

Chemické vlastnosti, struktura a interakce nukleových kyselin

Bi7015

Chemická reaktivita NK.

- Hydrolýza NK, redukce, oxidace, nukleofily, elektrofilny, alkylační činidla.
- Mutageny, karcinogeny, protinádorově účinné látky.
- Interakce DNA s UV a ionizujícím zářením.
- Maxamovo a Gilbertovo sekvencování, chemické strukturní sondy.
- Poškození DNA a jeho detekce.
- Základní mechanismy opravných procesů

Nekovalentní interakce DNA s malými molekulami.

- Iontové interakce, vazba do žlábků, interkalace.
- Bisinterkalátory, „provlékající se“ (threading) interkalátory, metalointerkalátory.
- Přenos náboje/elektronů zprostředkovaný dvoušroubovicí DNA.
- Analytické využití interkalátorů a látek vázajících se do žlábků; chemické nukleázy.

Interakce DNA s proteiny.

- Principy, funkční skupiny DNA a proteinů zprostředkující vzájemné interakce.
- Nespecifické a sekvenčně specifické interakce.
- Příklady sekvenčně specifických interakcí (např. helix-otáčka-helix, zinkové domény). HMG proteiny.
- Příklady: Mechanismus interakce restričních endonukleáz s DNA. Interakce proteinu p53 s DNA.
- Základní metody studia interakcí bílkovin s DNA; EMSA, imuno-techniky, footprinting DNA.

Enzymy účastnící se metabolismu NK.

- DNázy, RNázy, polynukleotidfosforyláza.
- Endonukleázy rozpoznávající jednořetězcové NK
- Enzymy účastnící se opravných procesů.
- Topoizomerázy, helikázy.
- Ligázy, polynukleotid kináza.
- Restrikční endonukleázy, metyltransferázy; metylované baze, metylace DNA u prokaryot a eukaryot.
- Využití enzymů při studiu struktury a interakcí DNA.

Struktura a funkce ribonukleových kyselin a regulace genové exprese.

- Ribozomální, transferové a informační RNA.
- Sestřih prekurzorových RNA.
- Katalytické funkce RNA, samosestřih.
- RNA interference. Regulace genové exprese, úloha RNA; vztah k metylaci DNA. Metodické přístupy.

Elektrochemie nukleových kyselin a DNA biosenzory.

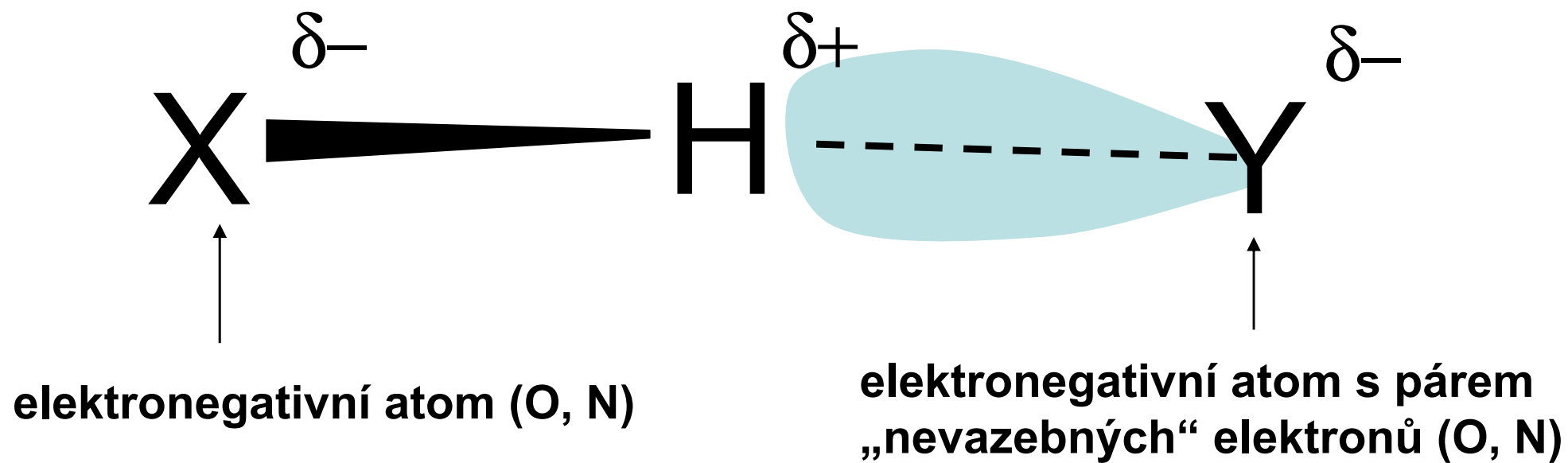
- Vztah mezi strukturou DNA a jejím chováním na rtuťových a uhlíkových elektrodách.
- Elektrochemické biosenzory pro hybridizaci DNA. Značení DNA elektroaktivními skupinami.
- Elektrochemické biosenzory pro poškození DNA.

**Jak jste na tom
s chemií?**

Základní pojmy

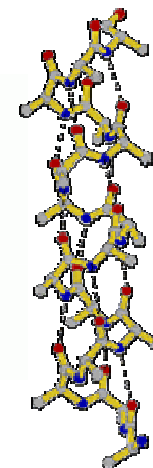
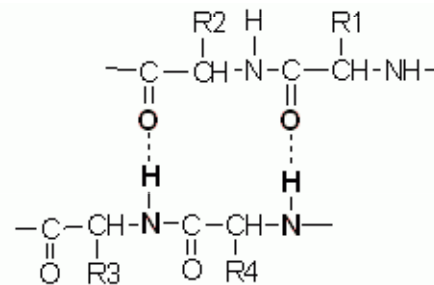
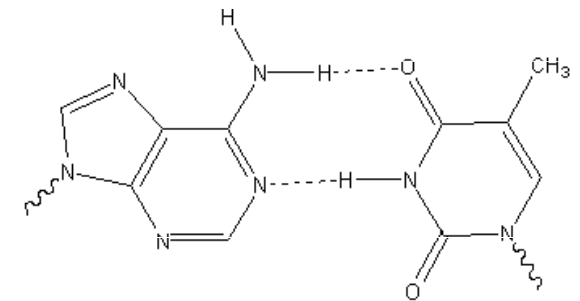
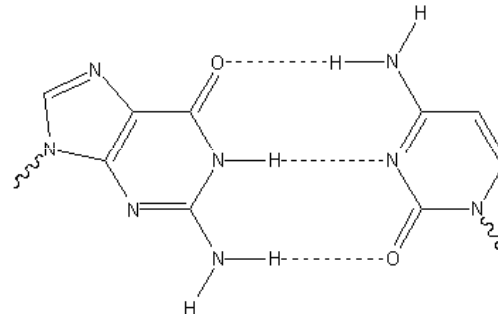
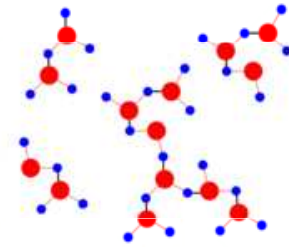
- vodíková vazba
- iontové interakce
- hydrofóbní interakce a stacking („stohové interakce“)
- esterová vazba
- glykosidová vazba N-glykosidová vazba
- peptidová vazba
- hydrolýza
- oxidace, redukce
- elektrofil, nukleofil
- tautomerie, enol-keto, amino-imino

Vodíková vazba



Vodíková vazba

- **naprosto zásadní význam pro biologii**
- vlastnosti vody (!)
- párování bazí v NK
- struktura bílkovin
- DNA-protein interakce
- řada dalších interakcí



Iontové interakce

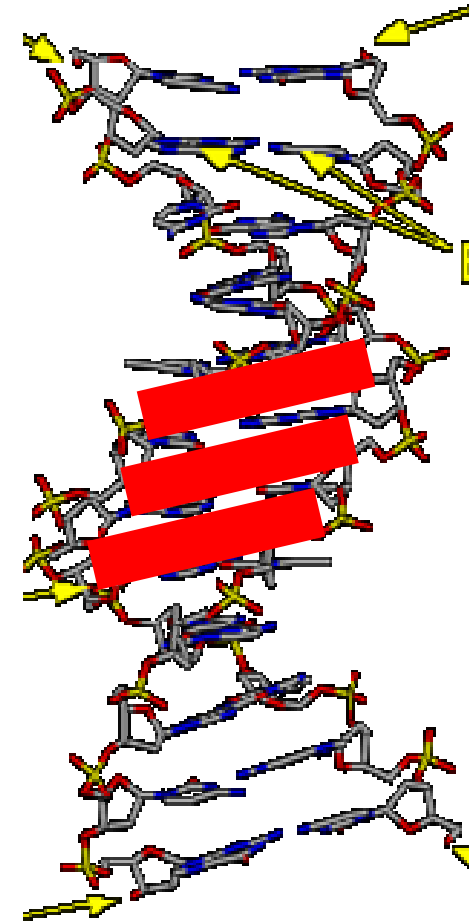
- někdy „solné můstky“
- opačné náboje se přitahují
- fosfátové zbytky v DNA (-)
- protonizované dusíkaté skupiny v bílkovinách (Arg, Lys, His) (+)
- karboxylové skupiny v bílkovinách (-)
- navzájem nebo s jinými molekulami, anorganickými ionty (Mg^{2+}) apod.

Hydrofóbní interakce

- shlukováním hydrofóbních (s vodou neinteragujících) skupin se získají nové interakce mezi molekulami vody (kapičky oleje ve vodě se spojí, tím se zmenší jejich celkový povrch)
- podobně se chovají hydrofóbní části proteinů (aminokyseliny s nepolárními postranními řetězci se orientují dovnitř prostorové struktury bílkoviny)
- v DNA – metylové skupiny thyminu a 5-metyl cytosinu

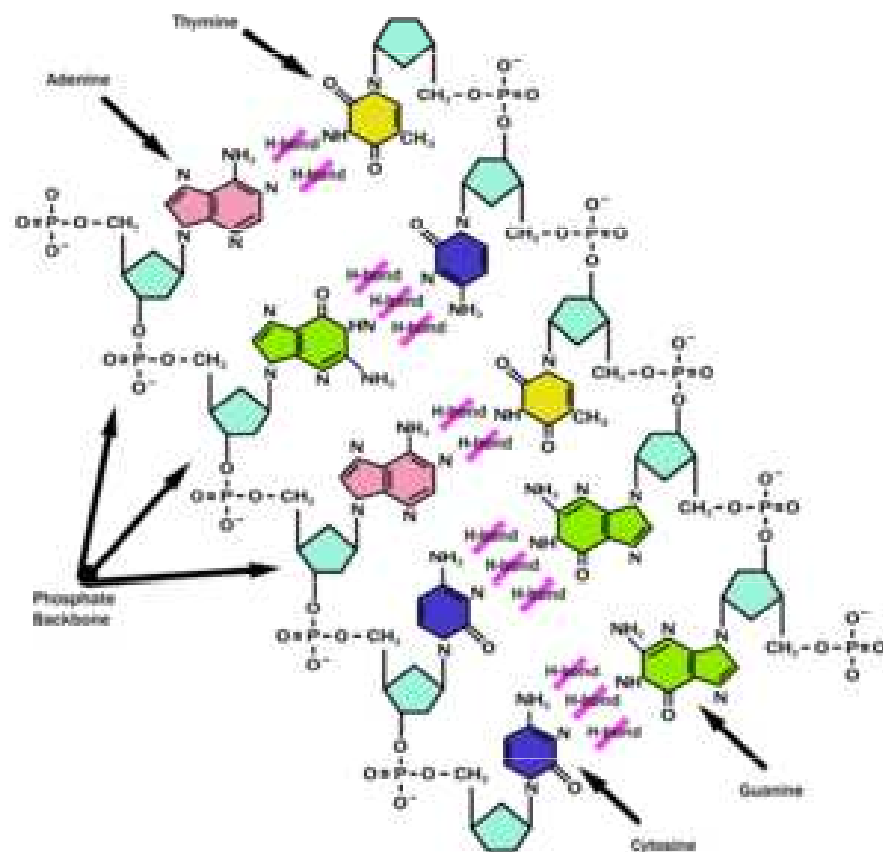
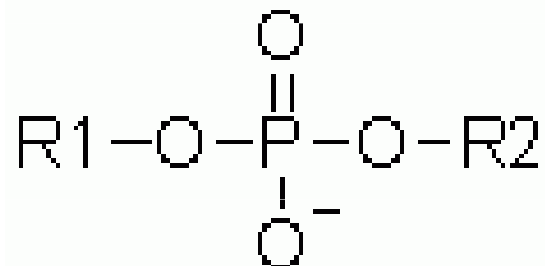
Stacking

- interakce mezi paralelně orientovanými páry bazí
- překryv π -orbitalů aromatických kruhů (?)
- interakce s jinými molekulami (interkalátory, zbytky aromatických aminokyselin při interakcích DNA-protein)



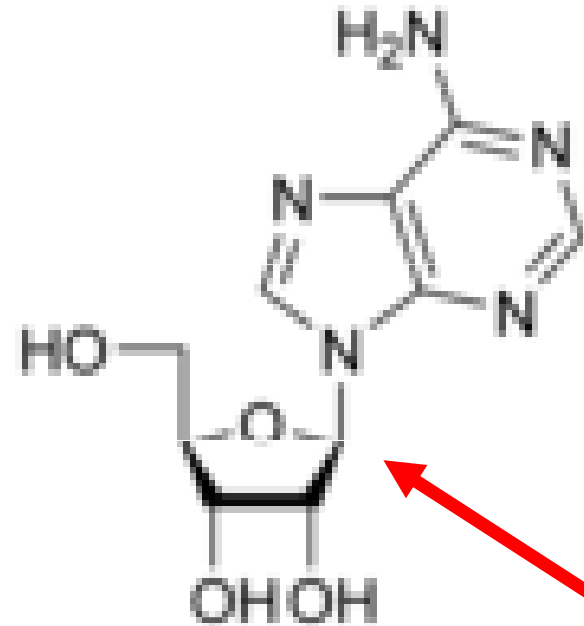
Fosfodiesterová vazba

- estery: produkty kondenzace (reakce za odštěpení vody) kyselin a alkoholů
- v NK: fosfodiesterory mezi dvěma cukernými zbytky



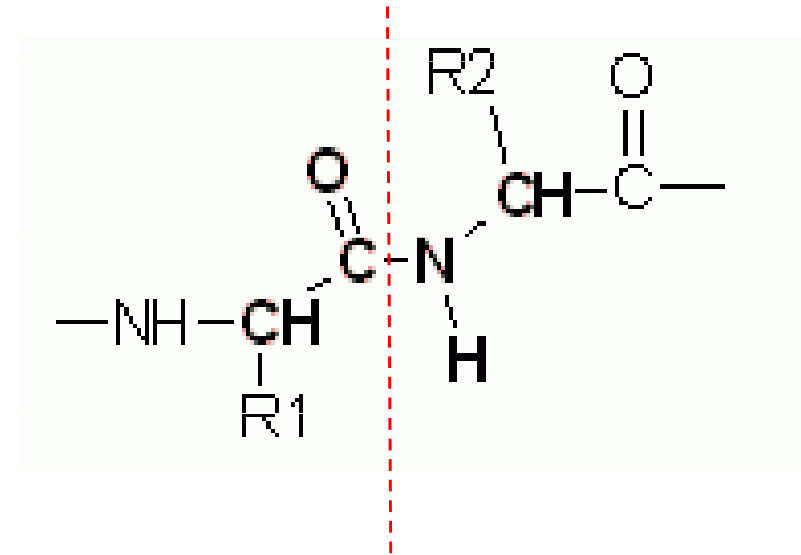
N-glykosidová vazba

- glykosidy: deriváty cukrů, ve kterých je poloacetalová nebo poloketalová skupina nahrazena jiným zbytkem
- u nukleosidů je to dusíkaté báze (nukleobáze)



Peptidová vazba

- = vlastně vazba amidová
- produkt kondenzace karboxylové kyseliny a aminu



Hydrolýza

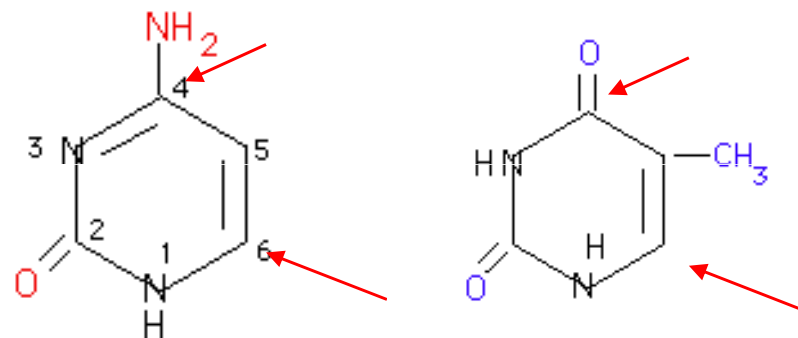
- štěpení chemické vazby přenosem na molekulu vody
- u NK a proteinů v kyselém nebo alkalickém prostředí
- fosfodiesterová vazba
- N-glykosidová vazba
- peptidová vazba

Oxidace, redukce

- reakce zahrnující přenos elektronů
- často za účasti kyslíku – nejběžnější oxidační činidlo

Elektrofil, nukleofil

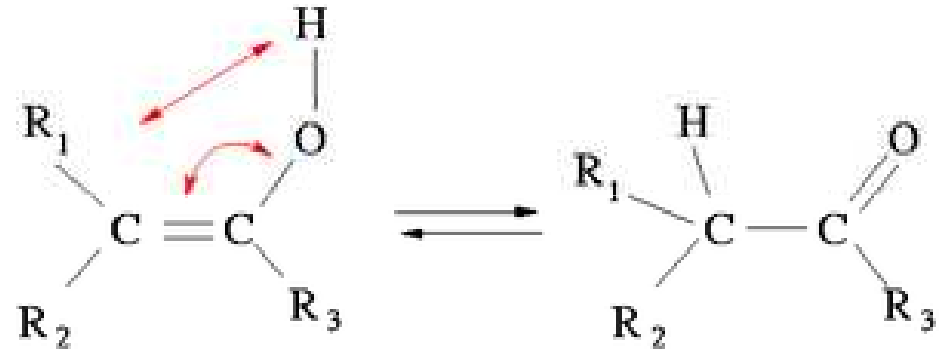
- **elektrofil, elektrofilní centrum:** částice nebo místo v molekule s elektronovým deficitem (parciálním kladným nábojem)
- s oblibou reaguje s nukleofilem



- **nukleofil, nukleofilní centrum:** částice nebo místo v molekule s elektronovým přebytkem (parciálním záporným nábojem)
- s oblibou reaguje s elektrofilem
- v nukleobazích heteroatomy (N, O)

Tautomerie

- izomerie mezi enol-keto, amino-imino, laktam-laktim



- v bazích DNA: klíčová stabilita jedné z možných tautoforem, neboť předurčuje specifitu párování
- mutagenní efekt některých modifikací bazí

