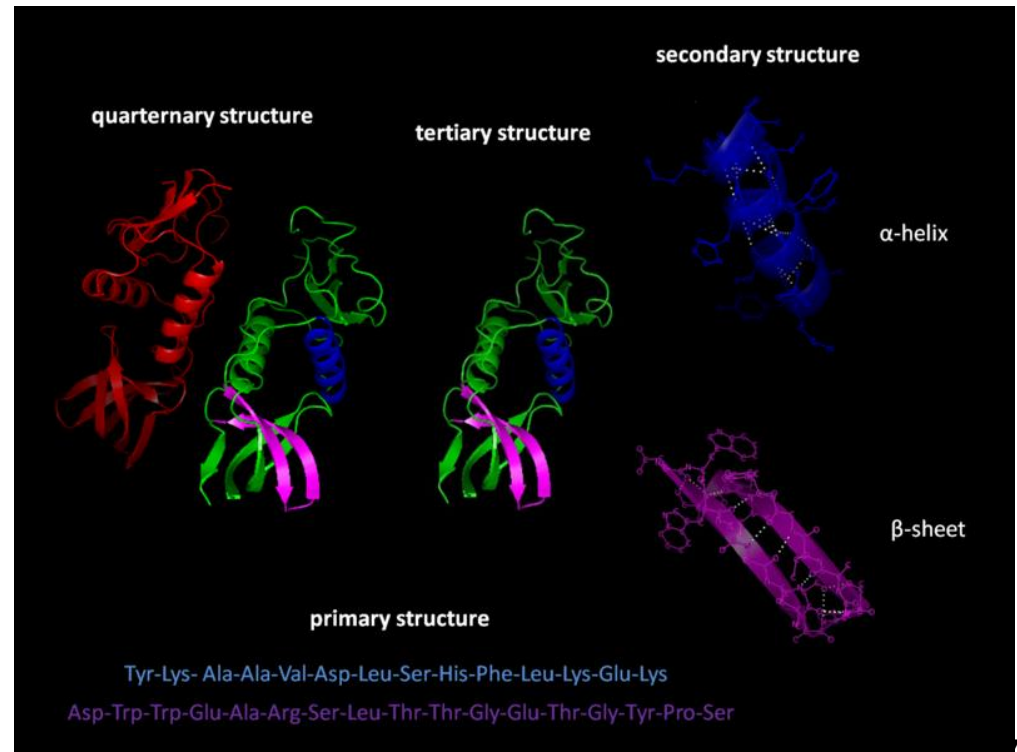
- Cyrus Levinthal (svinování není náhodný proces)

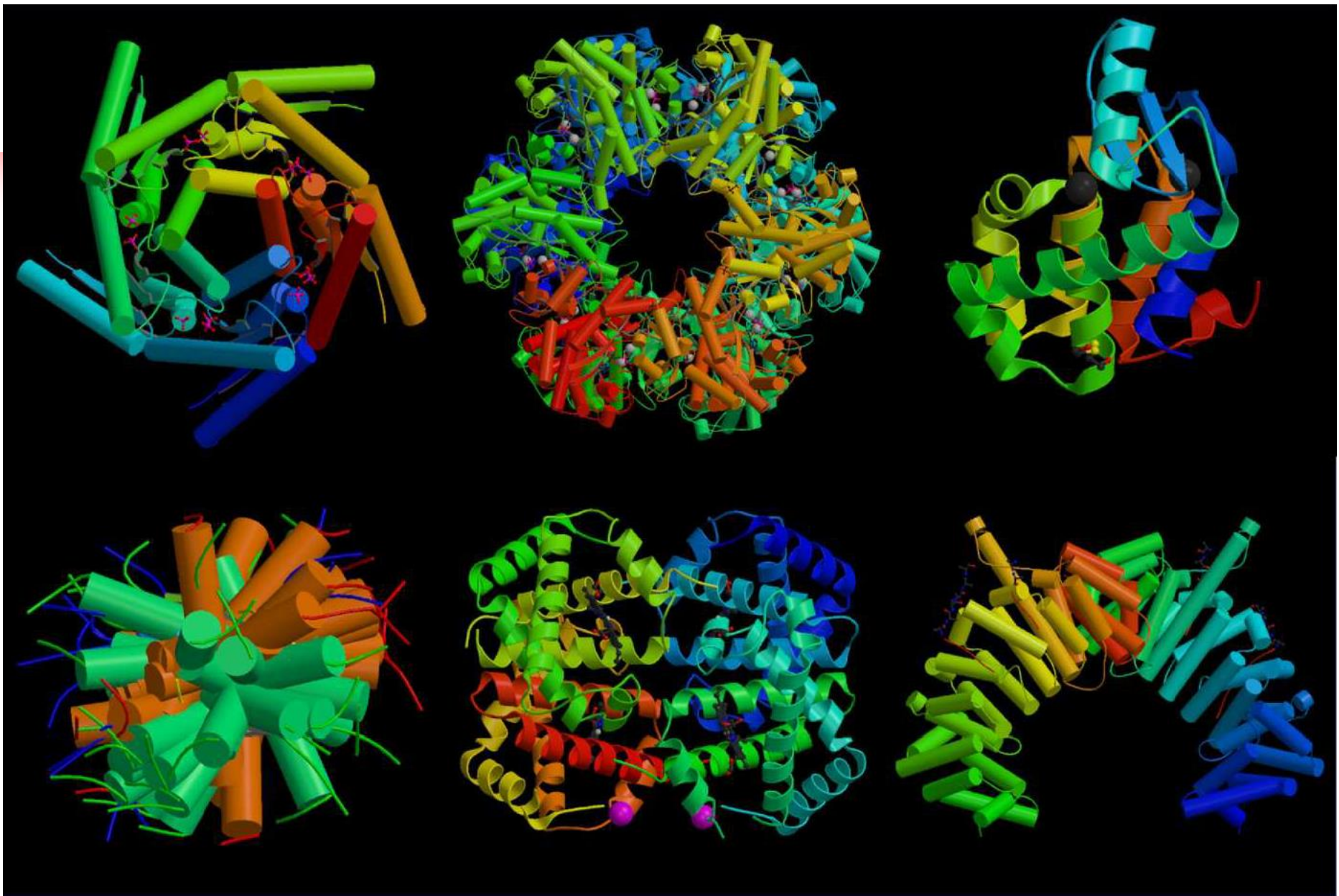


během syntézy nebo po ní



- hydrofobní molekuly







Vytváření nativních struktur

- **dva modely svinování** (otázka nejen času, ale i okolí)
 - difúzně kolizní model (postupný proces)
nukleus, pak sekundární struktura a nakonec kolize
 - nukleačně kondenzační model (současný proces)
sekundární a terciární struktura se tvoří najednou

Folding je spontánní proces, ale řízen:

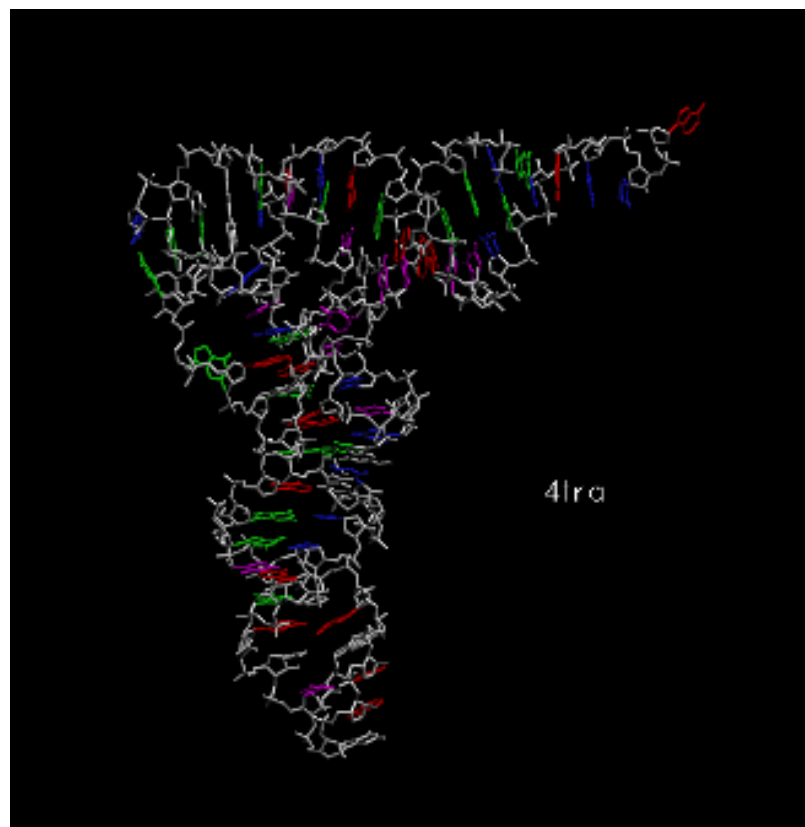
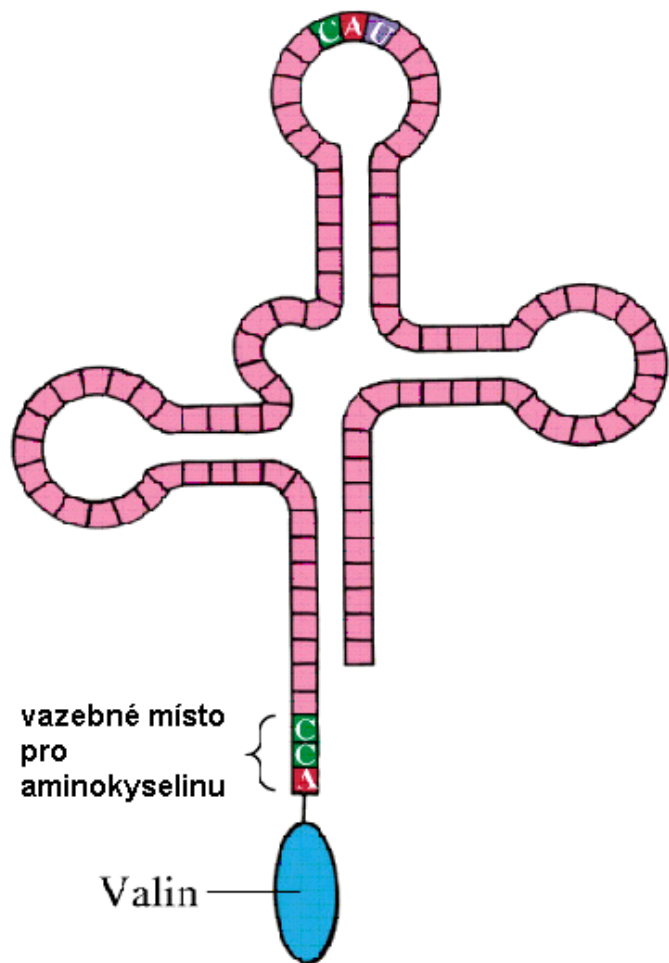
- 1) hydrofobními interakcemi, VV, vdW silami
- 2) asistence chaperonů (unassisted and assisted folding)



Ilustrativní výpočet svinování

- Levinthalův paradox (svinování není náhodný proces) 1969
- úvaha – důkaz: $100AK - 10^{13}$ konformací/s, otestovány za 10^{87} s, stáří vesmíru je $6 \cdot 10^{17}$ s.
- Posloupnost ve více krocích: doména a doménové struktury, přes podobu roztavených globulí (molten globule), kdy jsou postranní řetězce v kontaktu s rozpouštědlem, pak malé konformační změny vedoucí k nativní struktuře
- Řada metastabilních intermediátů (s asistencí a bez asistence chaperonů)

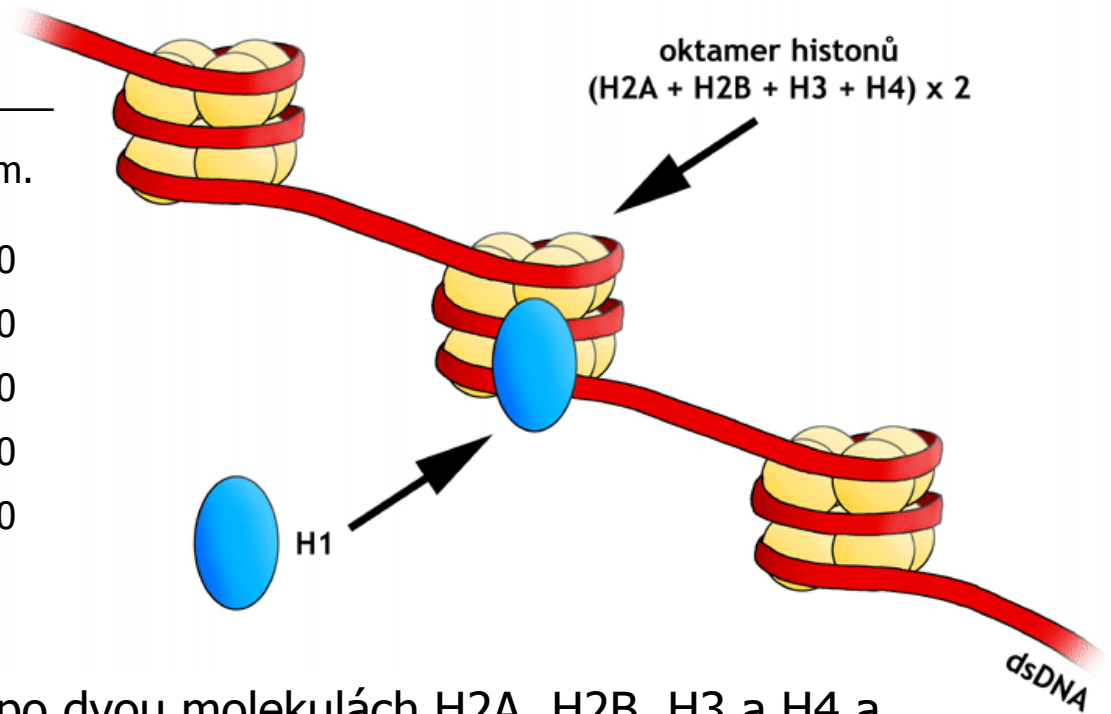
Transferová RNA – schematický model t-RNA z kvasnic



DNA s nukleosomy

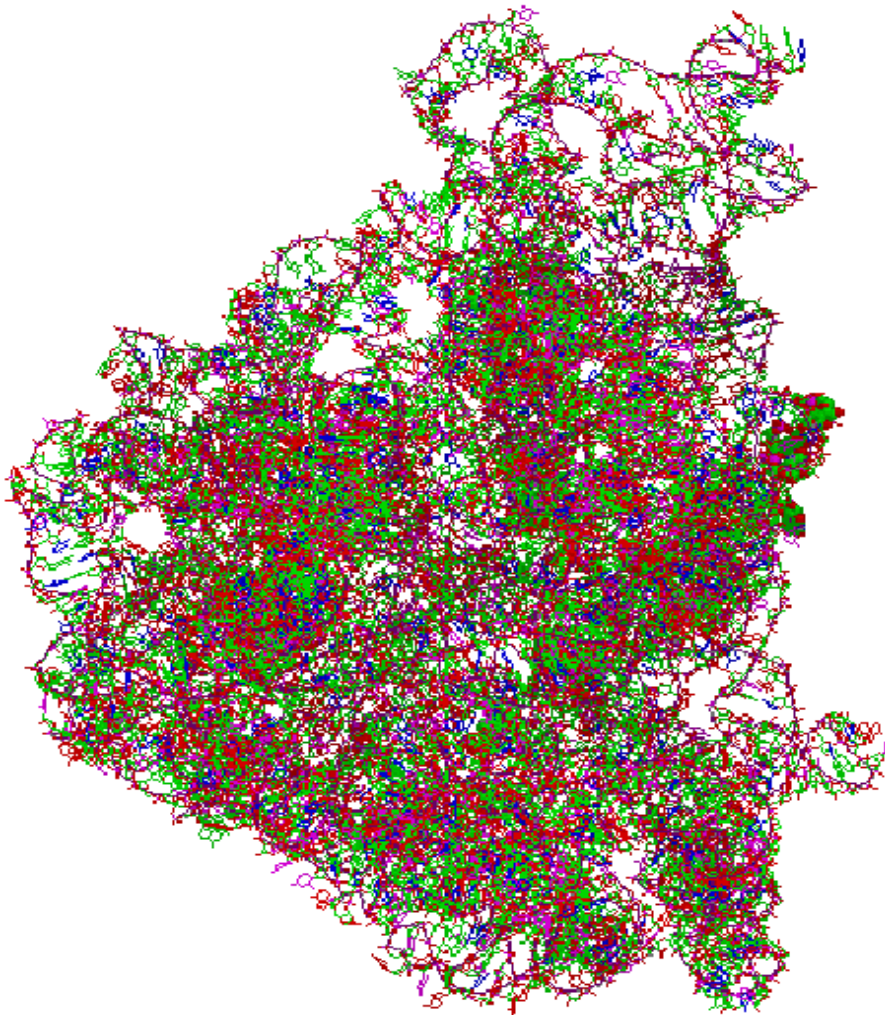
5 typů

Histon	Poměr Lys/Arg	Počet AK	Mol. Hm.
H1	20,0	215	21 000
H2A	1,2	129	14 500
H2B	2,5	125	13 800
H3	0,72	135	15 300
H4	0,79	102	11 300



Histonový oktamer obsahuje po dvou molekulách H2A, H2B, H3 a H4 a spolu s navinutou **DNA** tvoří **nukleozom** o průměru 10 nm. Na elektronoptickém snímku DNA s nukleozomy (polynukleozom) připomíná „korálky na niti“. Jde o **10 nm silné chromatinové vlákno**.

Ribosomální RNA



ribosomální RNA, RNA podílející se spolu se specifickými bílkovinami na výstavbě ribosomu. Je nejhojnějším typem RNA (až 80 hm. % všech RNA). Jedná se o několik druhů molekul lišících se velikostí a zastoupením jednotlivých nukleotidů.

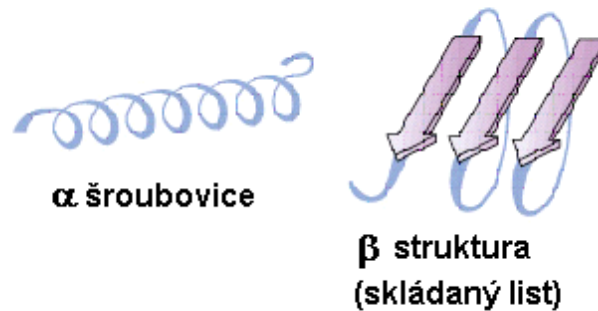
nepostradatelná při syntéze proteinů ve všech živých organismech

Struktura bílkovin

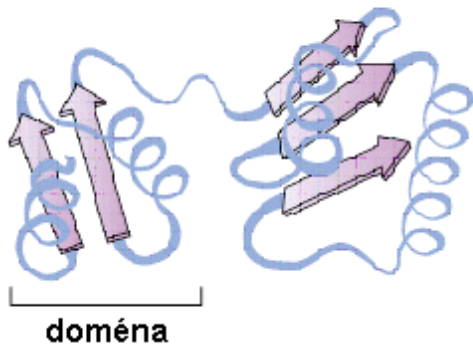
(a) primární struktura

–Ala–Glu–Val–Thr–Asp–Pro–Gly–

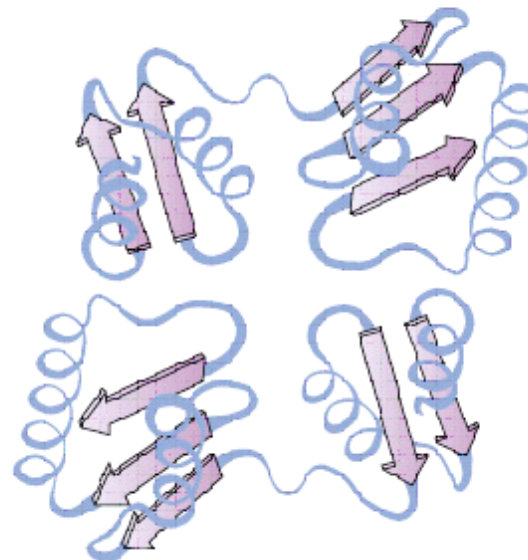
(b) sekundární struktura



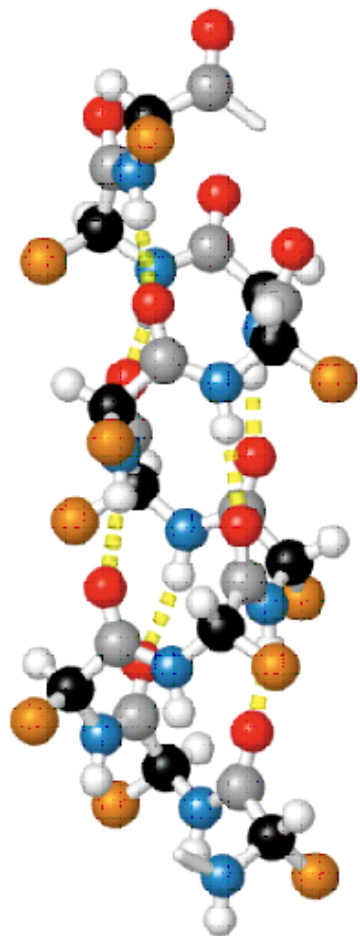
(c) terciární struktura



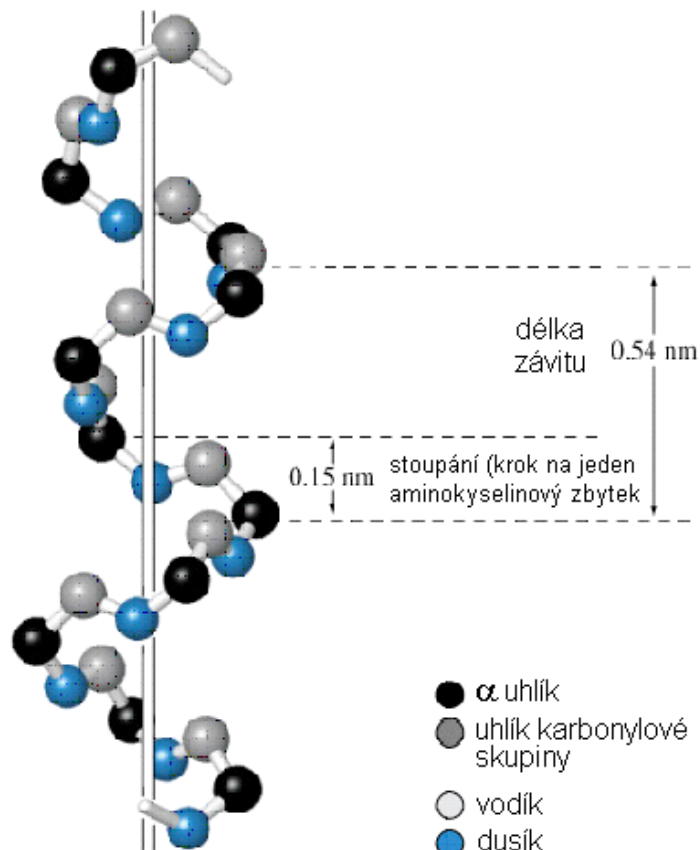
(d) kvartérní struktura



Struktura bílkovin



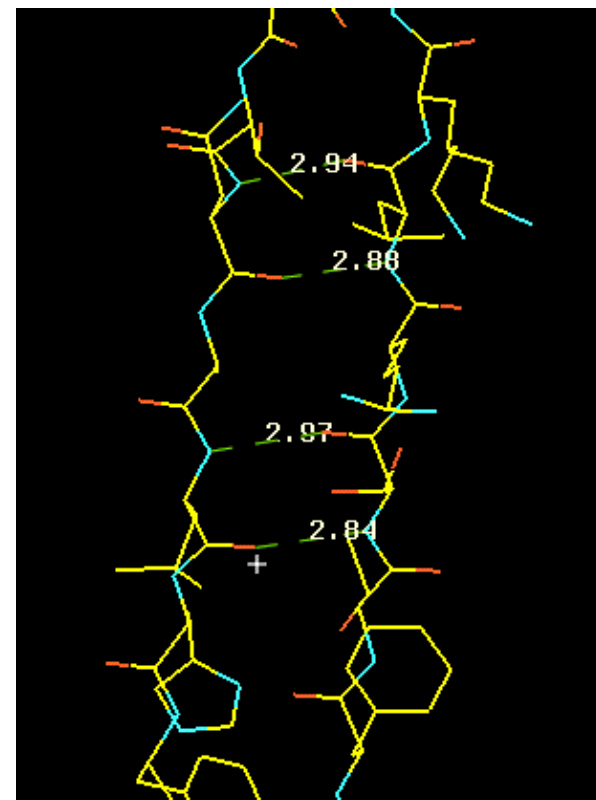
pravotočivá α šroubovice



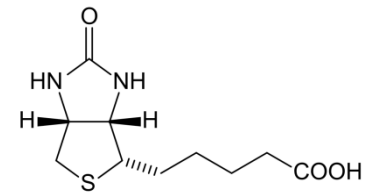
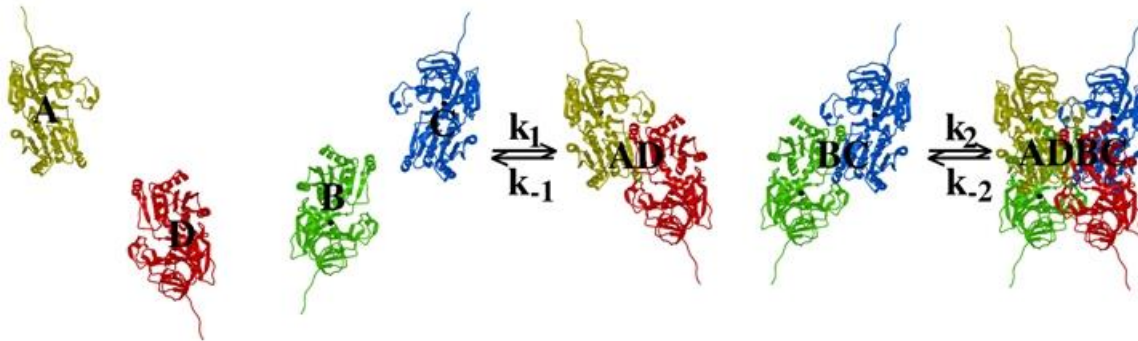
osa

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

β -struktura (skládáný list – antiparalelní model)

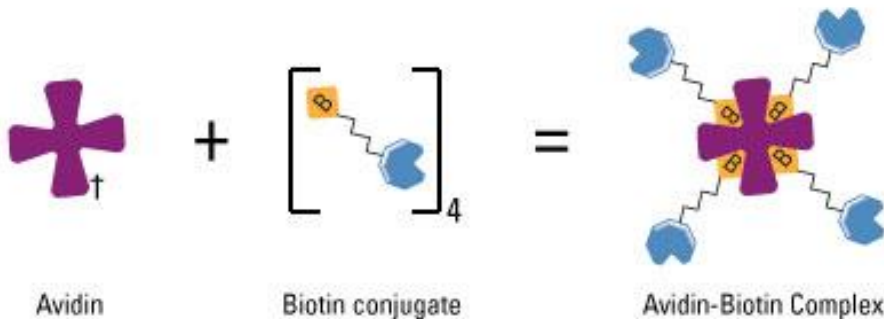


Avidin (streptavidin) a biotin



Biotin (vitamín B7 nebo H)

vazba avidin-biotin je jedna z nejsilnějších nekovalentních vazeb



core-streptavidin mutant d128a at pH 4.5



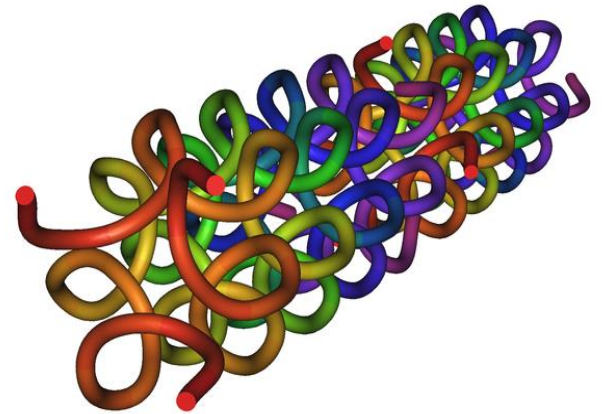
biotinylované markery

Trojité šroubovice kolagenu

Otázka vodíkových vazeb

Kolagen je strukturní bílkovina pojivové tkáně (přesněji, extracelulárního matrixu), přirozeně se vyskytující u člověka a zvířat. Je hlavní složkou pojivové tkáně, kůže a šlach. Je však také mimo jiné i v chrupavkách, kostech, zubech atd. V kůži je zodpovědný zejména za pružnost, pevnost a správnou hydrataci. V lidském těle je kolagenu více než 30% celkové hmotnosti všech proteinů (bílkovin). Kolagenová vlákna mají obrovskou pevnost v tahu.

Izoelektrický bod
nativního kolagenu je 7



Oproti ostatním proteinům obsahují kolageny abnormálně vysoký obsah glycinu (asi 33 %) a prolinu (asi 12 %). Sekvence aminokyselin se skládá z opakujících se jednotek Gly-Prohydroxyprolinu či hydroxylysinu.



Zamyšlení

- Informace o struktuře molekuly jsou dosaženy více metodami, jedna metoda neposkytuje nemusí poskytnout relevantní informace
- Pro pochopení nativního stavu - strukturu zničíme, perturbujeme, abychom dostali informace o ní (podobně jako informace o jádře)

Modelování vdW interakce

Nejlépe známým modelem vdW interakcí je Lennard-Jonesova 12-6 funkce. Pro výpočet energie van der Waalsovské interakce mezi dvěma atomy :

$$E_{vdW} = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right]$$

repulze

atrakce

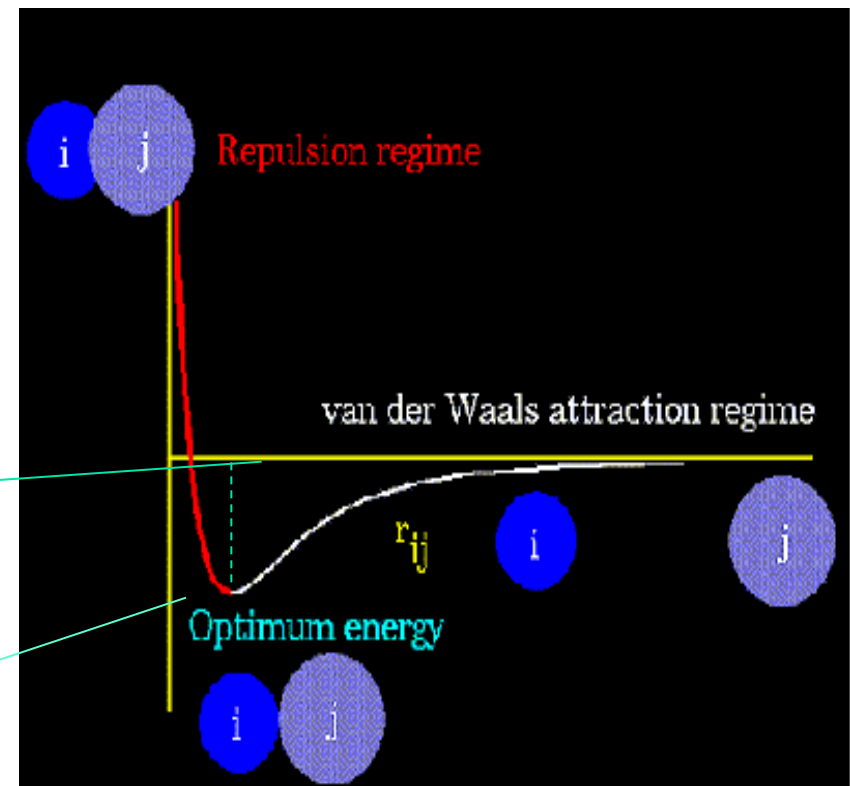
r vzdálenost atomů

σ vzdálenost, v níž na sebe atomy začínají silově působit

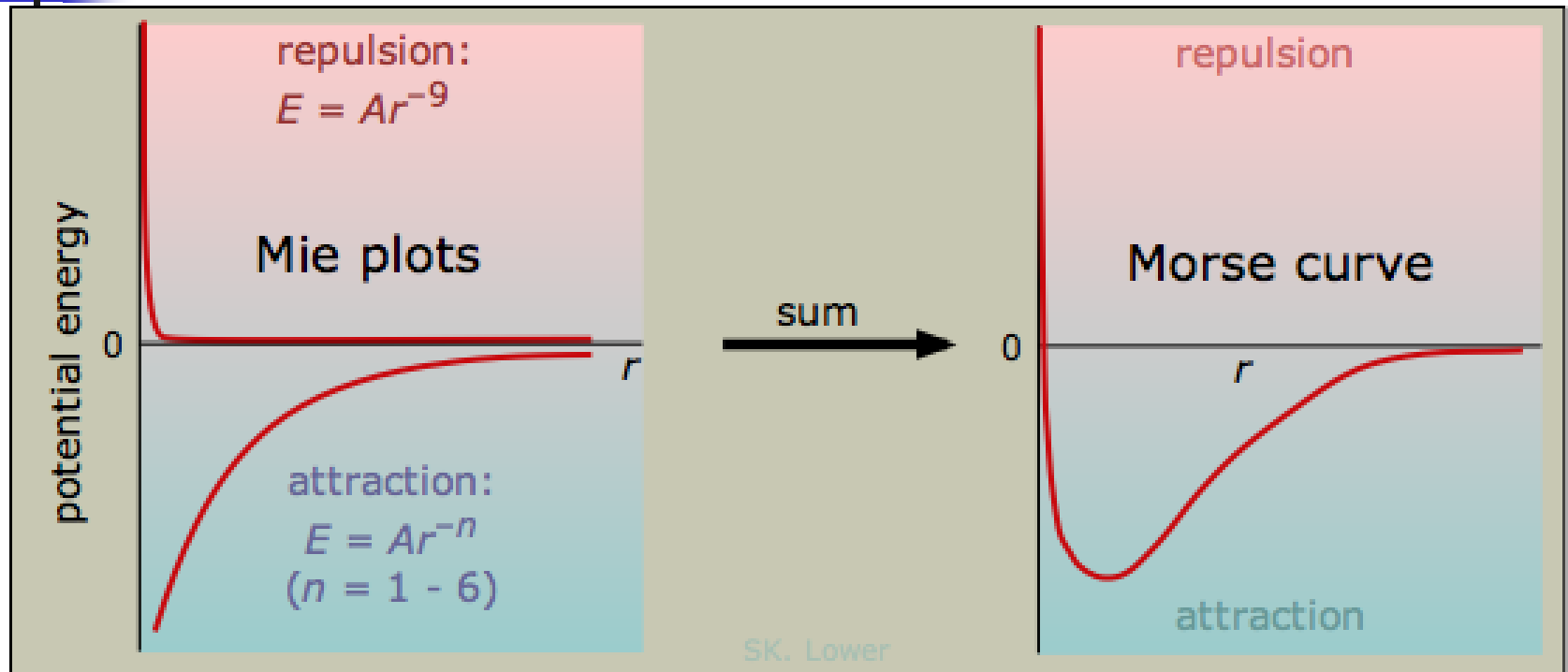
i, j označení atomů

vdW poloměr

ε nejmenší energie, kterou může daná dvojice atomů mít



Mie a Morse křivka

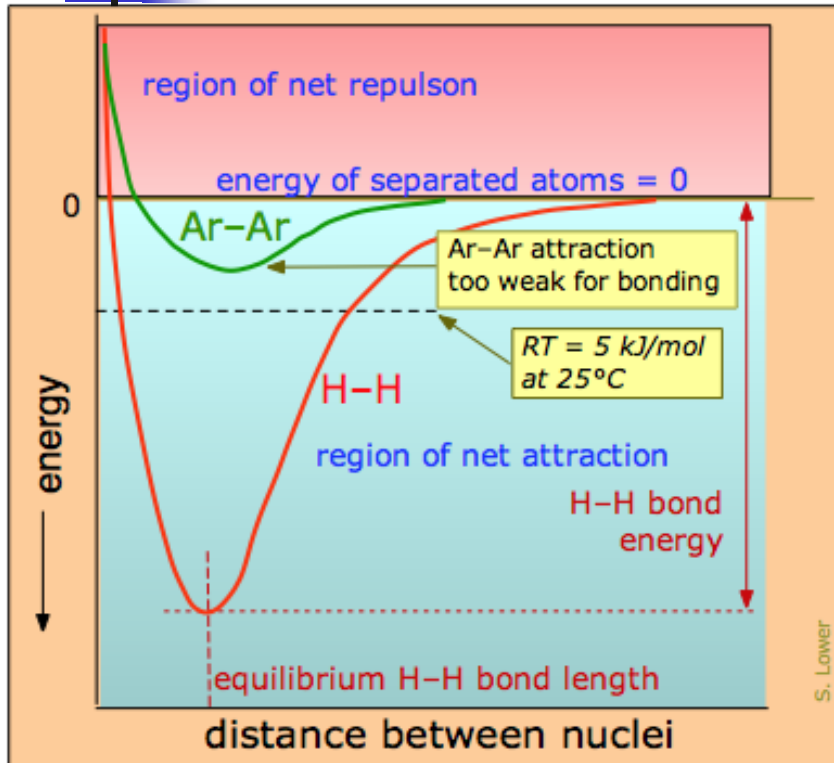


$$E_p = Ar^{-n} + Br^{-m}$$

Repulze a atrakce

repulze

atrakce



$$E_p = Ar^{-n} + Br^{-m}$$

type of molecular unit involved	type of force	n	m
ions	coulombic	9	1
ion - polar molecule	ion-dipole	9	2
two polar molecules	dipole-dipole	9	3
ion - nonpolar molecule	ion - induced dipole	9	4
polar and nonpolar molecule	dipole - induced dipole	9	6
nonpolar molecules	dispersion	9	6

Lennard-Jones potenciál

$$r_{min} = 2^{\frac{1}{6}} \sigma = 1,1225\sigma$$

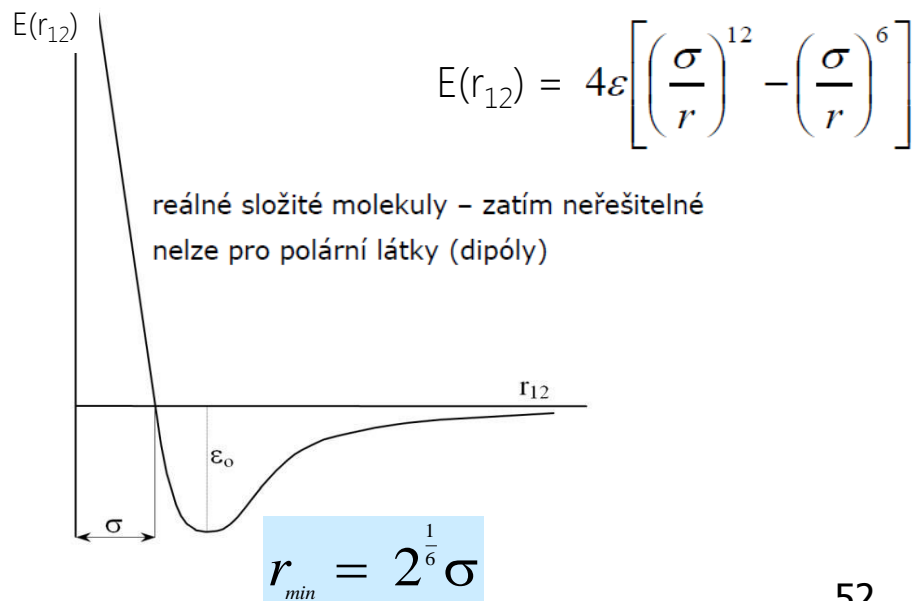
$$r_{min}^6 = 2\sigma^6$$

$$E(r_{12}) = 4\varepsilon \left[\left(\frac{\sigma}{2^{\frac{1}{6}} \sigma} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{2^{\frac{1}{6}} \sigma} \right)^6 \right] = 4\varepsilon \left(\frac{1}{4} - \frac{1}{2} \right) = -\varepsilon$$

$-\varepsilon = \varepsilon_0$

$$E_p = \underbrace{Ar^{-n}}_{\text{repulze}} + \underbrace{Br^{-m}}_{\text{atrakce}}$$

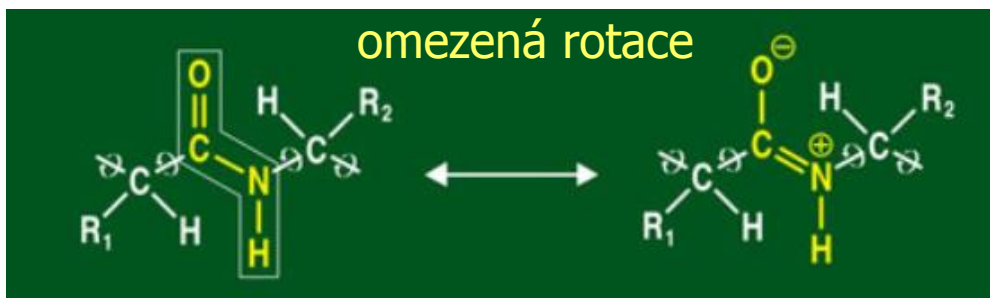
Nejznámější - Lennard-Jonesův potenciál (12,6)



Peptidová vazba

Torzní úhly hlavního řetězce proteinu

- ϕ rotace kolem vazby atomů N_1 a $C\alpha$
- ψ rotace kolem vazby $C\alpha$ a C_1
- ω rotace kolem vazby C_0 a N_1 (samotná peptidická vazba)

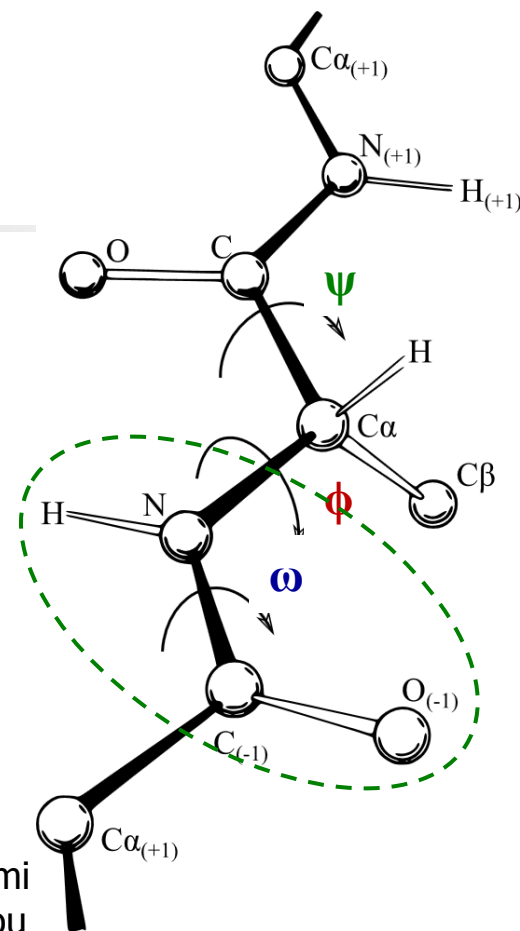


Ze všech teoreticky možných kombinací vazebných úhlů ϕ a ψ jich však ve skutečných proteinech pozorujeme pouze zlomek. To je dáno van der Waalsovskými vzdálenostmi (poloměry) atomů, které udávají nejbližší možnou vzdálenost, na kterou se mohou atomy přiblížit. Přiblížení větší než umožňují jejich van der Waalsovské vzdálenosti, pak by docházelo ke srážkám, struktura by byla nestabilní. Je zde sterická zábrana.

Kombinace vazebných úhlů ϕ a ψ a dělení do několika skupin:

- přednostně zaujímané
- povolené
- výjimečně povolené
- zakázané

Rozložení těchto skupin je pro většinu peptidů stejné, výjimky tvoří glycin a prolin

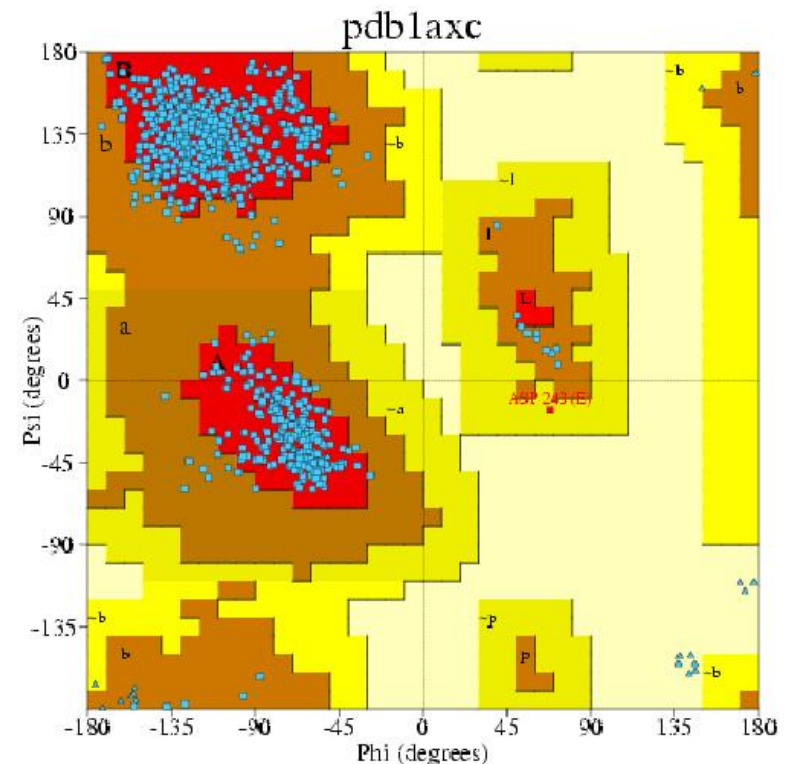


Ramachandrov diagram proteinů

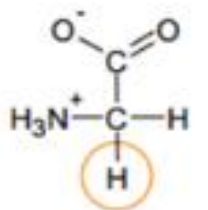
Glycin (postranní skupinu nahrazenou atomem vodíku) značně zvyšuje počet povolených skupin i jeho flexibilita.

Prolin (přítomnost cyklické postranní skupiny napojené na hlavní řetězec) značně snižuje počet povolených kombinací úhlů ϕ a ψ ; jeho flexibilita se silně zmenšuje.

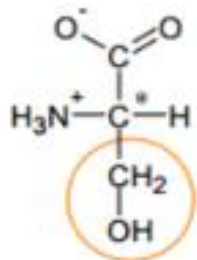
U ostatních aminokyselin nejde ani tak o složení a délku postranního řetězce, ale spíš o přítomnost C_{β} , který u nich nejvíce ovlivňuje počet povolených kombinací úhlů ϕ a ψ . Přednostně zaujímané kombinace vazebných úhlů odpovídají hodnotám reálným tvarů tvořeným aminokyselinami v peptidovém řetězci – tj. pravotočivým helixům a beta listům. **Ramachandranův diagram** je využíván pro ověření kvality strukturních modelů ať už získaných rentgenovou difrakcí krystalů proteinu, nebo například na základě homologního modelování. Žádná z aminokyselin v modelovaném řetězci by neměla mít zakázané kombinace vazebných úhlů. Jsou-li takové kombinace přítomny, model není v daném úseku zcela věrohodný.



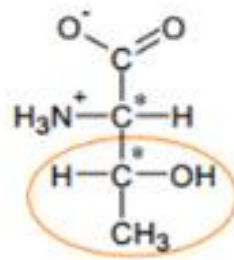
Aminokyseliny s polárním zbytkem



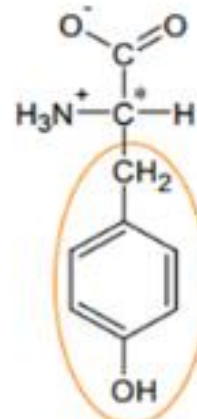
glycin (Gly)



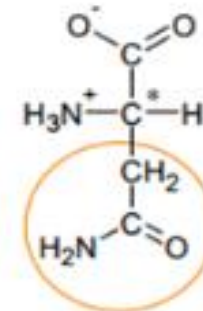
serin (Ser)



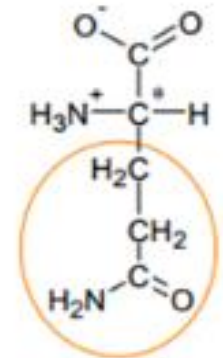
threonin (Thr) ●



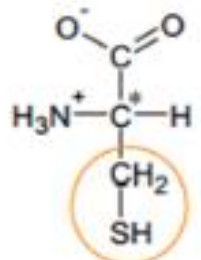
tyrosin (Tyr)



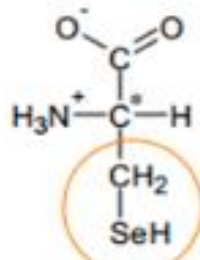
asparagin (Asn)



glutamin (Gln)



cystein (Cys)



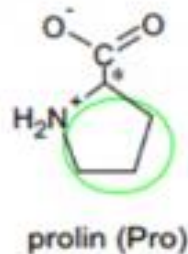
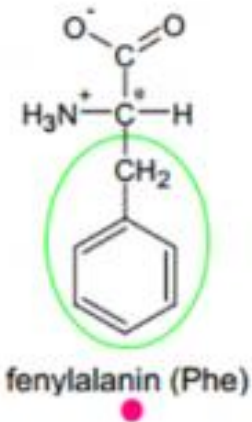
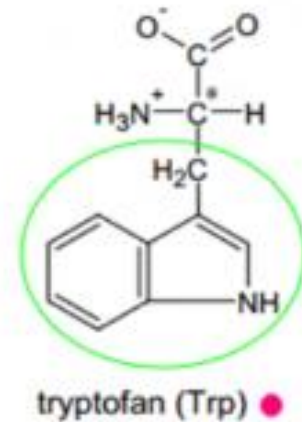
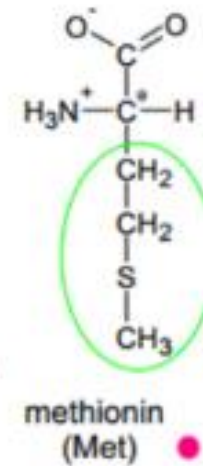
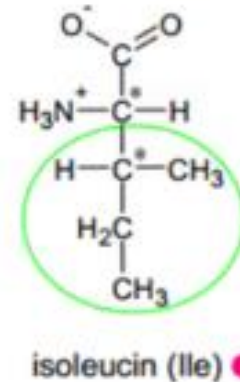
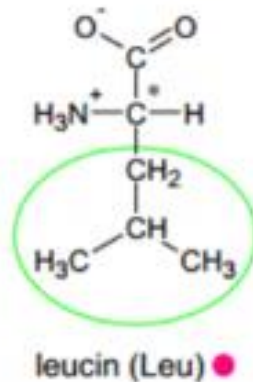
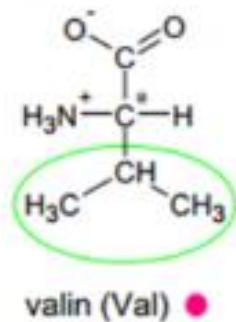
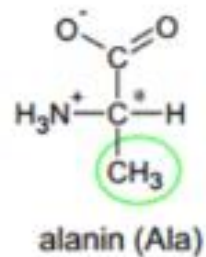
selenocystein (Sec)

 **polární postranní řetězce**

Obsahují skupiny OH, SH a CO, které tvoří vodíkové a disulfidové vazby.

*chirální uhlík ● esenciální aminokyseliny

Aminokyseliny s nepolárním zbytkem

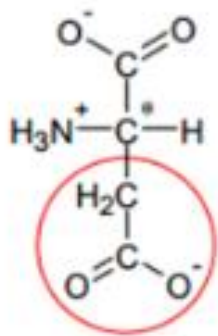


○ **nepolární postranní řetězce**

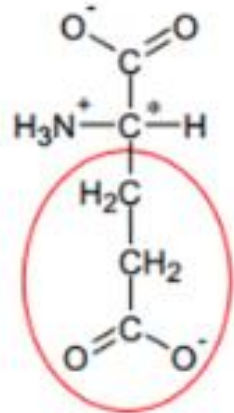
Obsahují uhlovodíkové zbytky, které jsou nepolární (hydrofóbní) a shlukují se tak aby se vyhnuly kontaktu s vodou

*chirální uhlík ● esenciální aminokyseliny

Aminokyseliny kyselé a zásadité

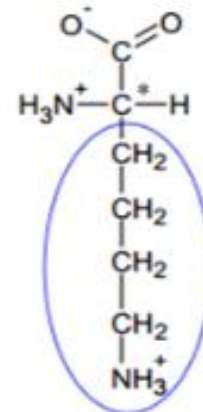


kyselina
asparagová
(Asp)

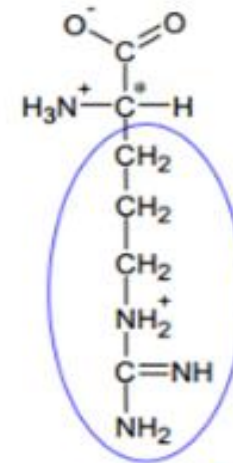


kyselina
glutamová
(Glu)

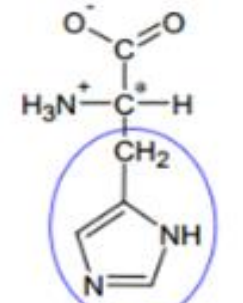
○ kyselé postranní řetězce



lysin (Lys) ●



arginin (Arg) ●



histidin (His) ●

○ zásadité postranní řetězce

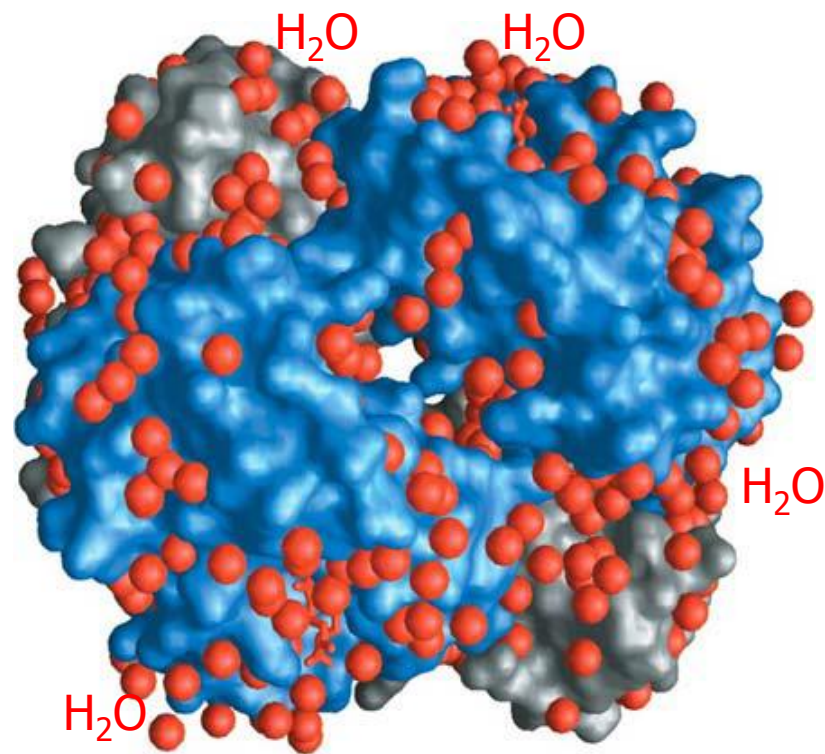
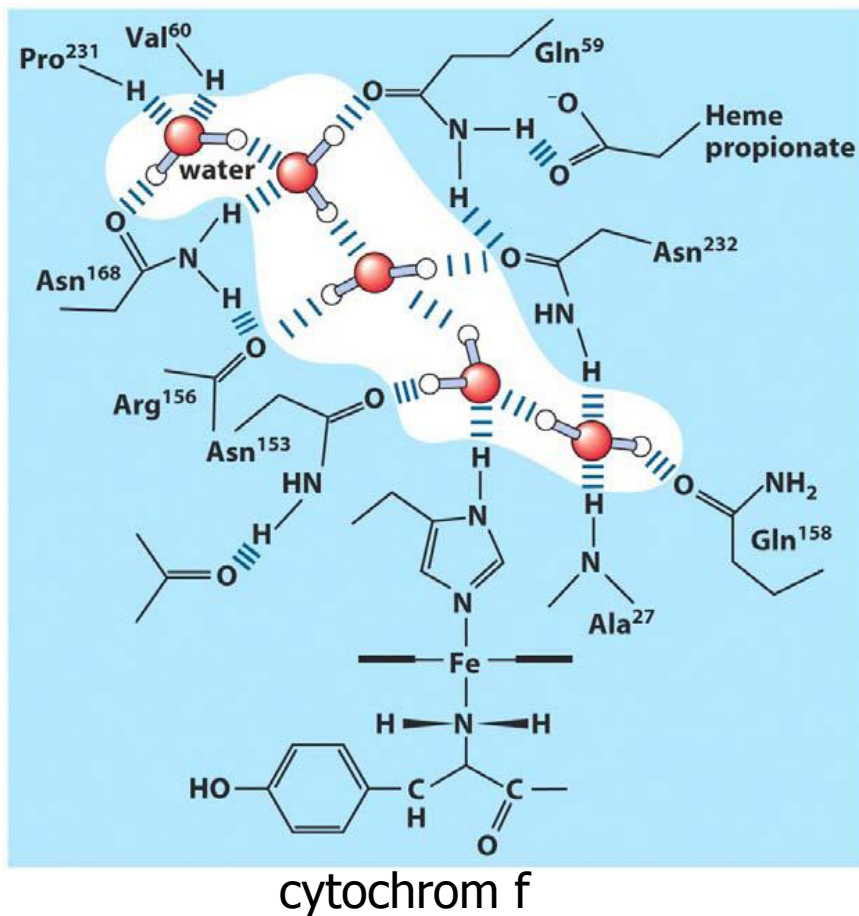
*chirální uhlík ● esenciální aminokyseliny



Vazby z TD hlediska

- vznik vodíkové vazby : záporná ΔH° a ΔS°
- hydrofóbní interakce: slabě kladná ΔH° a
silně kladná ΔS°
- coulombovské interakce kladná ΔS° (rozrušení uspořádanosti molekul vody)
- Přítomnost nepolárních látek zvyšuje sílu CI a snižuje sílu hydrofóbních interakcí.
- Zvýšení iontové síly prostředí zvyšuje sílu hydrofóbních interakcí (snižuje sílu CI).

Vazba vody uvnitř a na povrchu molekuly proteinu



krystalová struktura hemoglobinu



Hydratace bílkovin

- mezi molekulami hydratačního obalu a molekulou proteinu nekovalentní interakce
- výměna molekul H_2O v hydratačním obalu pomalejší než v čisté vodě
- hydratační obal zásadní pro biologickou funkci proteinu (konformační flexibilita, difúze)
- 0,3 g H_2O na 1 g bílkoviny, teoreticky tedy tloušťka jedné molekuly H_2O
- různé povahy (povaha funkčních skupin na povrchu)