



50. godišnjica osnutka baze struktura bioloških makromolekula

<https://doi.org/10.15255/KUI.2022.029>

KUI-10/2023

Pregledni rad

Prispjelo 13. svibnja 2022.

Prihvaćeno 18. srpnja 2022.

G. Šinko*

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Ksaverska cesta 2, p.p. 291, 10 001 Zagreb

Sažetak

Baze podataka važne su zbog objedinjenog prikaza informacija prema određenom ključu. Javno dostupne baze podataka imaju dodatnu vrijednost zbog olakšanog pristupa znanju i informacijama. U članku je opisana baza proteinskih struktura, *Protein Data Bank* – PDB, njezino osnivanje, skromni početak te vrlo važan status koji ima danas. Posebno je naglašen dio baze posvećen profesorima i učenicima odnosno studentima da bi lakše pristupali podatcima u bazi te ih primjenjivali u svojem radu ili obrazovanju.

Ključne riječi

Baza podataka, proteinske strukture, nukleinske kiseline, inhibitori, obrazovanje

Uvod

Prošle godine obilježena je 50. godišnjica od osnutka baze struktura bioloških makromolekula u elektroničkom obliku, poznatije kao baza proteinskih struktura: PDB – engl. *Protein Data Bank* (slika 1). PDB bazu je osnovao davne 1971. Brookhaven nacionalni laboratorij u SAD-u kao prvu bazu sa slobodnim pristupom za članove znanstvenoistraživačke zajednice diljem svijeta.¹ Danas se PDB baza nalazi u San Diegu i identična kopija u New Jerseyu i njome upravlja Znanstvena suradnja za strukturnu bioinformatiku (engl. *RCSB-Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank*), koju su osnovali u listopadu 1998. javno sveučilište *Rutgers*, Super-računalni centar u San Diegu (*San Diego Supercomputer Center*) i Nacionalni institut za standarde i tehnologiju (*National Institute of Standards and Technology*).² U svijetu PDB baza surađuje s partnerskim organizacijama za pohranu struktura bioloških makromolekula, europskom bazom *PDBE-Protein Data Bank in Europe*, azijskom bazom *PDBj-Protein Data Bank Japan* kao i bazom struktura određenih primjenom nuklearne magnetske rezonancije *BMRB-Biological Magnetic Resonance Data Bank*. Navedene organizacije od 2003. čine svjetsku proteinsku bazu nazvanu *wwPDB* također sa slobodnim pristupom.²

U početku je proteinska baza sadržavala sedam kristalografskih struktura u elektroničkom obliku te se taj broj povećavao za desetak struktura godišnje.⁴ U 1980-im broj novih struktura dramatično se povećavao, zbog napretka u kristalografskom određivanju struktura makromolekula

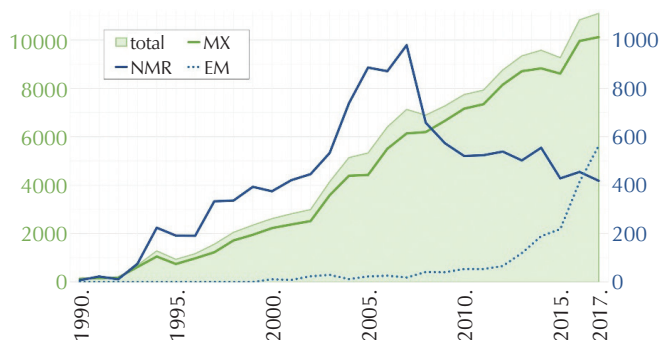


Slika 1 – Znak kojim se obilježava 50. godišnjica od osnutka baze struktura bioloških makromolekula (PDB – *Protein Data Bank*). Znak čine silueta guštera, lista, DNK, staničnih organela te α i β tipovi proteinskih uzvojnica.³

Fig. 1 – Logo marking the 50th anniversary of the founding of the biological macromolecules structures database, PDB – *Protein Data Bank*. The logo consists of the silhouette of a lizard, a leaf, DNA, cellular organelles, and α and β types of protein coils.³

kao i primjenom spektroskopskih metoda, npr. nuklearna magnetska rezonancija (NMR) u određivanju struktura makromolekula. PDB baza je s vremenom sve više dobivala na važnosti, a početkom 1990-ih godina većina znanstvenih časopisa počela je zahtijevati od autora znanstvenih radova uporabu jedinstvenog PDB koda prilikom opisivanja strukture makromolekula. Važnost PDB baze za znanstvenu zajednicu vidimo u činjenici da je 31. prosinca 1990. u bazi bilo pohranjeno 507 struktura, a već krajem 2000. 13 589 struktura (slika 2).⁴ Zanimljivo je naglasiti da su od 2016. strukture dobivene EM metodom zastupljenije u bazi od onih dobivenih NMR metodom.

* Dr. sc. Goran Šinko
e-pošta: gsinko@imi.hr



Slika 2 – Kronološki prikaz godišnjeg pohranjivanja novih struktura bioloških makromolekula u PDB bazu u razdoblju od 1990. do 2017. godine. Tamnozeleno označava broj struktura makromolekula dobivenih primjenom rendgenske kristalografije (MX). Tamnoplava linija označava broj struktura dobivenih primjenom nuklearne magnetske rezonancije (NMR), dok plava točkasta linija predstavlja strukture dobivene pomoću elektronskog mikroskopa (EM).²

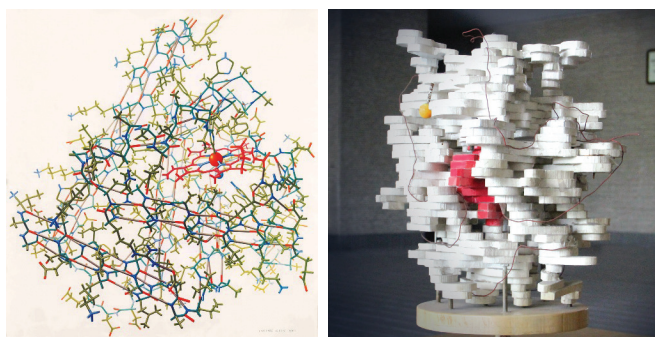
Fig. 2 – Chronological overview of the annual storage of new biological macromolecules structures in the PDB database in period from 1990 to 2017. The dark green line indicates the number of macromolecule structures obtained using X-ray crystallography (MX). The dark blue line indicates the number of structures obtained using nuclear magnetic resonance (NMR), while the blue dotted line represents the structures obtained using electron microscopy (EM).²

Skromni početak

Era strukturne biologije započinje 1958. s engleskim nobelovcem Sir Johnom Kendrewom, koji je objavio trodimenzijsku strukturu mioglobina, proteina čija je uloga pohrana kisika u mišićima kralježnjaka radi lakšeg kretanja. Cjelovita struktura mioglobina dostupna je u PDB bazi pod kodom 1MBN (slika 3) i objavljena je u znanstvenom radu H. C. Watson, *The Stereochemistry of the Protein Myoglobin*, Prog. Stereochem. 4 (1969) 299. Do ranih 1970-ih znanstvenici su odredili trodimenzijsku strukturu desetak biološki i medicinski važnih proteina. Iako svjesni važnosti svojih otkrića, znanstvenici su iznimno teško razmjenjivali podatke o trodimenzijskim strukturama proteina zbog, za ono doba, velikih računalnih datoteka. Osnutkom PDB baze taj je problem prevladan budući da baza obrađuje, pohranjuje i dijeli podatke zainteresiranim znanstvenicima, a od 1995. bazi se može pristupiti osobnim računalom putem Interneta. PDB baza imala je važnu ulogu prilikom određivanja strukture ribosoma, makromolekule koja se sastoji od molekule ribonukleinske kiseline (RNK) i nekoliko proteina te u tom kompleksu ima oko 150 000 atoma. U tome su otkriću sudjelovala četiri svjetska laboratorija, a tri voditelja laboratorija: V. Ramakrishnan, T. A. Steitz i A. E. Yonath, nagrađena su za ovo otkriće Nobelovom nagradom na području kemije 2009.

Čemu služi PDB baza?

Danas elektronička baza PDB sadrži preko 175 000 struktura bioloških makromolekula, proteina, deoksiribonukle-

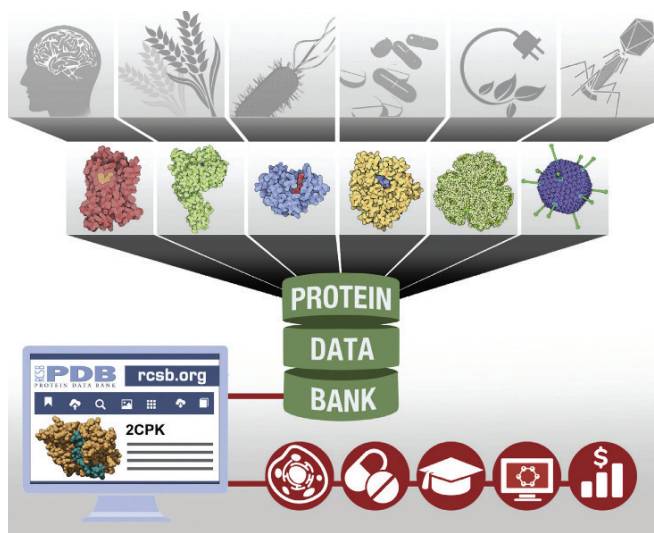


Slika 3 – Prvi javno dostupan crtež strukture proteina, mioglobina, koji je napravio američki ilustrator Irvin Geis 1961. prema rezultatima engleskog nobelovca Sir Johna Kendrewa (lijevo). Drveni model strukture proteina citokroma c iz 1971. (desno), radi se o jednoj od prvih sedam struktura pohranjenoj u bazi PDB te joj je dodijeljen kôd 1CYC. Drveni model čuva se u Institutu za istraživanje proteina Sveučilišta u Osaki.³

Fig. 3 – The first publicly available drawing of the structure of a protein, myoglobin, was made by American illustrator Irvin Geis in 1961 based on the results of English Nobel laureate Sir John Kendrew (left). The 1971 wooden model of the cytochrome c protein structure (right) is one of the first seven structures stored in the PDB database and was assigned to it as 1CYC. The wooden model is kept at the Osaka University Protein Research Institute.³

inskih kiselina (DNK) i RNK, određenih pomoću metoda makromolekulske rendgenske kristalografije, NMR spektroskopije i trodimenzijske elektronske mikroskopije kao rezultat rada znanstvenika iz cijelog svijeta.² Godišnje se broj struktura u PDB bazi povećava za približno 10 %, a više od 400 istraživačkih institucija pohranjuju rezultate u PDB bazu. I dok u prosjeku dnevno znanstvenici preuzimaju oko 2 milijuna strukturnih datoteka, strukture pohranjene u PDB bazi citirane su u više od milijun znanstvenih radova u različitim područjima istraživanja uključujući agrokulturu i zoologiju. Procjenjuje se da vrijednost istraživanja koja su rezultirala strukturama pohranjenim u PDB bazi iznosi oko 125 milijardi kuna. Bazom PDB koriste se, osim znanstvenika, profesori, studenti, javnost, medicinari, pacijenti, udruge za zaštitu prava pacijenata te istraživači iz farmaceutskih tvrtki ili iz biotehnoških tvrtki. Podatci iz PDB baze rabe se u bazičnim i primijenjenim istraživanjima, prijavama patenata, razvoju lijekova te za inovacije koje mogu pokrenuti razvoj novih proizvoda ili osnivanje novih tvrtki. PDB baza primjenjuje se za obrazovanje u STEM području putem prilagođenih informacija i alata za profesore, učenike i studente (slika 4), koji im omogućuju pretraživanje baze, vizualizaciju i analizu bioloških makromolekula na razumljiv način. Poseban dio baze nazvan PDB-101 namijenjen je učiteljima, studentima i javnosti te mu se može pristupiti putem mrežne stranice “pdb101.rcsb.org”.

Najveća vrijednost PDB baze je znanje koje se može slobodno koristiti u daljnjim znanstvenim istraživanjima, npr. za razvoj novih lijekova za liječenje ljudi i životinja kao i za zaštitu biljaka. Lijekove uglavnom čine takozvane “male molekule” i u prošlosti su lijekovi razvijani od ranije pozna-



Slika 4 – Shematski prikaz strukture PDB baze. U gornjem redu su simboli izvora bioloških makromolekula, zatim su prikazane strukture bioloških makromolekula, zeleni koloti predstavljaju servere koji sadrže bazu u elektroničkom obliku. Računalni monitor simbolizira pristup bazi putem Interneta, dok tamnocrveni krugovi simboliziraju: znanje o živim organizmima, lijekove, prikupljeno znanje dostupno akademskoj zajednici, računalno-grafički prikaz struktura bioloških makromolekula te financijsku korist koja se ostvaruje zbog postojanja PDB baze sa slobodnim pristupom.⁴

Fig. 4 – Schematic representation of the PDB database structure. In the top row are the symbols of the source of biological macromolecules, then the structures of biological macromolecules are shown, the green rings represent the servers that contain the database in electronic form. The computer monitor symbolises access to the database via the Internet, while dark red circles symbolise knowledge of living organisms, drugs, collected knowledge available to the academic community, computer-graphic representation of biological macromolecule structures, and financial benefits of free PDB database.⁴

tih prirodnih biološki aktivnih tvari. Takve biološki aktivne tvari, poznate kemijske strukture, polazni su materijal za sintezu novih struktura snažnijeg djelovanja ili poboljšanih svojstava da bi se umanjilo štetno djelovanje lijeka. Takav pristup nazivamo ligandom vođeni dizajn lijekova, gdje je ligand već od ranije poznati lijek. Nasuprot tome pristupu nalazi se PDB baza i poznavanje strukture bioloških makromolekula, istih onih na koje lijek treba djelovati, a taj pristup nazivamo receptorom vođeni dizajn lijekova (slika 5). Receptor je sinonim za makromolekulu. Godine 1894. njemački kemičar Emil Fischer predložio je model interakcije proteina (receptora) i liganda, popularno nazvan model ključ-brava. Fischer je pretpostavio da oblik proteina u koji se smješta ligand mora biti komplementaran obliku liganda, što je najbližnje odnosu izgleda rukavice i ruke. Taj model donekle je i danas primjenjiv, ali, kao i obično, pravila koja postoje u prirodi mnogo su složenija, pa neki proteini “ne poštuju” stara pravila, nego mijenjaju svoj oblik (konformaciju) prilikom vezanja liganda. Razlikujemo dvije vrste liganada: reverzibilni ili oni koji se vežu na protein te odlaze s proteina i ireverzibilni koji stvaraju kemijsku vezu s proteinom onemogućujući mu funkciju.



Slika 5 – Prikaz uloge PDB baze u razvoju novih lijekova, tzv. “PDB ljekarna”. Male molekule predstavljaju lijek imatinib poznatiji kao Gleevec®. Radi se o prvom lijeku, u tretmanu kronične mijeloidne leukemije, u čijem razvoju je primijenjen receptorom vođeni dizajn lijekova. Na slici je prikazana humana Abl kinaza u kojoj je vezana molekula imatiniba te joj je u bazi PDB dodijeljen kôd 2HY7.⁵

Fig. 5 – Review of the role of PDB base in the development of new drugs, the so-called “PDB Pharmacy”. Small molecules are imatinib, better known as Gleevec®. It is the first drug in the treatment of chronic myeloid leukaemia, in the development of which a receptor-guided drug design was used. The figure shows human Abl kinase in which the imatinib molecule is bound and assigned to it in the PDB base as 2HY7.⁵

PDB baza i znanje o proteinima

Povećavanjem broja makromolekula u PDB bazi znanstvenici su primijetili strukturno slične proteine koji se mogu svrstavati u razrede. Neki od tih proteina dijele uz svoj izgled i svoju funkciju, ali još je zanimljivije da neki dijele izgled, ali im se funkcija razlikuje. Kad govorimo o proteinima, treba reći da ih karakterizira primarna, sekundarna, tercijarna i kvartarna struktura. Primarna struktura je temeljna i ona predstavlja niz aminokiselina u polipeptidnom lancu. Sekundarna struktura je prostorna i ona nastaje nakon smatanja (engl. *fold*) aminokiselina u prostoru, a glavna su joj obilježja α uzvojnica i β ploča. Tercijarna struktura je također prostorna i ona nam govori o rasporedu α uzvojnica i β ploča unutar cjelovite strukture proteina, globule. Kvartarna struktura predstavlja kombinaciju najmanje dvije globule proteina, monomera, u konačnu biološki aktivnu formu. Poznavanjem tih strukturnih detalja moguće je izraditi računalni model novootkrivenog proteina čija trodimenzijska struktura nije poznata, ali je poznata struktura njegova srodnika. Taj srodni protein može, osim ljudskog, biti i životinjskog, biljnog ili bakterijskog porijekla ako je sličnost dovoljna. Postupak izrade računalnog modela proteina na temelju poznate strukture proteina naziva se homologno modeliranje, a homologni model može se primjenjivati u razvoju liganada za taj modelirani protein.

PDB baza i znanje o nukleinskim kiselinama

Vrlo važnu skupinu bioloških makromolekula čine RNK i DNK. Svi živi organizmi uključujući i viruse sadrže RNK, odnosno DNK. Slično kao i kod proteina, ako je poznata struktura nukleinskih kiselina, mogu se dizajnirati ligandi koji će se vezati na njih te djelovati na njihovu funkciju. Ti ligandi mogu biti lijekovi iz skupine inhibitora, odnosno aktivatora ili modulatora ekspresije proteina.

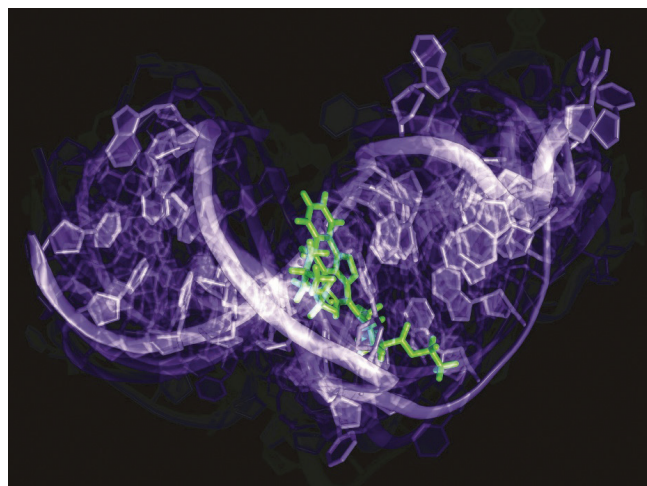
Posljednjih se godina mnogo medijske prašine podignulo zbog lijeka nusinersen, poznatijeg pod nazivom Spinraza®. Radi se o lijeku za spinalnu mišićnu atrofiju, rijetkog nasljednog neuromuskularnog poremećaja. Zbog genetskog poremećaja tijelo ne proizvodi protein preživljavanja motoričkog neurona što kod djece uzrokuje paralizu te kasnije i smrt. Lijek nusinersen je sintetska RNK, oligonukleozid, kod koje su hidroksilne skupine zamijenjene s 2'-O-2-metoksietil skupinama te je uveden sumpor u fosfatne skupine kojima su povezani nukleozidi. Lijek se primjenjuje u središnjem živčanom sustavu gdje utječe na ekspresiju gena *SMN2* te povećava sintezu proteina preživljavanja motoričkog neurona. Spinraza® proizvodi farmaceutska tvrtka Biogen iz SAD-a u čijem su osnivanju 1978. sudjelovala i dva dobitnika Nobelove nagrade.⁶ Spinraza® je 2017. proglašena najskupljim lijekom na svijetu budući da je cijena jedne injekcije iznosila gotovo 900 000 kuna, a terapije u prvoj godini primjene 5 milijuna kuna.⁷ Zbog ekstremno visoke cijene lijeka i liječenja još se uvijek vode rasprave o etičkim implikacijama poslovanja tvrtke Biogen. U studenome 2017. u Hrvatskoj je organiziran prosvjed roditelja malih pacijenata oboljelih od spinalne mišićne atrofije ispred Vlade RH da bi se apeliralo na nužnost državnog financiranja skupog liječenja.

PDB baza i znanje o virusima

Osim trenutno najpoznatijeg korona virusa SARS-COV-2 uzročnika pandemije iz 2020. godine, poznati su i virus gripe, HIV virus uzročnik SIDA-e te virusi uzročnici hepatitisa. Za ljudsko su zdravlje također opasni i uzročnici ospica, malih boginja, dječje paralize te vodenih kozica. Virus su paraziti jer im je za reprodukciju potreban domaćin. Razvoj cjepiva kao učinkovite metode borbe protiv zaraznih virusnih bolesti započeo je 1796. kad je engleski liječnik Edward Jenner otkrio da infekcija kravljim boginjama, koje ne izazivaju tešku bolest, štiti osobu od smrtonosnih malih boginja. Na tom su području istraživanja revolucionarni uspjeh postigli francuski kemičar, kasnije mikrobiolog Louis Pasteur, koji je istraživao cjepiva za domaće životinje. Njegov suradnik liječnik Emile Roux je razvio cjepivo protiv bolesti bjesnoće koje je 1885. uspješno primijenjeno na jednom devetogodišnjaku.⁸ Iako nas cjepivo, kad je dostupno, štiti od zaraze, znanstvenici također istražuju lijekove koji djeluju protiv opasnih virusa u našem tijelu. Primjerice, za virus HIV-a, uzročnika SIDA-e, ne postoji cjepivo, pa se u terapiji upotrebljavaju antivirusni lijekovi, molekule koje djeluju na proteine virusa odnosno RNK virusa, onemogućujući razvojni ciklus virusa (slika 6).

Prvu cjelovitu strukturu virusa otkrila je engleska kemičarka i kristalografkinja Rosalind Franklin 1958. na virusu mozaika duhana; nažalost, iste godine kad je trebala objaviti svoj epohalni rad umrla je od raka u 37. godini.⁹ Važnost znanstvenog rada R. Franklin vezan je i uz otkriće strukture DNK, odnosno njezine dvostruke uzvojnice. R. Franklin je 1953. g. objavila dva znanstvena rada o A strukturi DNK, što je uvelike pomoglo J. Watsonu i F. Cricku u njihovom radu na otkriću B strukture DNK, za koju su 1962. g. nagrađeni Nobelovom nagradom za fiziologiju ili medicinu.

U PDB bazi nalazi se velik broj struktura povezanih s virusima dječje paralize, ebole, virusa humane imunodeficijencije (HIV-1), hepatitisa, malih boginja, SARS-CoV-2 itd. Zanimljivo je da trenutno najveća struktura u PDB bazi sadrži rekordnih 2 440 800 atoma (atomi vodika nisu uračunati), a radi se o cjelovitoj kapsidi odnosno proteinskom omotaču virusa HIV-1 i u bazi je ta struktura navedena pod kodom 3J3Q.



Slika 6 – Trodimenzijska kristalna struktura liganda vezanog u veliki udor dijela RNK molekule HIV-1 virusa koji se naziva TAR (engl. *trans-activation response element*). Ligand blokira transkripciju virusne RNK u tijelu domaćina te djeluje protuvirusno. Struktura TARA zbog velike fleksibilnosti nije bila određena proteinskom kristalografijom nego metodom NMR.⁵

Fig. 6 – A three-dimensional crystal structure of a ligand bound in a large groove of a portion of the RNA molecule of the HIV-1 virus called TAR (trans-activation response element). The ligand blocks the transcription of viral RNA in the host body and has antiviral activity. Due to its great flexibility, the structure of TAR was not determined by protein crystallography but by the NMR method.⁵

Druge baze povezane s PDB bazom

PDB baza korisna je i zato što u svojem radu rabi sustav otvorenih baza podataka (engl. *open database system*), način rada pomoću kojega se na mrežnoj stranici prikazuju rezultati iz više baza podataka sa slobodnim pristupom. U najznačajnije baze povezane s PDB bazom ubrajamo PubMed, PubChem, BLAST i BindingDB bazu.¹⁰

PubMed baza sadrži informacije o znanstvenoj literaturi iz područja biomedicinskih znanosti i značajno doprinosi slobodom pristupu znanstvenoj literaturi, a od 1996. javno je dostupna putem Interneta. Nakon što u PDB bazi odaberemo identifikacijski kod određene strukture, baza nudi poveznicu na PubMed bazu gdje se nalaze podatci o znanstvenom radu u kojem je objavljena ta PDB struktura.

PubChem baza također je vrlo važna, jer sadrži podatke o ligandima koji se nalaze u kristalnim strukturama bioloških makromolekula. To mogu biti od prije poznati lijekovi ili eksperimentalni ligandi u razvoju. PubChem baza nudi kemijsko ime i strukturu molekule, dvodimezijsku i tro-dimezijsku strukturu, poveznice na sve strukture u PDB bazi u kojima se molekula pojavljuje, informacije o fizikalno-kemijskim svojstvima, biološkom djelovanju, komercijalnoj dostupnosti molekule kao i sličnim molekulama u PubChem bazi.

BLAST baza, engl. *Basic Local Alignment Search Tool*, znanstvenicima je važna jer se u njoj nalaze podatci o genomu različitih organizama (virusi, bakterije, kralježnjaci i dr.) kao i proteinske sekvence porijeklom iz tih organizama. Genom predstavlja cjeloviti genetički materijal organizma, dok proteinska sekvenca predstavlja primarnu strukturu polipeptidnog lanca. Dostupni podatci o genomima mogu se pretraživati, analizirati i, ono što je znanstvenicima najvažnije, uspoređivati (alignment). Na primjer, enzim acetilkolinesteraza vrlo je sličan između različitih vrsta životinja, ali je veća razlika u primarnoj strukturi enzima između ljudi i kukaca nego ljudi i drugih kralježnjaka. Poznavanje tih razlika omogućuje razvoj pesticida koji su djelotvorni prema kukcima, a pritom su manje štetni za ljude.

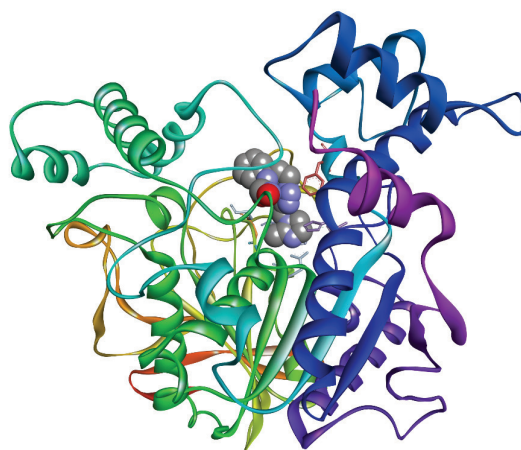
Baza BindingDB (engl. *binding* znači vezanje) sadrži podatke o ligandima čije su kristalne strukture u kompleksima s makromolekulama dostupne u PDB bazi. PDB baza u svojim rezultatima prikazuje i podatke iz baze BindingDB, u kojoj se nalaze popis znanstvenih radova i podatci o vezanju liganda na određenu makromolekulu, ali i podatci o vezanju na istu makromolekulu iz drugih izvora, npr. ljudi, kralježnjaka ili kukaca. Podatci o vezanju mogu se primjenjivati zajedno sa strukturnim podatcima u razvoju liganada koji će biti različito djelotvorni prema životinjama odnosno ljudima.

PDB baza poslužila je u stvaranju Proteopedije, mrežne enciklopedije o proteinima. Proteopediju njezini autori definiraju kao premoštenje jaza između razumijevanja tro-dimezijske strukture i funkcije bioloških makromolekula.¹¹ Proteopedija, uz podatke o strukturi proteina iz PDB baze, sadrži podatke o funkciji proteina, odnosno enzima i podatke o enzimskim supstratima ili inhibitorima. U Proteopediji se također nalaze informacije o razlikama u strukturi ili funkciji iste vrste proteina, ali iz drugih bioloških izvora, npr. ljudi, drugih kralježnjaka, kukaca, biljaka, bakterija i dr.

Hrvatski doprinos PDB bazi

Hrvatski su znanstvenici također uključeni u rad PDB baze te doprinose povećavanju fonda struktura i znanja baze. Hrvatski znanstvenici pohranili su oko 170 struktura kao rezultat istraživanja financiranih u Hrvatskoj primjenjujući metode kristalografije, NMR spektroskopije i najmodernije metode upotrebom elektronskog mikroskopa. Zapažen je doprinos Nenada Bana, koji je nakon Hrvatske karijeru nastavio u SAD-u te Švicarskoj, čija istraživanja su rezultirala sa 137 struktura u PDB bazi.

Acetilkolinesteraza ključni je enzim u prijenosu živčanih impulsa, a u medicinskoj biokemiji upotrebljava se kao indikator izloženosti pesticidima iz skupine organofosfor-nih spojeva.^{12,13} Znanstvenici iz zagrebačkog Instituta za medicinska istraživanja i medicinu rada dizajnirali su kiralne ligande s ciljem da djeluju kao reaktivatori na acetilkolinesterazu, i njoj srodnu butirilkolinesterazu, nakon ireverzibilne inhibicije s organofosfor-nim spojevima. Uz pomoć francuskih kolega određene su kristalne strukture kompleksa kiralno čistih liganada s butirilkolinesterazom čovjeka (slika 7) upotrebom rendgenske kristalografije na sinkrotronu u Grenoblu (slika 8) te su pohranjene u PDB bazi s kodovima 6T9P i 6T9S.¹⁴



Slika 7 – Tro-dimezijska kristalna struktura kompleksa ljudske butirilkolinesteraze i kiralnog liganda, PDB kôd 6T9P.¹⁴ Butirilkolinesteraza je prikazana shematski u obliku α uzvojnica i β ploča, dok je ligand prikazan u obliku van der Waalsovih radijusa atoma.

Fig. 7 – Three-dimensional crystal structure of the complex of human butyrylcholinesterase and chiral ligand, PDB code 6T9P.¹⁴ Butyrylcholinesterase is shown schematically in the form of α coils and β plates, while the ligand is shown in the form of van der Waals atomic radii.



Slika 8 – Europsko postrojenje za sinkrotronsko zračenje smješteno je u francuskom gradu Grenoblu na obalama rijeke Isère. Unutar sive kupole nalazi se posebno dizajniran nuklearni reaktor koji proizvodi elektrone te ih šalje u prsten, promjera oko 300 m, gdje ubrzivač elektrona ubrzava i pohranjuje visokoenergetske elektrone. Ti elektroni pretvaraju se u raznovrsne elektronske snopove (engl. *beamline*), čak njih 48, kojima se snimaju uzorci za znanstvene ili komercijalne svrhe. Sjaj rendgenskog zračenja sinkrotrona je 10 bilijuna puta (10^{13}) snažniji od medicinskog rendgenskog uređaja.¹⁵

Fig. 8 – The European synchrotron radiation facility is located in the French city of Grenoble on the banks of the Isère River. Inside the grey dome is a specially designed nuclear reactor that produces electrons and sends them into a ring, about 300 m in diameter, where the electron accelerator accelerates and stores high-energy electrons. These electrons are transformed into various electron beams (*beamline*), as many as 48 of them, which are used to record samples for scientific or commercial purposes. The radiance of X-rays of the synchrotron is 10 trillion times (10^{13}) stronger than the medical X-ray device.¹⁵

Zaključak

Teme obrađene u članku mogu biti naputak nastavnicima u dodatnoj prezentaciji sadržaja koji se obrađuju tijekom nastavnih cjelina iz predmeta kemije i biologije. Učenici osnovnih i srednjih škola mogu proširiti svoja znanja tijekom nastave koristeći se ranije spomenutim mrežnim sadržajima dostupnim putem interneta. Učionice su opremljene potrebnom multimedijalnom opremom kao što su LCD projektori i računala. Rad se može organizirati podjelom učenika u grupe ili, ako je moguće, i pojedinačno. Učenici će proširiti znanje o pojmovima kao što su primarna struktura bjelančevina odnosno proteina, sekundarna struktura, tercijarna i kvartarna struktura, struktura i sastav nukleinskih kiselina. Dok primarnu strukturu proteina čini slijed

aminokiselina povezanih u polipeptidni lanac, vrlo jasno može se vidjeti da se prostorno raspodjeljuju aminokiseline u formi sekundarne strukture koja se sastoji od α uzvojnica i β ploča.

Učenici usvajaju pojmove kao što su peptidna veza između aminokiselina i njezine karakteristike, upoznaju nekovalentne interakcije između prostorno bliskih aminokiselina, npr. π - π interakcije između aromatskih aminokiselina ili solni most između pozitivno i negativno nabijenih aminokiselina. Također mogu vidjeti kako se sparuju baze u DNK i koju ulogu imaju vodikove veze.

Učenici mogu prirediti seminare pojedinačno ili grupno gdje bi obradili neki protein ili enzim važan za funkciju ljudskog tijela, npr. hemoglobin u prijenosu kisika (PDB kôd 1Z8U), tripsin u probavi hrane (PDB kôd 1Y3V), acetilkolinesteraza u prijenosu živčanih impulsa (PDB kôd 2C4H) i dr. Za tu svrhu mrežna enciklopedija Proteopedia posebno je korisna jer su informacije o proteinima i enzimima sistematizirane i dodatno prilagođene korisnicima.

Literatura References

1. Crystallography: Protein Data Bank. *Nature New Biology* **233** (1971) 223, doi: <https://doi.org/10.1038/newbio233223b0>.
2. wwPDB consortium, *Nucleic Acids Res.* **47** (2019) D520–D528, doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gky949>.
3. URL: <https://pdb101.rcsb.org/learn/flyers-posters-and-calendars> (28. 4. 2022.).
4. S. K. *Burley*, Impact of structural biologists and the Protein Data Bank on small-molecule drug discovery and development, *J. Biol. Chem.* **296** (2021) 100559, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100559>.
5. URL: <https://pdb101.rcsb.org/browse/drug-action> (28. 4. 2022.).
6. URL: www.wikipedia.org/wiki/Biogen (30. 4. 2022.).
7. URL: www.wikipedia.org/wiki/Nusinersen (30. 4. 2022.).
8. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/Emile_Roux (23. 4. 2022.).
9. URL: www.wikipedia.org/wiki/Rosalind_Franklin (23. 4. 2022.).
10. URL: www.rcsb.org (20. 4. 2022.).
11. URL: <https://proteopedia.org> (24. 4. 2022.).
12. E. *Reiner*, G. *Šinko*, M. *Škrinjarić-Špoljar*, V. *Simeon-Rudolf*, Comparison of protocols for measuring activities of human blood cholinesterases by the Ellman method, *Arh. Hig. Rada Toksikol.* **51** (2000) 13–18, url: <https://hrcak.srce.hr/file/1664>.
13. T. *Čadež*, D. *Kolić*, G. *Šinko*, Z. *Kovarik*, Assessment of four organophosphorus pesticides as inhibitors of human acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase, *Sci. Reports* **11** (2021) 21486, doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00953-9>.
14. N. *Maraković*, A. *Knežević*, I. *Rončević*, X. *Brazzolotto*, Z. *Kovarik*, Enantioseparation, *in vitro* testing, and structural characterization of triple-binding reactivators of organophosphate-inhibited cholinesterases, *Biochem. J.* **477** (2020) 2771–2790, doi: <https://doi.org/10.1042/BCJ20200192>.
15. URL: www.esrf.fr/about/press-room/intro-esrf-journalists (20. 4. 2022.).

SUMMARY

The 50th Anniversary of the Founding of the Biological Macromolecules Structures Database

Goran Šinko

Databases are important because of the unified presentation of information according to a specific subject. Publicly available databases have additional value due to easier access to knowledge and information. The article describes the database of protein structures, *Protein Data Bank* – PDB, its establishment, humble beginnings, and the very important status it has today. Particular emphasis is placed on the part of the database dedicated to professors and students in order to access the data in the database more easily and use them in their work or education.

Keywords

Database, protein structure, nucleic acids, inhibitors, education

*Institute for Medical Research and
Occupational Health, Ksaverska c. 2, 10 000
Zagreb, Croatia*

Review
*Received May 13, 2022
Accepted July 18, 2022*