

C5720 Biochemie

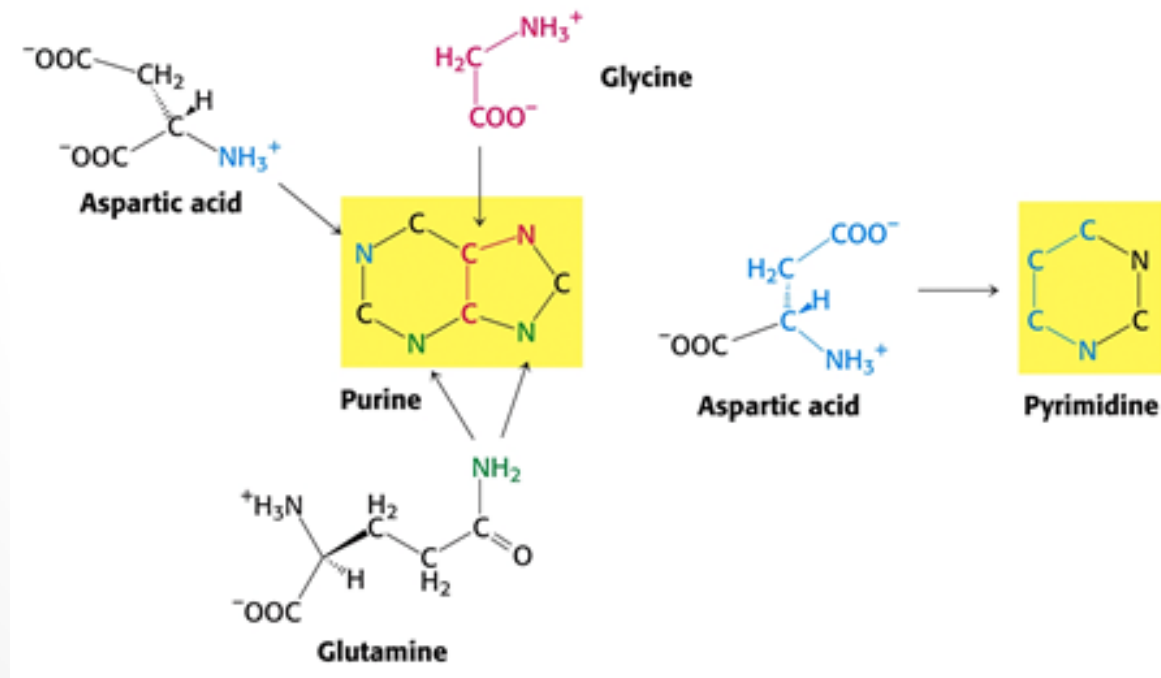
17-Nukleové kyseliny a proteosyntéza

Obsah

- Syntéza a odbourání bazí.
- Degradace a syntéza NK. Fosfodiesterasy, palindrom, restriční endonukleasy.
- Replikace DNA, replikační vidlička, DNA polymerasa.
- Transkripce DNA a její faktory, vznik mRNA.
- Genetický kód, translace, funkce tRNA a ribosomů.
- Posttranslační modifikace, transport.

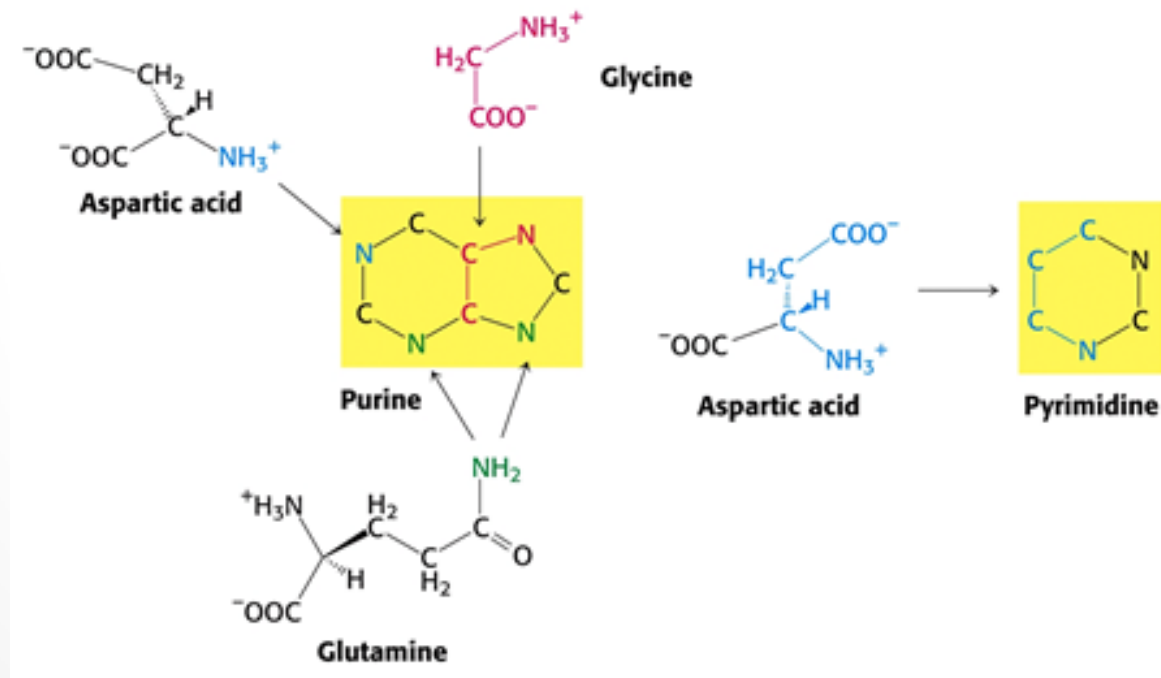
Syntéza bází NK

- Schematické znázornění syntézy purinových a pyrimidinových bází



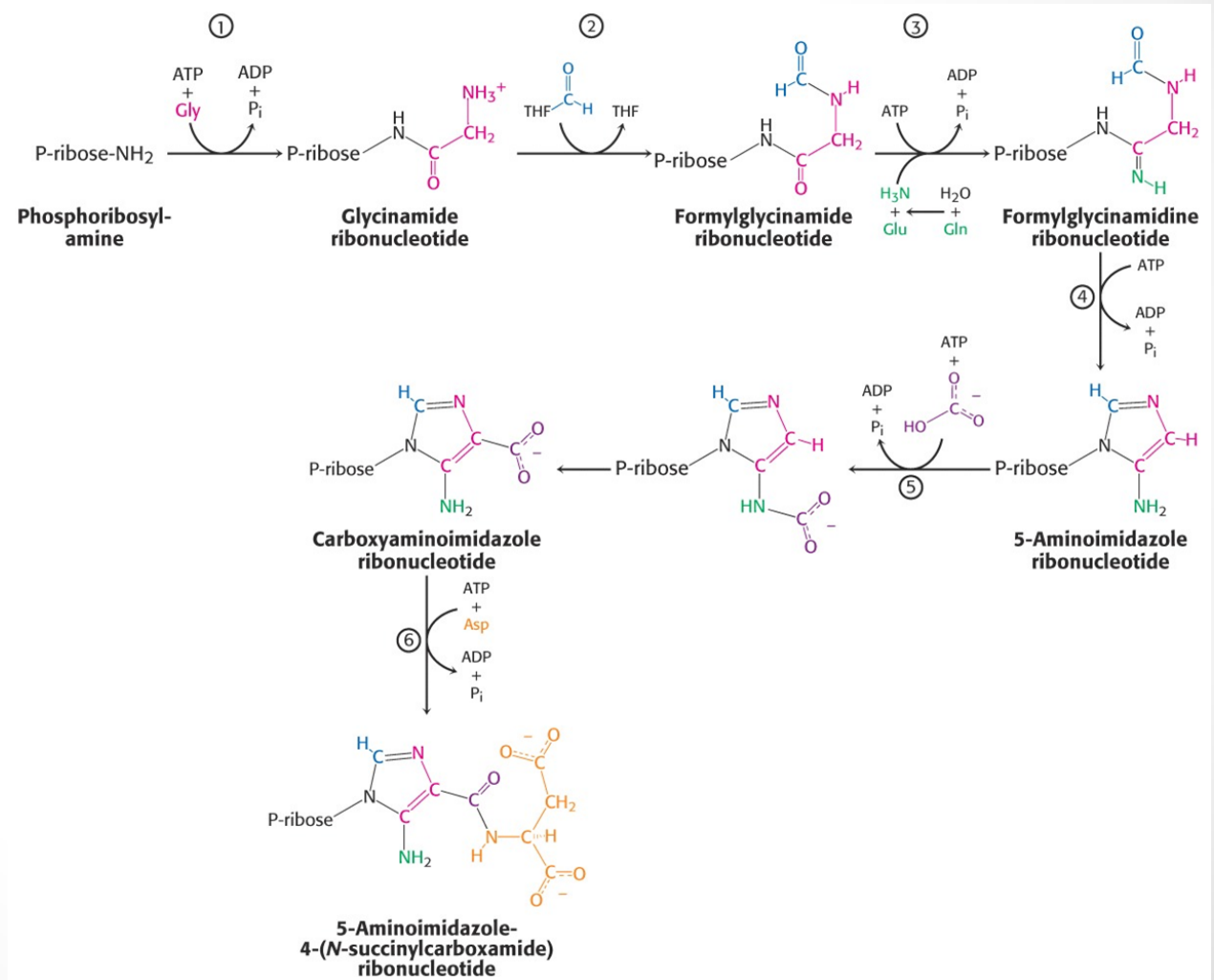
Syntéza bází NK

- Schematické znázornění syntézy purinových a pyrimidinových bází



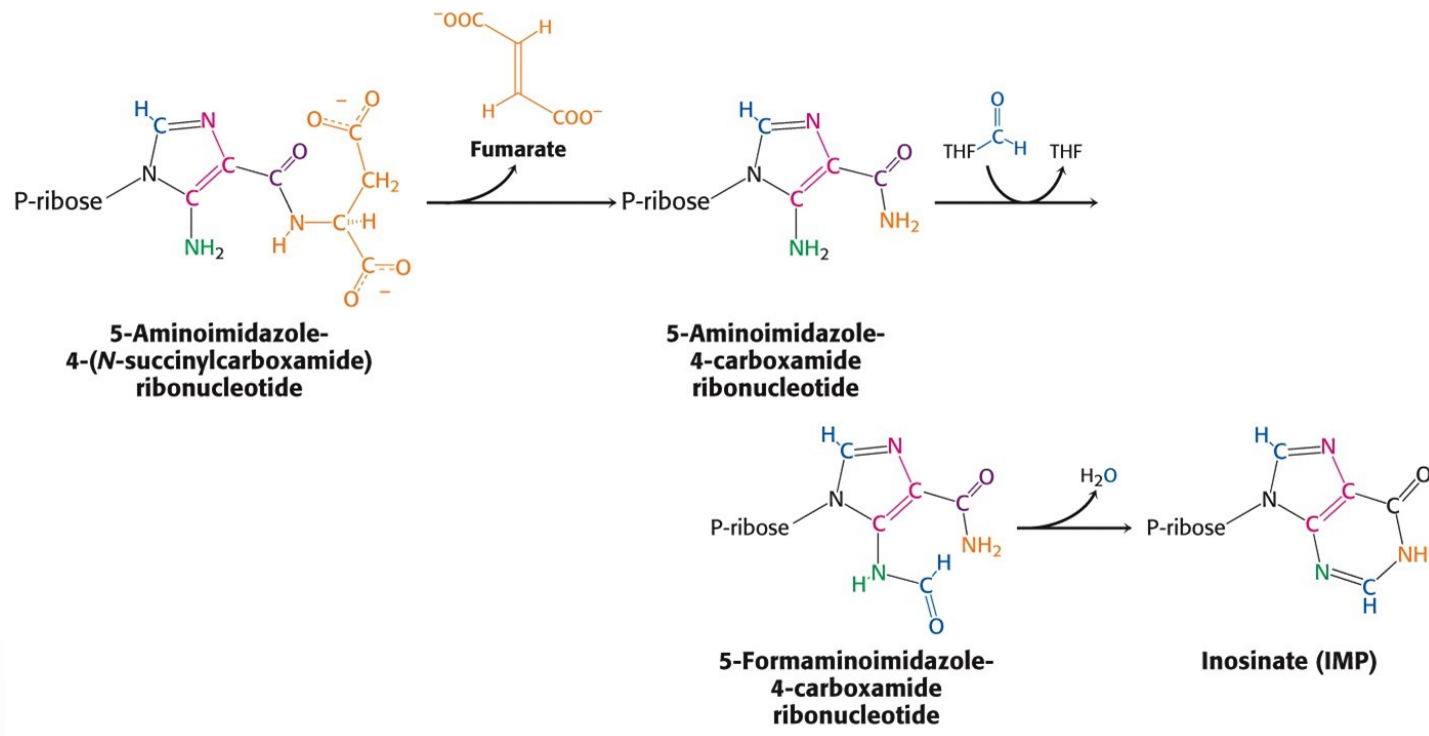
Syntéza purinových bazí

- 1. část
- P-Rib-amin
 - z P-Rib-PP



Syntéza purinových bází

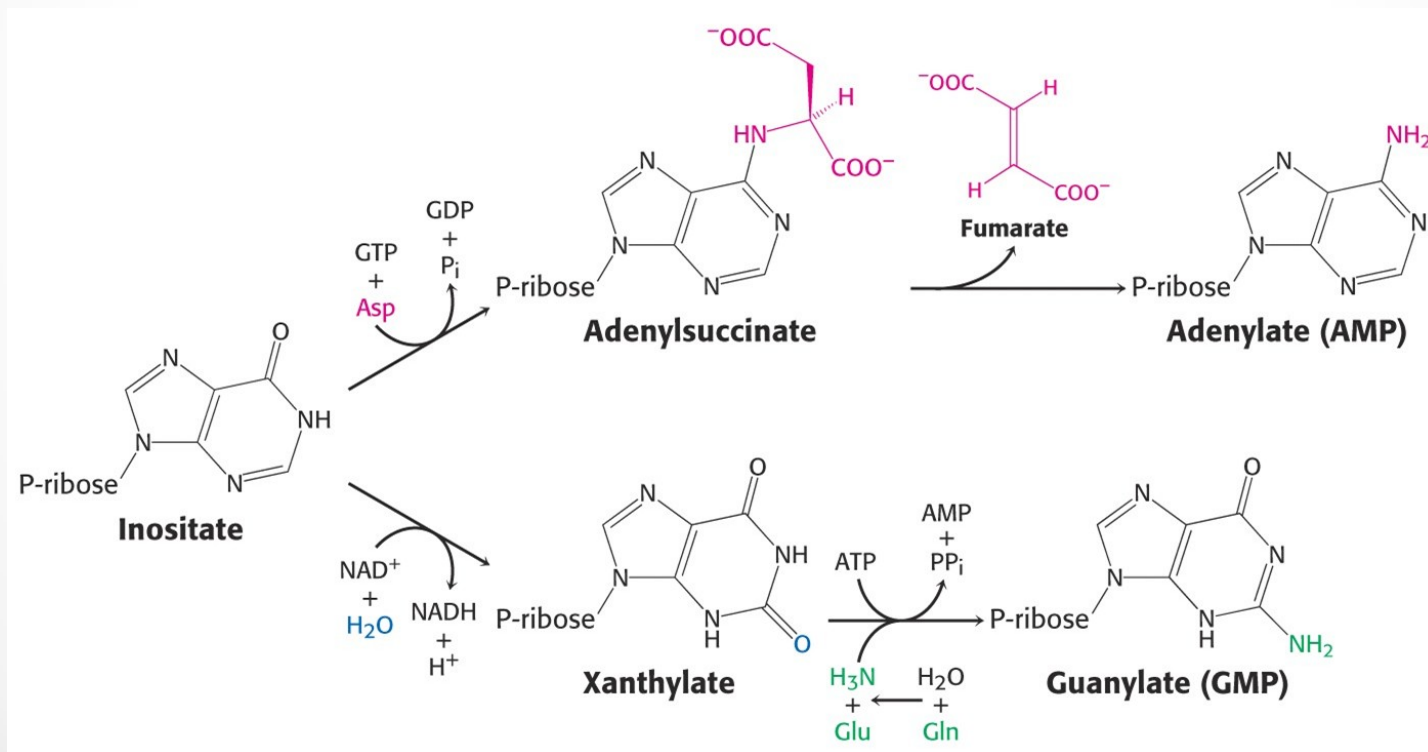
- 2. část
IMP



Syntéza purinových bází

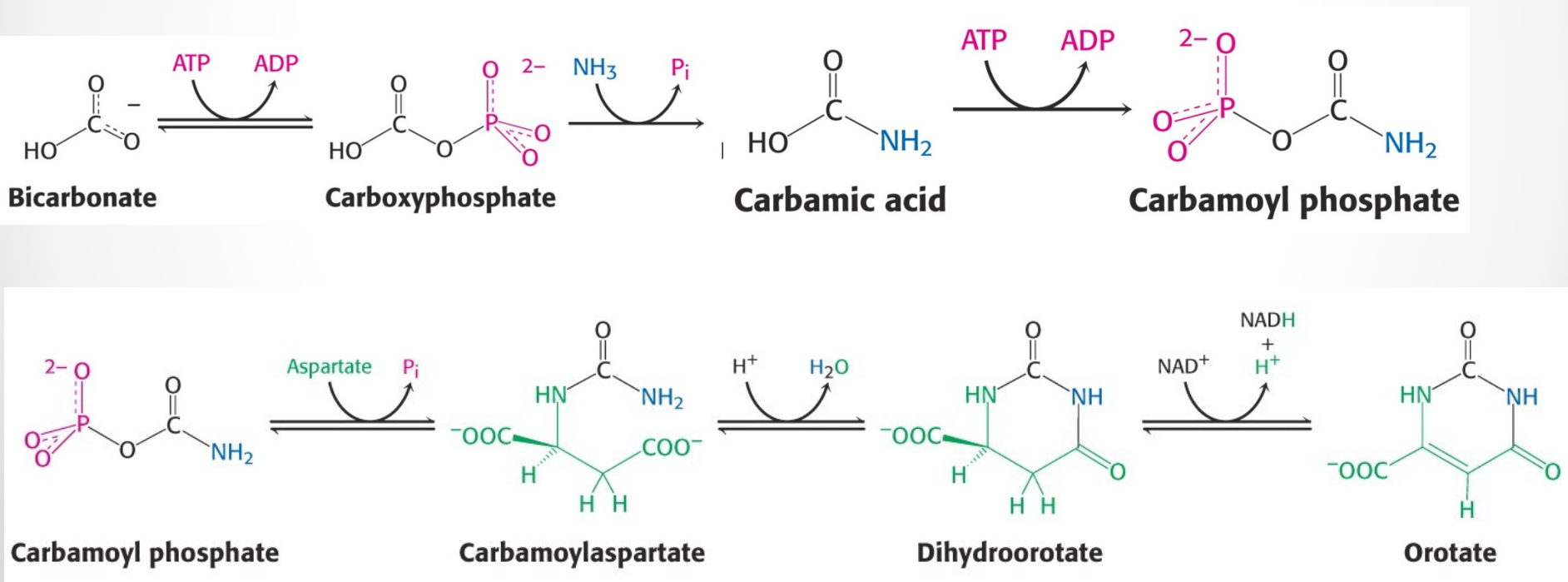
• 3. modifikace IMP

- Adenylsukcinát syntetasa + lyasa – eliminace NH_3
- Xantylát:glutamin aminotransferasa (předchází monooxygenace)

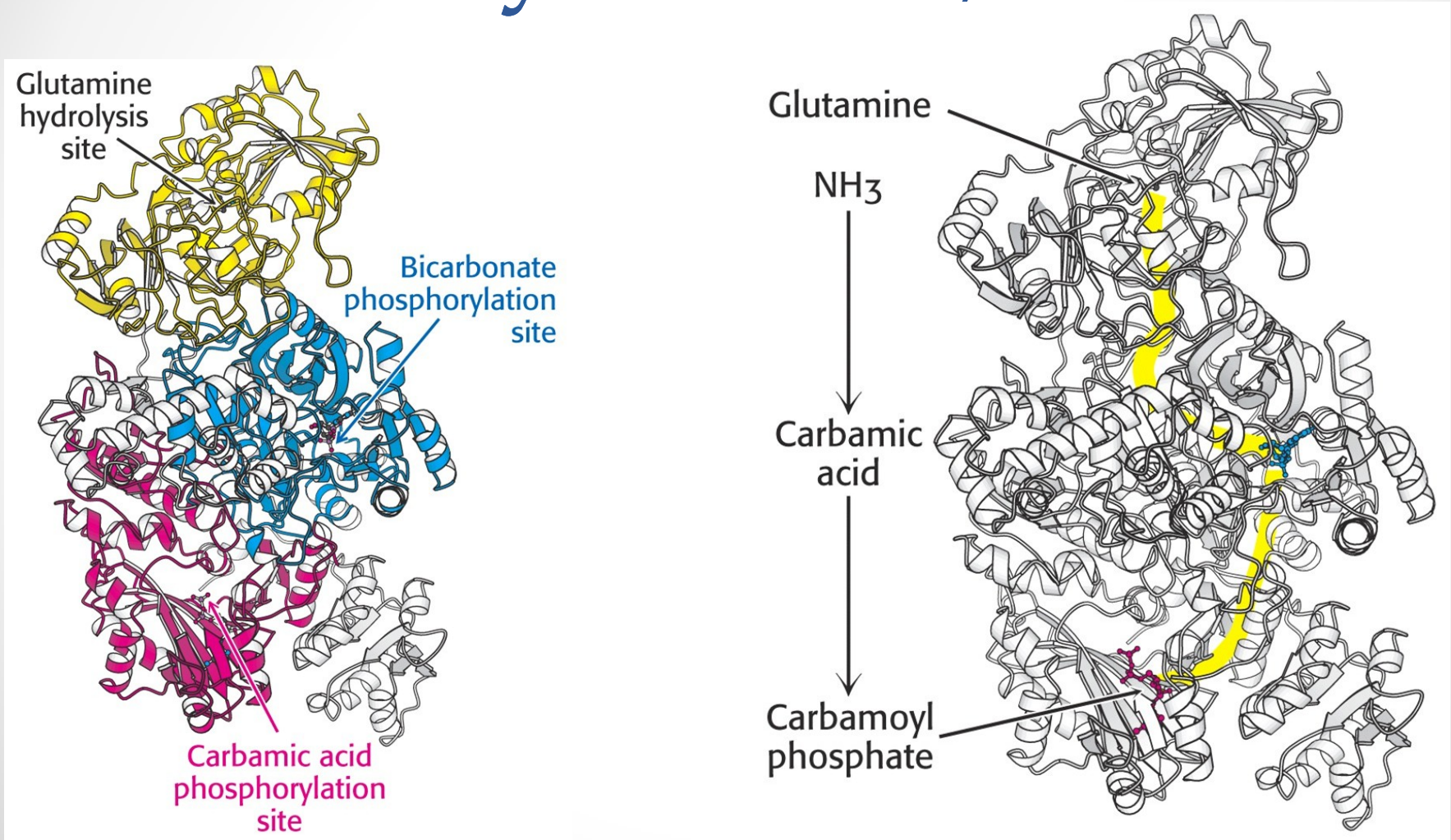


Syntéza pyrimidinových bazí

- 1. vznik orotátu
 - Karbamoylfosfátsyntetasa II, Gln donorem NH_2 -skupiny

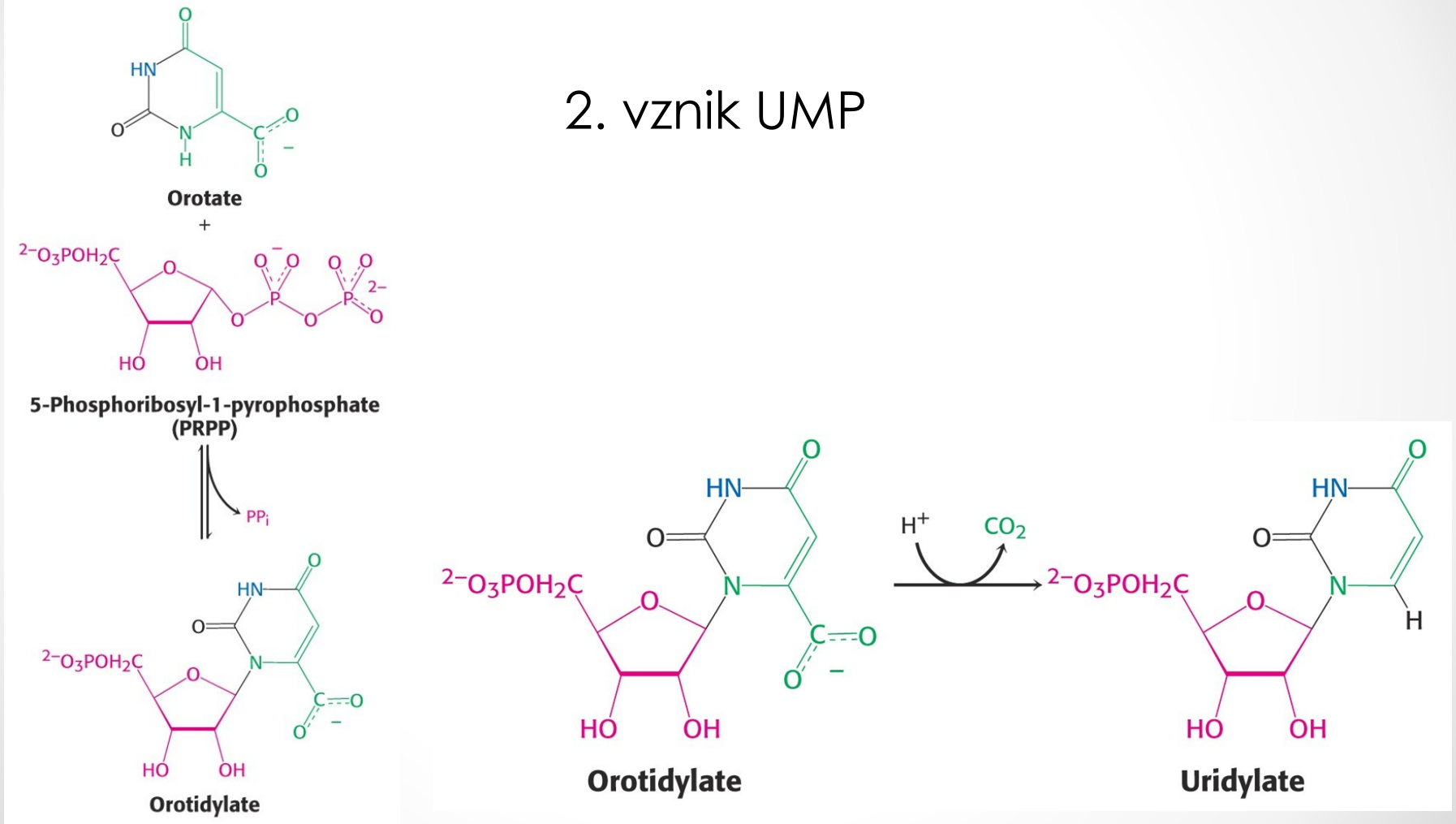


Karbamoylfosfátsyntetasa II



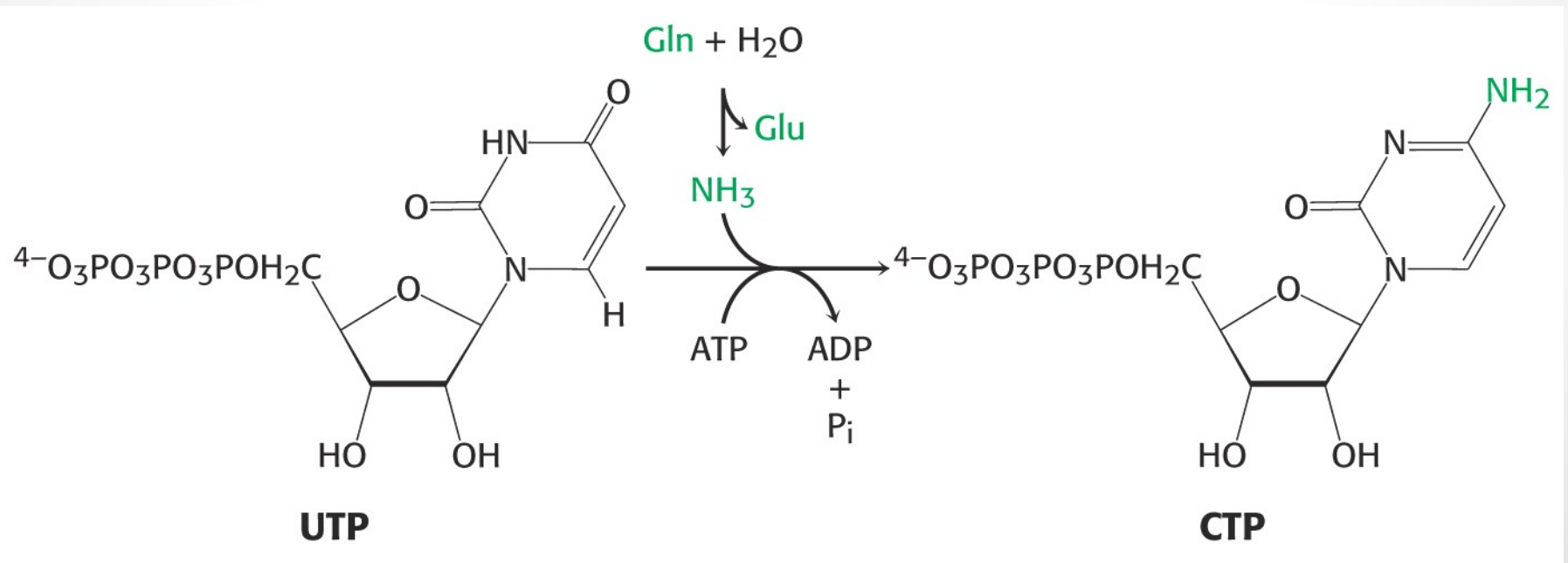
Syntéza pyrimidinových bazí

2. vznik UMP



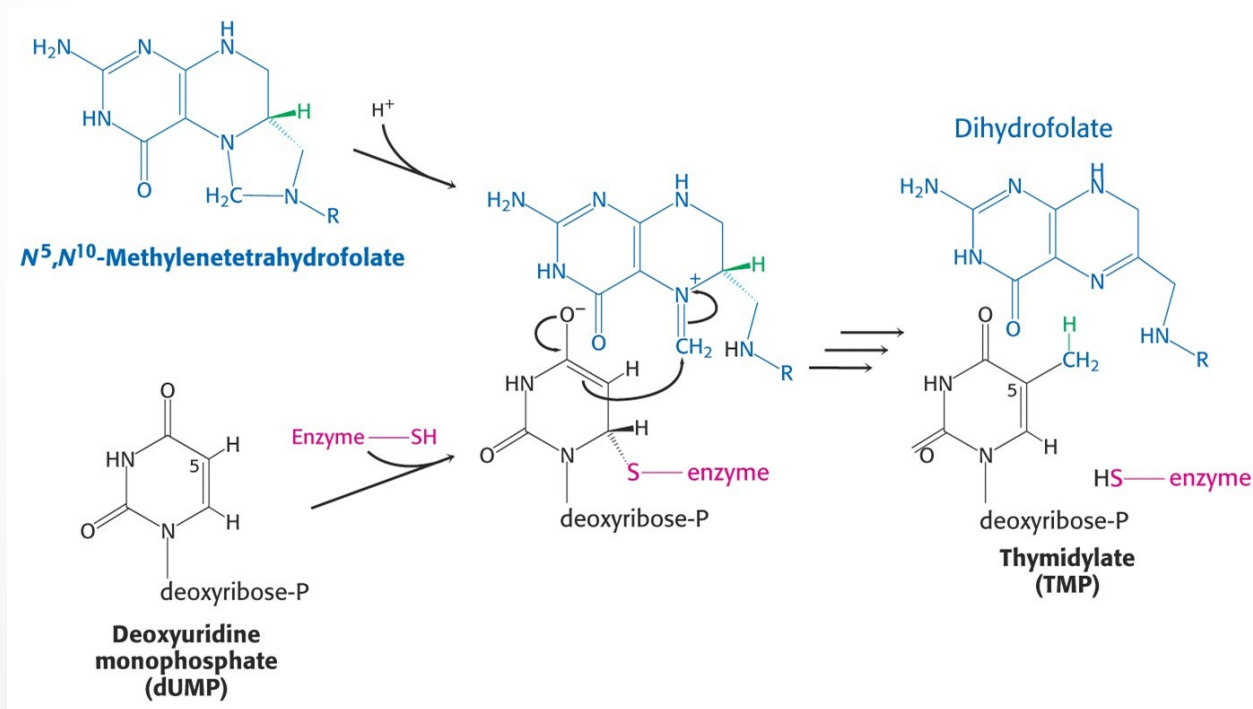
Syntéza pyrimidinových bazí

- 3. vznik CTP



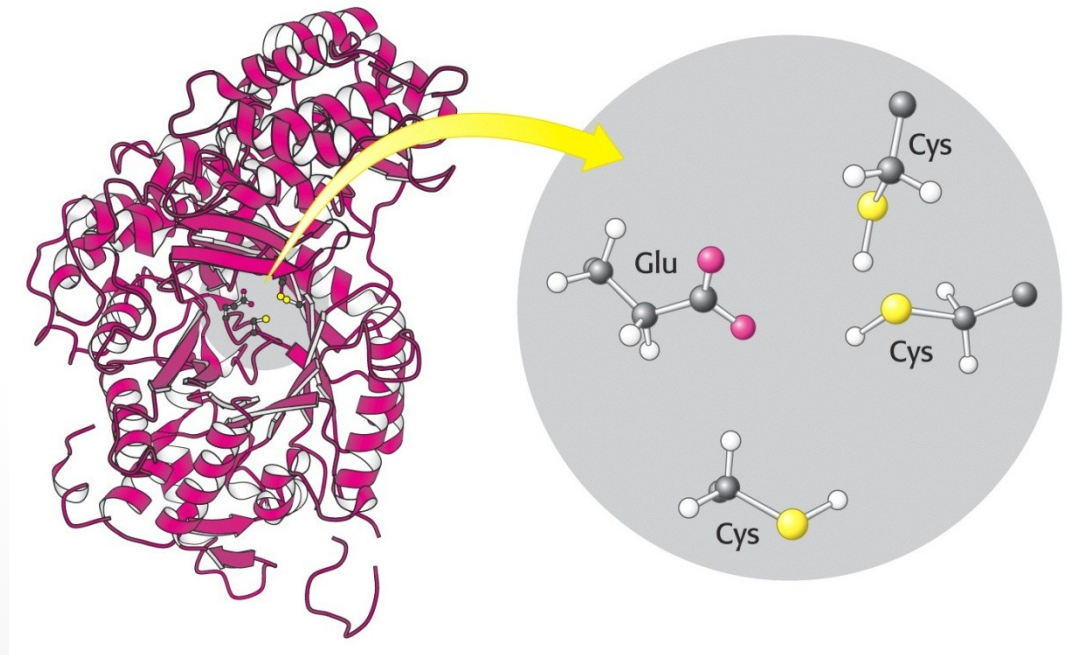
Syntéza pyrimidinových bazí

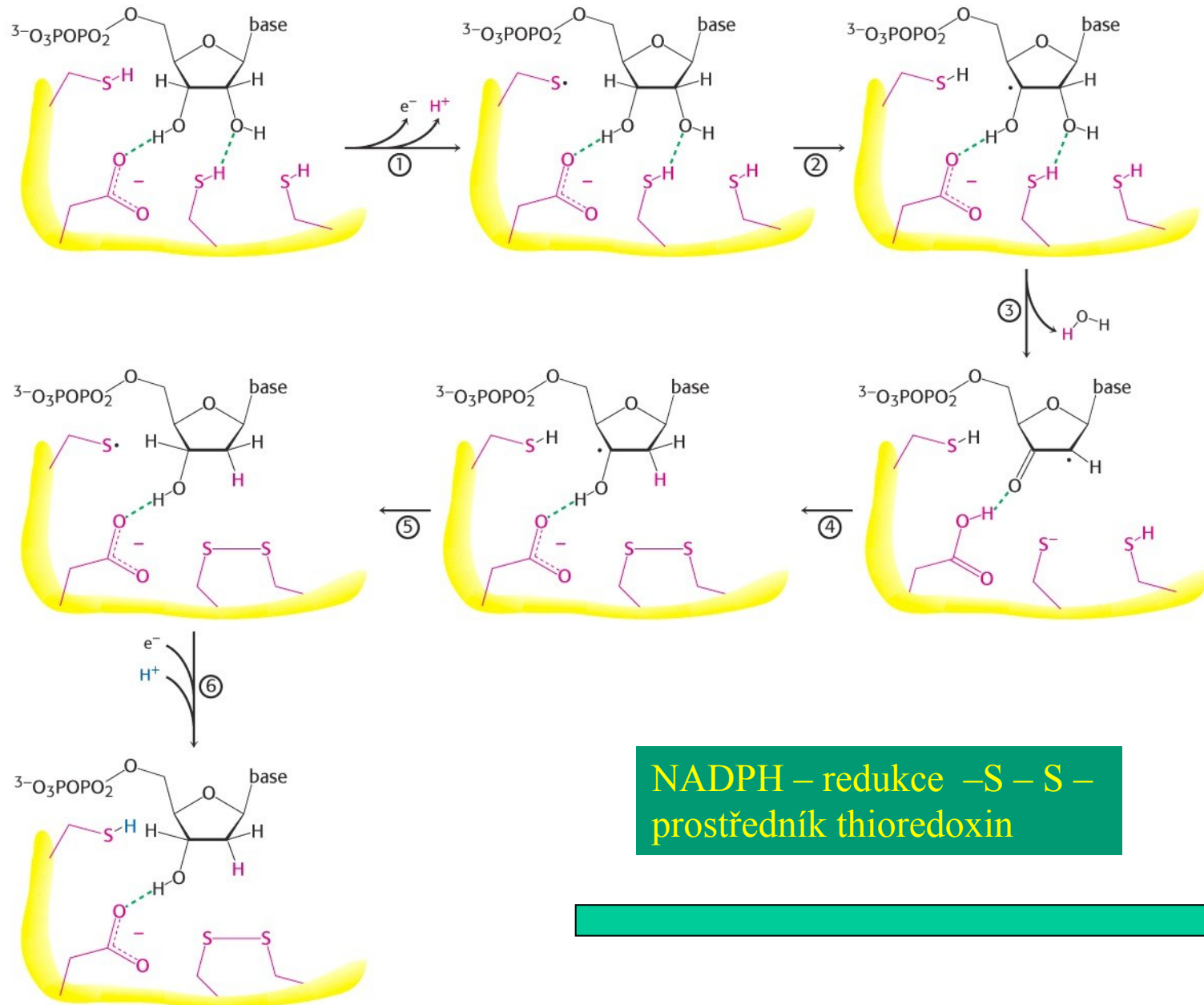
- 4. vznik dTMP
 - Nejprve dUMP
 - Tymidylátsyntasa – inhibice 5-fluorouracilem (antimetabolity)
 - Metylace pomocí metylenTHF – inhibice redukce DHF methotrexatem aj.



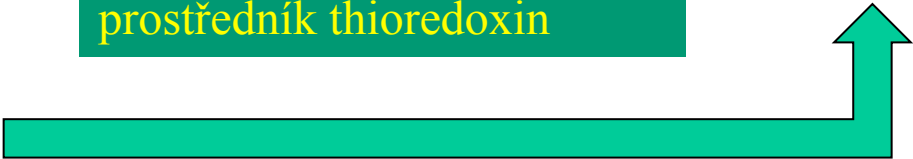
Vznik deoxyribonukleotidů

- Redukce NDP nebo NTP
- Ribonukleotid reduktasa – 3 typy
 - NADPH
 - Radikálové intermediární stavy (-S, oxyfenyl, kov)

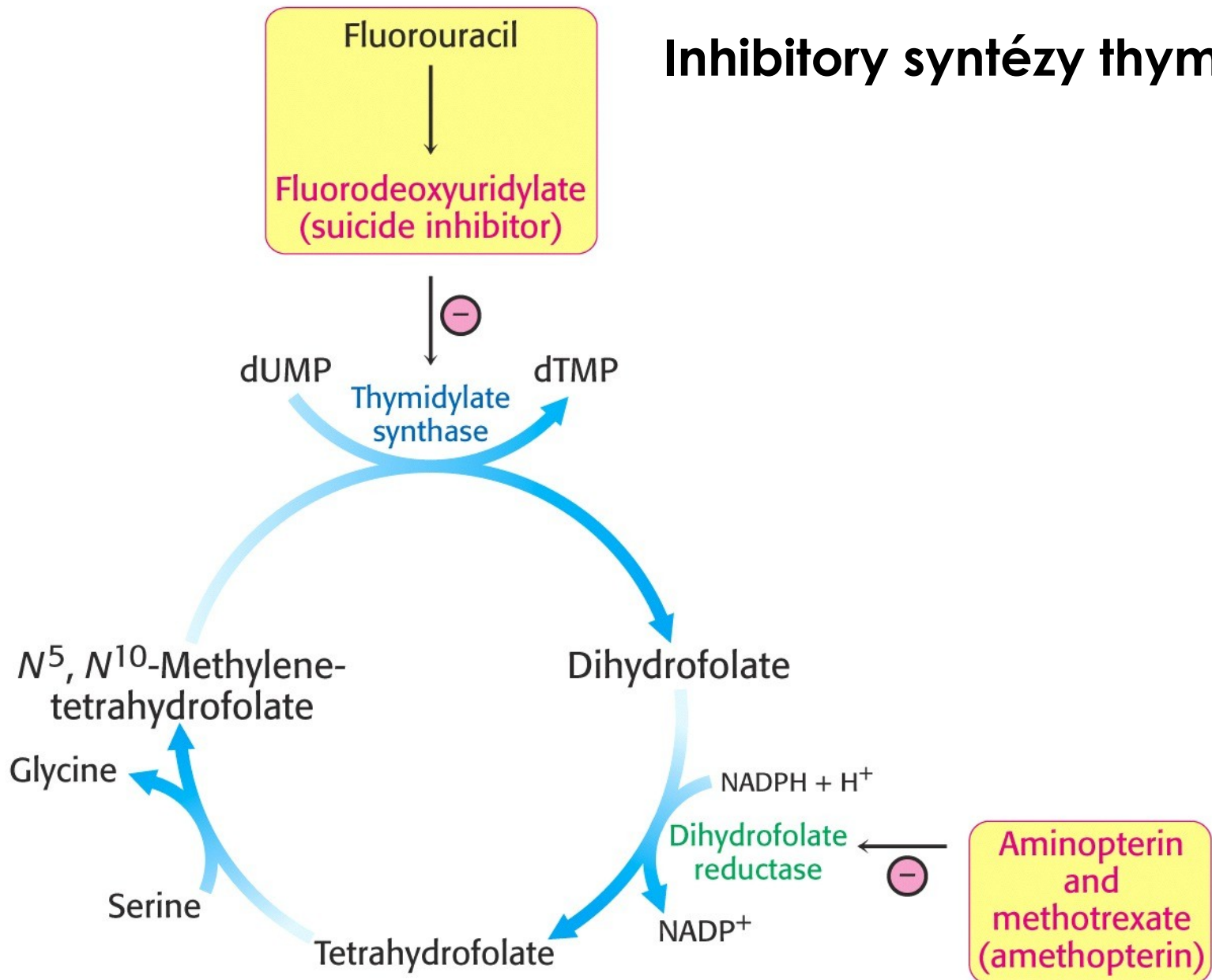




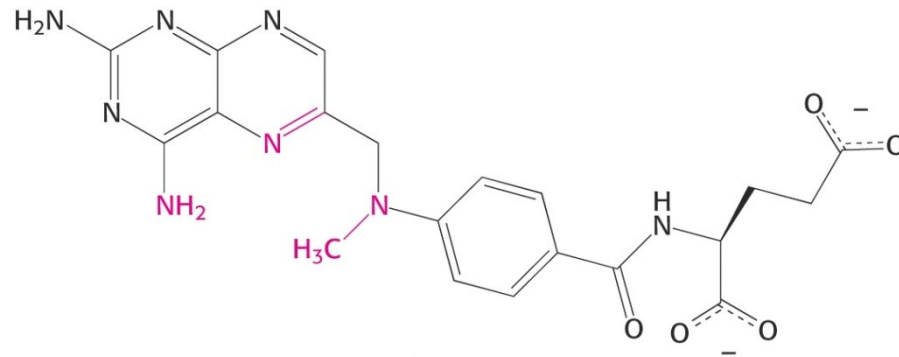
NADPH – redukce –S – S –
 prostředník thioredoxin



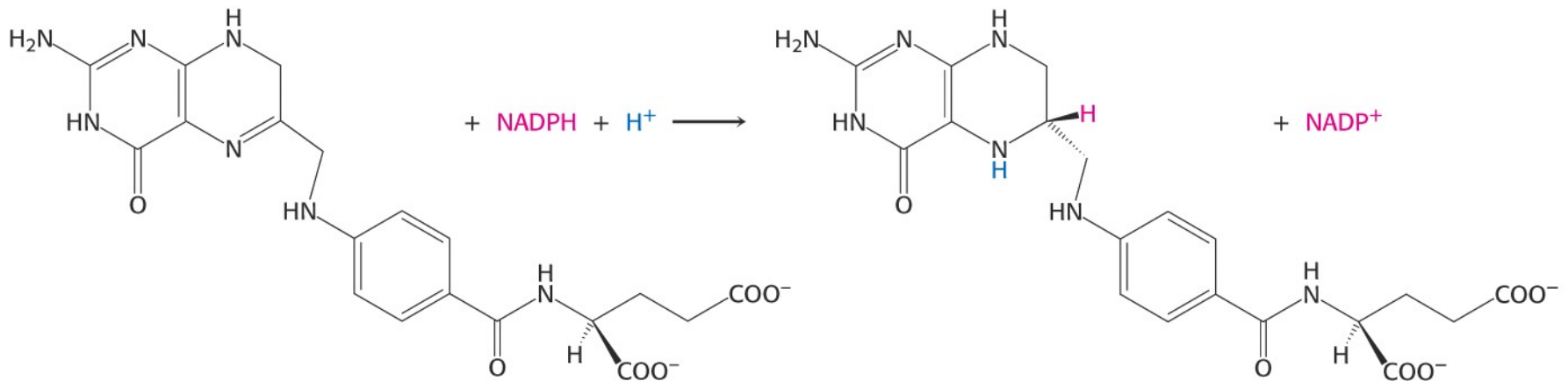
Inhibitory syntézy thyminu



Redukce DHF



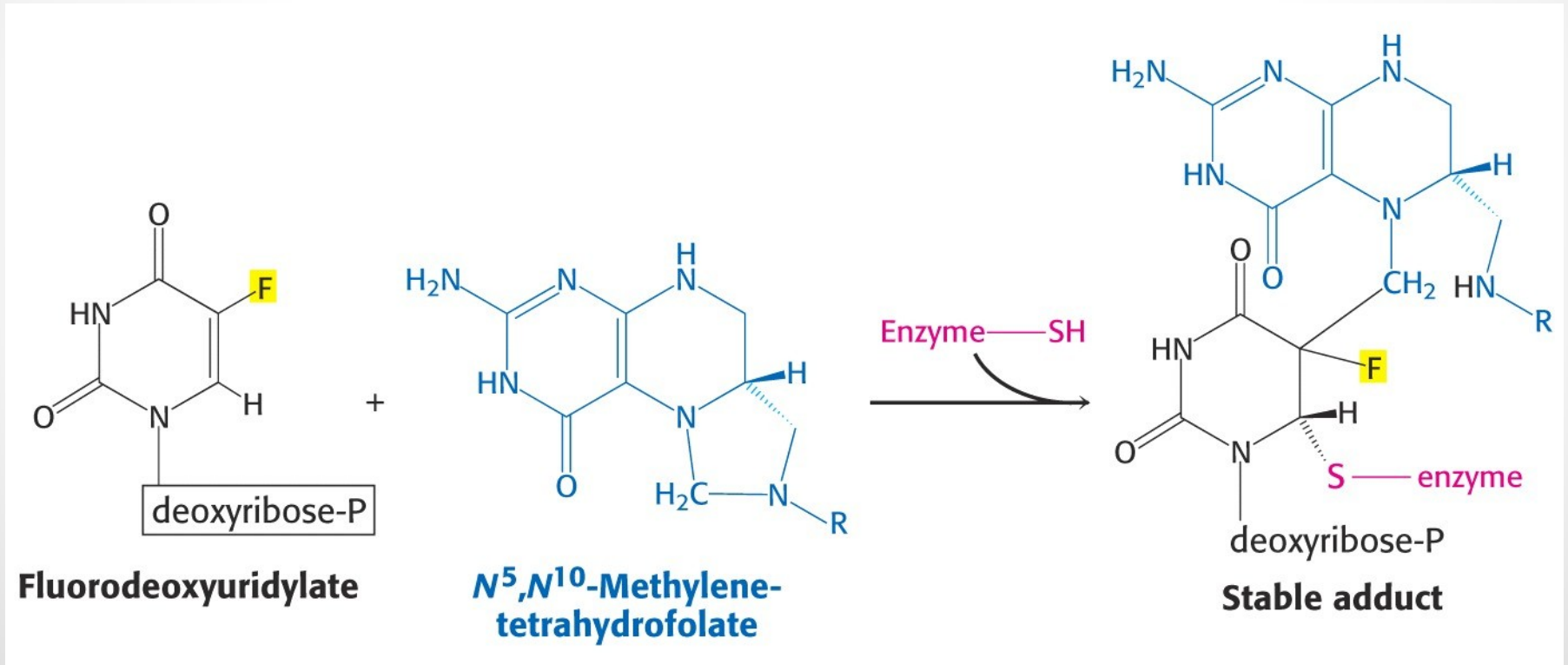
Methotrexate



Dihydrofolate

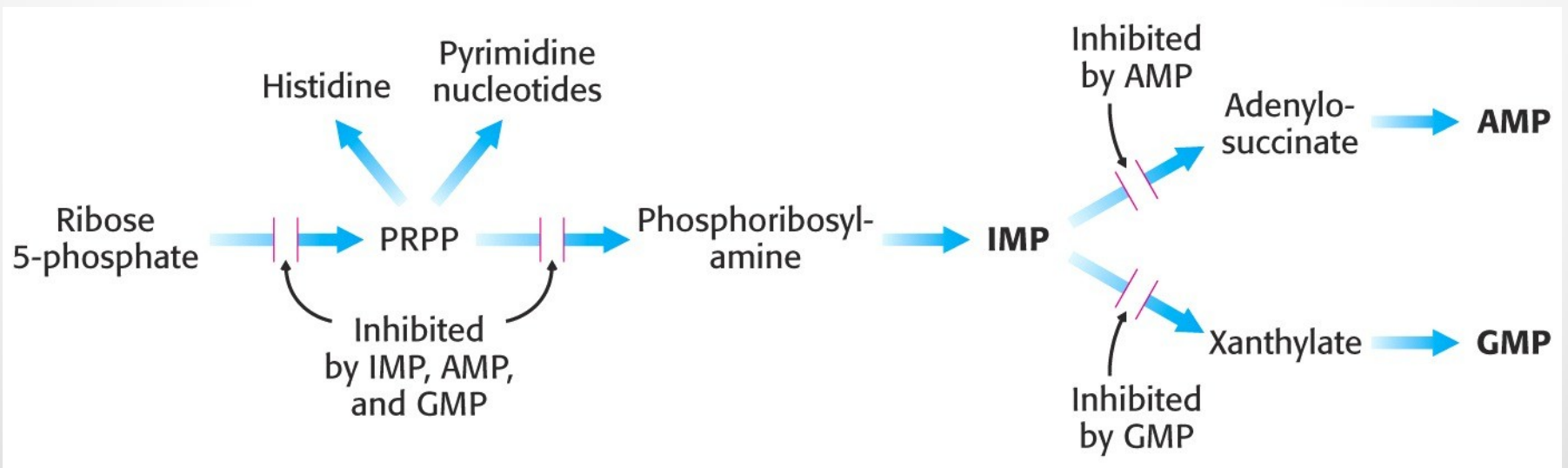
Tetrahydrofolate

Inhibice FU



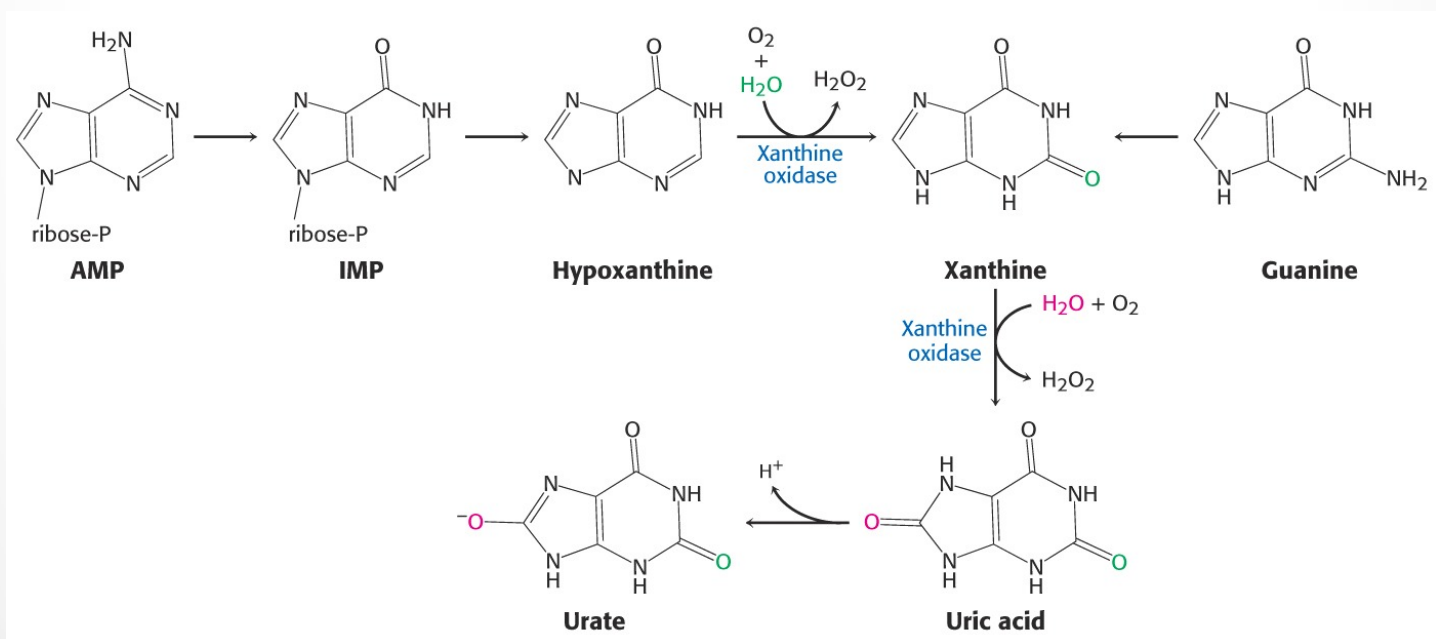
Regulace syntézy

- Zpětnovazebné inhibice
 - Pyrimidiny – allosterická inhibice aspartáttranskarbamoylasy produktem
 - Puriny – produkty na více místech



Odbourání bází

- Pyrimidinové
 - Obrat syntézy, produkce β -Ala (ev. metylderivát), CO_2 a NH_4^+
- Purinové
 - Kys. močová, problémy
 - Další přeměny – allantoin, močovina

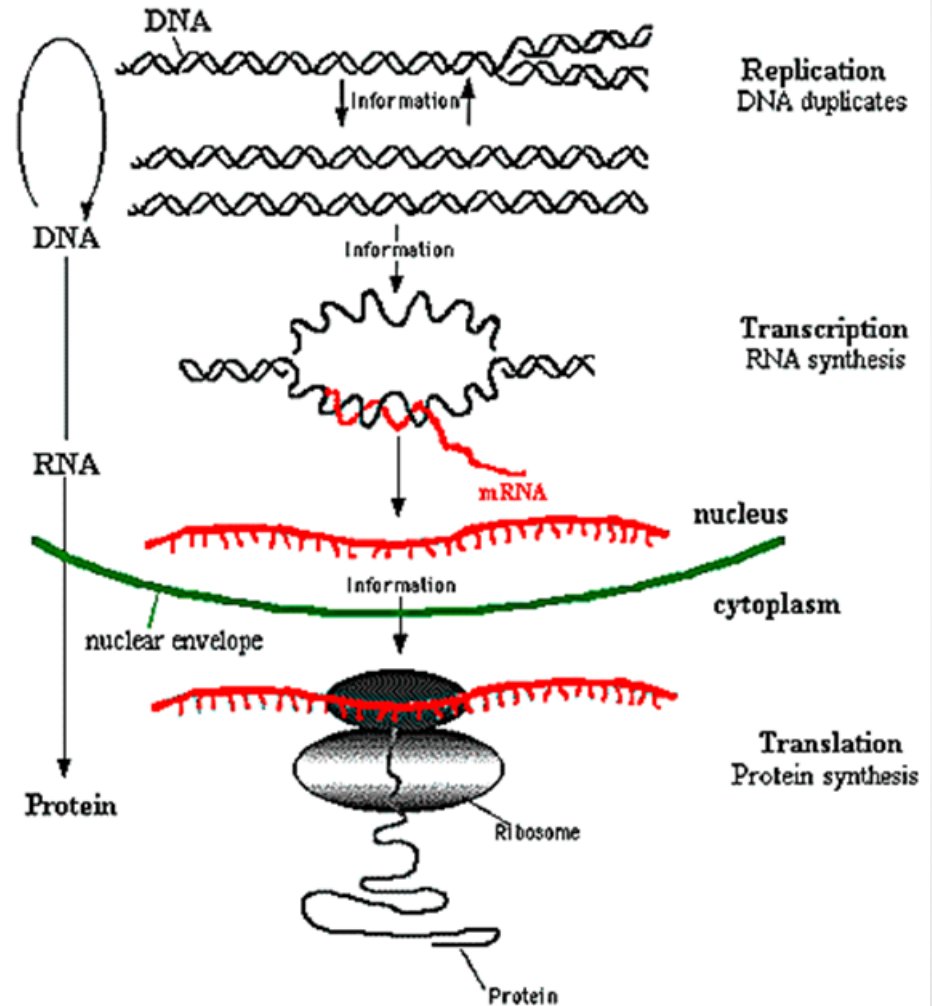


Štěpení NK

- Hydrolýza fosfodiesterové vazby
- Hydrolázy, podskupina fosfodiesteráz (3.1.4)
- Dělení
 - Podle substrátu
 - Dnasy
 - RNasy
 - Podle místa štěpení
 - Endonukleasy
 - Exonukleasy
 - Podle výskytu
 - Extracelulární – trávicí trakt (duodenální šťáva) – hydrolýza NK v potravě
 - Intracelulární – metabolismus NK uvnitř buňky
- Kombinované aktivity – DNA polymerasy
 - 3' a 5'-exonukleasové aktivity – opravné, degradace primerů
- Zvláštní typy u mikroorganismů
 - Restrikční endonukleázy – specificita k palindromům

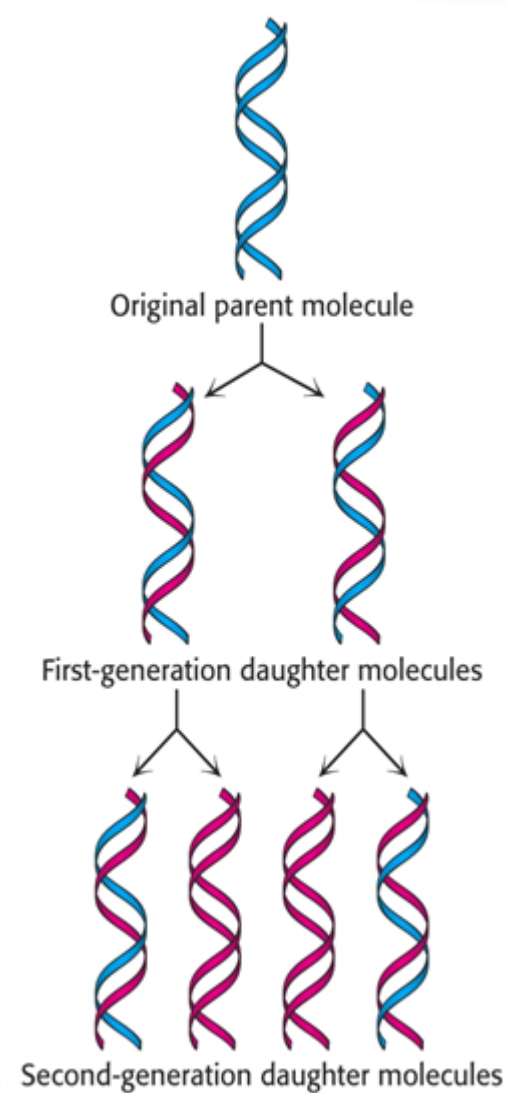
Obečná role NK

- Přenos a realizace genetické informace
- Chemické procesy v transformaci genetické informace
- – uchovávání a přenos
 - replikace
- – realizace
 - Syntéza proteinů
 - Jejich funkce, aktivita atd.
- Centrální dogma



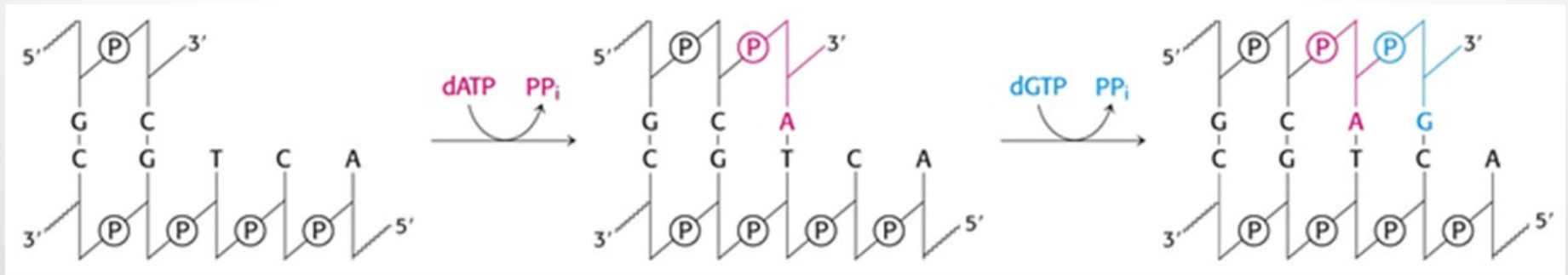
Replikace DNA

- Uchování informace
- Přenos na potomstvo
- Semikonzervativní způsob



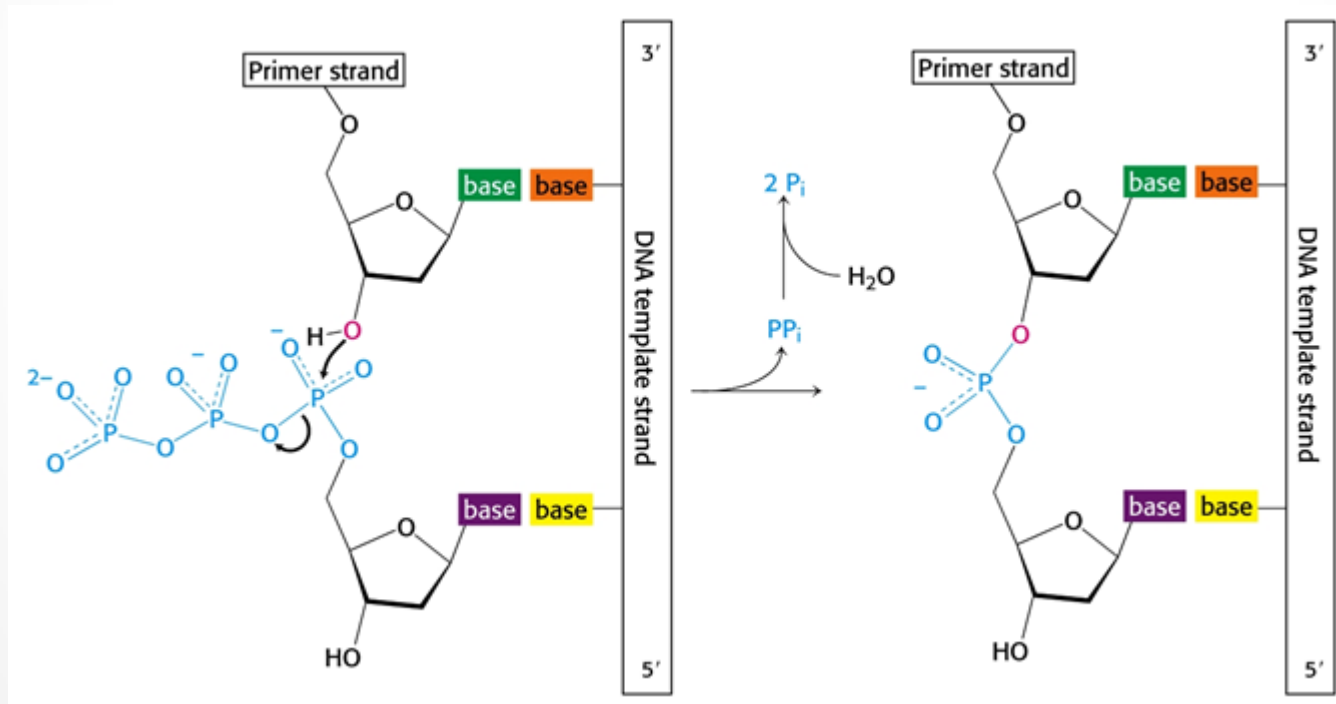
Replikace DNA

- Syntéza nového řetězce
 - Materiál a energie – dNTP
 - Informace – templát
 - Výkonný aparát – DNA polymerasa (III)
- Komplementarita bazí
 - Kontrola enzymem, ev. hydrolýza



Replikace DNA

- Tvorba fosfodiesterové vazby
 - Funkce primeru

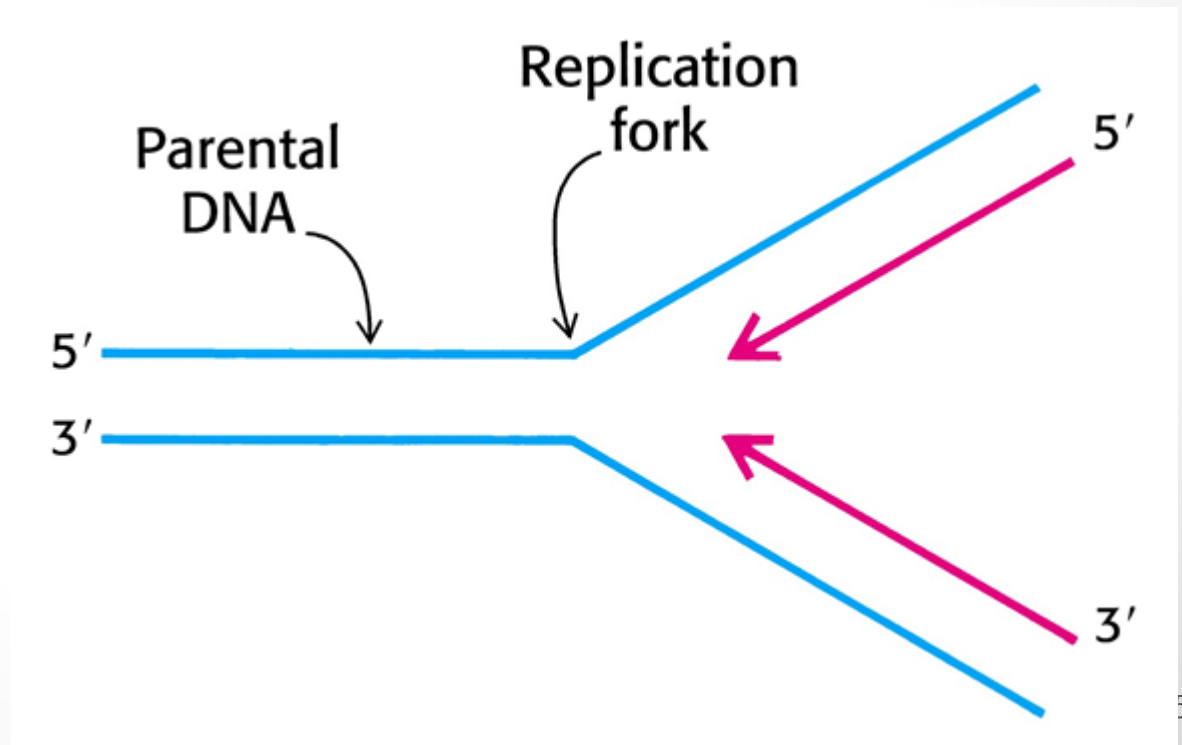


Eukaryontní proces

- Replikační vidlička

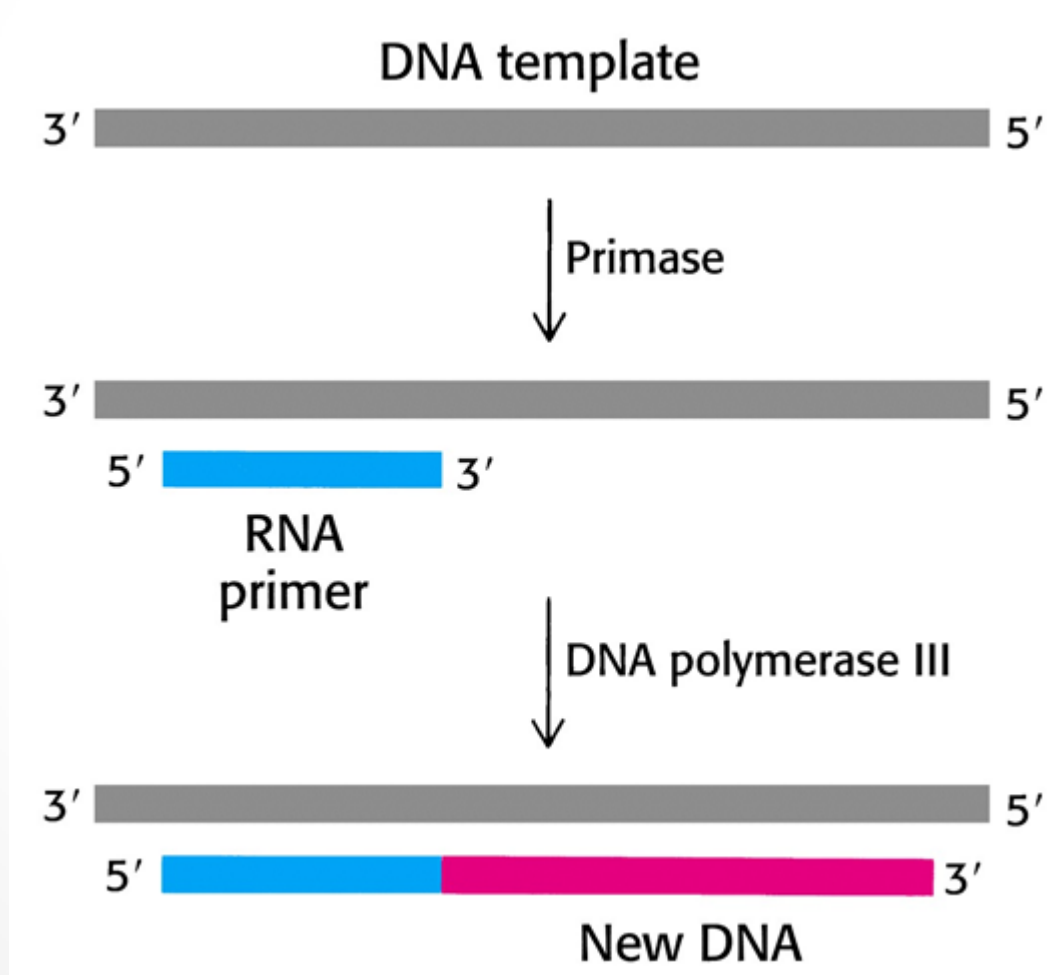


- Směr syntézy
 - problém



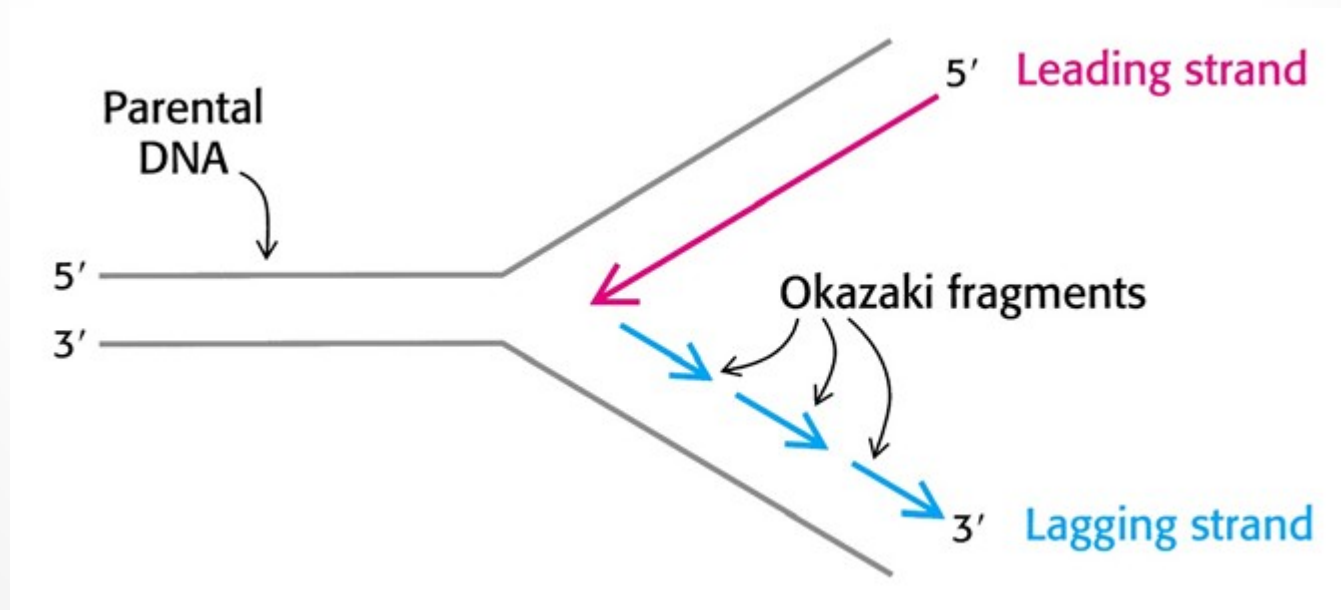
Eukaryontní proces

- Nutnost RNA-primeru



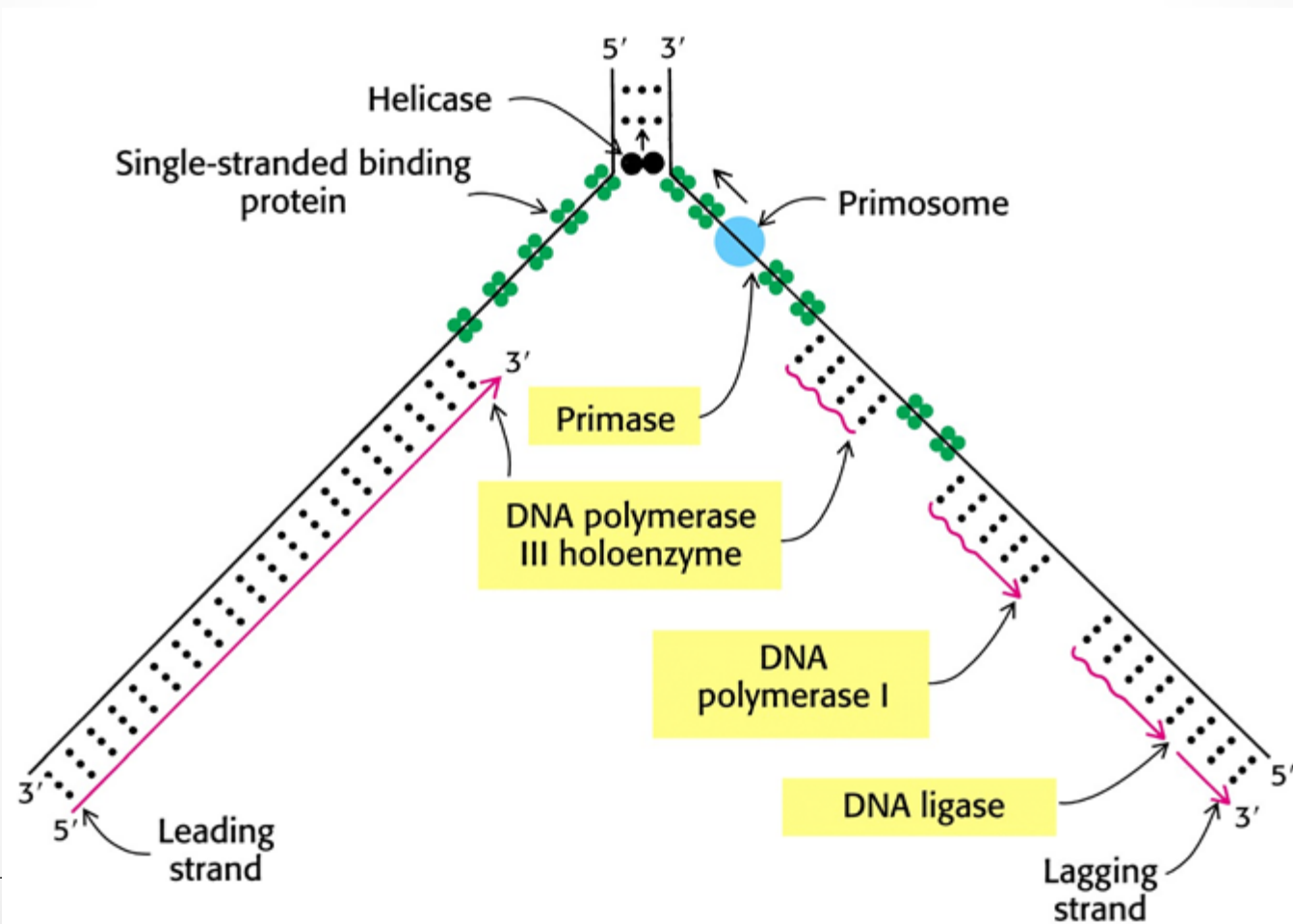
Eukaryontní proces

- Směr syntézy
 - Vedoucí a opožděné vlákno
 - Okazakiho fragmenty



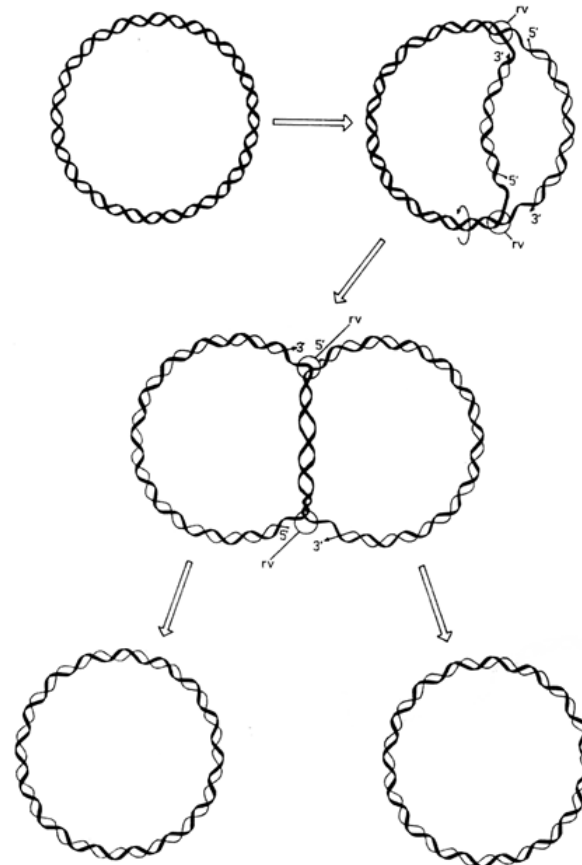
Eukaryontní proces

- Replikační vidlička
 - Schema kroků replikace



Prokaryontní proces

- Problém rozvíjení
 - Několik mechanismů
 - Rozštěpení 1 vlákna



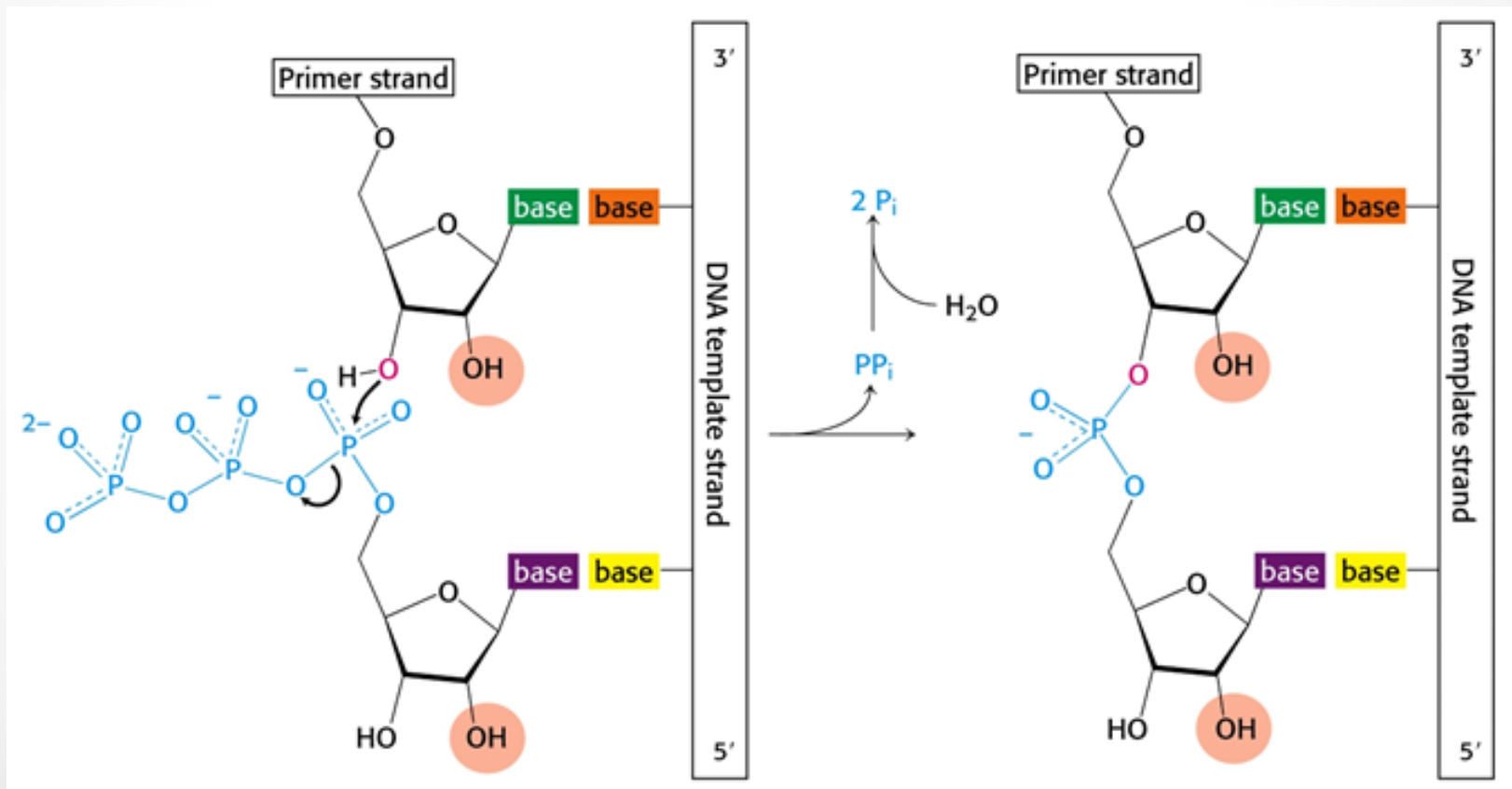
Obr. 177 Replikace cyklické dvojšroubovice DNA
(rv replikační vidlice)

Transkripce

- Přepis příslušného úseku DNA
 - Výběr informace
 - Způsob záznamu informace stejný jako v DNA
- Syntéza RNA
 - Zejména mRNA – využití informace v dalších krocích – translace
 - Další typy RNA – zde končí
- Chemický popis
 - Analogické replikaci – fosfodiester
 - Netřeba primeru

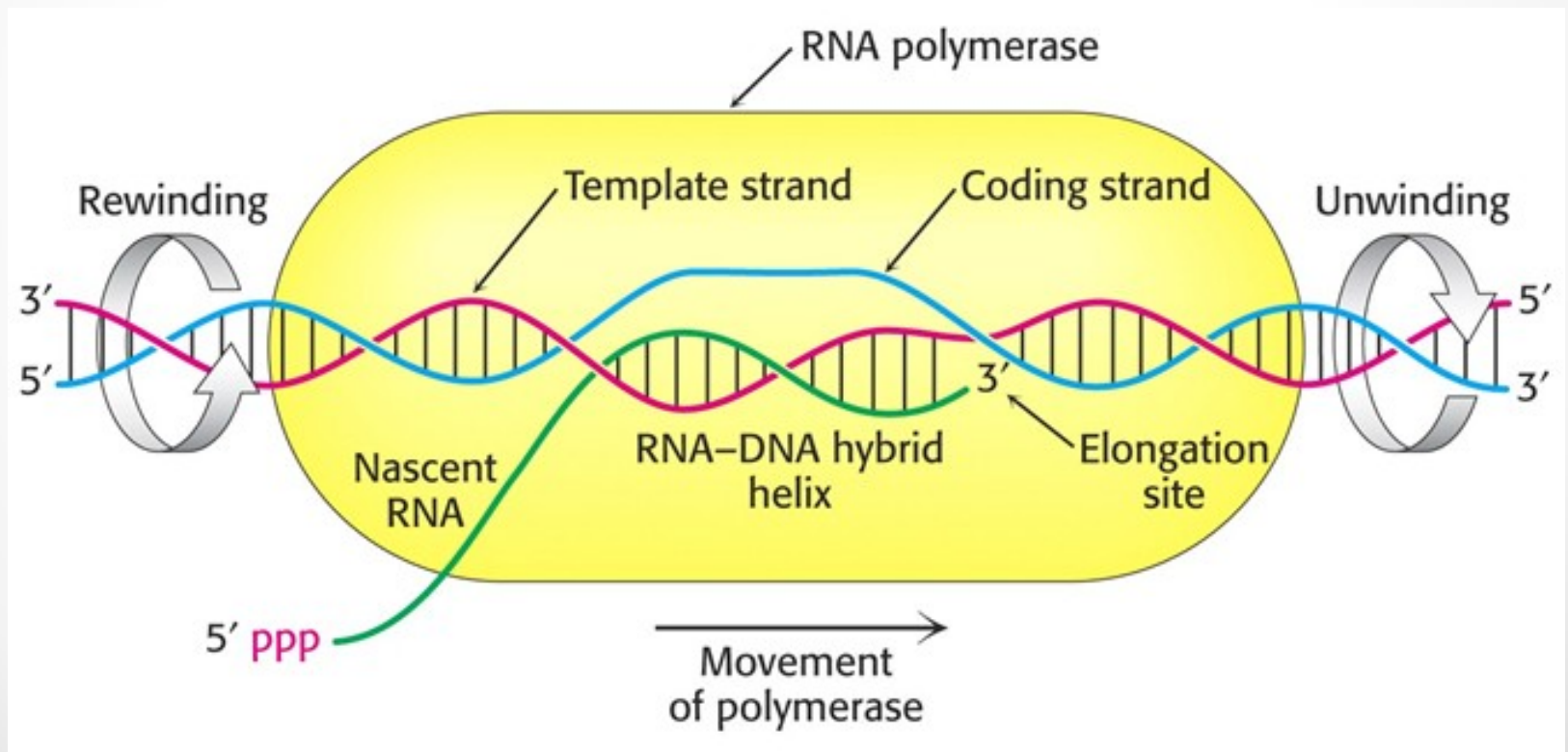
Transkripce

- Schéma tvorby RNA
 - Primer zde značí předchozí úsek



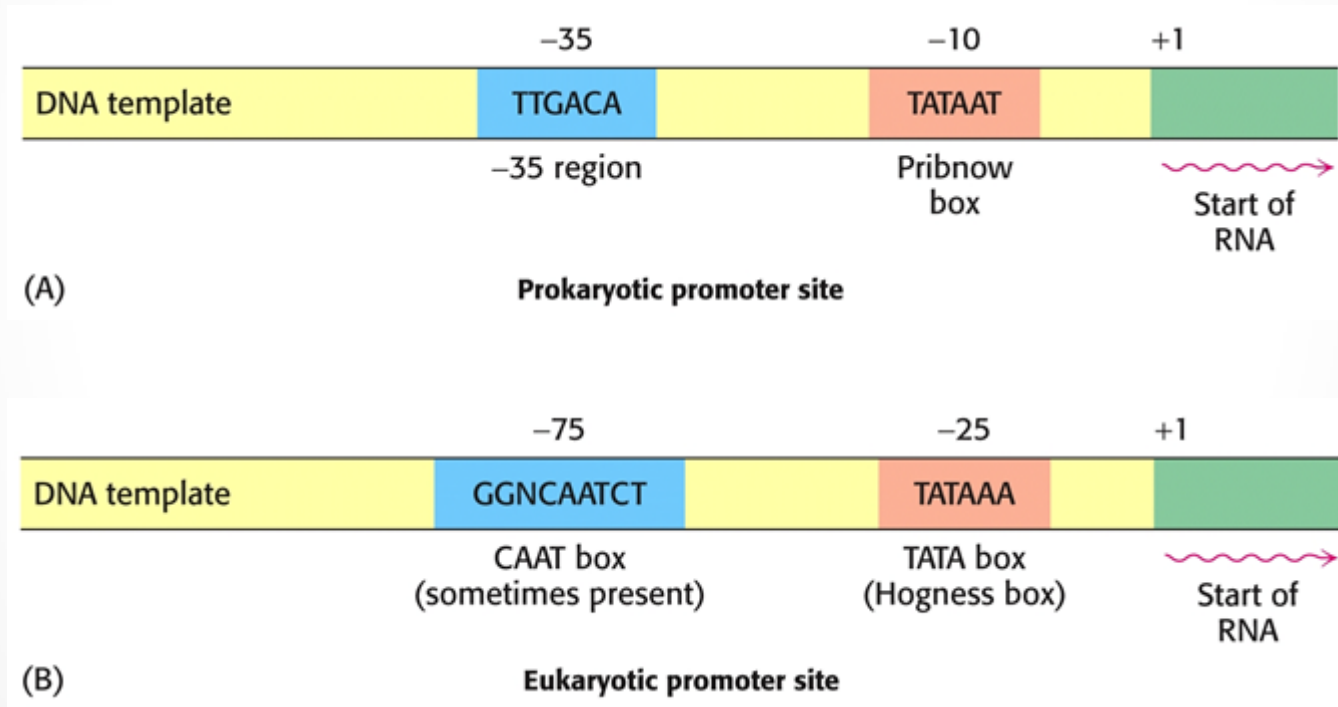
Transkripce

- RNA-polymerasa - transkriptasa
 - Podjednotky různých funkcí
 - Rozpoznání počátku – startovní nukleotid
 - Rozvinutí DNA na potřebnou dobu



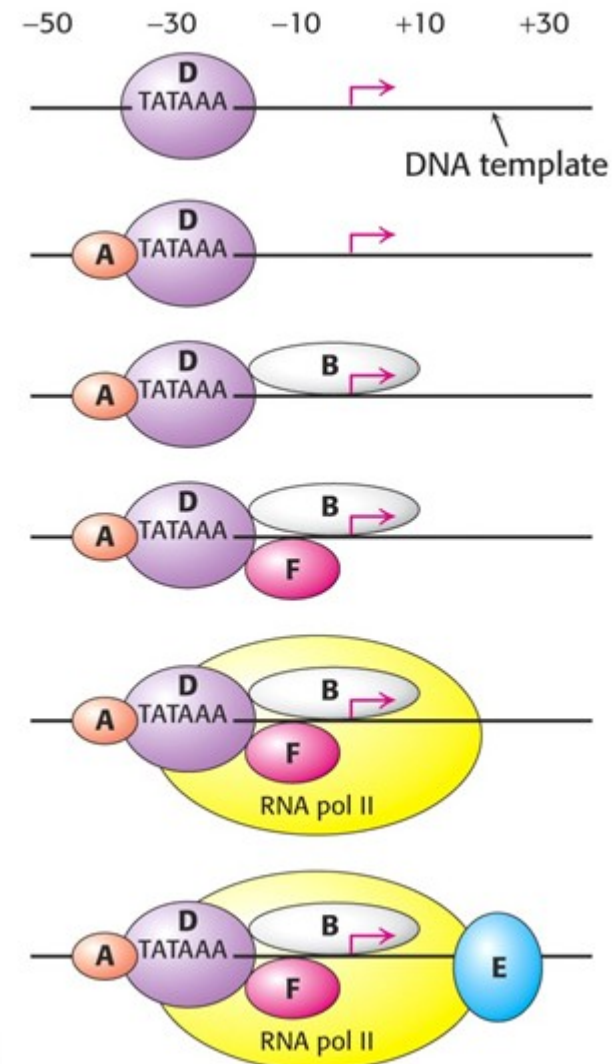
Transkripce

- Informační úseky – startovní báze +1
 - Typické sekvence pro- a eukaryontů



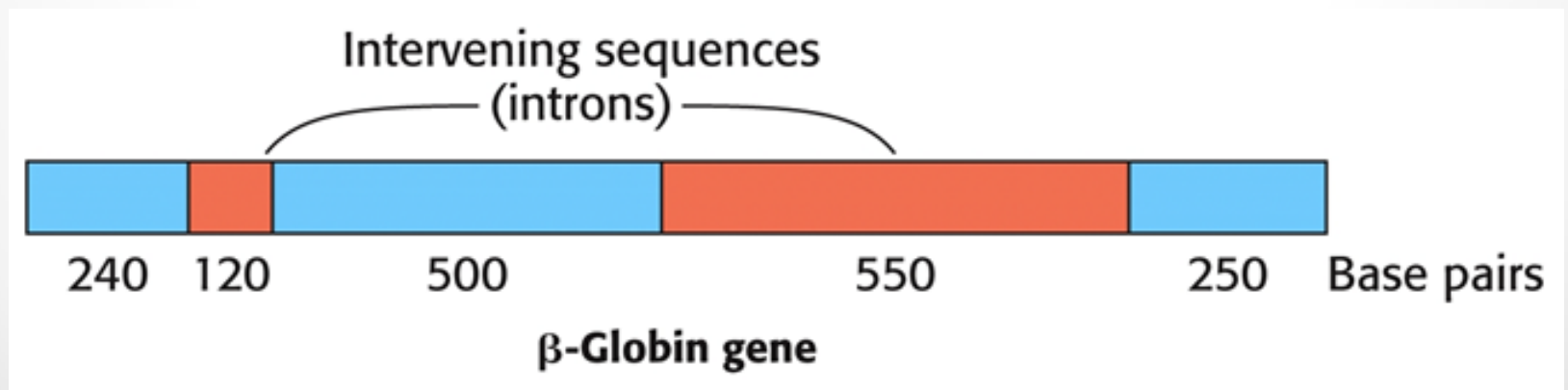
Transkripce

- Začátek
 - Rozpoznání
 - Sestavení RNA polymerasy



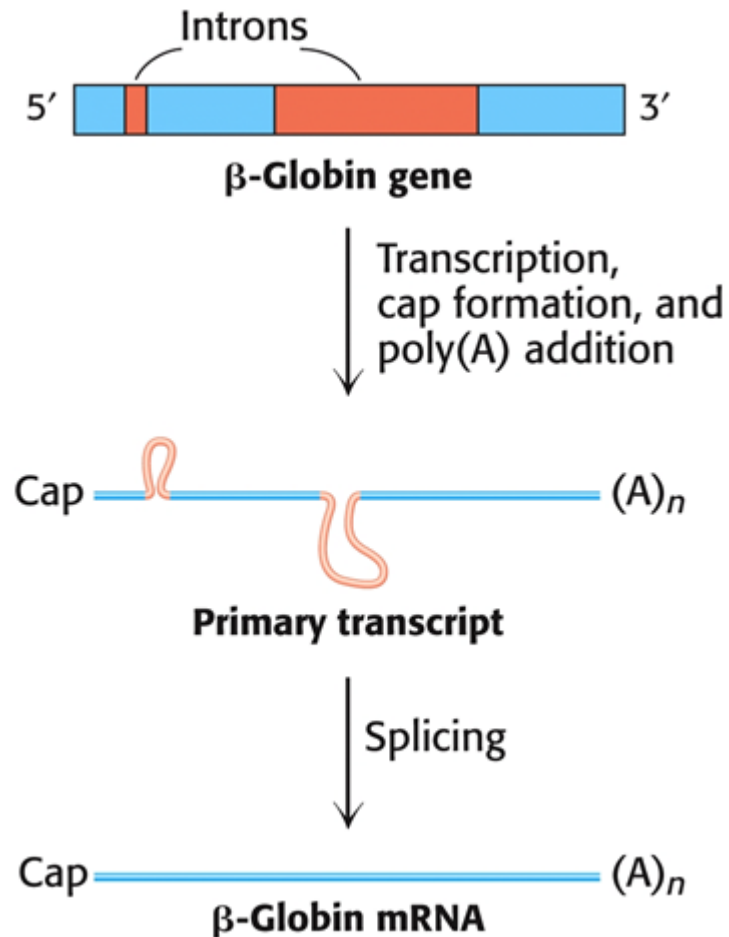
Transkripce

- Úprava vytvořené RNA
 - Eukaryontní DNA – exony, introny
 - všeobecně – ca 3% kódujících sekvencí (tj. i mimo geny)
 - Důvod a význam intronů
 - relikv
 - využití pro jiné bílkoviny (modifikace – Ig volné a membránové)
 - více bílkovin než genů
 - Příklad - gen kódující sekvenci β -podjednotky Hb



Transkripce

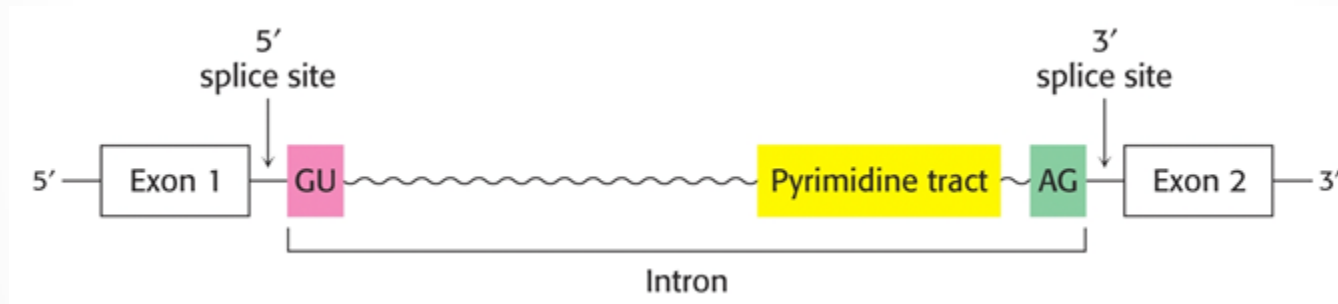
- Sestřih mRNA – β -podjednotka Hb
 - Primární transkript
 - Sestřih
 - Další úpravy
 - Čepička
 - Ocas



Transkripce

- Sestřih mRNA

- Primární transkript , sestřih – spliceasom, úloha snRNA – rozpoznání + excise
- Další úpravy
 - Čepička
 - Ocas



Translace

- Překlad informačního kódu
 - Sekvence bazí – sekvence aminoacylů
 - Určující vztahy – **genetický kód**
- Syntéza polypeptidového řetězce
 - Nascentní bílkovina – další úpravy
- Požadavky
 - Materiál – AK
 - Energie – ATP (GTP)
 - Informace – mRNA
 - Realizace překladu – tRNA
 - Výkonný aparát
 - Ribozomy (výjimky)
 - Pomocné faktory
- Etapy
 - Iniclace
 - Elongace
 - Terminace

Translace

Genetický kód
Tabulka platí pro m-RNA

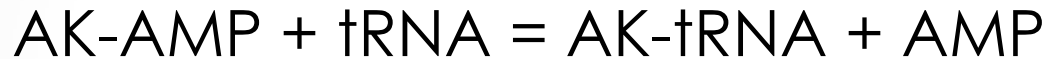
TABLE 5.4 The genetic code

First position (5' end)	Second position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	Stop	Stop	A
	Leu	Ser	Stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Note: This table identifies the amino acid encoded by each triplet. For example, the codon 5' AUG 3' on mRNA specifies methionine, whereas CAU specifies histidine. UAA, UAG, and UGA are termination signals. AUG is part of the initiation signal, in addition to coding for internal methionine residues.

Translace

Přípravná fáze – syntéza aminoacyl-tRNA



Aminoacyl-tRNA syntetáza

vysoká specificita

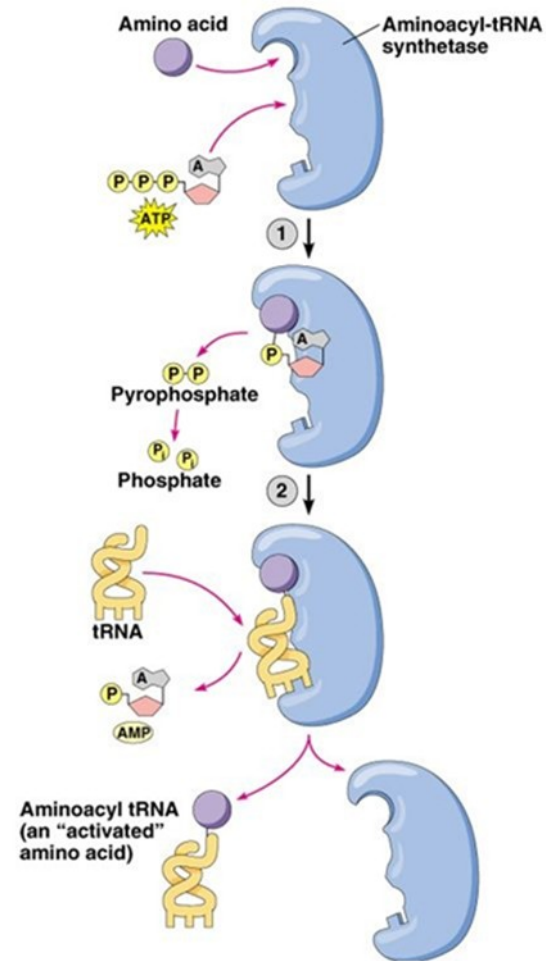
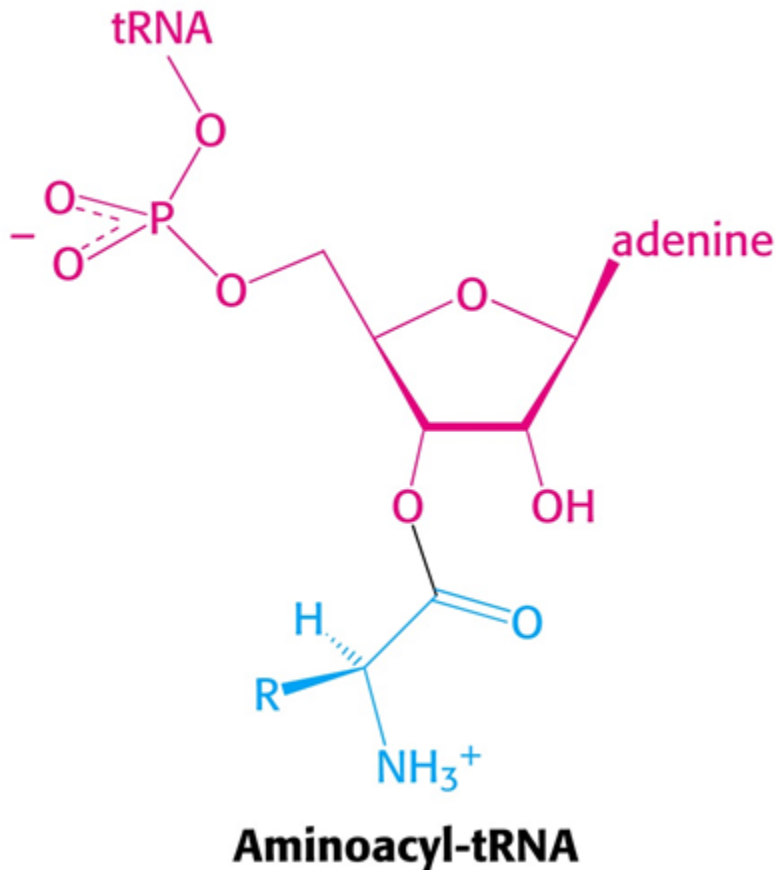
pro každou AK a tRNA – 60 různých

rozpoznání reaktantů

výstupní kontrola – ev. hydrolýza

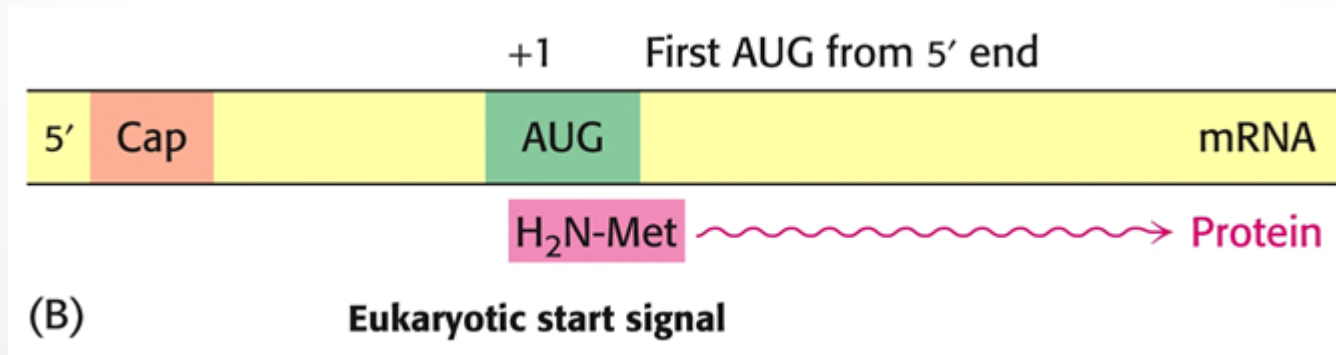
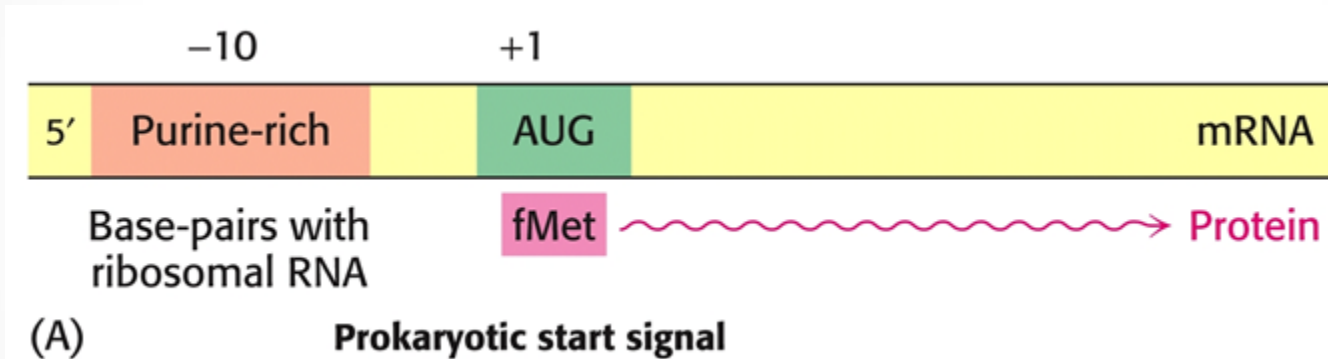
Translance

Přípravná fáze – syntéza aminoacyl-tRNA



Translace

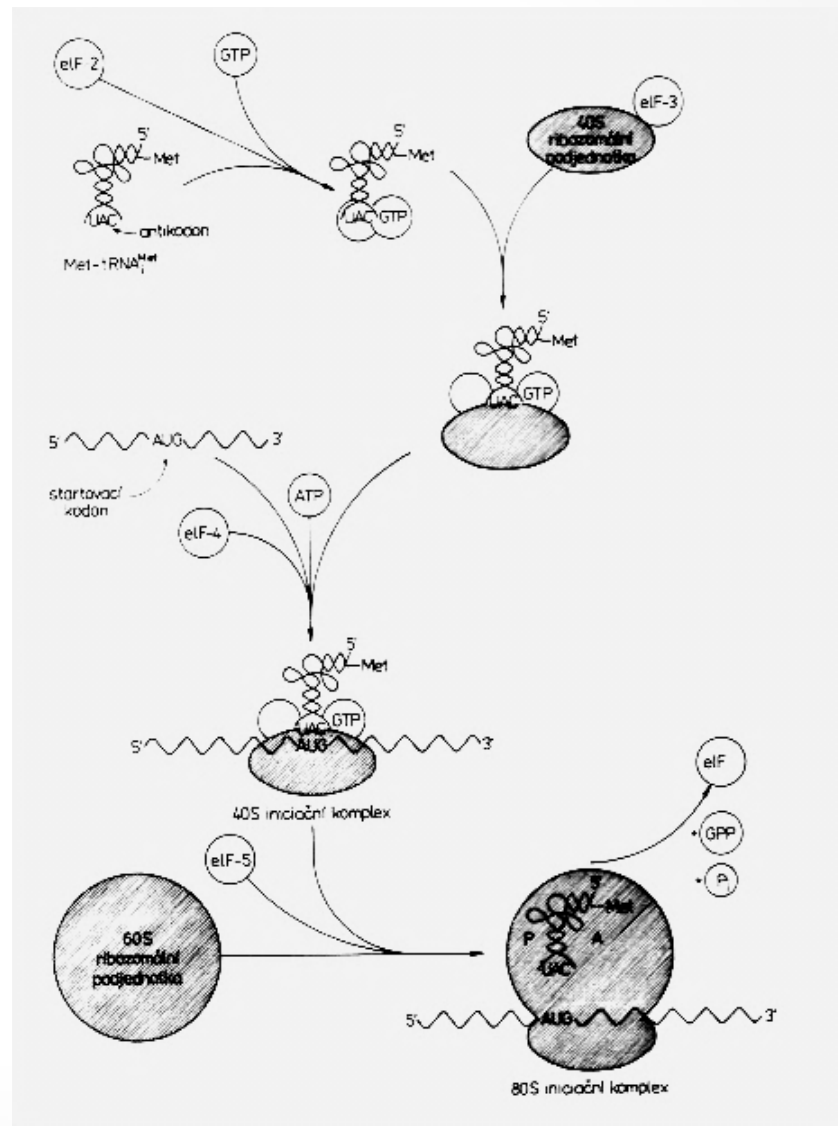
- Počátek syntézy polypeptidového řetězce určuje triplet AUG kódující methionin (odlišně modifikovaný u prokaryontů a eukaryontů).



Translace

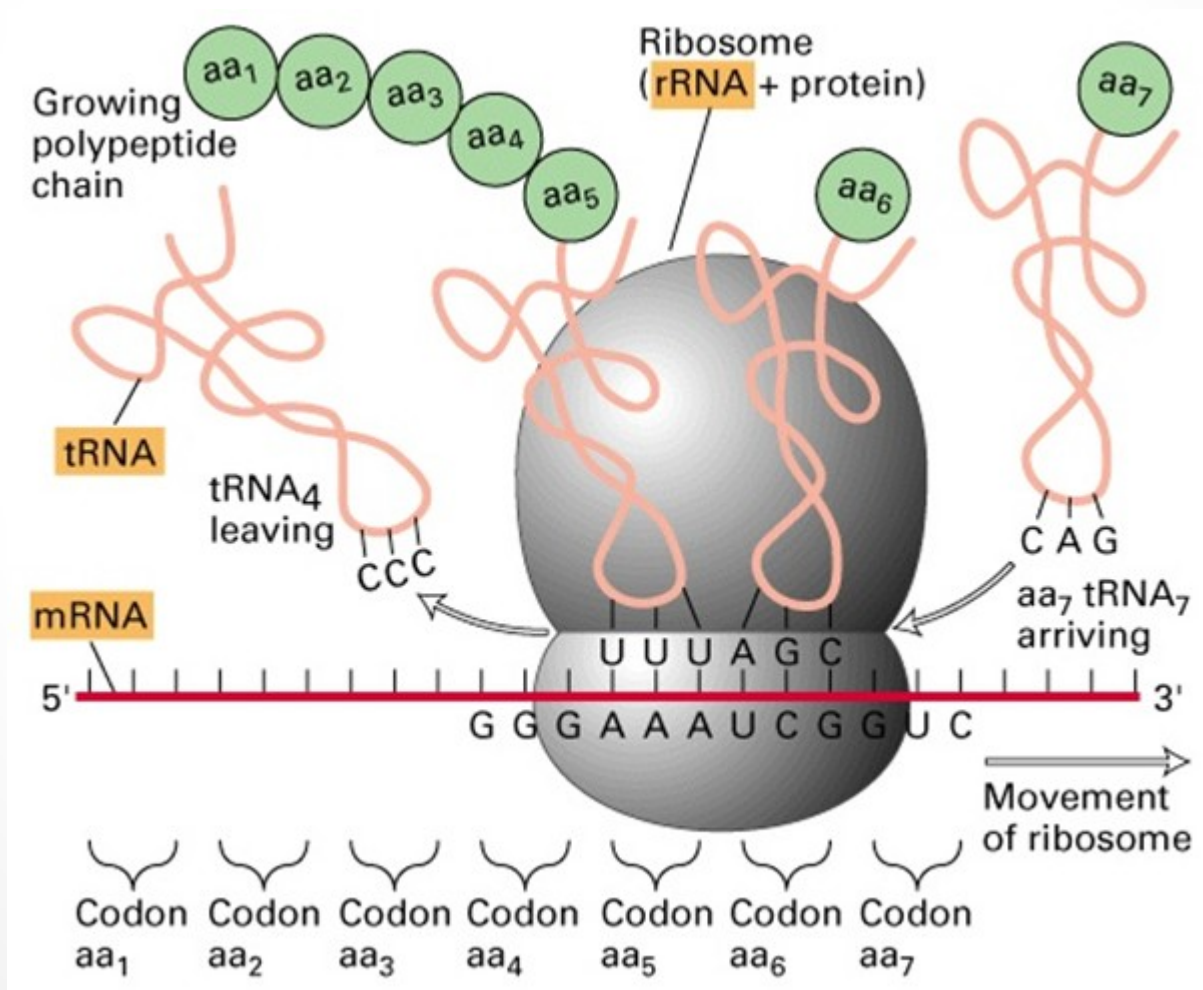
- Iniciace

- Účast faktorů a GTP
- Met-tRNA
- Ribozom
- tRNA vybírá kodon



Translacion

- Elongacion
 - Kodon vybírá AA-tRNA

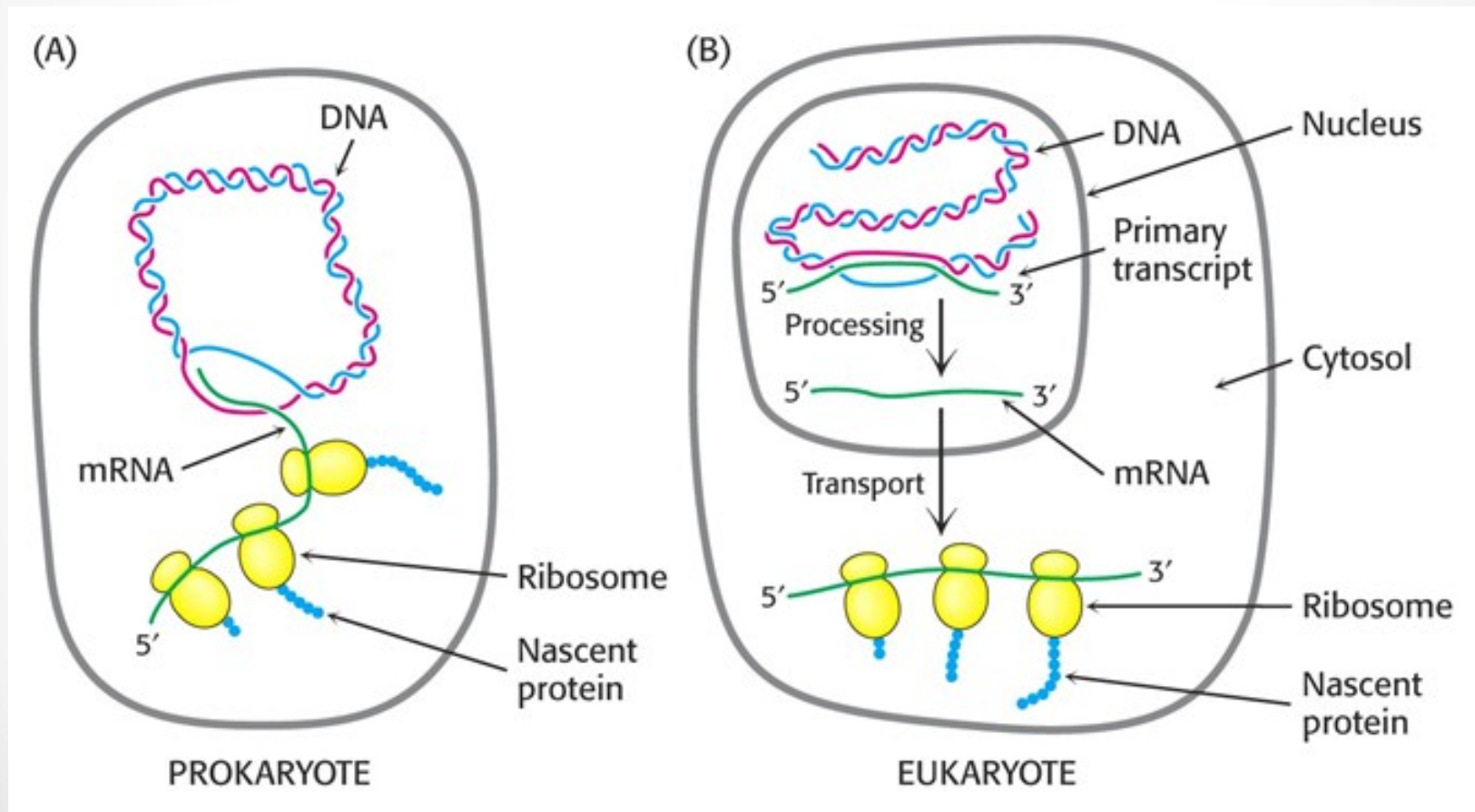


Translace

- Elongace
 - Kodon vybírá AA-tRNA
 - Katalytická funkce rRNA
 - Transpeptidace
 - Posun ribozomu
 - Efektivní využití mRNA – polyzom
 - RER
- Terminace
 - Stopkodon
 - Uvolňující faktor místo AA-tRNA

Proteosyntéza

- Srovnání proteosyntézy pro- a eukaryontů



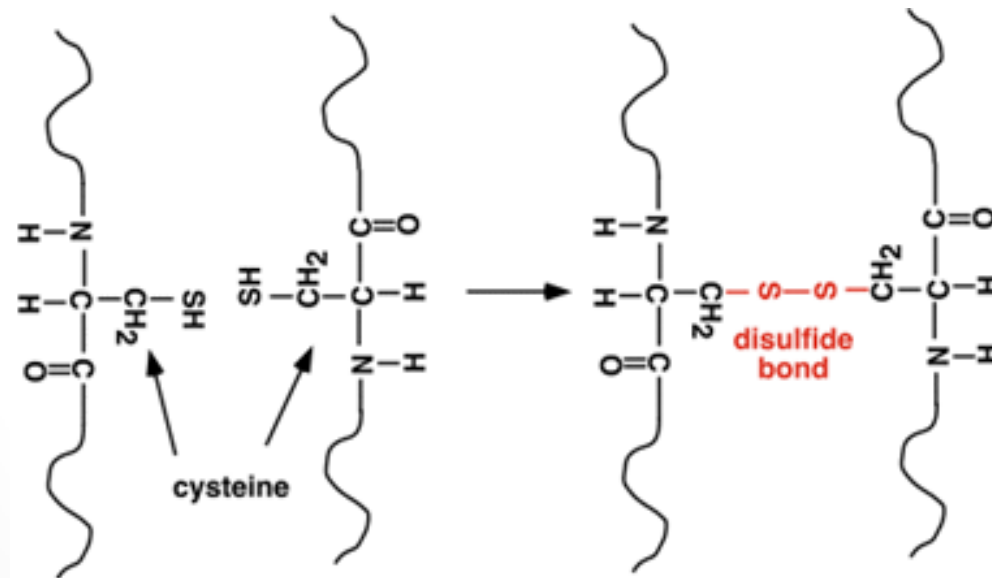
Posttranslační modifikace

- Soubor pochodů
 - upravujících nascentní bílkovinu do funkční formy
 - maturace bílkovin
 - Dodává potřebné vlastnosti.
- Zahrnuje
 - Modifikace řetězce – chemické úpravy
 - Skládání řetězce – konformace
 - Transport – vedoucí sekvence, endoplasmatické retikulum, Golgiho systém
- Typické reakce chemických modifikací
 - Oxidace
 - Vazba prostetických skupin
 - Parciální hydrolýza

Posttranslační modifikace

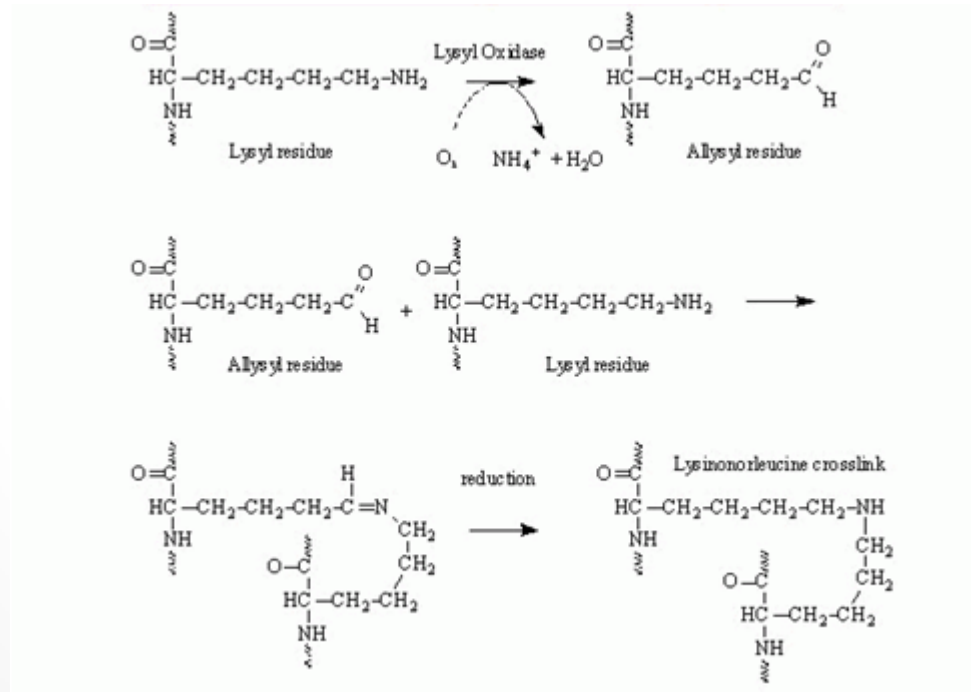
- **Oxidace**

- Tvorba disulfidových můstků - cystin
- Takřka obecný pochod



Posttranslační modifikace

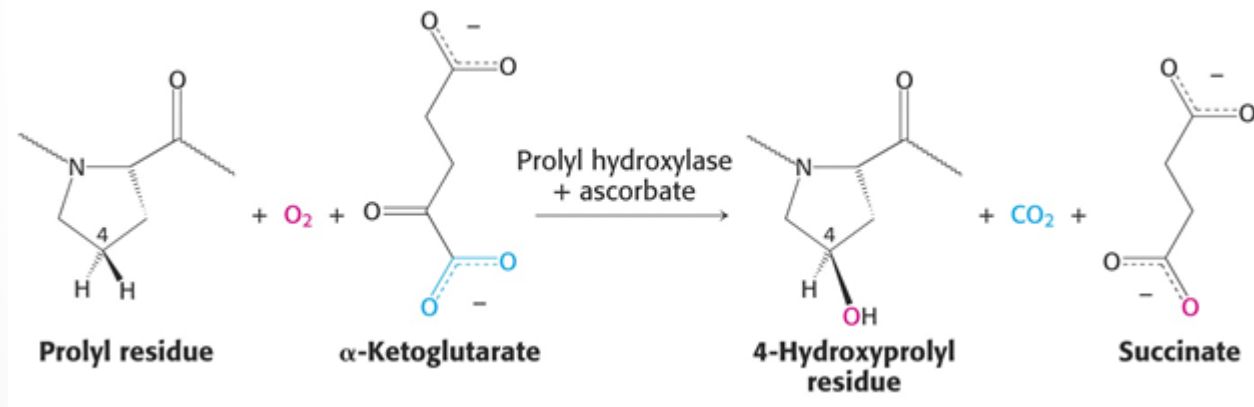
- Oxidace
 - Modifikace lysinu a prolinu v kolagenu
 - Vnik nekódovaných AK



Posttranslační modifikace

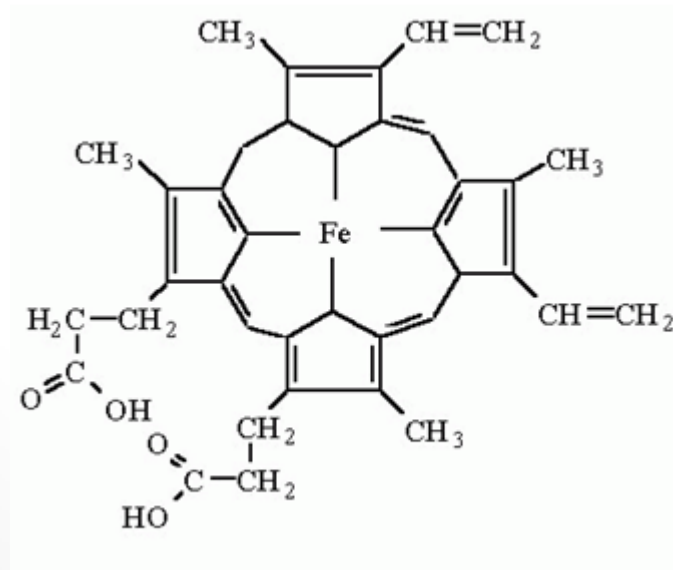
- **Oxidace**

- Modifikace lysinu a prolinu v kolagenu
- Funkce askorbátu



Posttranslační modifikace

- **Vazba prostetických skupin**
- Glykosylace – glykoproteiny
 - Poměrně obecná modifikace
 - Vazba N- (Asn) nebo O-glykosidická (Ser, Thr)
- Hem
 - vázán koordinační vazbou pomocí Fe^{2+} na His (hemoglobin)
 - nebo kovalentně pomocí vinylových skupin na zbytky Cys (cytochrom c).

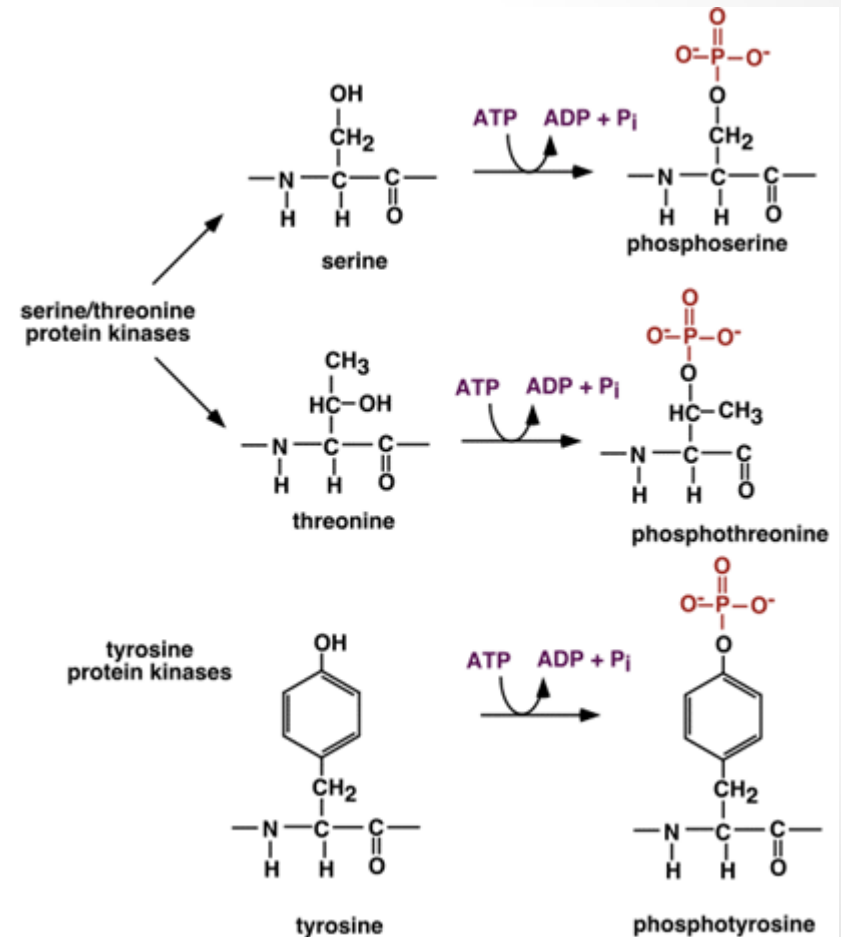


Posttranslační modifikace

- Vazba prostetických skupin

- Fosforylace

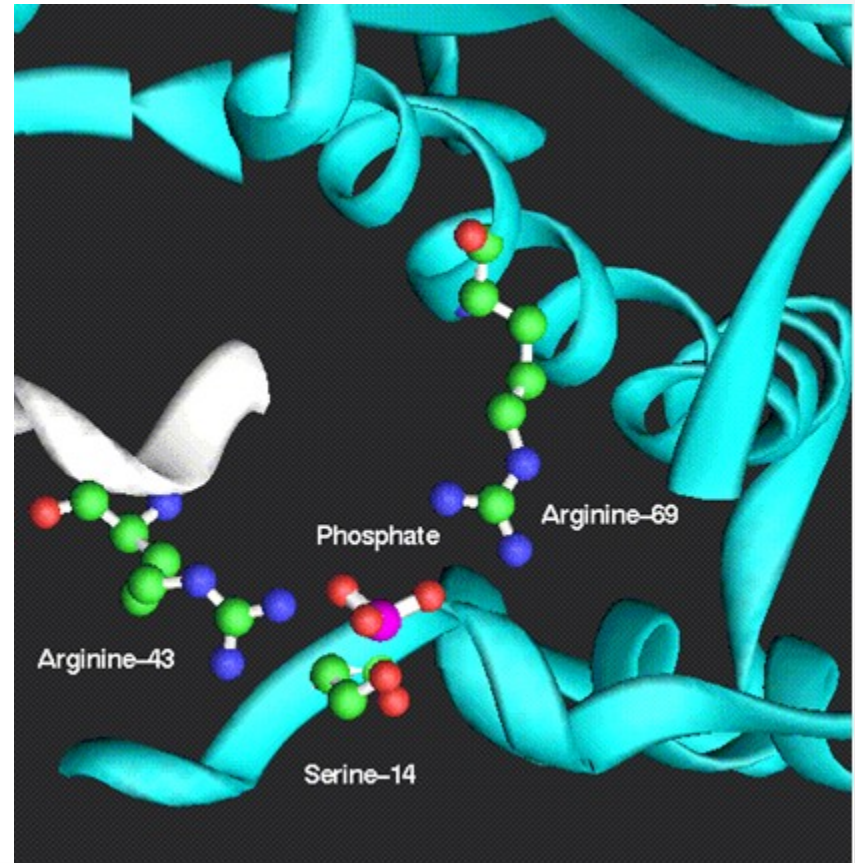
- Vratné modifikace
 - Kinasy a fosfatasy
- Regulační efekt
- Specificita



Posttranslační modifikace

- **Vazba prostetických skupin**
- Fosforylace

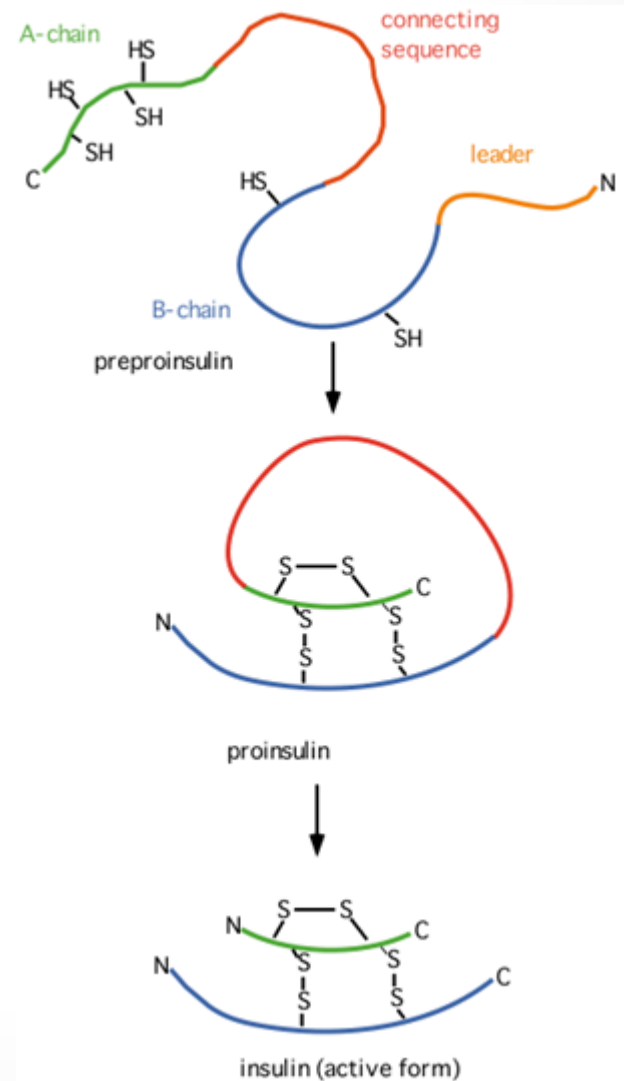
Fosforylasa glykogenu je regulována fosforylací (fosforylasa kinasou) a defosforylací (fosfatasou). Vazba fosfátu na Ser14 mění neaktivní fosforylasu b (dimer) na aktivní fosforylasu a (tetramer).



Posttranslační modifikace

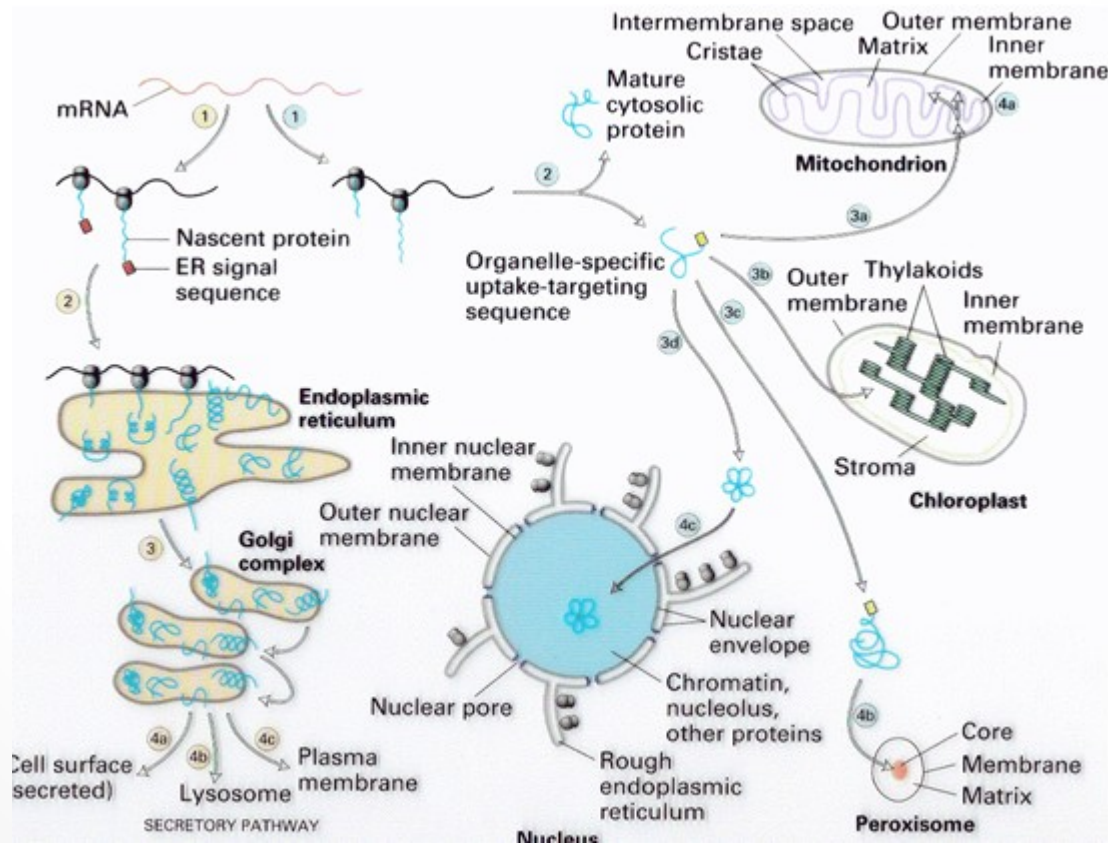
- Parciální hydrolýza
 - Odštěpení vedoucí sekvence
 - Proenzymy - zymogeny

Úprava preproinsulinu
Na insulin



Posttranslační modifikace

- **Transport a úprava bílkovin**
 - Vedoucí sekvence - typy



Posttranslační modifikace

- **Skládání proteinů**
- Správná konformace
- Náhodný (RNasa – Anfinsen) x řízený proces
- Chaperony

