

1 Průběh zkoušky ze strukturní biochemie

Zkoušení probíhá po trojicích, na jednu trojici je plánována 1 hodina času. Pokud nebude výslovně uvedeno, během zkoušení nejsou plánovány žádné přestávky. Domluvte se prosím předem sami mezi sebou, jak trojice vytvoříte. Prosím první dvě trojice, aby se dostavily 10 minut před začátkem zkušebního termínu. Další trojice prosím, aby se dostavili 1 hodinu před předpokládaným začátkem jejího zkoušení.

Pokud se k termínu přihlásí (nebo dostaví) počet studentů, který není násobkem tří, budu zkoušet následujícím způsobem: Pokud bude jeden student do trojice chybět, poslední skupina zkušebných bude dvojice. Pokud budou do trojice chybět dva studenti, poslední dvě skupiny zkušebných budou dvojice.

2 Okruhy otázek ke zkoušce ze strukturní biochemie

2.1 Obecné informace

Na zkoušku se učte spíše ze zápisů z přednášek (objem látky je menší než ve skriptech a otázky u zkoušky vycházejí z obsahu přednášek). Skripta používejte hlavně tehdy, když potřebujete detailnější popis k pochopení tématu.

U zkoušky je zpravidla položena alespoň jedna otázka z následujících oblastí:

- Struktura biomakromolekul, se zaměřením hlavně na sekundární struktury
- Metody studia primární struktury (sekvenace)
- Metody studia sekundární struktury
- Metody studia terciární struktury

2.2 Struktura biomakromolekul: základní otázky

- Rozpoznejte označenou aminokyselinu a odhadněte hodnotu určeného torzního úhlu na modelu peptidu.
- Popište sekundární struktury předložených modelů proteinů. Co je pro ně typické (vodíkové vazby, torzní úhly, uspořádání postranních řetězců, počty aminokyselin na závit)? Čím se liší?
- Rozpoznejte bázi, určete konformaci pentosového kruhu a odhadněte hodnotu určeného torzního úhlu na modelu nukleotidu.
- Čím se liší DNA a RNA? Rozpoznejte, zda předložený model je DNA nebo RNA.
- Popište sekundární struktury předložených modelů nukleových kyselin. Co je pro ně typické (vodíkové vazby, torzní úhly, konformace (deoxy)ribosy, zlábký, přístupnost bází)? Čím se liší?

2.3 Struktura biomakromolekul: doplňující otázky

- Které torzní úhly jsou důležité pro popis sekundární struktury proteinů? Co to je Ramachandranův diagram?
- Kolik torzních úhlů potřebujeme pro definici konformace jednoho nukleotidu?
- Hrany bází nukleových kyselin a jejich párování. Které způsoby párování jsou důležité pro sekundární strukturu? Které pro terciární?
- Konformace (deoxy)ribosy (kolik), pseudorotační fáze.
- Konformace sacharidů, počet různých židlíček, vaniček, obálek.

2.4 Metody studia primární struktury (sekvenace)

- Princip PCR a dideoxymetody
- Princip sekvenace proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie
- Princip sekvenace proteinů pomocí Edmanova odbourávání

2.5 Metody studia sekundární struktury a celkového tvaru

- Princip použití cirkulárního dichroismu pro studium sekundárních struktur. Jaké molekuly poskytují nenulová spektra CD? Jaké záření se používá? Co je chromoforem v případě určování sekundární struktury proteinů?
- Princip použití infračervené spektroskopie pro studium sekundárních struktur proteinů. Které vibrace využíváme k určení sekundární struktury? Na základě čeho se liší infračervená spektra aminokyselin v různých sekundárních strukturách?
- Princip a použití maloúhlového rozptylu rentgenového záření (SAXS). Pro jaké vzorky se používá (je třeba krystal?). Jakou veličinu měříme? V závislosti na čem? Jakou informaci můžeme získat?

2.6 Metody studia terciární struktury: obecný postup

- Postup určování terciární struktury pomocí rentgenové krystalografie (příprava krystalu, měření difrakce, počítání elektronové hustoty z difrakčních dat, řešení fázového problému, stavba a validace modelu).
- Postup určování terciární struktury pomocí kryo-elektronové mikroskopie (příprava vzorku, měření, klasifikace obrazů, obecný princip rekonstrukce 3D tvaru molekuly).
- Postup určování terciární struktury pomocí NMR (příprava izotopově značeného vzorku, přiřazení frekvencí atomům, získání údajů o geometrii molekuly, kombinace experimentálních dat s výpočetními metodami).
- Výpočet konformace proteinu pomocí simulace molekulové dynamiky. Predikce konformace proteinů ze sekvence s využitím strojového učení (přístup programu AlphaFold2). Srovnání těchto přístupů (s jakými údaji kromě sekvence pracují).

2.7 Metody studia terciární struktury: doplňující otázky

- Co je to silové pole v molekulovém modelování? Jak souvisí s potenciální energií a jak s údaji popisujícími konformaci biomakromolekul?
- Jak lze použít simulace molekulové dynamiky k hledání konformace, jejíž potenciální energie odpovídá globálnímu minimu hyperplochy potenciální energie?
- Jaká je vlnová délka použitého záření v rentgenové krystalografii a proč? Proč nemůžeme rozlišit atomy ve světelné mikroskopii? Proč není možné sestavit rentgenový mikroskop?
- Vztah mezi rozložením elektronové hustoty a difrakčními daty. Co je to fázový problém? Popište jednu metodu řešení fázového problému.
- Jaká je vlnová délka použitého záření v elektronové mikroskopii? Proč se liší od vlnové délky záření používaného v rentgenové krystalografii?
- Proč lze použít elektrony a ne rentgenové záření pro mikroskopii s rozlišením jednotlivých atomů? Jak vypadají „očky“ elektronového mikroskopu?
- Proč se v kryo-elektronové mikroskopii používá amorfni led a jak se připravuje?
- Proč musí být v elektronovém mikroskopu vakuum?
- Co je to fázový kontrast v elektronové mikroskopii a jak se dosahuje?
- Co je to R faktor a R_{free} faktor a k čemu se používají?
- Jaká je frekvence (a vlnová délka) použitého záření v NMR a proč?
- Jaká data z NMR experimentů se nejvíce využívají k postavení 3D modelu molekuly a jak se kombinují s výpočetními metodami?
- Jak můžeme použít NMR k měření vzdáleností mezi atomy? (vztah mezi NOE a vzdáleností)?