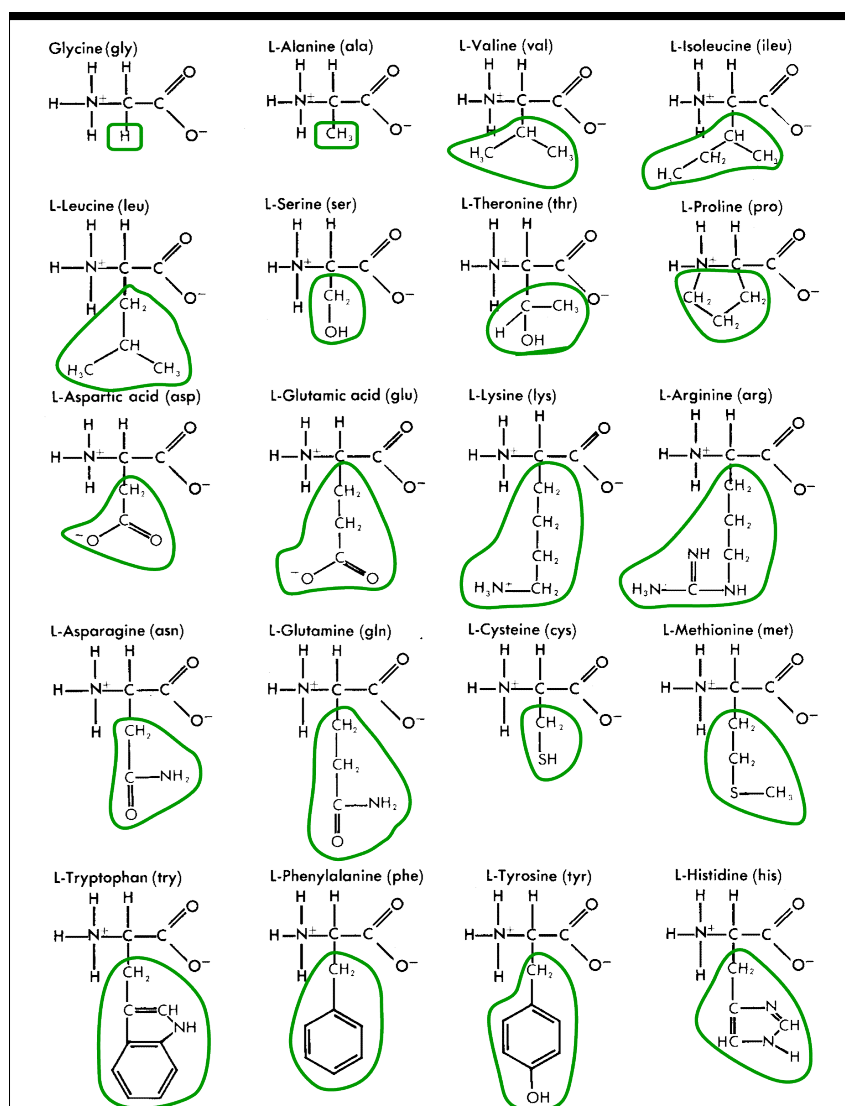


# Složení a struktura základních biomolekul (nk, proteiny, sacharidy)

## 1 Proteiny

### Aminokyseliny



Obrázek 1: Aminokyseliny

Všechny bílkoviny, co jich na světě je, se skládají z 20 aminokyselin (AA) na Obrázku 1 a jsou vytvářeny polymerací aminokyselin. Aminokyseliny jsou všechny látky obsahující karboxylovou skupinu  $-COOH$  a aminoskupinu  $NH_2$ . V biochemii se pod aminokyselinou myslí  $\alpha$ -aminokyselina, jež má obě tyto skupiny navázané na stejném uhlíkovém atomu. Polymerace AA, která je zobrazena na Obrázku 2, vede na tvorbu  $CO-NH$  vazby neboli peptidové vazby. Proteiny jsou tvořeny jedním nebo více polypeptidovými řetězci o délce od 40 do 10 000 AA. Polypeptidy jsou vždy lineární, tj. nerozvětvují se (souvisí s linearitou DNA). Máme-li oligopeptid o  $n$  aminokyselinách, pak počet permutací je  $P = 20^n$ , takže

teoreticky je možné syntetizovat ohromné množství různých oligopeptidů. Aminokyseliny třídíme na

**nepolární:** Gly, Ala, Val, Leu, Ileu, Pro, Met, Phe, Trp

**polární nenabitě:** Ser, Thre, Asn, Gln, Tyr, Cys

**polární nabitě:**

- zásadité (+): Lys, Arg, His
- kyselé (-): Asp, Glu

Až na glycin jsou všechny aminokyseliny opticky aktivní. Připomeňme, že chiralita znamená takovou asymetrii, že zrcadlový obraz chirální molekuly nelze otočit tak, aby se kryl s původní molekulou. To je charakteristické pro látky obsahující čtyřvázný uhlík se čtyřmi různými substituenty. Stáčílost polarizovaného světla je pravo- nebo levotočivá, všechny přírodní aminokyseliny jsou přitom stejného typu L podle Fischerova pravidla (podobnost s D-glyceraldehydem nebo L-glyceraldehydem), viz Obrázek 3. Pro popis chiralit se také užívá systém (R/S).

Připomeňme si, že stereomer nebo optický izomer označuje molekuly, které se liší pouze uspořádáním na jednom z chirálních center. Výraz enantiomer pak označuje molekuly, jenž jsou svým zrcadlovým obrazem. Jestliže každé centrum asymetrie v chirální molekule má dvě možné konfigurace, pak molekula s  $n$  chirálními centry má  $2^n$  stereomerů a  $2^{n-1}$  párů enantiomerů.

V určitých proteinech se vyskytují i další neobvyklé aminokyseliny, vzniklé modifikacemi aminokyselinových zbytků v již syntetizovaném peptidovém řetězci. Patří sem kupříkladu 4-hydroxyprolin a 5-hydroxyprolin, důležitá složka kolagenu.

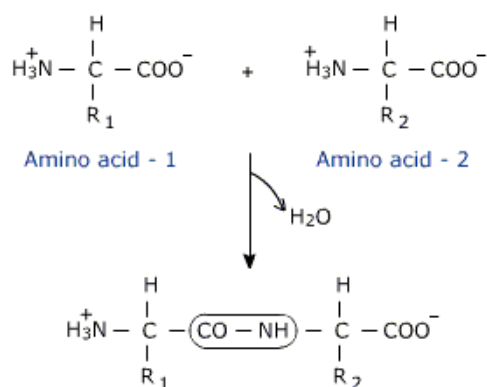
Stále platí, že DNA kóduje pouze základních 20 AA.

## Struktura

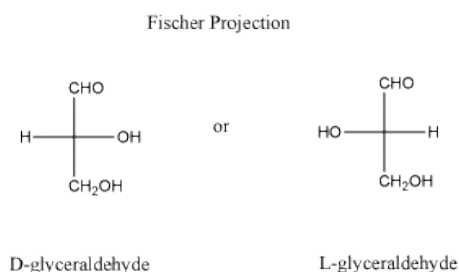
Rozlišujeme čtyři stupně struktury peptidových řetězců:

**Primární struktura** proteinů je dána pořadím AA jejich polypeptidových řetězců.

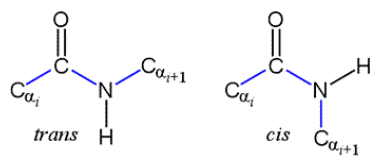
**Sekundární struktura** je prostorové uspořádání v určitém místě hlavního polypeptidového řetězce bez ohledu na postranní řetězce. Peptidové skupiny až na výjimky v konfiguraci trans (Obrázek 4a), tj. sousední  $C_\alpha$  atomy jsou na opačných stranách peptidové vazby. Typické rozměry a úhly peptidové vazby jsou v Obrázku 4b. Konformace kostry polypeptidu lze popsat torzními úhly, jako na Obrázku 4c. Některé



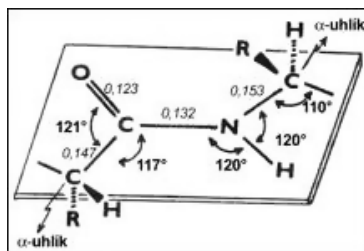
Obrázek 2: Tvorba peptidové vazby



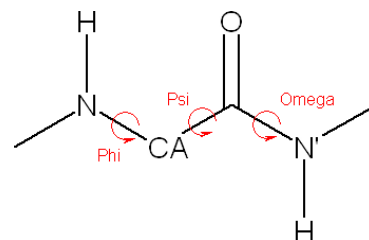
Obrázek 3: K Fischerovu pravidlu



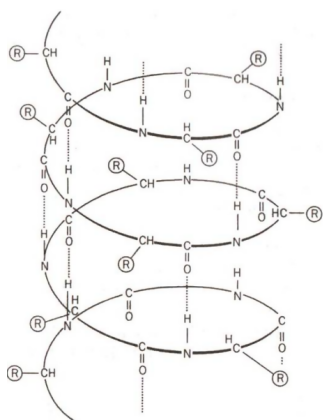
(a) Konfigurace peptidové vazby



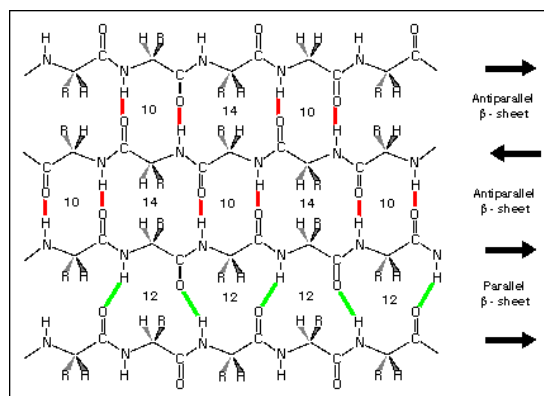
(b) Rozměry a úhly trans-peptidové skupiny



(c) K definici torzních úhlů peptidů



(d) Alfa helix



(e) Beta skládaný list

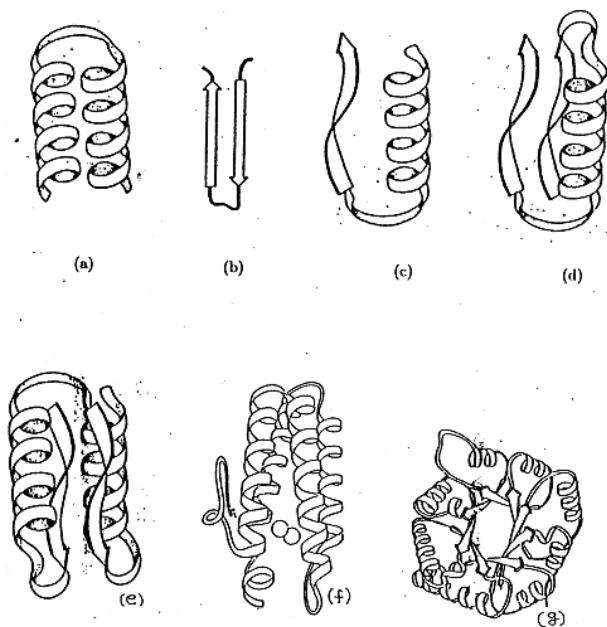


Fig 2.14 Some of the commonly occurring folding motifs in proteins.

(a)  $\alpha\alpha$ , (b)  $\beta\beta$ , (c)  $\alpha\beta$ , (d)  $\beta\alpha\beta$ , (e)  $\beta\alpha\alpha$ , (f)  $\alpha_4$  (four helix bundle motif), (g)  $(\alpha\beta)_2$

(f) Supersekundární struktury

Obrázek 4: Sekundární struktura peptidů

konformace nejsou povolené, pro zobrazení možných a zakázaných konformací slouží Ramachandranův diagram.

V rámci sekundární struktury rozlišujeme helikální struktury popsané torzními úhly nebo číslem  $n$  udávajícím počet AA zbytků na závit. Šroubovic je celá řada, liší se stoupáním i smyslem otáčení (pravo- a levotočivé). Ale pouze  $\alpha$ -helixy mají současně povolené konformační úhly a příznivou konformaci pro vznik vodíkových můstků, bližší struktura na Obrázku 4d. Přirozeně se ale vyskytují pouze pravotočivé  $\alpha$ -helixy, průměrně  $n = 3.6$  zbytků na závit a stoupání 0.54 nm.

Další běžnou strukturou jsou  $\beta$ -skládané listy, dělené na paralelní a antiparalelní, detail v Obrázku 4e. V nich se vodíkové můstky vyskytují spíše mezi sousedními polypeptidovými řetězci. Paralelní beta-listy jsou méně stabilní než antiparalelní, i proto jsou paralelní  $\beta$ -listy s méně než pěti vlákny vzácné. Vlivem ne vazebných interakcí chirálních zbytků AA dochází k mírnému helikálnímu zkrutu beta struktur.

Alfa helixy a beta sheety představují sotva polovinu průměrného globulárního proteinu. Zbývající segmenty mají klubkovitou nebo smyčkovitou konformaci (např.  $\beta$ -otočky).

**Terciární strukturu** rozumíme trojrozměrnou strukturu celého polypeptidu. Hydrofobní interakce je z velké části zodpovědná za nativní strukturu proteinů, nepolární zbytky AA se díky tomu většinou vyskytují uvnitř proteinu. Naopak skoro výhradně na povrchu se vyskytují nabitě polární zbytky AA. Nenabitě polární aminokyseliny nejsou tak vybíravé. Velké polypeptidové řetězce jsou obvykle svinuty do několika globulárních shluků, domén. Domény pak jsou strukturně nezávislé jednotky s charakterem malých globulárních proteinů, mají často specifickou funkci a částečnou proteolýzou se dají separovat. Rozlišujeme tzv. supersekundární struktury s několika příklady na Obrázku 4f.

**Kvartérní struktura** se vztahuje k uspořádání několika polypeptidových řetězců, podjednotek, tvořících protein. Podjednotky jsou vázány nekovalentně, někdy disulfidicky, často s určitou symetrií. Proteiny vážou díky svým postranním řetězcům téměř cokoliv, kromě jiných proteinů. Shlukování proteinů by bylo překážkou jejich normální funkce.

## Stabilita

Podle termodynamických měření jsou nativní proteiny za fyziologických podmínek jenom velmi málo stabilní. Ke stabilizaci proteinů přispívají

**Elektrostatické síly** díky Coulombovu zákonu, s poměrně dlouhým dosahem. Jsou nejdůležitější faktory určující konformaci proteinů. Velmi obtížně se kvantifikují.

**Iontové interakce** jsou silné, nepřispívají ale příliš ke stabilizaci proteinů.

**Interakce dipól-dipól** jsou naopak slabé, nekovalentní elektrostatické interakce, které významně stabilizují strukturu proteinu. Jsou způsobeny van der Waalsovými interakcemi a vznikají mezi stálými nebo indukovanými dipóly.

**Vodíkové můstky** jsou převážně elektrostatické interakce mezi slabě kyselou skupinou donoru D–H a akceptorem A, který má volný elektronový pár. V biologických systémech je akceptor většinou kyslík, někdy síra. Významně ovlivňují strukturu pro-

teinu, ale nestabilizují jej. Naopak vnitřní H můstky mohou protein mírně destabilizovat.

**Hydrofobní interakce** je hlavní silou, která umožňuje svinuté polypeptidových řetězců proteinů do jejich nativní konformace.

**Disulfidové vazby** stabilizují prostorové struktury proteinu.

## 2 Sacharidy

Sacharidy jsou základními složkami všech živých organismů, metabolickým rozkladem lze získat většinu energie pro průběh biologických pochodů, jsou také základní složkou nukleových kyselin.

### Monosacharidy

Rozdělují se podle povahy karbonylových skupin a podle počtu uhlíkových atomů.

**Aldosy** mají karbonylovou skupinu jako součást aldehydické skupiny.

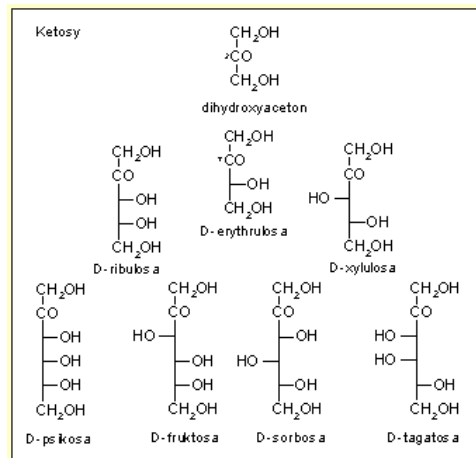
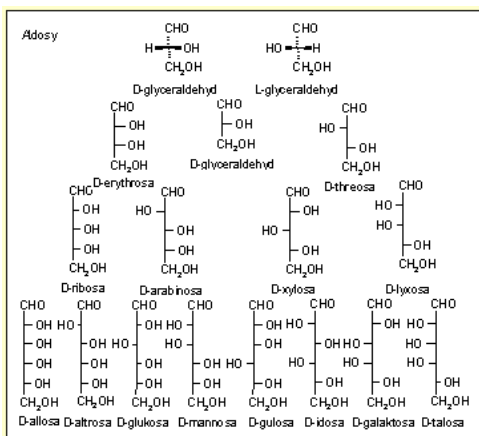
**Ketosy** mají karbonylovou skupinu tvořící keton.

Podle Fischerovy koncepce mají D-sacharidy stejnou absolutní konfiguraci asymetrického centra nejvíce vzdáleného od karbonylové skupiny, jako D-glyceraldehyd. L-sacharidy jsou potom zrcadlovým obrazem příslušných D-forem. Kromě prvního a posledního uhlíku navíc obsahují sacharidy další chirální centra podle celkového počtu uhlíkových atomů. Epimery jsou sacharidy lišící se konfigurací na jediném uhlíkovém atomu. Aldosy a ketosy jsou na Obrázku 5.

Zajímavé je, že glukosa je jediná aldosa, která se běžně vyskytuje jako monosacharid. Lineární monosacharidy ale samovolně tvoří mezi alkoholovými a aldehydovými či ketonovými skupinami za vzniku hemiacetalů či hemiketalů. Tím se tvoří cyklické formy sacharidů a také nové centrum asymetrie, podle kterého můžeme rozlišit dva anomery. Alfa a beta anomery se odlišují polohou skupiny OH anomerního uhlíku a skupiny  $\text{CH}_2\text{OH}$  vzhledem k sacharidovému kruhu, detail na Obrázku 5c. Všechny dvojice anomerů a diastereomerů se liší svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. V roztocích dochází k mutarotaci: rozpuštěním čisté formy jednoho anomeru ve vodě se vytvoří rovnovážná směs obou forem. Cyklické formy hexos a pentos jsou buď šestičlenné nebo pětičlenné (pyranosy a furanosy). Tyto kruhy nejsou rovinné, nýbrž zauívají židličkovou nebo vaničkovou konfiguraci, což má opět vliv na chemickou reaktivitu.

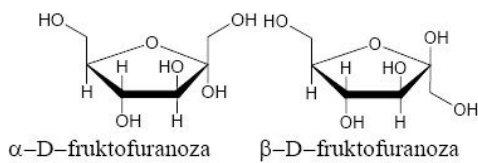
### Polysacharidy

Nejjednodušší monosacharidy jsou tvořeny v procesu glukoneogeneze z jednodušších látek nebo jako produkty fotosyntézy. Nejvýznamnější disacharidy jsou sacharosa (glukosa a fruktosa) a laktosa (galaktosa s glukosou). Polysacharidy jsou tvořeny velkým počtem kovalentně vázaných monosacharidových jednotek spojených glykosidovými vazbami. Na rozdíl od proteinů a nukleových kyselin tvoří polysacharidy jak lineární, tak větvené polymery, protože glykosidová vazba může vycházet z kterékoliv hydroxylové skupiny (a



(a) Aldosy

(b) Ketosy



(c) K definici anomerů

Obrázek 5: Přehled sacharidů

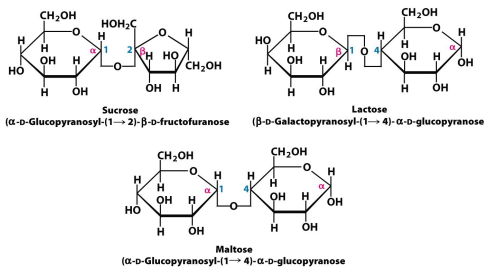
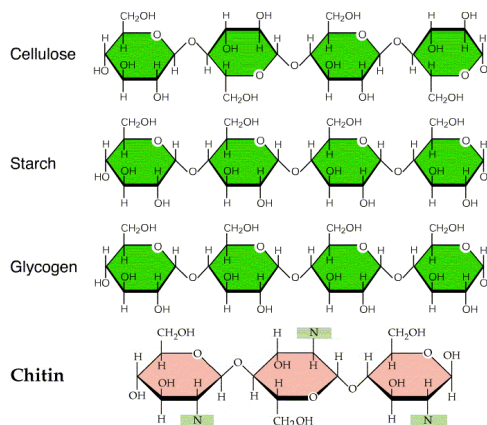
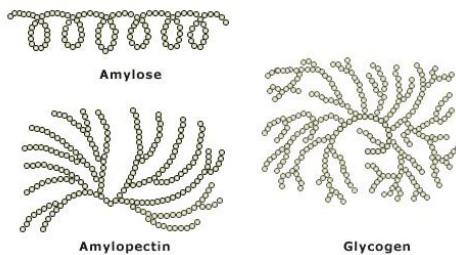


Figure 11.11  
Biochemistry, Seventh Edition  
© 2012 W. H. Freeman and Company

(a) Některé běžné disacharidy



(b) Nejvýznamnější polysacharidy



(c) Ujasnění struktury významných polysacharidů

Obrázek 6: Vybrané polysacharidy

končí na anomerním uhlíku). Jejich strukturní role je nepostradatelná ve stavbě rostlin, jejichž stavební látka je celulóza (polymer glukos spojených  $\beta(1-4)$  glykosidovou vazbou). Škrob u rostlin (lineární amyloza a rozvětvený amylopektin, oboje spojeny  $\alpha(1-4)$  vazbou a větvení se děje vazbou  $\alpha(1-6)$ ) a glykogen (jako amylopektin, je více větvený) u živočichů zase plní úlohu zásob. Struktura složek škrobu a glykogenu je vidět v Obrázku 6c. Některé významné sacharidy jsou v Obrázku 6. Připomeňme si, že chitin na Obrázku 6b tvoří hlavní složku kutikuly členovců, která je např. u raků, krabů a hmyzu pomocí minerálních látek zpevněna do podoby pevného exoskeletu. Strukturně je chitin velmi podobný celulóze, chemicky se liší acetamidovou skupinou na  $C_2$ . Jen pro zajímavost také tvoří buněčnou stěnu hub a proto není překvapivé, že s celulózou jsou nejrozšířenějšími polysacharidy na Zemi.

### 3 Nukleové kyseliny

Existují dvě třídy nukleových kyselin (NK): deoxyribonukleové kyseliny (DNA) a ribonukleové kyseliny (RNA).

**DNA** má dvě funkce:

1. řídí svou vlastní replikaci během dělení buňky
2. řídí transkripci za vzniku komplementárních RNA

**RNA** má rozmanité funkce:

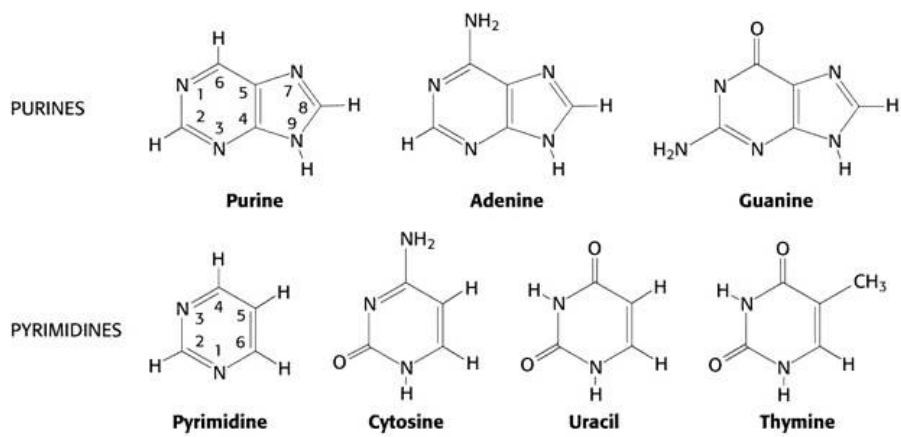
1. jako m-RNA řídí ribozomální syntézu polypeptidů při translaci
2. ribozomální r-RNA má strukturní i funkční úlohu
3. při syntéze proteinů jsou aminokyseliny přenášeny na ribozom molekulami transferové t-RNA
4. určité RNA se pojí se specifickými proteiny do ribonukleoproteinů, které se účastní posttranskripčních úprav jiných RNA
5. ve virech bývá nositelkou genetické informace místo DNA

#### Báze NK

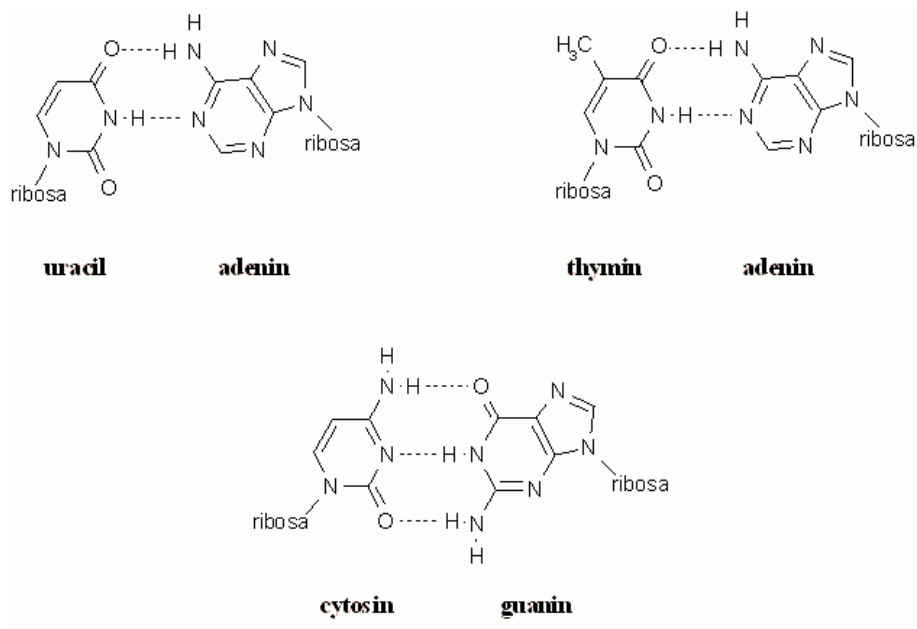
Nukleové kyseliny jsou lineární polymery nukleotidů, jejichž fosfáty vytvářejí můstek mezi polohami 3' a 5' po sobě následujících cukerných zbytků. Fosfáty těchto nukleotidů jsou kyselé, takže při fyziologickém pH jsou NK polyanionty. Přehled bází nukleových kyselin a připomenutí názvosloví je v Obrázku 7. Párování bází, jak je na Obrázku 7b a celkově strukturu DNA objasnili v roce 1953 Watson a Crick. Ti využili znalosti Chargaffova pravidla, ekvivalence v počtu bází  $C=G$  a  $A=T$ , které bylo do té doby podceňeno a neobjasněno. Navíc z RTG analýz, NMR a dalších analýz měli k dispozici správné tautomerní formy bází. A z RTG difrakce Rosalindy Franklinové vyplynulo, že DNA má tvar šroubovice.

#### Struktury DNA

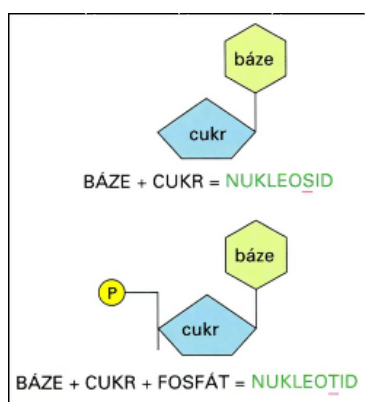
V analogii se strukturou proteinů lze definovat primární strukturu DNA jako pořadí jejích bází. Dvoušroubovicová DNA i RNA může mít více různých sekundárních struktur. DNA



(a) Struktura bází



(b) Párování basí



(c) Nukleosid a nukleotid

Obrázek 7: Báze nukleových kyselin



ovšem nemá žádnou srovnatelnou terciární a kvartérní strukturu. Některé RNA však mají dobře definovanou terciární strukturu, jako např. trojlístek t-RNA.

**B-DNA** je nativní forma pravotočivé dvoušroubovice o průměru 2 nm. Báze obsazují jádro šroubovice a fosfosacharidové řetězce jsou na povrchu, tím se minimalizuje odpuzování fosfátových skupin. Roviny bází jsou téměř kolmé k ose šroubovice, každá je spojena vodíkovými můstky s komplementární bází a tvoří tak rovinný pár bází. V ideálním případě má B-DNA 10 bp na závit a stoupání 3.4 nm. Dva žlábků, menší a větší, hrají roli při regulaci genové exprese a nesou pro DNA-vazebné proteiny informaci k rozpoznání jednotlivých bází (větší) nebo páru bází (menší). Přírozená B-DNA se samozřejmě odchyluje od ideálního modelu v závislosti na podmínkách prostředí, pořadí bází apod.

**A-DNA** vzniká z B-DNA při snížení relativního obsahu vody pod 75 procent a má značně proměnlivou konformaci. Je širší a více plochá pravotočivá dvoušroubovice, 11 bp na závit se stoupáním 2.8 nm, charakteristická je pro A-DNA axiální dutina. Roviny párů bází mají sklon k ose šroubovice 20°. Zatím není jisté, zda se vyskytuje in-vivo (spíše ano, alespoň části). U grampozitivních bakterií hraje konformace A důležitou roli v ochraně jejich spor, protože A-DNA je odolná vůči poškození vlivem UV záření, tj. inhibuje tvorbu thyminového dimeru.

**Z-DNA** je zase charakteristická levotočivostí s 12 bp na závit a stoupavostí 4.5 nm. Větší žlábků nelze rozeznat, patrný je pouze hluboký menší žlábků. Z-DNA konformace nabývají nejochotněji střídavé úseky pyrimidinů a purinů při vysoké koncentraci solí. Byla dokázána její přítomnost in-vivo, biologická funkce je ale stále neznámá.

Ještě stojí za to zmínit, že telomery tvoří dimery tvorbou G-kvartetů.

## Stabilizace DNA

Denaturace DNA pozorovatelná při překročení teploty tání je kooperativní jev, tj. porušení struktury části molekuly destabilizuje její zbytek. Popisuje se křivkou tání, jejíž průběh obecně závisí na vnějších podmínkách. Postupným ochlazením je ale DNA schopna renaturace. Stabilizace DNA má opět několik úrovní jako u proteinů:

**Vodíkové můstky** jsou zásadní pro přesné párování bází, ale přispívají ke stabilitě DNA jen málo, stejně jako u proteinů.

**Stacking interakce** vedou ke stohování purinů a pyrimidinů a jsou formou van der Waalsových interakcí. Stohové asociace ve vodném roztoku jsou z velké části stabilizovány hydrofobními interakcemi. Ovšem charakter hydrofobní stabilizace se zásadně liší od interakcí stabilizujících proteiny. Stohování bází je totiž entropicky nevýhodné a entalpicky výhodné, přesně opačně než u proteinů.

**Iontové interakce** jsou důsledkem elektrostatických interakcí nabitých fosfátových skupin. Teoreticky je nesnadné předpovídat konformace molekul. Z pozorování ale vyplývá jednoduchá skutečnost, totiž teplota tání DNA roste s koncentrací kationtů. To je ovšem zřejmý důsledek toho, že kationty elektrostaticky stíní fosfátové anionty jeden od druhého. Dvojmocné ionty navíc fungují ještě mnohem lépe, takže řada enzymů katalyzující reakce s nukleovými kyselinami či nukleotidy obvykle potřebuje pro svou činnost ionty  $Mg^{2+}$ .