

Některé aplikace strukturní analýzy v biologii

Z materiálů PDB (Protein Data Bank)

Struktura myoglobinu - Nobelova cena v roce 1962

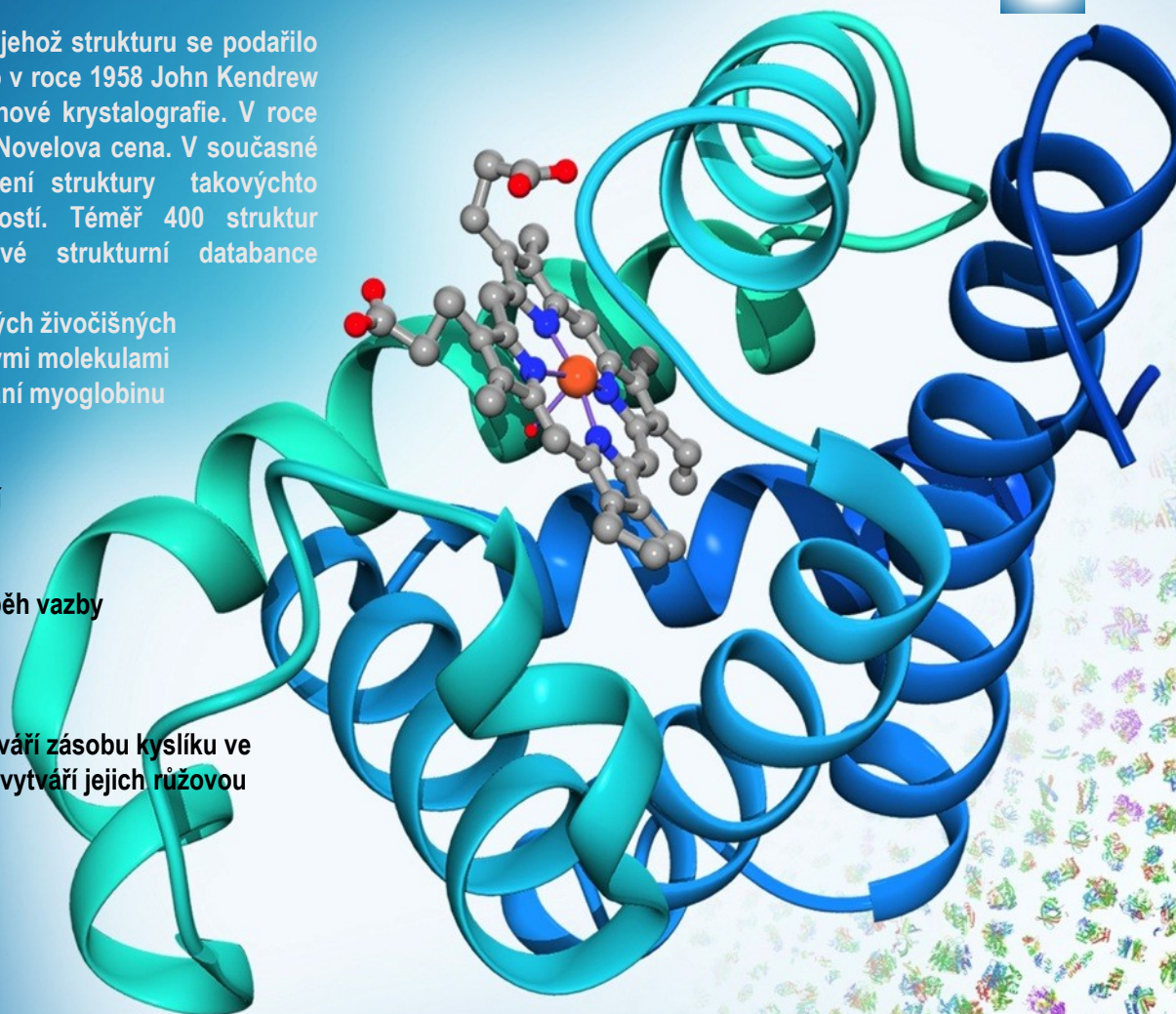


1mbn

Myoglobin byl první protein, jehož strukturu se podařilo lidstvu vyřešit. Podařilo se to v roce 1958 John Kendrew a Max Perutz pomocí proteinové krystalografie. V roce 1962 jim za to byla udělena Nobelova cena. V současné době je experimentální určení struktury takovýchto proteinů již rutinní záležitostí. Téměř 400 struktur deponovaných v proteinové strukturní databázi zahrnuje komplexy myoglobinů z různých živočišných druhů a jejich mutantů s malými molekulami a dává dobrý přehled o chování myoglobinu a jeho interakcích s okolím.

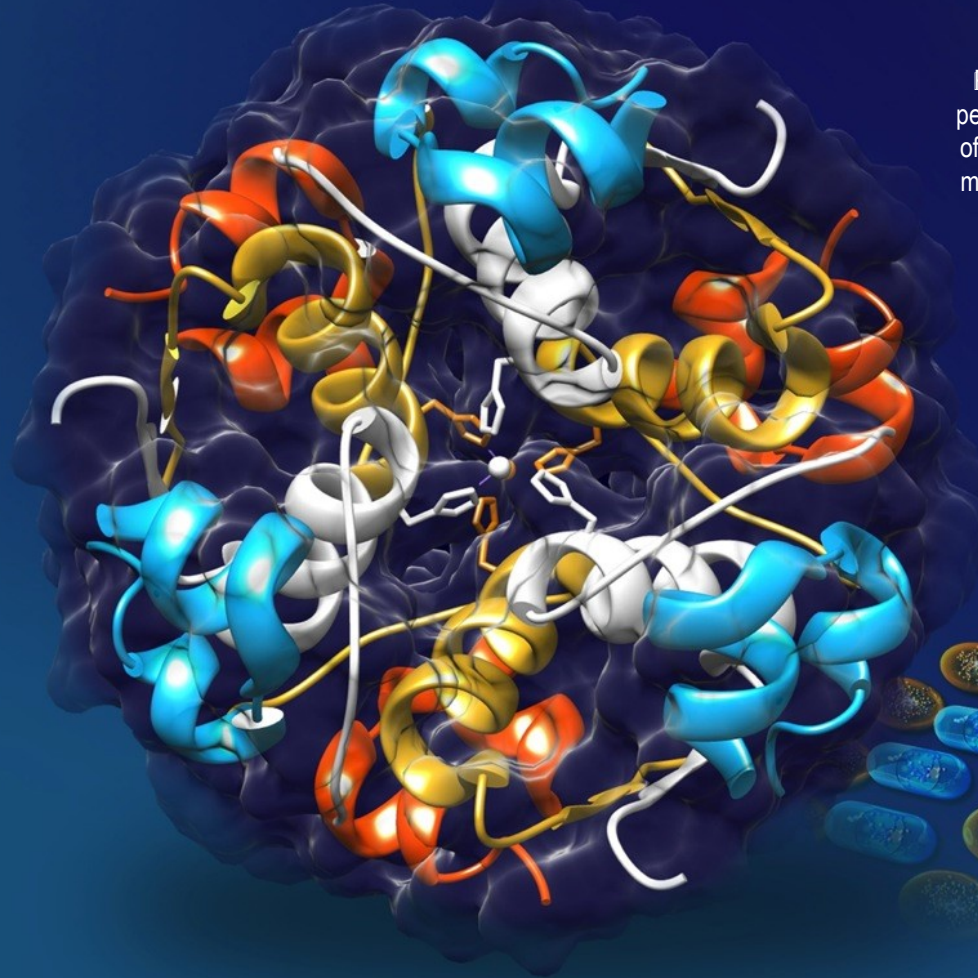
Stanovením struktury pomocí nanosekundových pulzů synchrotronového záření se podařilo zobrazit celý průběh vazby a uvolnění molekuly CO a kyslíku z aktivního místa.

HEM skupina myoglobinu vytváří zásobu kyslíku ve svazech vyšších organismů a vytváří jejich růžovou barvu.

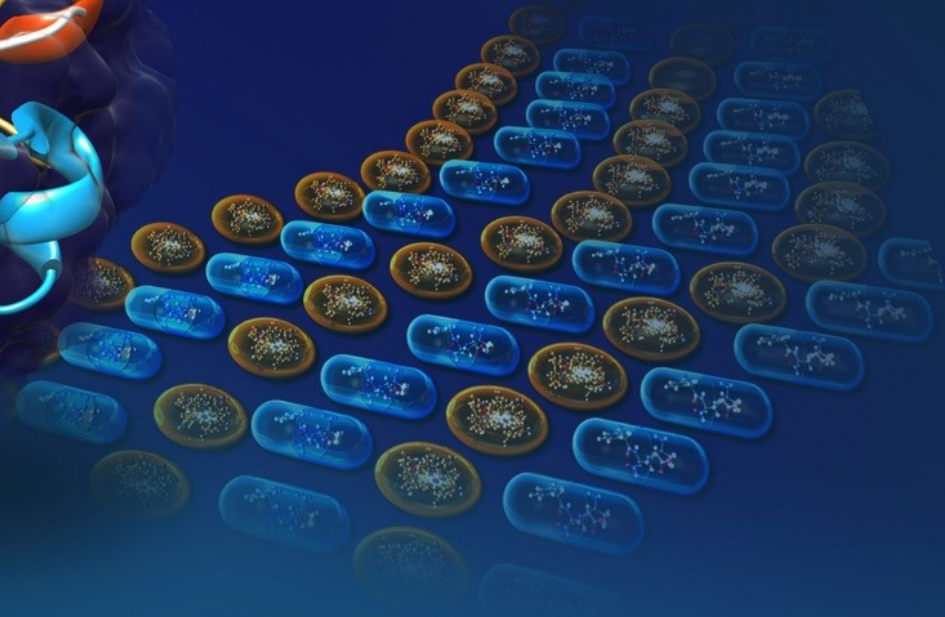


WORLDWIDE
PDB
PROTEIN DATA BANK

Struktura penicilinu, vitaminu B12, insulinu Nobelova cena za chemii 1964

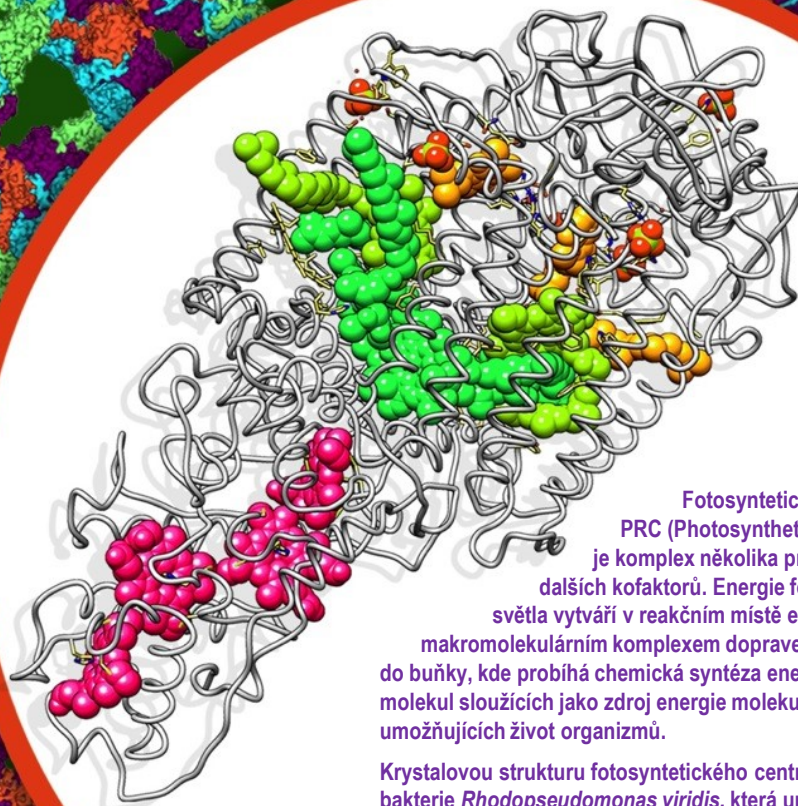


Prof. Dorothy Hodgkin dostala Nobelovu cenu za vyřešení struktury penicilinu a vitaminu B12 difrakčními metodami. Přestože se jí difrakci of krystalů proteinu insulinu podařilo naměřit již v roce 1935, strukturu molekuly inzulinu se podařilo vyřešit až v roce 1969. Znalost struktury a funkce tohoto hormonu je důležitá, protože řídí hladinu glukózy v krvi. Jeho poruchy jsou jednou z příčin cukrovky, která patří k závažným civilizačním chorobám dneška.



Fotosyntetické reakční centrum – Nobelova cena 1988

1prc



Fotosyntetické reakční centrum PRC (Photosynthetic Reaction Center) je komplex několika proteinů, chlorofilu a dalších kofaktorů. Energie fotonů dopadajícího světla vytváří v reakčním místě elektrony, které jsou makromolekulárním komplexem dopraveny přes membránu do buňky, kde probíhá chemická syntéza energeticky bohatých molekul sloužících jako zdroj energie molekulárních strojů umožňujících život organismů.

Krystalovou strukturu fotosyntetického centra purpurové bakterie *Rhodospseudomonas viridis*, která umožnila pochopit funkci těchto základních biologických procesů určili poprvé Hartmut Michel, Johann Deisenhofer a Robert Huber. Dostali za stanovení první struktury membránového proteinu Nobelovu cenu v roce 1988.

Struktura fluorescenčních proteinů

Nobelova cena v roce 2008



1bfp



1ema



1g7k

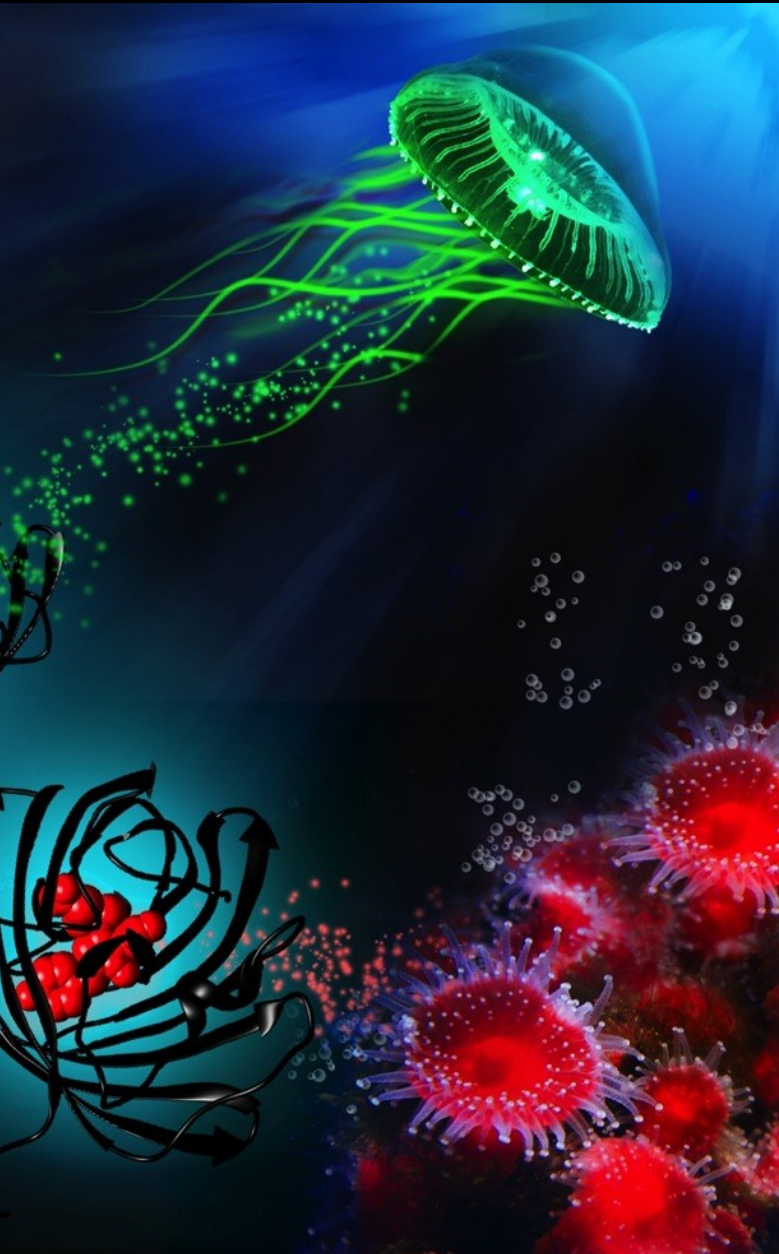
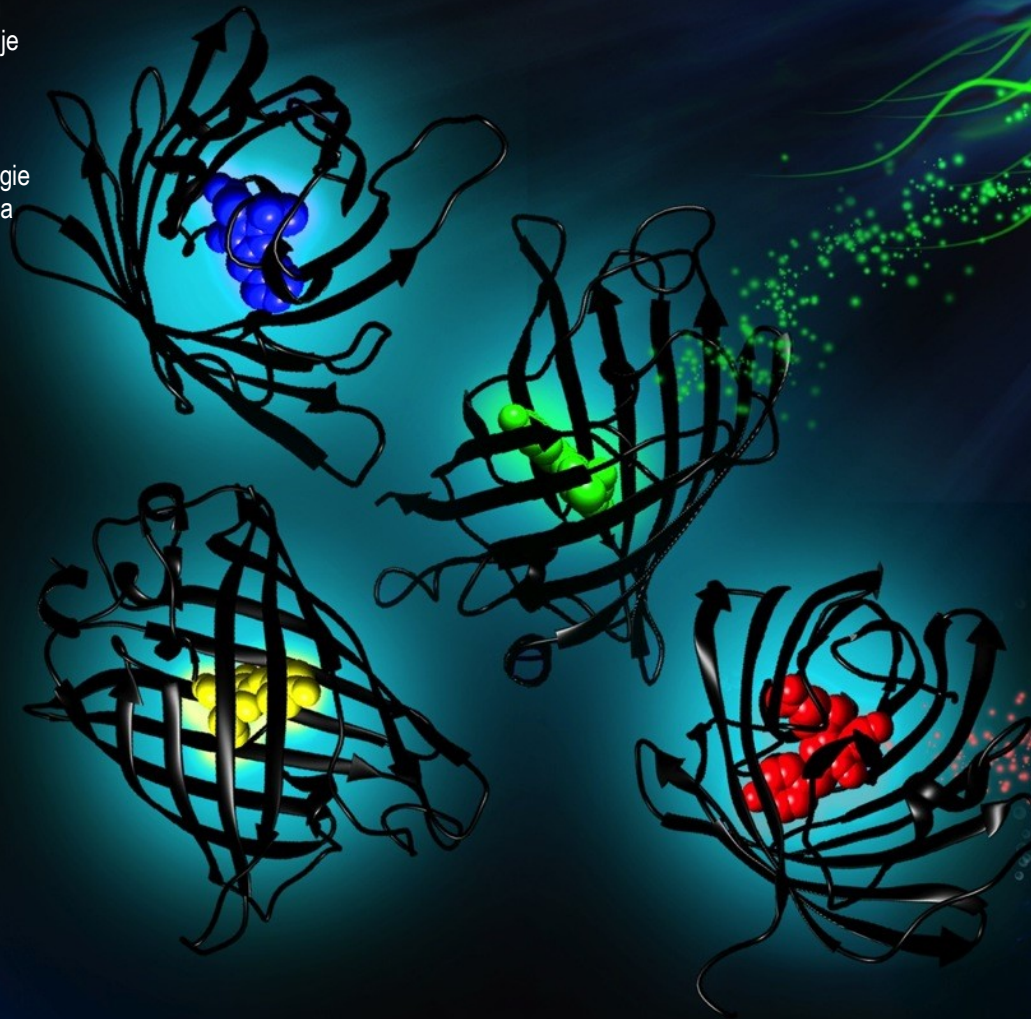


1yfp

Fluorescence medúz vyvolává zeleně fluoreskující protein GFP (Green Fluorescent Proteins), který absorbuje ultrafialové světlo a emituje zelené světlo delší vlnové délky. GFP je používán v genetickém inženýrství pro sledování stability proteinů a jako fluorescenční značky ke sledování distribuce proteinů v organismu. Různé varianty GFP produkují světla různé barvy. To umožňuje současné sledování rozložení více proteinů najednou.

Za objev a rozvoj této technologie byla udělena Nobelova cena za chemii v roce 2008 Osamu Shimomurovi, Martinu Chalfie, a Rogerovi Y. Tsienovi.

Koláž ukazuje strukturu čtyř vybraných fluorescenčních proteinů fluoreskujících v různých vlnových délkách.

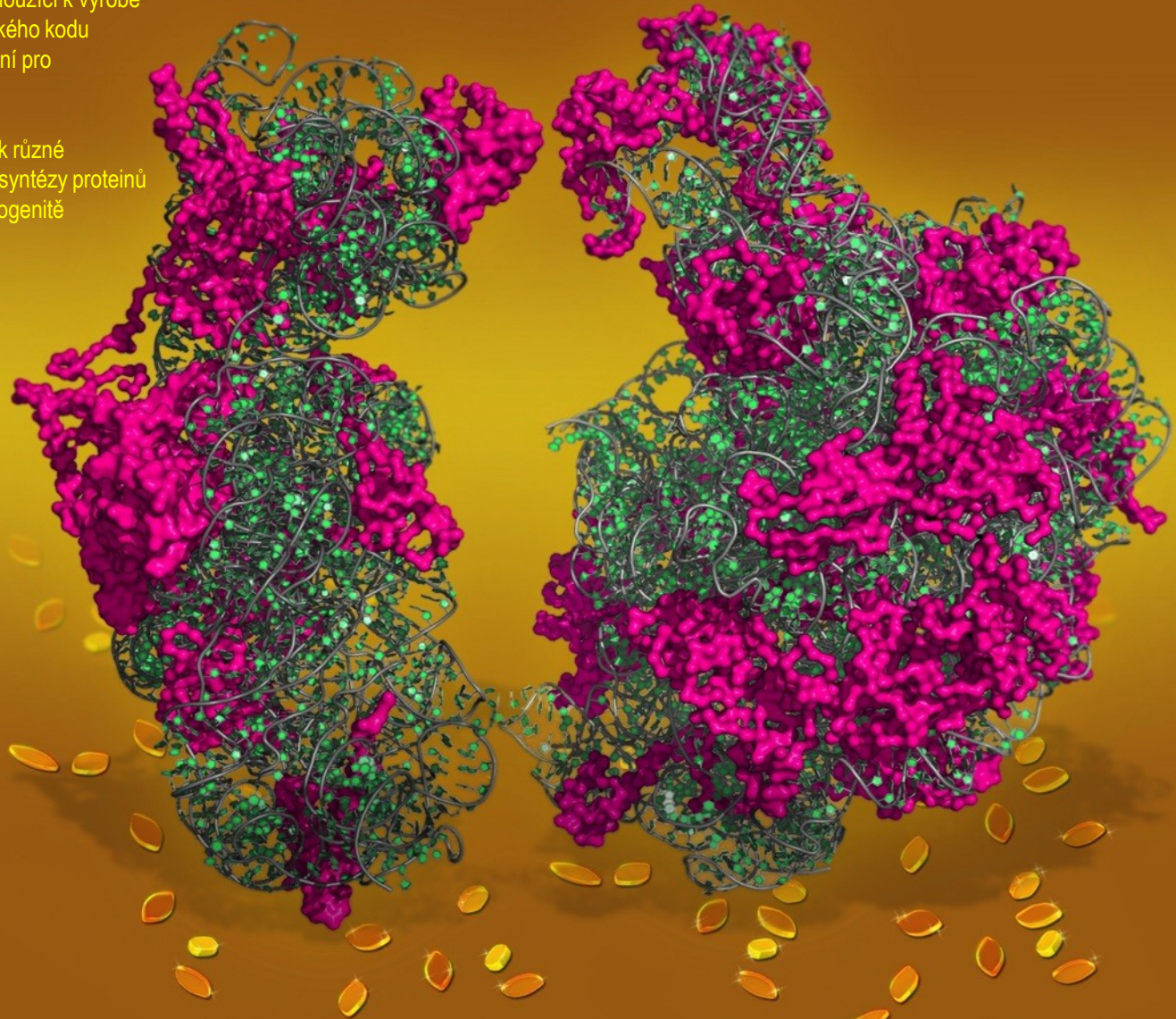




Ribozomy jsou složité molekulární stroje sloužící k výrobě biologických makromolekul podle genetického kodu uloženého v DNA, který slouží jako primární pro biologickou syntézu proteinů

Jsou složeny ze dvou nezávislých jednotek různé velikosti, které se spojují při inicializaci biosyntézy proteinů. Díky své enormní velikosti a funkční heterogenitě se ribozomy velmi obtížně krystalizují.

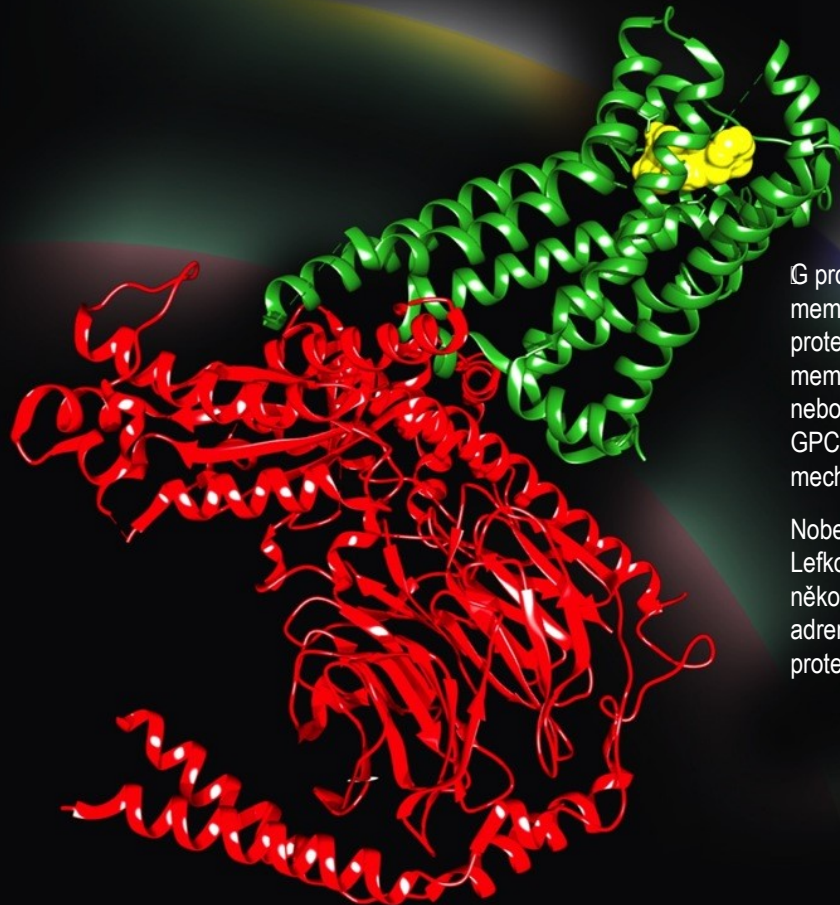
Za určení struktury ribozomu dostali Venkatraman Ramakrishnan, Thomas A. Steitz a Ada E. Yonath Nobelovu cenu za chemii v roce 2009.



Receptory spřažené s G-proteiny GPCR (G Protein Coupled Receptors) Nobelova cena v roce 2012

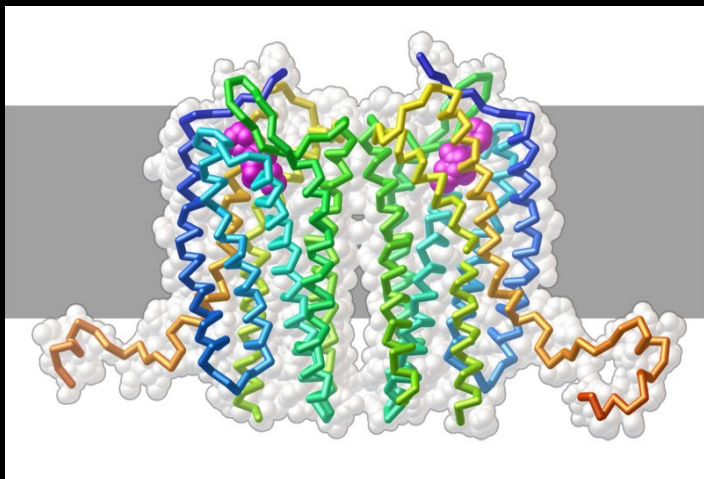


3sn
6



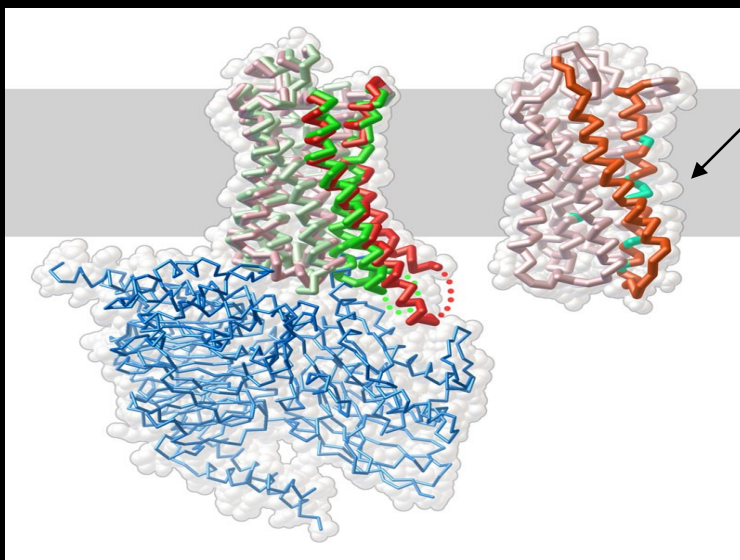
G protein vázané receptory (GPCR) tvoří největší rodinu membránových proteinů u člověka. Tyto transmembránové proteiny přenášejí signály přes buněčnou nebo jadernou membránu. Reagují na chemické neurotransmitery, hormony, nebo světlo jak je ukázáno ve struktuře 3SN6 na obrázku. GPCRs jsou cílem více než 50% léčiv u kterých známe mechanismus jejich působení v těle.

Nobelovu cenu za chemii v roce 2012 získali Robert J. Lefkowitz a Brian K. Kobilka za objasnění struktury a funkce několika GPC receptorů. Obrázek ukazuje strukturu β_2 adrenergického receptoru vázaného na heterotrimer G proteinu.

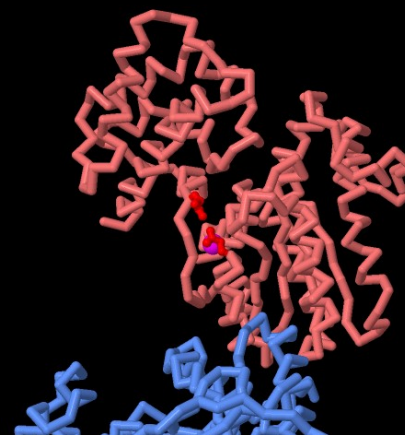


G-protein, rakovina

Signál přes GPCR – posuvy šroubovic
neaktivní - zelená, aktivovaná – červená,
navázaná na G-protein (modrá)



Rakovinná mutace



Antiretrovirální léčiva – inhibice reverzní transcriptázy HIV

HIV (human immunodeficiency virus) vyvolávající AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) obsahuje dva RNA řetězce, proteinů, několik dalších proteinů odvozených z proteinů naposledy infikované buňky člověka obklopených lipidovou membránou (obrázek vpravo).

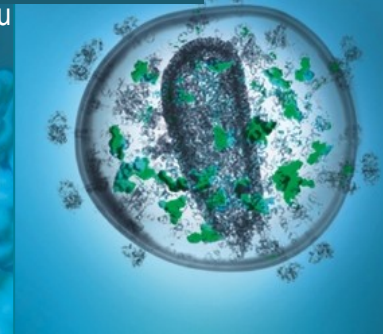
Po vniknutí viru do hostitelské buňky virová reverzní transkriptáza vytvoří z virové RNA infekční DNA obsahující kód pro produkci virových proteinů. Infikovaná buňka tak začne produkovat nové virové částice do doby než zanikne. Léčba spočívá v:

- aktivaci imunitního systému proti infikovaným buňkám,
- inhibici virové proteázy (nově vznikající viry zůstávají nefunkční),
- inhibici reverzní transkriptázy (virus nedokáže přepsat svoji genetickou informaci do hostitelské buňky).

Obrázek ukazuje reverzní transkriptázu při přepisu virové RNA (červený řetězec) do DNA řetězce obsahujícího virový genom (růžový řetězec). Tentýž enzym poté zničí původní virální RNA při výrobě druhého DNA řetězce, který spolu s prvním řetězcem vytváří dvouřetězcovou DNA, která donutí hostitelskou buňku vyrábět nové virové částice. Bezpečná léčba vyžaduje takové inhibitory virových proteinů, které neinteragují s proteiny potřebnými pro správnou funkci lidského těla.



Lhys



Bezpečná léčiva u kterých známe skutečný mechanismus jejich působení



3cs9



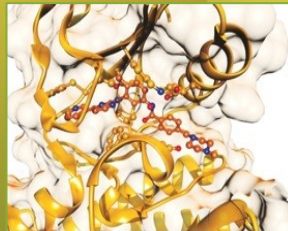
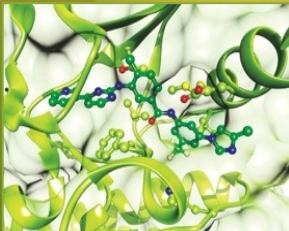
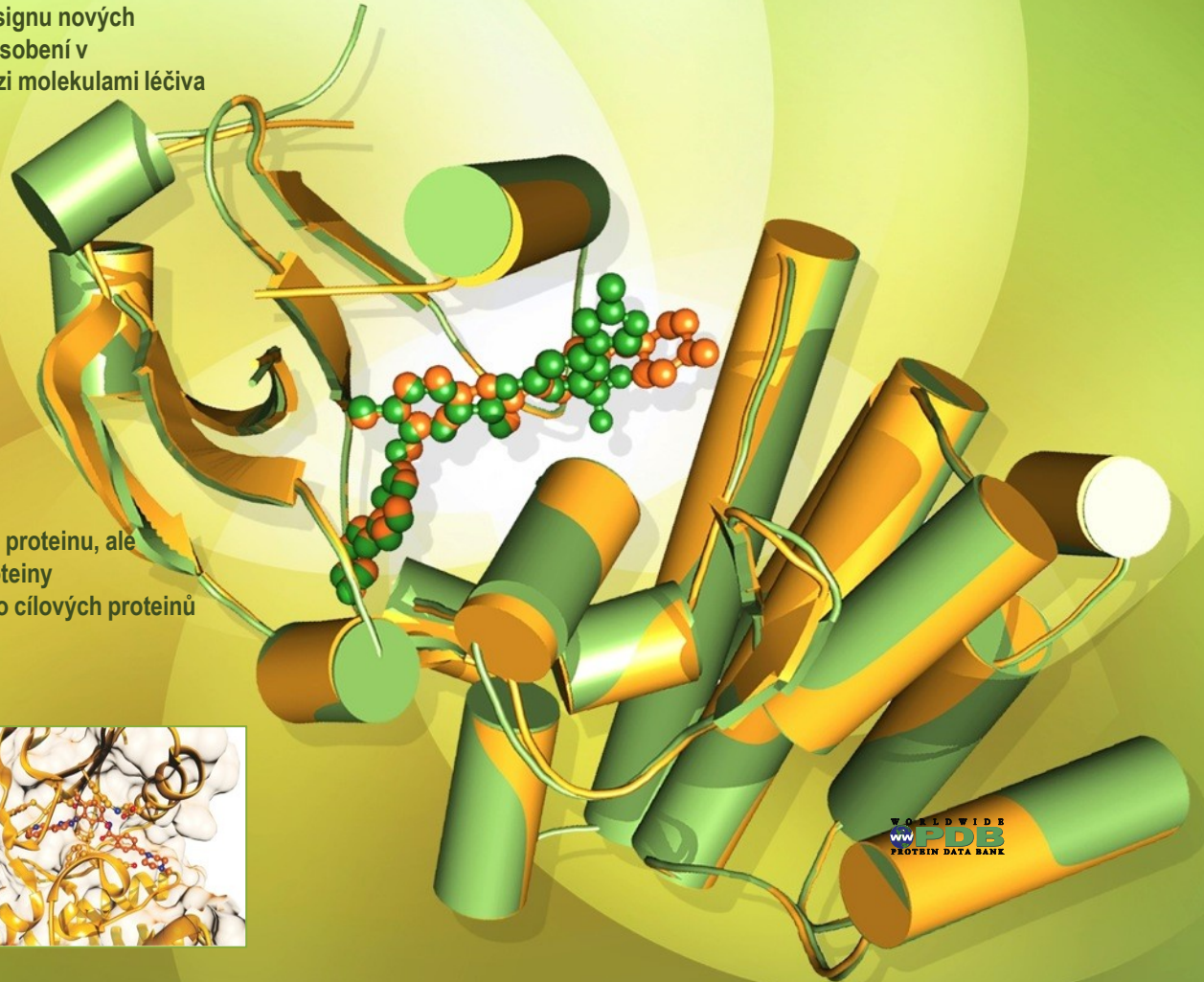
2hy1
y
1iep

Proteinová krystalografie hraje centrální roli při designu nových bezpečných léčiv u nichž známe jejich skutečné působení v organismu. Metoda zobrazuje klíčové interakce mezi molekulami léčiva a proteiny lidského těla, bakterie nebo viru.

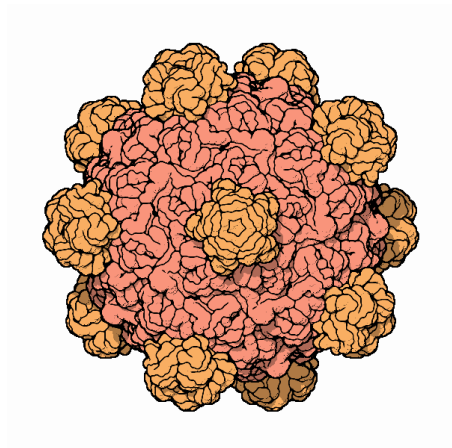
Obrázek ukazuje Abl kinázu inhibovanou molekulou léčiva první generace (imatinib - oranžová molekula). Na základě informace získané proteinovou krystalografií bylo vyvinuto ještě účinnější léčivo druhé generace (nilotinib - zelená molekula), které je schopné nyní vyléčit již většinu pacientů.

Inhibitory Abl tyrosine-kinázy umožňují nyní léčbu chronické myeloidní leukemie – nemoci, která měla dříve vždy fatální následky.

Při návrhu léčiva je důležitý nejen účinek v cílovém proteinu, ale neméně důležitá je absence jeho účinku na jiné proteiny a jeho rezistence vůči možným mutacím virů a nebo cílových proteinů

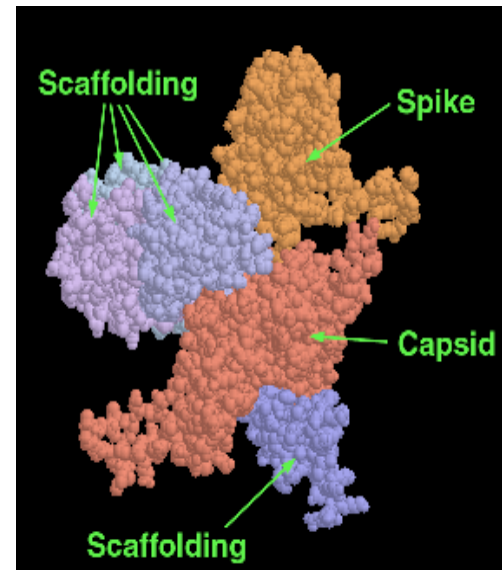
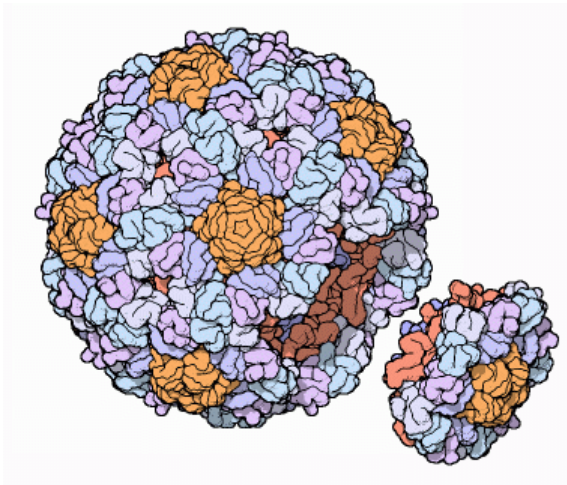


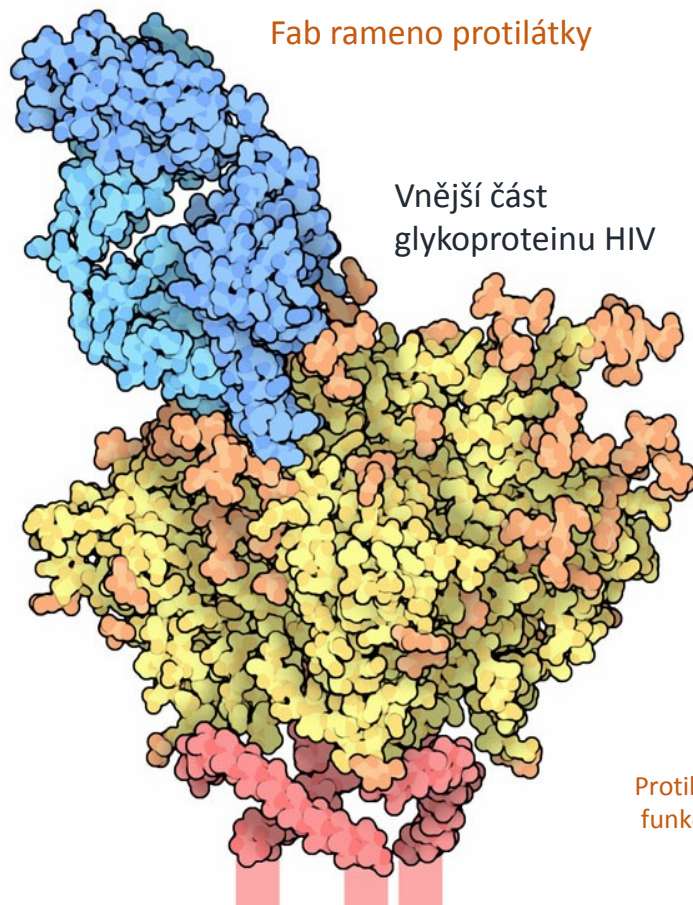
WORLDWIDE
PDB
PROTEIN DATA BANK



Bakteriofág phiX174
 napadá bakteriální buňky
 (*Escherichia coli*) a nutí je,
 aby vytvořily nové kopie viru

Kruh DNA obklopený pláštěm proteinů

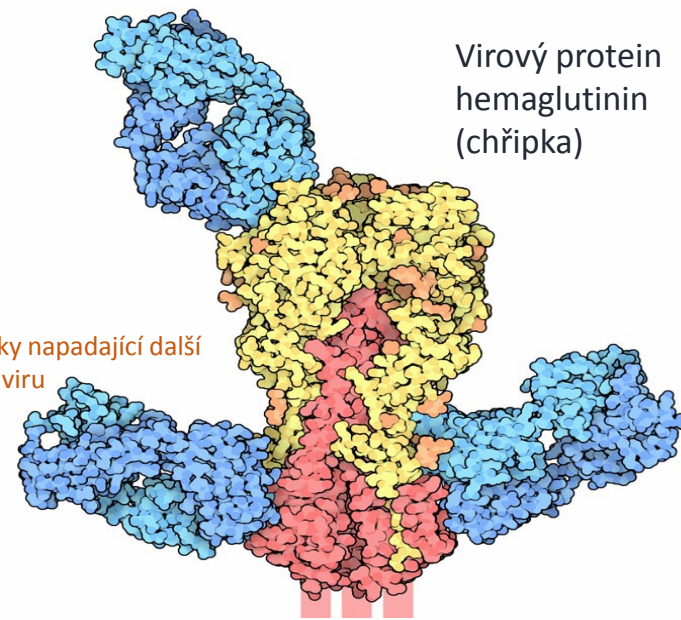


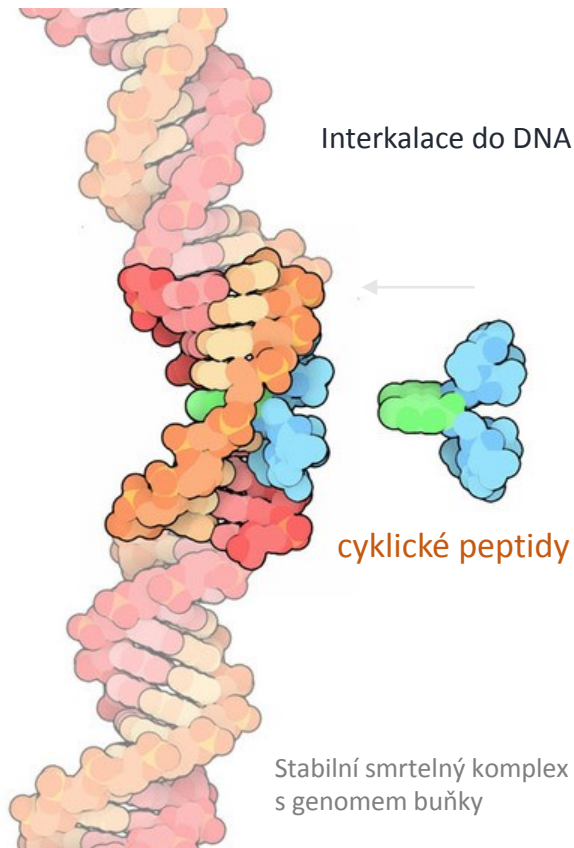


Viry a protilátky

Široce aktivní protilátky
mnoho mutací

Protilátky napadající další
funkce viru





Aktinomycin

První přirozené antibiotikum s protinádorovou aktivitou. Objeven v bakterii *Streptomyces antibioticus* v roce 1940.

Toxický.

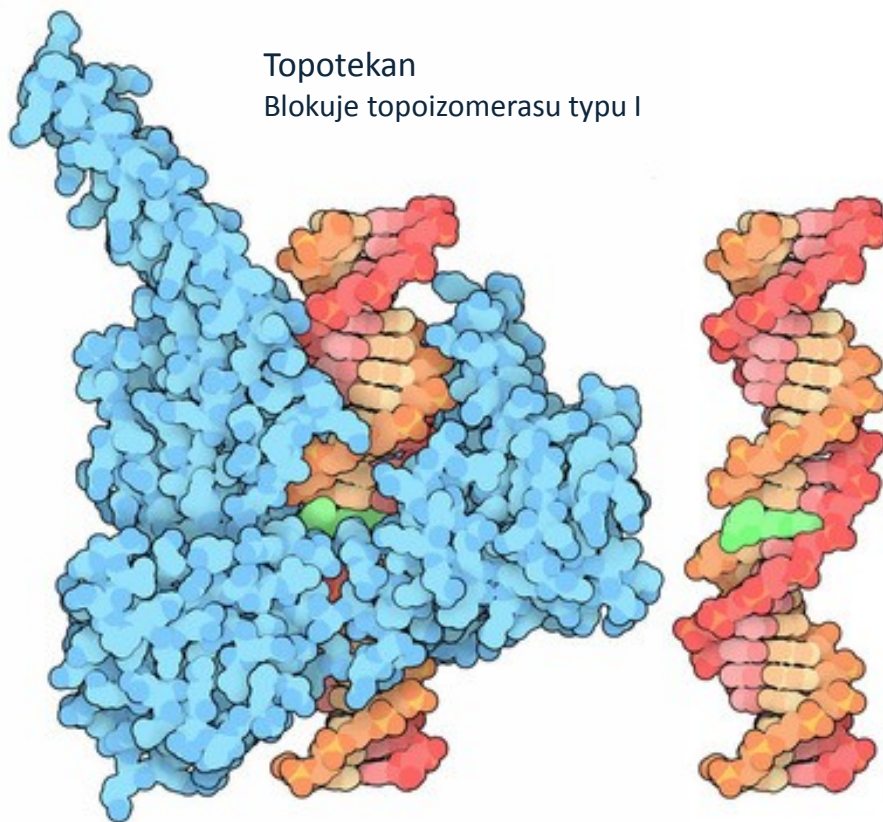
Používají se příbuzné molekuly.

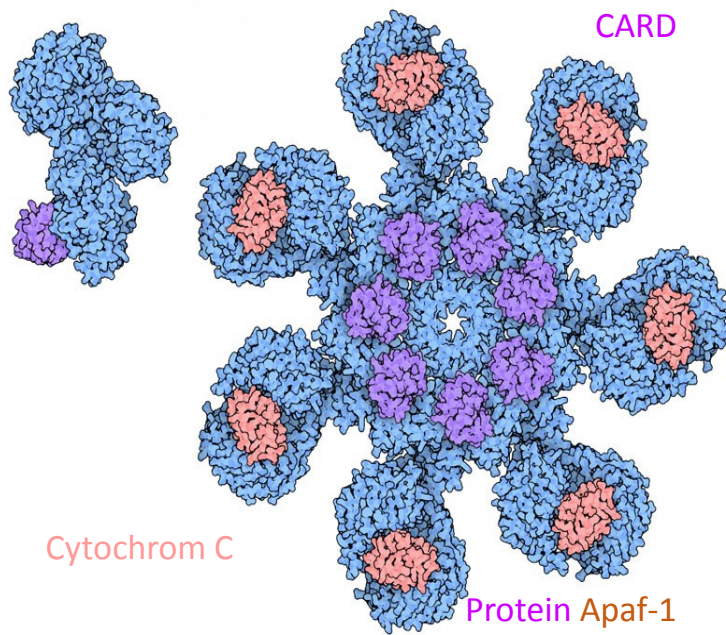
Interkalující molekuly (přirozené, umělé)
otravují rychle se množící buňky nádoru

Topoizomerasy

Rozbíjejí DNA, topologicky mění a zase spojují.
Interkalační léky zmrazí topoizomérázu po rozbití DNA

Topotekan
Blokuję topoizomerasu typu I





Různé pro různé organismy

Apoptozomy

apoptóza
programovaná buněčná smrt

