

2. Aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

chiralita, názvosloví a funkce



VÝVOJ ZEMĚ



<http://www.universetoday.com/26461/circumference-of-the-earth/>



- Vývoj hmoty je řízen zákony evoluce a proces vývoje biosyntézy na Zemi měl tyto etapy:
 - a) vznik a vývoj vesmíru
 - b) vznik a vývoj prvků
 - c) vývoj chemický (chemická evoluce – vznik organických molekul
 - d) vznik a vývoj organizovaného života (biologická revoluce)

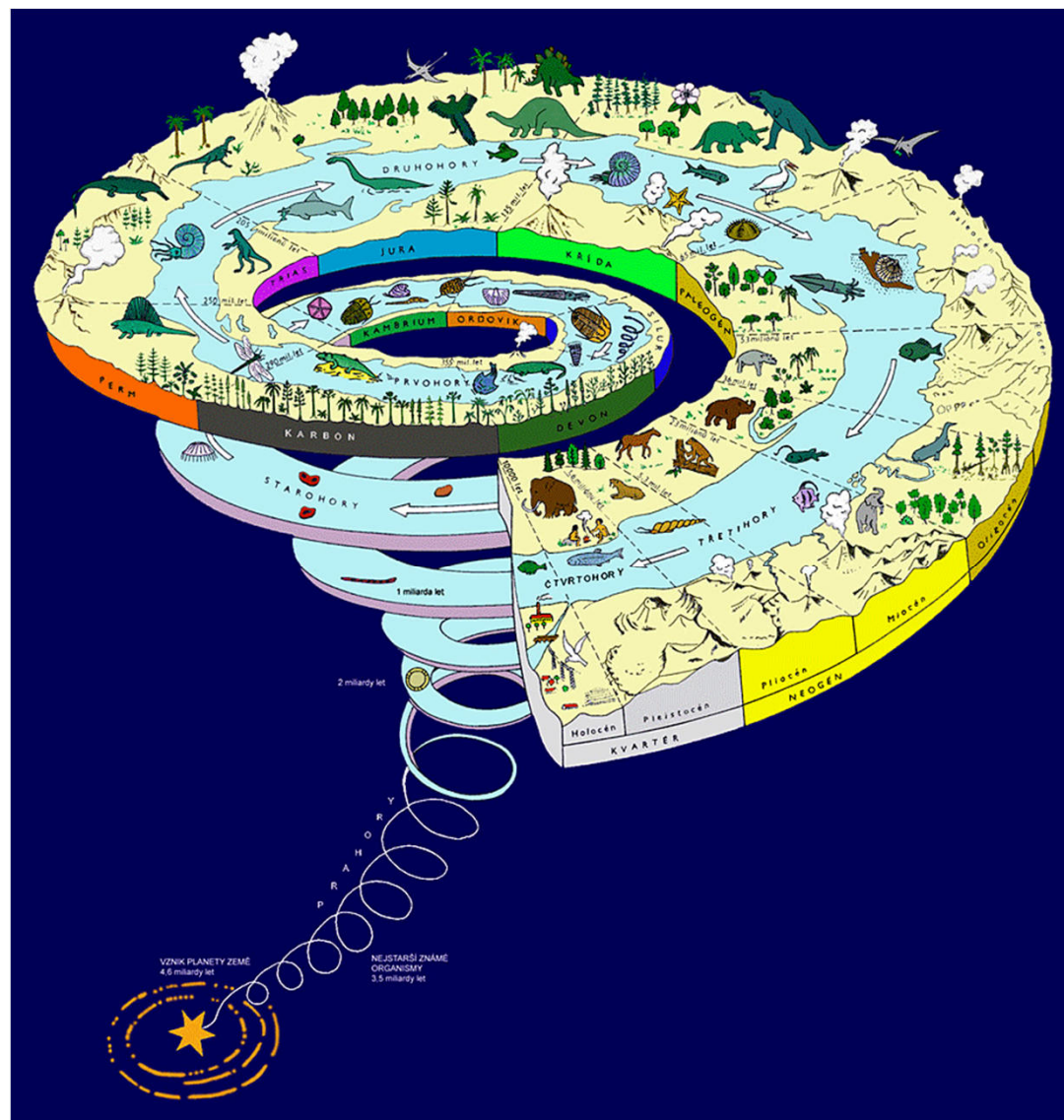


- Velký třesk (před 18 miliardami let) bylo 13 miliard let nejprve věnováno vzniku vodíku a helia
 - > vznik vesmírné mlhoviny
 - > gravitační koncentrací vznikaly prvky těžší
 - > vznik hvězd, planet a sluneční soustavy



Zdroj: <http://objekty.astro.cz/mlhoviny/2192-mlhoviny>

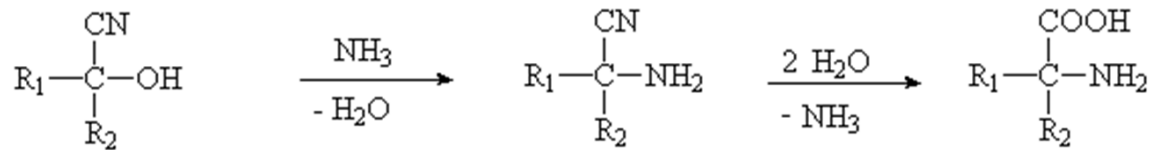




<http://soutez-2010.geology.cz/>



- **Streckerovou syntézou** objevenou mnohem později asi vznikla první aminokyselina



- Po vzniku octové kyseliny štěpením glycinu byla dána možnost rekombinací ve vodném prostředí
- Radiolýzou vody vznikají OH• a H• radikály, které jsou velmi reaktivní
- Dalšími reakcemi v roztocích při různých teplotách v blízkosti sopek, v horkých lagunách, nebo na rozpálených minerálech mohlo docházet k dalším rekombinacím za vzniku dalších aminokyselin



- Jejich roztok v praoceánu mohl vzájemně reagovat a koncentrace organických látek v **primitivní polévce** neboli **prapolévce** mohla činit až **10%**
- Vhodné prostředí + dostatek času -> vznik makromolekul - dokázaly pokusy Foxe a Harady
 - Zahříváním směsi aminokyselin s přebytkem kyseliny asparagové nebo glutamové a lysinu vzniká produkt o vyšší molekulové hmotnosti, rozpustný ve vodě, poskytující **biuretovu reakci** (důkaz peptidové vazby) vykazující dokonce mírnou katabolickou aktivitu
 - Ze směsi byly odděleny i frakce o molekulové hmotnosti větší než $5 \cdot 10^3$
 - Pro svoji podobnost s proteiny byly nazvány **protenoidy**



STRUKTURA AMINOKYSELIN

- Aminokyseliny jsou sloučeniny obsahující ve své molekule bazickou skupinu **-NH₂** a kyselou skupinu **-COOH**
- Mimo těchto hlavních skupin uspořádaných v různých polohách (α , β , γ , δ , ϵ) mohou aminokyseliny obsahovat:
 - další skupiny
 - alifatické řetězce
 - aromatické nebo heterocyklické kruhy
- Jsou-li všechny substituenty uhlíkového atomu nesoucí aminoskupinu různé, vzniká tzv. **chirální uhlík**, centrum, které je prostorově odlišné od svého zrcadlovitého obrazu
- Podle vztahu ke známé konfiguraci dvou stereoizomerů glycerinaldehydu zařazujeme takové sloučení do **L a D řady**



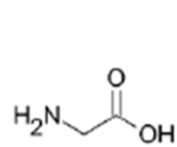
KÓDOVANÉ AMINOKYSELINY

- Biochemicky nejzajímavější jsou α -aminokyseliny a to **hlavně jejich L-formy**
- základními stavebními kameny velké většiny peptidů a bílkovin
- Dvacet kódovaných aminokyselin, ze kterých jsou zbudovány molekuly všech bílkovin naší planety
- Tato jednoduchá abeceda bílkovin je stará čtyři miliardy let a je příkladem jedinečné uniformity a maximální ekonomičnosti živé přírody
- Aminokyseliny zabudované do molekul bílkovin tvoří zhruba 90% všech aminokyselin organismu
- Další se objevují jako meziprodukty metabolismu, některé slouží jako stavební materiál pro syntézu různých dusíkatých sloučenin (např. purinových a pyrimidinových bází, hemu, aminoalkoholových složek polárních lipidů)

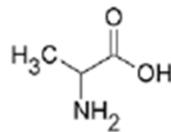


- Organismy získávají aminokyseliny buď vlastní výrobou, nebo z potravy
- Rostliny a řada mikroorganismů kryjí veškerou spotřebu aminokyselin samovýrobou, živočichové vyrábějí jen některé, ostatní musí přijímat potravou, hlavně ve formě bílkovin
- Těmto říkáme **esenciální** (nepostradatelné) a u člověka je to 8 aminokyselin: **Val, Leu, Ile, Thr, Met, Lys, Phe a Trp**
- Denní spotřeba je zhruba **1g každé, t.j.: 8g.**
- Nacházejí se v bílkovinách živočišného původu - plnohodnotných

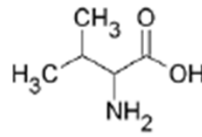




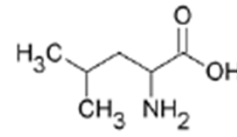
glycin (Gly, G)



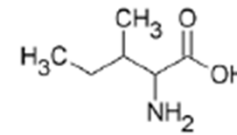
alanin (Ala, A)



valin (Val, V)

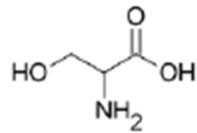


leucin (Leu, L)

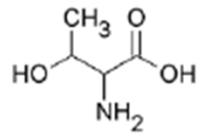


isoleucin (Ile, I)

- jednoduché (Gly, Ala, Val, Leu, Ile)

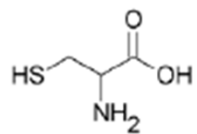


serin (Ser, S)

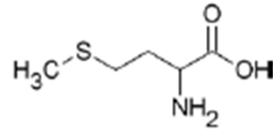


Threonin (Thr, T)

- s hydroxyem v postranním řetězci (Ser, Thr)

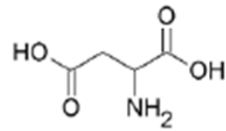


Cystein (Cys, C)

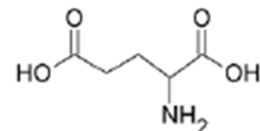


Methionin (Met, M)

- se sirnou skupinou v postranním řetězci (Cys, Met)

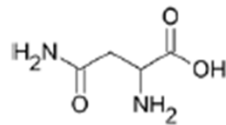


kyselina asparagová (Asp, D)

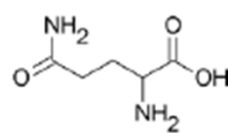


kyselina glutamová (Glu, E)

- se dvěma karboxyskupinami (Asp, Glu)



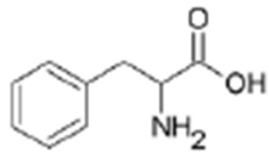
asparagin (Asn, N)



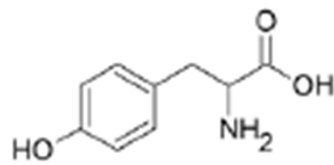
glutamin (Gln, Q)

- zásadité aminokyseliny (Lys, Arg)

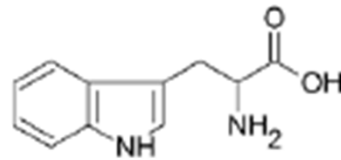




Fenylalanin (Phe, F)

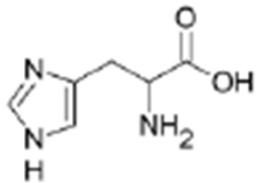


Tyrosin (Tyr, Y)

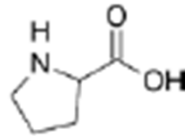


Tryptofan (Trp, W)

- aminokyseliny s aromatickým jádrem (Phe, Tyr, Trp)



Histidin (His, H)



Prolin (Pro, P)

- další (His, Pro)



NEKÓDOVANÉ AMINOKYSELINY

- Z biologických systémů bylo do současnosti izolováno několik set aminokyselin - α , ale i β , γ nebo δ -aminokyseliny
 - např. β -alanin je prekurzorem vitamínu pantothenové kyseliny, součástí dipeptidů anserinu a karnosinu, vyskytujících se ve svalech.
- Příkladem γ -aminokyseliny je inhibitor přenosu informací mezi nervovými buňkami **γ -aminobutyát**
- Různě substituované přírodní aminokyseliny jsou např.: **ornithin a citrulin**, meziproducty cyklického děje sloužícího k likvidaci toxického amoniaku u savců a mikrobiální aminokyselina penicilamin.
- Od **tyrosinu** se odvozuje několik důležitých přírodních látek ->
3,4-dihydroxyfenylalanin (L-DOPA)
dopamin, adrenalin (epinefrin) a noradrenalin (norepinefrin)
- U adrenalinu je velmi významná konfigurace asymetrického centra, biologicky účinný je jen D-(-)antipod, účinnost L-(+)-antipodu je 1500 krát nižší
- Od **tyrosinu odvozujeme** další skupinu hormonálních derivátů, hormony štítné žlázy **thyroxin a trijodthyronin**



VLASTNOSTI AMINOKYSELIN

- Studiem vztahů prostorové struktury a chemické stavby peptidů a bílkovin bylo zjištěno, že pro formální konformace bílkovin jsou důležitější fyzikální vlastnosti potranních řetězců aminokyselin než jejich chemická povaha

Jsou to:

- **velikost**
- **polarita**
- **acidobazický charakter**



Polarita aminokyselin

- dána postranním řetězcem a asi polovina kódovaných aminokyselin má zcela nepolární (hydrofóbní) řetězec: Ala, Val, Leu, Ile, Met, Pro, Phe, Trp - jsou ve vodě méně rozpustné a jejich postranní řetězce se uplatňují při hydrofobních interakcích
- Do druhé skupiny patří aminokyseliny, jejichž postranní nemá v neutrálním prostředí el. náboj a to: Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn, Gln
- Do třetí patří aminokyseliny s el. nábojem na postranním řetězci: Asp, Glu, His, Lys, Arg
- Glycin zůstává mimo toto rozdělení, protože nemá postranní řetězec



Acidobazické vlastnosti

- Výraznou vlastností aminokyselin je dipolární charakter jejich molekul -> v závislosti na prostředí se mohou chovat jako kyseliny, nebo jako báze
 - **amfolyty (amfoterní látky)**
 - Je-li volný (výsledný náboj) nulový, je amfolyt ve formě **amfiontu** (dipolárního iontu) a neputuje v elektrickém poli
 - Hodnota pH prostředí, v němž k tvorbě amfiontu dochází nazýváme **izoelektrický bod pI**
 - aritmetický průměr pK_1 a pK_2 - disociační konstanty (resp. jejich záporný dekadický logaritmus) vyjadřující tendenci skupiny odštěpovat proton

Př.: Naznačíme-li si titrační křivku glycinu, který titrujeme silným hydroxidem zjistíme, že disociace karboxylové skupiny má $pK_1 = 2,34$ a disociace amoniové skupiny má $pK_2 = 9,60$ - isoelektrický bod je tedy $5,97$ pH



- Všechny neutrální aminokyseliny (s jednou $-\text{COOH}$ a jednou $-\text{NH}_2$ skupinou budou tvořit amfion typu $\text{NH}_3\text{-CHR-COO-}$
 - isoelektrické body leží v rozmezí 4,8-6,3.
- Kyselé aminokyseliny **Asp, Glu** mají kladný náboj na NH_3^+ a záporný na $\alpha\text{-COOH}$
 - titrace kyselinou bude H^+ přijímat $\alpha\text{-COO}^-$
 - při titraci zásadou bude proton odevzdávat β , resp. $\gamma\text{-COOH}$.
 - Isoelektrický bod bude tedy vyjádřen průměrem obou $-\text{COOH}$ skupin a bude mít hodnoty 2,98 a 3,08. Asp 2,09 a 3,86
- Bazické aminokyseliny **His, Lys, Arg** budou mít záporný náboj na karboxylu a kladný náboj na silněji bazické skupině.
 - Tedy na $\alpha\text{-NH}_2$ u His, $\epsilon\text{-NH}_2$ u lysinu a na guanidylové skupině u argininu.
- Isoelektrické body His = 7,64; Lys = 9,47 a Arg = 10,76.



OPTICKÉ VLASTNOSTI AMINOKYSELIN

- Optické vlastnosti vykazují pouze tři aminokyseliny a to ve smyslu **adsorbce UV záření**
- Jedná se o **Trp, Phe, Tyr**, které absorbují při $\lambda = 260-300$ nm $\epsilon = 10^3 \text{l.mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$
- Této schopnosti aromatických kruhů (t.zv. chromoforů) se využívá při analytice jak individuálních tak i v peptidech a bílkovinách
- **Určování se provádí formou kalibrační křivky**
- Chirální stavba všech kódovaných aminokyselin je činí opticky aktivními ve smyslu stáčení roviny polarizovaného světla
- Přestože jsou všechny L-enantiomery 12 aminokyselin vykazují **dextrarotaci a ostatní levorotaci**
- Rotace aminokyselin je silně ovlivněna aciditou prostředí



BIOCHEMICKÉ VLASTNOSTI KÓDOVANÝCH AMINOKYSELIN

- **Glycin**
 - Nejjednodušší aminokyselinou
 - Nemá postranní řetězec -> zaujímá ze všech aminokyselin nejmenší prostor
 - Významnou složkou strukturních bílkovin – kolagenů
- **Alanin, valin, leucin a isoleucin**
 - nepolární aminokyseliny
 - hydrofobní charakter
 - stávají se centrem hydrofobních interakcí (např. transport steroidů v krevní plazmě)



- Polární aminokyseliny s –OH a –SH skupinou - **serin a cystein**
 - Umožňují hydrofilní interakce, vytvářením vodíkových vazeb a reagovat za vhodných podmínek jako nukleofil
 - Oblak elektronů v cysteinu je elastický a velmi dobře polarizovatelný
 - Účastní v enzymových reakcích
 - Thiolová skupina cysteinu je snadno oxidovatelná a umožňuje vytváření příčných disulfidových vazeb (vznik cystinu) např. v inzulinu
 - Peptidová vazba je labilní vůči hydrolýze a stabilní vůči oxidaci a redukci, disulfidová vazba je stálá vůči hydrolýze, ale štěpí se redukcí i oxidací (např. působením kys. peroxomravenčí)

- **METHIONIN**

- Obsahuje lehce polarizovatelný atom síry v inertním uhlíkovém řetězci -> nukleofilní atak tohoto atomu na adenosin trifosfát vede ke vzniku významného donoru methylových skupin:

S-adenosylmethioninu



- **Fenylalanin a tryptofan**
 - hydrofobní řetězce a spolu s nepolárními aminoskupinami vytvářejí hydrofobní centra uvnitř bílkovin.
 - **Aromatické aminokyseliny jsou donory π -elektronů**, vytvářejí patrové struktury a mají schopnost tvořit charge-transfer komplexy
- **Asparagová a glutamová kyselina**
 - záporné náboje v postranním řetězci
 - Za fyziologického pH - aspartát a glutamát
 - Ve volné formě se účastní přenosu aminoskupin
 - **Glutamát** působí excitačně na přenos informací mezi nervovými buňkami
 - Odpovídající aminy asparagin a glutamin jsou neutrální a nereaktivní, mohou ale vytvářet vodíkové vazby
 - prostřednictvím asparaginu jsou v glykoproteinech vázány sacharidové složky



- **Arginin**

- Má silně bazickou guanidylovou skupinu.
- Nejsilnější organická base - srovnatelná s basicitou NaOH

- **Lysin**

- basickou skupinu vázanou na flexibilním čtyřuhlíkatém řetězci

Obě aminokyseliny jsou při fyziologickém pH protonovány, nesou kladný náboj a vytvářejí vazebné místo pro záporně nabitě skupiny

- **Histidin**

- pK blízké fyziologickému pK (pK = 6)
 - > Může proto simultánně přijímat i poskytovat protony
 - > součást nábojové štafety (charge relay system)
- Může tvořit chelátové komplexy a těžkými kovy

- **Prolin**

- má fixovanou strukturu - umožňuje ohyb polypeptidového řetězce



CHEMICKÉ REAKCE AMINOKYSELIN

- Aminokyseliny mohou reagovat:
 - karboxylovou,
 - aminovou skupinou

Slouží k biochemickým transformacím peptidů nebo bílkovin po jejich syntéze v buňkách.

- tvorba amidů
- tvorba esterů
- tvorba smíšených anhydridů
- tvorba karbamátů
- tvorba acylamidů
- tvorba Schiffových bází



PŘÍPRAVA A VÝROBA AMINOKYSELIN

- Technické aminokyseliny -
 - **Převážně biosyntesou za použití mikroorganismů**
 - Chemickou syntesou
 - Použitím enzymových metod nebo jejich kombinacemiZpracování bílkovin – velmi málo.
- Celosvětová produkce technických aminokyselin - asi 0,5 mil tun (50% je vyráběno v Japonsku)
- Biotechnologie kryjí 2/3 produkce (glutamát, lysin, aspartát, tryptofan, fenylalanin)
- Chemická syntéza asi 1/3 (methionin, glycin, lysin, fenylalanin)
- Asi 66% vyrobených aminokyselin se používá jako ochucovadla v potravinářském průmyslu
- 33% je používáno pro přísady do krmiv



- Čisté aminokyseliny se používají v lékařství a farmaceutice
 - Glutamová kys. se používá při léčbě centrálního nervového systému (schizofrenie, epilepsie, psychozy)
 - Tryptofan – antidepressivní účinky - součástí léků proti alkoholismu a nespavosti
 - Adjuvans (zvyšují účinek) kancerostatik
- **Tyrosin, histidin a prolin** - vyráběny výhradně z proteinových hydrolyzátů
- **Kys. glutamová** je vyráběna ze surového cukru, nebo ze škrobových hydrolyzátů mikroorganismy *Brevibacterium*, *Corynebacterium* nebo *Micrococcus*
 - Koncentrace kys. glutamové v biomediu - až 100g/l.



- **Serin** je vyráběn fermentačně z glycinu (*Pseudomonas*, *Corynebacterium glycinophilum* a *Nocardia*)
- **Kyselina asparagová** - z kyseliny fumarové a amoniaku enzymovou syntézou pomocí L-aspatázy, působením enzymu L-aspartát- β -dekarboxylázy se z ní vyrábí α -alanin
- **Syntéza lysinu**
 - chemická syntéza a využití specifické L-hydrolasy
- **D,L-valin.**
 - Streckerovou syntézou - isopropyl-hydantoin, který je specificky štěpen jaterní dihydropyrimidinásou nebo mikrobiální hydantoinázou
- **D,L-cystein**
 - čistě chemickými postupy z chloracetaldehydu a acetonu, amoniaku a natriumhydrogensulfidu.
- **D,L-Tryptofan** z akroleinu, malonátu a fenylylhydrazinu
- **Indol**
 - Fischerova synthesisa
- **D,L-Methionin**
 - Z akroleinu a methylmerkaptanu



CHEMICKÉ SYNTÉZY α -AMINOKYSELIN

- 1) **Reakce α -halogenkyselin s přebytkem amoniaku** - aby se zabránilo vzniku vedlejších produktů α -halogenkyselin reakcí se vzniklou aminokyselinou
- 2) **Gabrielova reakce**
- 3) **Streusenova metoda** (Ftalimid – malonátová synt.)
- 4) **Galatova syntéza** – vychází z malonanu ethylnatého, který se převede na isonitrosomalonan ethylnatý a ten se redukcí zinkovým prachem v roztoku acetanhydridu přemění na acetamidomalonan ethylnatý



- Z acetamidomalonanu ethylnatého se připraví reakcí s ethylátem sodným sodná sůl – natriumacetamidomalonan ethylnatý, který se alkyluje alkylhalogenidem, nebo esterem halogenkyseliny - závěrem se provede zmýdelnění a dekarboxylace

5) Azidová metoda

- Vychází z diethylmalonátu nebo diethylalkylmalonátu, který se převede na ester – sůl - meziproduct poskytne reakcí s hydrazinem sůl-hydrazid malonové resp. alkylmalonové kyseliny
- Závěrem se provede Schmidtovo odbourání hydrazidu přes azid a vzniká hydrochlorid ethylesteru α -aminokyselin

6) Streckerova metoda (z roku 1830)

- Vychází z aldehydů nebo ketonů, které se převedou na nitril α -aminokyseliny a ten se hydrolyzuje na α -aminokyselinu
- Potřebné α -aminokyseliny se vyrábějí z kyanhydrinů alkoholickým amoniakem, nebo z aldehydů a kyanidu amonného
- Zvýšení výtěžků této metody bylo dosaženo modifikací, která spočívá v reakci nitrilu α -aminokyseliny s uhličitanem amonným
- Připravený alkyl hydantoin poskytne po hydrolýze aminokyselinu



Příprava aminokyselin z glycinu.

7) Azlaktonová syntéza (Erlenmayerova reakce)

8) Rhodamidová syntéza (Gränacherova syntéza)

- Nejprve se připraví účinkem dithiokarbamidanu amonného na chloroctan sodný t.zv. rhodamin



PEPTIDY

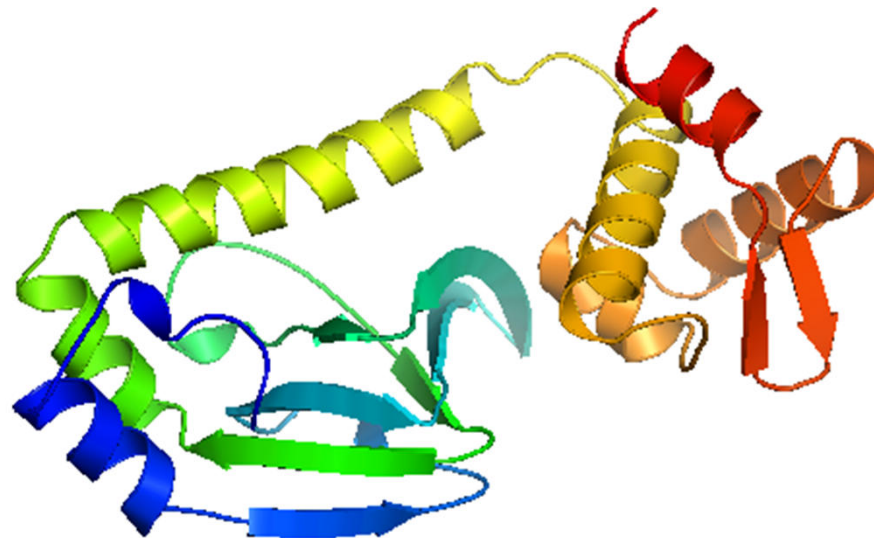
Struktura peptidové vazby

- Základním stavebním prvkem polypeptidových řetězců
- 1951 formuloval L. Pauling jako rezonanční hybrid dvou mezních forem uplatňujících se přibližně rovnocenným způsobem - řád vazeb O-C a C=N je zhruba 1,5
- Atomy vodíku a kyslíku leží v energeticky výhodné trans konfiguraci



TYPY SEKUNDÁRNÍCH STRUKTUR

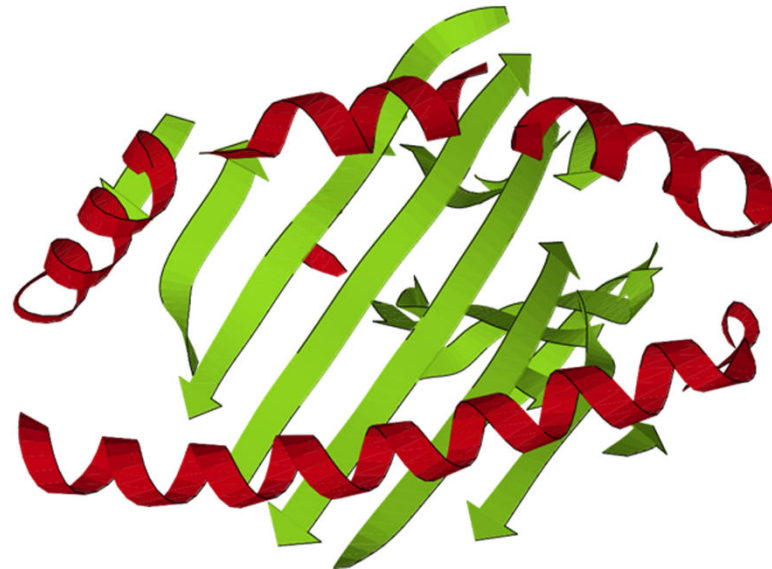
- a) Pravidelné (periodicky uspořádané)
- b) Ohybové
- c) Neuspořádané



<http://www.bb100.com/>



- Nejčastěji pravidelnou sekundární strukturou je **α -šroubovice** (α –helix), u které je jeden závit tvořen 3,6 aminokyselinovými zbytky
- Všechny skupiny CO a NH peptidových vazeb jsou v této šroubovici orientovány zhruba rovnoběžně s její dlouhou osou a každá NH skupina je vázána vodíkovou vazbou mezi kyslíkem první a vodíkem NH skupiny čtvrté aminokyseliny helixu



Zdroj: <http://www.iayork.com/MysteryRays/2007/07/05/peptide-loading/>



Peptidy

- anhydropolymery aminokyselin s různým počtem aminokyselin a s různým strukturním uspořádáním
- Dělíme je na :
 - **oligopeptidy (do 10 aminokyselinových zbytků)**
 - **polypeptidy (11-100)aminokyselinových zbytků)**
- Názvy peptidů tvoříme podle obecného pravidla jako aminoacylamínokyseliny tak, že vycházíme od aminokyseliny s volnou NH_3^+ skupinou a končíme aminokyselinou s volnou $\alpha\text{-COO}^-$ skupinou.
- **Na př. alanyl-glycyl-glutamyl-asparaginyln-serin je možno zapsat i jako H-Ala-Gly-Glu-Asn-Ser-OH nebo pouze AGENS.**
- Tuto zásadu je nutno striktně dodržovat a to i u cyklických peptidů, kde můžeme začít od kterékoliv aminokyseliny, směr postupu je vždy od N konce k C konci



- Peptidy jsou ve vodě rozpustné látky, jejichž chemické vlastnosti závisí na jejich aminokyselinovém složení
- Obecnou reakcí peptidové vazby, která slouží k analytickému stanovení peptidů a bílkovin je tvorba barevného komplexu s měďnatými ionty v alkalickém prostředí ($\lambda_{\max}=540$ nm)
- Podle biuretu ($\text{NH}_2\text{CONHCONH}_2$), který dává podobné zbarvení se tato

reakce označuje jako BIURETOVÁ

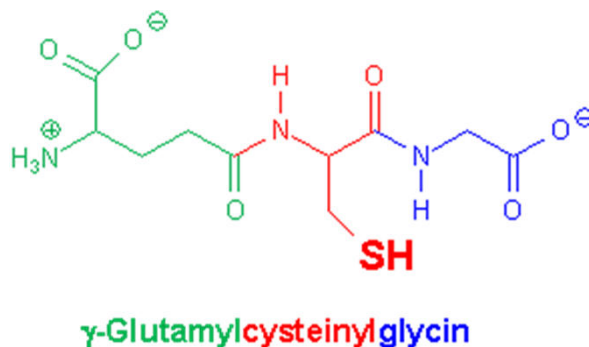
- Je specifitější a obecnější než ostatní analytické reakce peptidů a bílkovin, je však málo citlivá
- Z hlediska biologické funkce tvoří peptidy velmi nesourodou skupinu
- Uměle stanovená hranice mezi peptidy a bílkoviny způsobuje, že řada chemických a biologických funkcí látek obou těchto skupin je shodná a lze je dobře vysvětlit na příkladu peptidů



ROZDĚLENÍ PEPTIDŮ PODLE BIOLOGICKÉ FUNKCE

OXIDOREDUKČNÍ PUFŘ

- Z přírodních peptidů má všeobecný význam tripeptid **glutathion** obsahující glycin, cystin a kyselinu glutamovou vázanou anomálně svým H-karboxylem
- obsažen ve většině buněk v poměrně vysoké koncentraci (až $5 \cdot 10^{-3}$ mol/l) a působí jako oxidoredukční systém a nukleofilní činidlo
- Akceptorem elektronů jsou především jiné disulfidy, které náhodně vznikly působením molekulárního kyslíku na bílkoviny obsahující cystein
- Odstraňování těchto vazeb udržuje glutathion určitý redoxpotenciál v buňkách, působí tedy jako oxidoredukční pufr a tím umožňuje život v aerobním prostředí



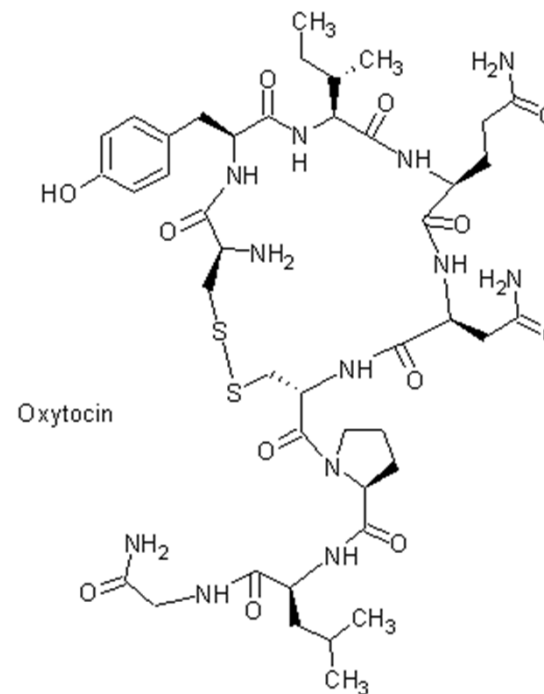
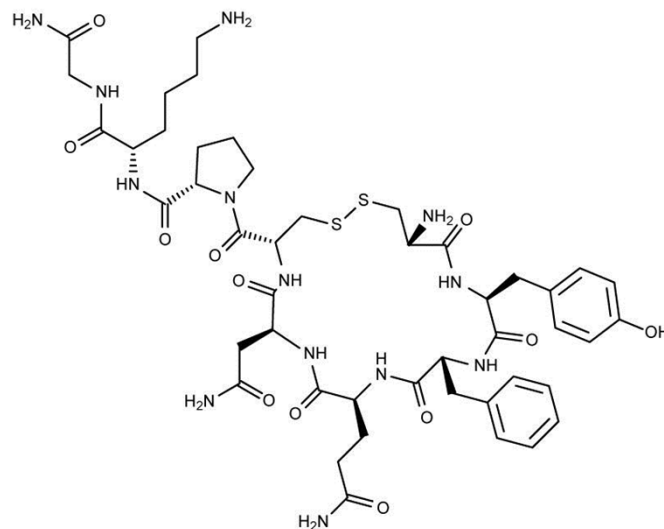
Glutathion

PEPTIDY S HORMONÁLNÍM PŮSOBENÍM

• oxytocin a vasopresin

- produkovány hypofýzou, oxytocin způsobuje kontrakce hladkého svalstva, druhý zvyšuje krevní tlak působením na artérie a zvýšením resorpce vody v ledvinách

Vasopresin



<http://chemistry.about.com/od/factsstructures/ig/Chemical-Structures---V/Vasopressin.-egm.htm>

Zde je vidět jak poměrně malá změna struktury, záměna pouze dvou aminokyselin vede k diametrálně odlišnému fyziologickému působení



REGULÁTORY METABOLISMU

- Langerhansovy ostrůvky pankreatu vylučují dva peptidové hormony – **glukagon a inzulin**, které antagonisticky regulují využití glukosy v organismu
- Celý peptid syntetizovaný v buňkách t.zv. **proinzulin**, který je neúčinný a teprve při průchodu tohoto prohormonu buněčnou membránou se na povrchu buňky specificky odštěpí inaktivující část
- Tento princip aktivace specifickým hydrolytickým odštěpením určité části peptidového řetězce je jedním z obecných regulačních principů funkce peptidů a bílkovin



Proinzulin



Peptidovou strukturu má i řada antibiotik

produkovaných mikroorganismy a selektivně toxickým vůči jiným mikroorganismům

- Tyto peptidy obsahují často **nekódované aminokyseliny** jako ornithin (Orn), N-methyl-valin (L-(N-methyl)Val), N-methylglycin, nepřírozené D-aminokyseliny a hydroxykyseliny na př. L-laktát (L-Lac) a D-hydroxyisovalerát (D-HIV). Peniciliny mají základní cyklickou strukturu vytvořenou z dipeptidu D-Val-Cys
- Gramicidiny A,B,C jsou lineární pentadekapeptidy s modifikovanými N- a C-konci, ve kterých se střídají L- a D- enantiomery kódovaných aminokyselin



Peptidové neuromodulátory

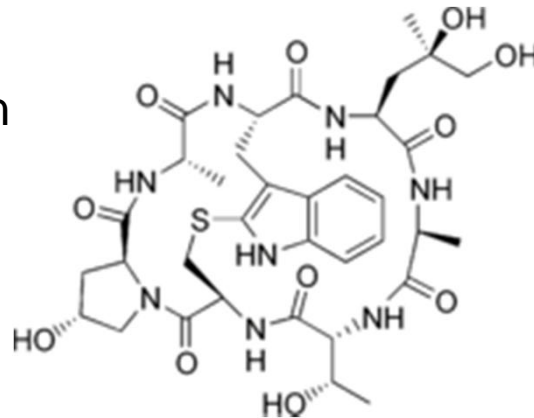
- objeveny v roce 1975 a 1976 a nazvány **enkefaliny a endorfiny**
- Působí zřejmě na receptory opiátů a tlumí bolest a emoce spolu s vyvoláváním příjemných stavů až halucinací (obdoba morfinu)



Peptidové toxiny

- patří k obranným látkám zvířat (zootoxiny) a rostlin (fytotoxiny)
- Prozkoumané jsou neurotoxiny hadů a štírů tvořené vesměs lineárními polypeptidy obsahující 60-80 AK, které jsou hustě prokřížené disulfidovými můstky
- Nejznámější fyto toxiny jsou cyklické peptidy muchomůrky zelené – falloidiny a amanitiny
- Strukturně jsou podobné peptidovým antibiotikům a obsahují nekódované aminokyseliny a nepeptidové vazby

falloidin



Peptidový charakter mají i **alkaloidy z námele**
a t.zv. **protaminy**, které nahrazují histony
v nukleozomech ryb

Námel



Zdroj: http://www3.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul_key=57&idkapitola=109



BÍLKOVINY

- Vysokomolekulární látky o relativní molekulové hmotnosti vyšší než 10 000
 - Tvořené více než 100 aminokyselinami – až několik tisíc
 - Mnohé bílkoviny obsahují i neaminokyselinové struktury nazývané „**prostheticke skupiny**“ - **sacharidy, lipidy, pigmenty, cheláto-vázané kovové ionty, nukleové kyseliny atd.**
 - Tyto bílkoviny jsou složené (konjugované)
- X
- bílkoviny složené pouze z aminokyselin jsou jednoduché



PŘEHLED NEJBĚŽNĚJŠÍCH TŘÍD SLOŽENÝCH BÍLKOVIN

Třída	Prostetická skupina	Charakteristika	Příklady
a) fosfoproteiny	fosforylová, $-PO_3^{2-}$	esterově vázaná na Ser, Thr; tvoří též příčné vazby	kasein (mléko) vitelin (žloutek)
b) nukleoproteiny	nukleové kyseliny, nukleotidy	elektrostatická vazba na silně bazické bílkoviny (histony, protaminy)	ribosomy chromatin (chromosomy)
c) lipoproteiny	lipidy (triacylglyceroly, fosfolipidy, cholesterol)	nekovalentní spojení; škála od "roztoku" tuku v bílkovině po "roztok" bílkoviny v lipidu	lipoproteiny sérové, membránové a lipoproteiny nervové tkáně
d) glykoproteiny	sacharidy 1 nebo více různých dlouhých řetězců z různých monosacharidů a jejich derivátů	esterově na Ser nebo amidově na Asn; cukerná složka zajišťuje rozpustnost nepolárních bílkovin a má rozpoznávací funkce; velmi rozšířené	imunoglobuliny (protilátky), α -ovomukoid (bílek), substance krevních skupin, součásti chrupavek



e) chromoproteiny	barevná hem deriváty riboflavinu modifikované polymery Tyr a derivátů	<u>hemoproteiny</u> flavoproteiny <u>melanoproteiny</u>	hemoglobin (přenos O_2) cytochromy katalasa } (enzymy) <u>xanthinoxidáza</u> <u>sukcinátdehydrogenáza</u> pigmenty kůže, vlasů
f) <u>metalloproteiny</u>	součástí funkční molekuly jsou ionty kovů	transportéry a <u>skladovače iontů kovů</u> , enzymy; mnohé jsou současně chromoproteiny	hemoglobin Fe^{2+} (Fe^{3+}) <u>transferrin</u> Fe^{2+} (Fe^{3+}) <u>ferritin</u> Fe^{2+} (Fe^{3+}) <u>alkoholdehydrogenasa</u> (Zn^{2+}) <u>ceruloplazmin</u> (Cu^{2+}) <u>cytochromoxidáza</u> (Cu^{2+} , Fe^{2+}) <u>xanthinoxidáza</u> (Mo, Fe)



Podle biologické funkce:

1) **Konstrukční a podpůrná funkce**

KOLAGENY – tropokolagen

ELASTIN – tropoelastin, desmosin

KERATINY – α -ketariny, protofibrila, mikrofibrila, makrofibrila, vlákna

2) **Transportní a skladovací funkce**

- HEMOGLOBIN, MYOGLOBIN – saturační křivka, srovnání vlastností, heterotropní allosterický efekt, transport kyslíku
- OVALBUMIN ve vejcích, KASEIN v mléce, LEGUMIN v luštěninách
- Skladují aminokyseliny
- Skladují i jiné látky na př. FERRITIN skladuje ionty železa ve slezině

3) **Kontraktilní a pohybová funkce**

- Bílkoviny svalových vláken a jejich funkce
- MYOSIN, AKTIN, TROPOMYOSIN, TROPONINOVÝ KOMPLEX



4) Imunitní funkce

- Humorální imunitní odpověď, imunoglobuliny – 5 tříd G, A, M, D, E. Imunoprecipitace. B-LYMFOCYTY

5) Ochranná funkce

- Hemokoagulační systém – složení krve. FIBRINOGEN, TROMBIN, FIBRIN, TKÁŇOVÝ FAKTOR – TROMBOPLASTIN

6) Přenos a uchování biologické funkce

7) Signální funkce – HORMONY, NEUROMODULÁTORY, IMUNOGLOBULINY

8) Příjmová funkce – RECEPTORY



Rozdělení bílkovin podle funkční lokalizace:

- **Bílkoviny základního metabolismu:**
 - mají přímý význam pro existenci buňky a jsou to: **enzymy a neenzymové bílkoviny** (strukturní bílkoviny cytoskeletonu, chromatin, biomembrány a genetické faktory).
- **Bílkoviny specializovaných buňek:**
 - mají význam pro celý organismus a zajišťují jeho životně důležité funkce: **enzymy sekundárního metabolismu a fotosyntézy, morfogenní enzymy, exoenzymy, zymogeny, trávicí enzymy**
- Neenzymové bílkoviny vykonávající specializované funkce: **(hemoglobin, svalové bílkoviny, skladovací bílkoviny, antigeny povrchu buněk, exobílkoviny)**



MYOSIN – má tři biologické funkce:

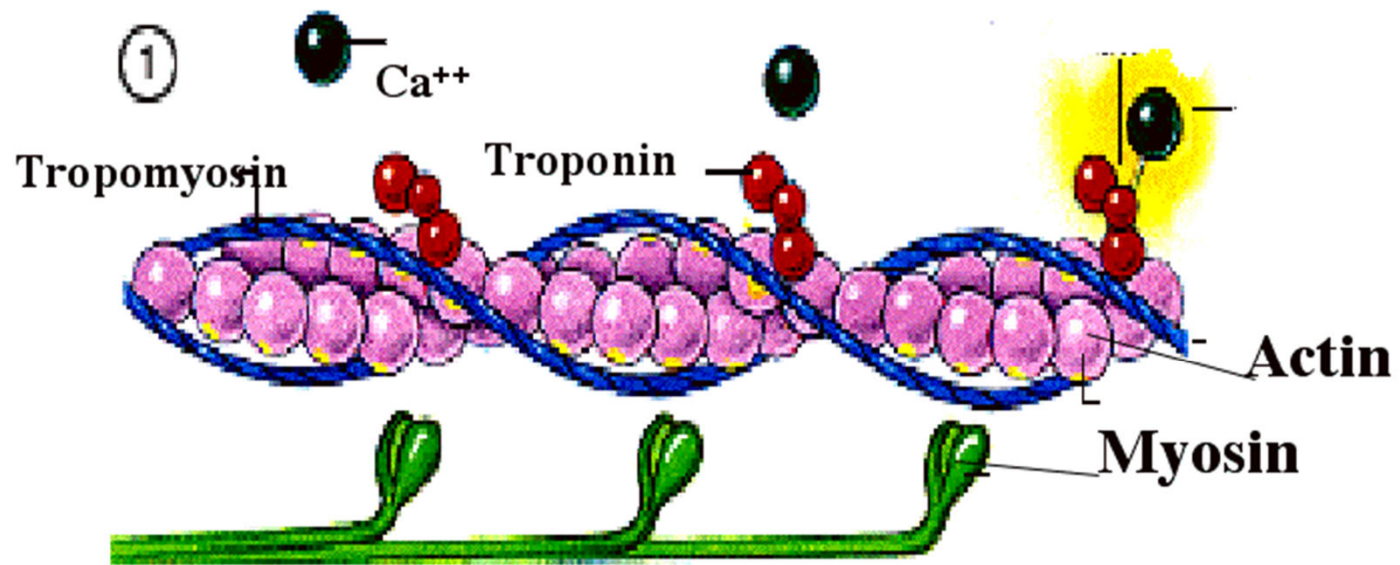
- předně zastává úlohu strukturního prvku, protože v roztoku agreguje za vzniku vláken
 - Za druhé je enzymem s aktivitou (ATPasovou), která umožňuje štěpení adenosintrifosfátu (ATP), energií bohaté sloučeniny, uvolňovat energii potřebnou ke kontrakci svalů
 - Váže polymerní formu další svalové bílkoviny – aktinu.
-
- Má relativní molekulovou hmotnost téměř 500 000 a základ molekuly tvoří fibriální část (o rozměrech 160x2 nm), tvořená dvěma identickými polypeptidovými řetězci (po $M_r = 200\ 000$) sformovanými převážně do α -helikální konformace



AKTIN

- je nejrozšířenější živočišná intracelulární bílkovina účastnící se kromě kontrakce svalů řady dalších dějů, jako vylučování hormonů, dělení buněk a srážení krve
 - Svalový aktin je **jednořetězcová globulární** bílkovina s ne více než 30% α -helicity; obsahuje 375 aminokyselinových zbytků a má relativní molekulovou hmotnost 43 500
 - Dalšími součástmi svalových vláken jsou bílkoviny s regulačními funkcemi
 - Jejich hlavní podíl tvoří **tropomyosin**
 - **Tropomyosiny**
 - patří mezi nejmenší fibrilární bílkoviny
- SVALOVÝ TROPOMYOSIN** má relativní hmotnost asi 70 000 a délku molekuly asi 41 nm
- Má podobnou stavbu jako fibrilární část myosinu: sestává ze dvou (nestejných) řetězců, prakticky zcela svinutých do α -šroubovice - vzájemně obtočeny do superhelixu
- Další regulační bílkovinou je **TROPONINOVÝ KOMPLEX**, sestává ze tří různých polypeptidových řetězců.



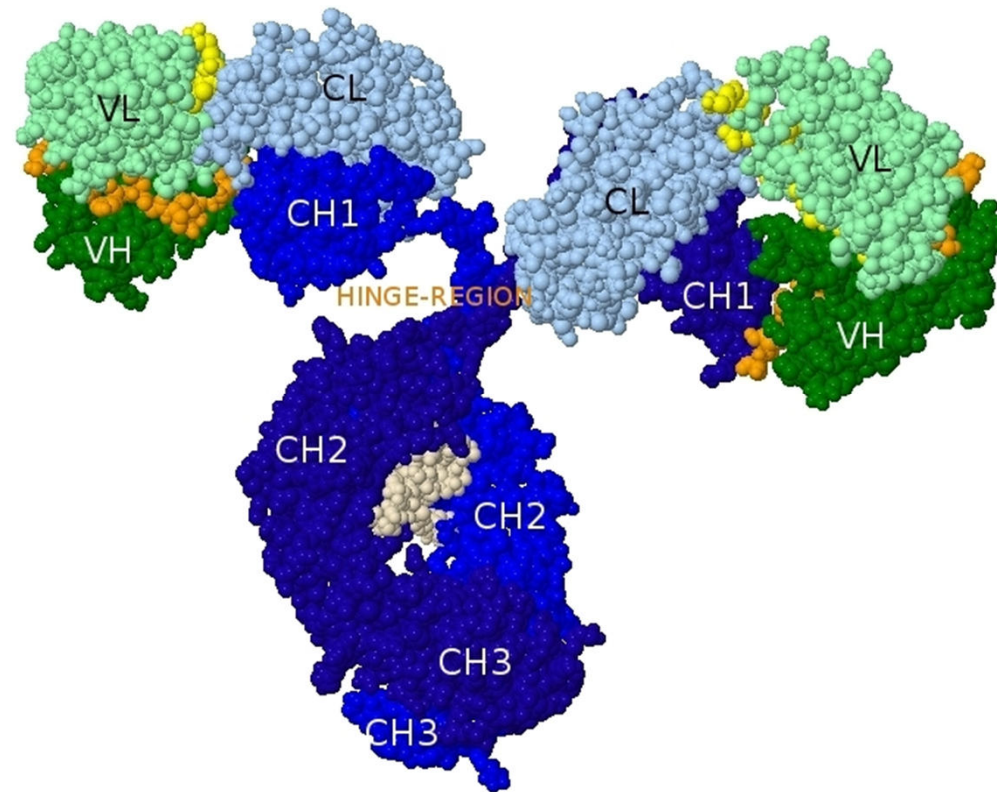


IMUNITNÍ SYSTÉM

- Imunitní systém vyšších organismů je vysoce specifický obranný systém, který rozpoznává, eliminuje a zapamatovává si cizí makromolekuly a buňky
- Obratlovci jsou schopni chránit se před účinky cizích biologických struktur
- Umožňují jim to předně nespecificky působící obranné mechanismy (povrch těla, činnosti sliznic, fagocytosa apod.)
- Mají však též více nebo méně vyvinutou schopnost rozpoznat cizí makromolekulové struktury od vlastních a eliminovat je
- Tyto specifické obranné mechanismy označujeme jako **imunitní reakce**
 - Jsou vyprovokovány stykem s cizorodou strukturou a jsou individuálně namířeny jen proti této struktuře



IgG



<http://www.imgt.org/>



- Humorální imunitní odpověď (humorální imunita) působí hlavně proti extracelulární fázi bakteriální a virové infekce a proti rozpustným antigenům a je charakterizována produkcí sérových imunoglobulinů nazývaných protilátky
- U humorální imunity plní úlohu vazby na antigen bílkoviny rozpuštěné v krevním séru
- Humorální imunitu zajišťují **T-lymfocyty**, odvozené z kostní dřeně
- Protilátky (**imunoglobuliny, Ig**) jsou glykoproteiny krevního séra o relativní molekulové hmotnosti 150 000–950 000
- Molekuly všech druhů protilátek mají podobnou strukturu:
 - tvoreny dvěma typy různě dlouhých řetězců
 - těžkých H (relativní molekulová hmotnost asi 50 000)
 - lehkých L (asi 250 000)

Spojují se párově čtyřmi meziřetězcovými disulfidovými vazbami do flexibilní molekuly H_2L_2 tvaru písmene Y a obsahují dvě centra pro rozpoznání a vazbu antigenu



- Molekula imunoglobulinu je sformována do řady strukturních domén (po 4 v každém řetězci H a po 2 v každém řetězci L, zahrnujících asi po 110 zbytcích s homologním pořadím)
- Základní strukturní motiv těchto domén sestává ze dvou pásů, tvořených antiparalelně uspořádanými β -hřebeney
- Imunoglobuliny jsou tedy příkladem bílkovin, v jejichž konformaci je **dominantním stavebním prvkem β -struktura**
- V lidském krevním séru existuje 5 hlavních tříd imunoglobulinů (které se dále dělí), lišících se složením, velikostí a zastoupením; jsou označovány **IgG, IgA, IgM, IgD a IgE**



IgG



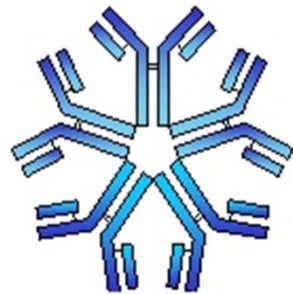
IgE



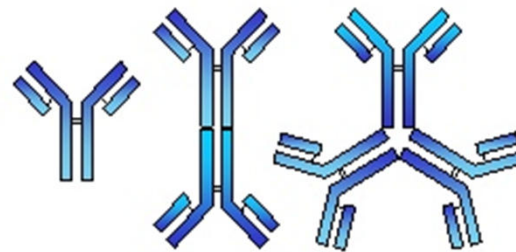
IgD



IgM



IgA



<http://www.beltina.org/health-dictionary>



SRÁŽENÍ KRVE

- Podstatou srážení krve je **přeměna fibrinogenu**
- Rozpustné bílkoviny krevního plasmy, na nerozpustný fibrin
- Tento proces probíhá při poranění organismu, který vyvolá kaskádovitou aktivaci řady faktorů bílkovinné povahy
- Fibrinová sraženina se tvoří z fibrinogenu sérií procesů, kterých se účastní více než **10 různých bílkovin krevní plazmy, vitamin K a ionty Ca^{2+}**

Molekula fibrinogenu se jeví v elektronovém mikroskopu jako tři uzly spojené dvěma pruty

- Má relativní molekulovou hmotnost 340 000 a je dlouhá 340 nm
- Sestává ze šesti řetězců: jsou to páry řetězců tří druhů, označovaných A α , B β a γ



- Nejlépe prostudovanou fází procesu srážení krve je **konverze fibrinogenu na tzv. fibrinmonomer** proteolytickým účinkem enzymu trombinu
 - Ten štěpí v molekule fibrinogenu čtyři peptidové vazby mezi zbytky argininu a glycinu za uvolnění čtyř peptidů:
 - dvou peptidů A, zahrnujících 18 aminokyselinových zbytků z každé ze dvou řetězců A α ,
 - dvou peptidů B, tvořených 20 zbytky z každé ze dvou řetězců B β .
- Tyto peptidové fragmenty se nazývají fibrinopeptidy a zbylá molekula fibrinmonomer. - méně rozpustný než fibrinogen a spontánně agreguje na fibrin, tvořící dlouhá rozpustná vlákna

Thrombin - serinová proteáza podobná trypsinu

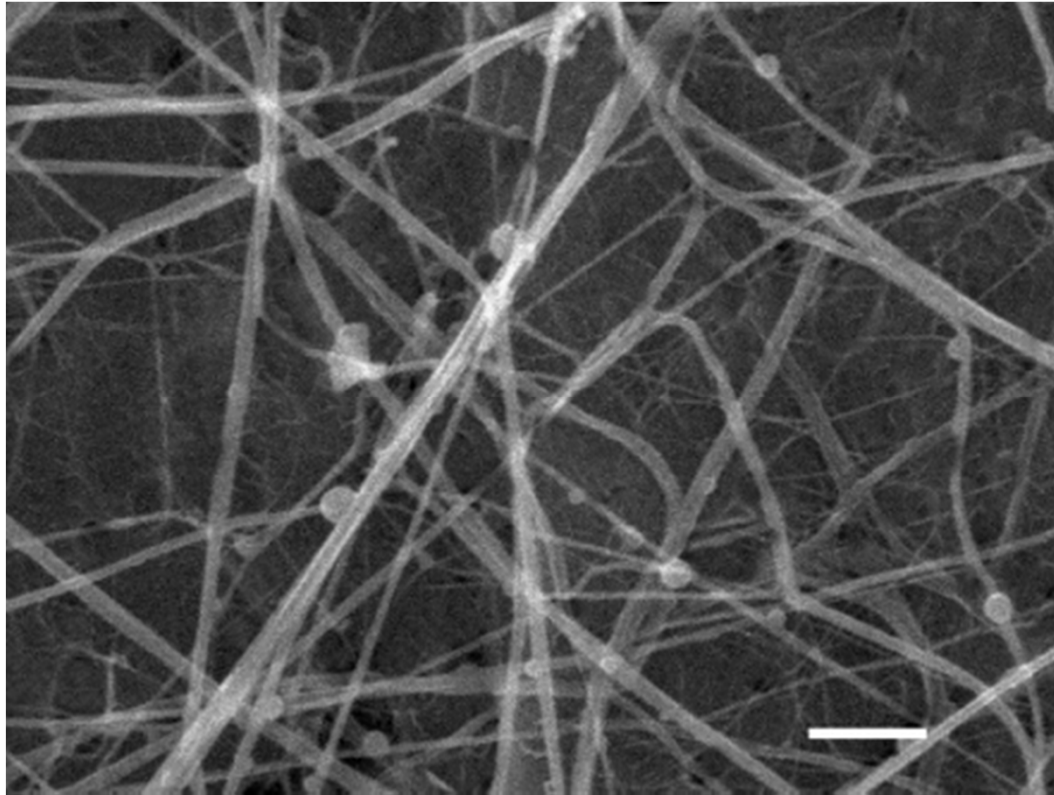
- Její molekula má relativní molekulovou hmotnost 33 700 a sestává ze dvou polypeptidových řetězců
- Vzniká z nereaktivního jednořetězcového prekurzoru (zymogenu) zvaného prothrombin (rel. molekulová hmotnost 66 000) přerušením dvou peptidových vazeb



- Všechny potřebné faktory k vyvolání procesu tvorby fibrinové sraženiny jsou přítomny v krevní plasmě jsou označovány jako tzv. **vnitřní systém**
- Svou funkci zahajuje stykem krevních destiček se zevním prostředím (nepřirozeným povrchem) v místě poranění
- Proces krevního srážení však vyvolává i tzv. **vnější systém**
- Vnější cesta aktivace je relativně jednodušší
- Poranění krevní cévy uvolní lipoprotein, zvaný tkáňový faktor nebo tromboplastin



Fibrin



<http://www.scielo.cl/>



KONSTRUKČNÍ A PODPŮRNÁ FUNKCE BÍLKOVIN

- Stavebním materiálem rostlin je polysacharid celulóza, v živočišné říši je to skupina fibrilárních, nerozpustných bílkovin

a) Kolageny

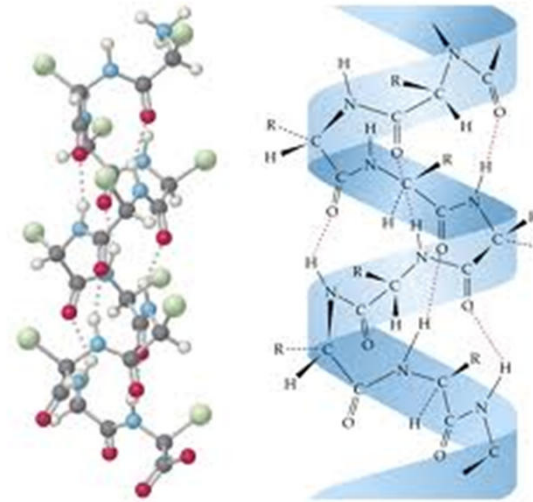
- hlavní bílkovinou pojivové tkáně, která spojuje jednotlivé části organismu
- dává tvar orgánům – od elastických po pevný, tuhý tvar celého organismu
- Základní formy pojivové tkáně jsou: a) polotekutá (vaziva, šlachy, cévy)
b) tuhá (chrupavky)
c) tvrdá (kosti zuby)
- Kolageny se vyskytují ve všech tkáních i orgánech
- Základní strukturní jednotkou je tropokolagen – trojvláknový pravotočivý helikální prut asi 300 nm dlouhý o průměru 1,5 nm
- Každé vlákno má asi 1000 aminokyselin, z toho je 33% glycinu, dále mnoho prolinu, hydroxyprolinu a hydroxylysinu

b) Elastin

- gumě podobná bílkovina obsažená v pružných částech organismu
- hlavně v cévách a ligamentech
 - Umožňuje natahování a smršťování těchto strukturních částí.
- Obsahuje prolin a glycin a dále nepolární aminokyseliny alanin, valin, leucin a isoleucin.
- Elastiny vytvářejí pružné síťovité struktury, jejichž základní stavební jednotkou je **tropoelastin**.
 - zesítuje příčnými vazbami různých typů – hlavně na bázi aldehydu vzniklého z lysinu lisyloxidásou.
- Velkou pružnost vnáší do elastinu vznik polyfunkční aminokyseliny desmosinu



c) Keratiny



Zdroj: is.muni.cz

- Vyskytují se v kůži, kde tvoří vnější vrstvu zvanou epidermis, složenou ze zrohovatělých buněk
- Vyskytují ve vlasech, srsti, rozích, peří a nehtech
- Obsahují vysoké procento **glycinu, serinu a cysteinu a tvorba disulfidových můstků dává keratinům tvrdost, velkou roztlačnost a nerozpustnost**
- Trávicí enzymy je degradují až po redukci disulfidových vazeb
- Strukturním základem je α -keratin tvořený pravotočivým α -helixem stabilizovaným vodíkovými a disulfidovými vazbami
- Ze tří těchto α -helixů se vytvoří pravotočivé protofibrily a z 11 protofibril (2 uvnitř a 9 vnějších) se vytvoří 8 μm silná mikrofibrila
- Z několika set mikrofibril se utvoří makrofibrila a z nich se tvoří makroskopická vlákna



DĚLENÍ BÍLKOVIN PODLE TVARU

- A) FIBRILÁRNÍ
- B) GLOBULÁRNÍ



FIBRILÁRNÍ

- Mezi fibrilární bílkoviny patří důležitá skupina tzv. **skleroproteinů** odolných proti chemickému i mechanickému poškození
- Hlavními zástupci jsou **kolageny, elastiny a keratiny**
- Základem molekuly kolagenu je t.zv. tropokolagen složený ze tří řetězců navzájem stočených na způsob lana, s velkou pevností v tahu s rel. mol. hmotností 285 000
- Kolageny jsou hlavním prvkem pojivové tkáně (vaziva, šlachy, cévy, chrupavky) a obsahují převážně glycin (až 33%) a prolin, vyskytuje se v nich i 5-hydroxyprolin (Hyl) a 4-hydroxyprolin (Hyp)



Tropokolagen

- skládá se ze tří vláken stejné délky - každé obsahuje asi 1000 aminokyselinových zbytků.
- Primární struktura vykazuje značnou pravidelnost - asi každý třetí zbytek je glycyl
- pravidelně se vyskytuje pořadí **Gly-Pro-Hyp**
- Délka jednotlivých tropokolagenových zbytků je asi 300 nm o průměru 1,5 nm
- jednotky jsou seřazeny lineárně s posunem asi o $\frac{1}{4}$ délky – nejsou spojovány svými konci a mezi jednotlivými konci je vždy mezera asi 40 nm - slouží k začlenění minerální složky kostí o složení $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$



Kolagenová vlákna jsou proto zpevněna příčnými vazbami různého druhu:

1) Aldolová příčná vazba

- V prvním stupni se účinkem enzymu lisyloxidázy přemění ϵ -aminové skupiny lysinu na aldehydové, které pak spolu reagují za odštěpení vody

2) Histidin-aldolová příčná vazba

- Aldolová příčná vazba může dále reagovat adiční reakcí s imidazolovým jádrem histidinu

3) Schiffova báze – příčná vazba může dále reagovat aldehydickou skupinou s aminoskupinou dalšího tropokolagenového prutu na příklad s aminoskupinou 5-hydroxylysinu

•



4) Lysin - norleucinová vazba mezi aldehydem vzniklým z lysinu lisyloxidázou a nezměněnou ϵ -aminoskupinou dalšího lysinu a následnou hydrogenací vzniklé Schiffovy báze

Elastin - pravidelnosti v primární struktuře

- Velmi často se objevuje pořadí **Pro-Gly-Val-Gly-Val**
- Na rozdíl od kolagenů vytvářejí elastiny značně pružné síťové struktury
- Stejně jako u kolagenů vznikají křížové vazby podobného typu
- Elastiny se nacházejí ve stěnách cév a ligamentech (vaziva)
- Mohou se protahovat až na několiknásobek své délky a rychle se vracet do původního stavu
- Skládají se z většího množství prolinu a glycinu a vyskytují se v nich nepolární aminokyseliny:

alanin, valin, leucin a isoleucin.

Obsahují i lysin, který vytváří příčné vazby po částečné oxidaci lisyloxidázou.



- Kondenzací postranních řetězců čtyř lisylových zbytků v řetězcích tropoelastinu vznikají polyfunkční aminokyseliny (tetreaminotetrakarboxylové) desmosin a isodesmosin, obsahující pyridinový kruh.
- Tyto polyfunkční aminokyseliny vznikají pouze v elastinech.



STRUKTURNÍ DOMÉNY BÍLKOVIN

- terciální struktura vnějších globulárních bílkovin je tvořena relativně malým počtem strukturních motivů – **domén**
 - kompaktně zformovaná globulární část - struktura je nezávislá na struktuře ostatních částí
 - Jednotlivé domény jsou vzájemně spojeny jen volně
 - Příkladem bílkovin s doménovou strukturou jsou imunoglobuliny – bílkoviny krevního séra



Podle hlavního zastoupení strukturních domén dělíme bílkoviny na:

- a) α -bílkoviny (převaha α -helixů)
- b) β -bílkoviny (převaha β -hřebenů)
- c) α / β -bílkoviny (vzájemně interagující α a β struktury)
- d) $\alpha + \beta$ bílkoviny (neinteragující α a β struktury)
- e) ostatní



SVINOVÁNÍ POLYPEPTIDOVÉHO ŘETĚZCE

- Vzniku prostorové struktury, vedoucímu k vytvoření funkčního stavu bílkoviny říkáme svinutí
- Všechny informace pro svinutí jsou v primární struktuře
- Polypeptidové řetězce se svinují samovolně a veškeré informace determinující svinování jsou uloženy v pořadí aminokyselinových jednotek
- Nativní konformace odpovídá minimu **Gibbsovy energie**
- Jediným vysvětlením, proč se polypeptidový řetězec samovolně svine do jediné konformace z bezpočtu možných (pro řetězec ze 150 aminokyselinových zbytků je to asi 10^{45} možných konformací) je, že tato struktura představuje termodynamicky výhodný stav s minimem konformační energie
- Vznik nativní konformace je proces, jehož hnací silou je minimalizace kontaktů hydrofóbních částí s hydrofilním rozpouštědlem a optimalizace uplatnění vnitromolekulových kontaktů



- Svinování neprobíhá náhodným hledáním
- Nově vytvořené bílkoviny se sbalují za 10^{-1} až 10^{-13} s.
- K vyzkoušení všech možných konformací a k jejich otestování by řetězec 150 aminokyselin by potřeboval 10^{-26} let
- Předpokládá se, že vznik unikátní terciální struktury bílkoviny probíhá jako **kineticky kontrolovaný mnohostupňový proces již při proteosynthese**
- Svinování je postupný proces
- Nejprve vznikají pravidelné sekundární struktury, které se dále formují do t.zv. **supersekundárních struktur**
- Z nich se pak formují strukturní domény a závěrem se pak poměrně pomalým procesem vytvoří **terciální resp. kvarterní struktura**
- Vytvoření disulfidových můstků
- Pokusy s denaturací ribonukleasy ukázaly, že vytvoření disulfidových vazeb může nastat až po sbalení bílkoviny do terciální struktury



DENATURACE BÍLKOVIN

- Formu v níž bílkoviny fungují v organismech označujeme jako **nativní**
- Působením řady fyzikálních a chemických vlivů se nativní konformace porušuje a bílkoviny přecházejí na méně uspořádanou formu „náhodného klubka“ - **denaturace**
 - Lze ho definovat jako proces, při němž bílkoviny ztrácejí svoji biologickou funkci a mění své fyzikální vlastnosti
 - Z fyzikálních vlivů negativně působí
 - zvýšená teplota
 - vysoký tlak
 - povrchové síly
 - ultrazvuk
 - pronikavé záření



- K chemickým denaturacím dochází působením **silných kyselin a zásad, organických rozpouštědel a tenzidů močoviny a guanidinu**
- Primárním účinkem všech denaturačních činidel je rozvinutí peptidového řetězce
- Tím se odkrývají nepolární aminokyselinové zbytky a snižuje se rozpustnost bílkoviny
- Do určitého stavu je tento pochod **reverzibilní**, nad tuto hranici jde o nezvratný pochod – **ireverzibilní** a bílkovina se začíná vylučovat z roztoku, dochází ke **koagulaci**.
- **Koagulace je typická pro tepelnou denaturaci**
- Závislost průběhu denaturace na vnějším působení vyjadřuje sigmoidní (esovitá) křivka

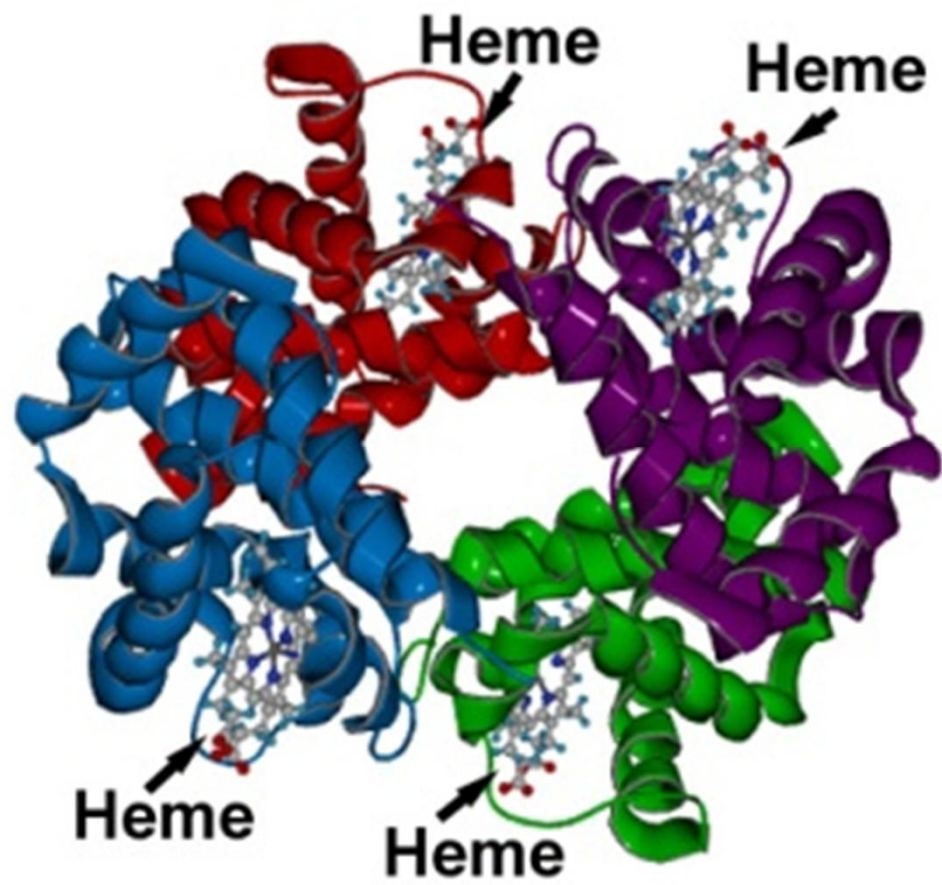


Transportní a skladovací bílkoviny

HEMOGLOBIN

- Nachází se v červených krvinkách (erythrocytech) a je nejhojněji zastoupenou krevní bílkovinou; u člověka je normální obsah hemoglobinu 14-16 g ve 100 ml krve
- Primární funkcí této bílkoviny je rozvod O_2 z plic do tkání
- Jedna molekula hemoglobinu je schopna vázat čtyři molekuly kyslíku
- Hemoglobin s navázaným O_2 , t.zv. oxygenovaný hemoglobin (HbO_2) je rozveden arteriální krví do různých tělních tkání. Tam se O_2 uvolňuje a vystupuje z erythrocytů. Deoxygenovaný hemoglobin (Hb) se pak vrací krevním oběhem (venosní krví) do plic a cyklus se opakuje.





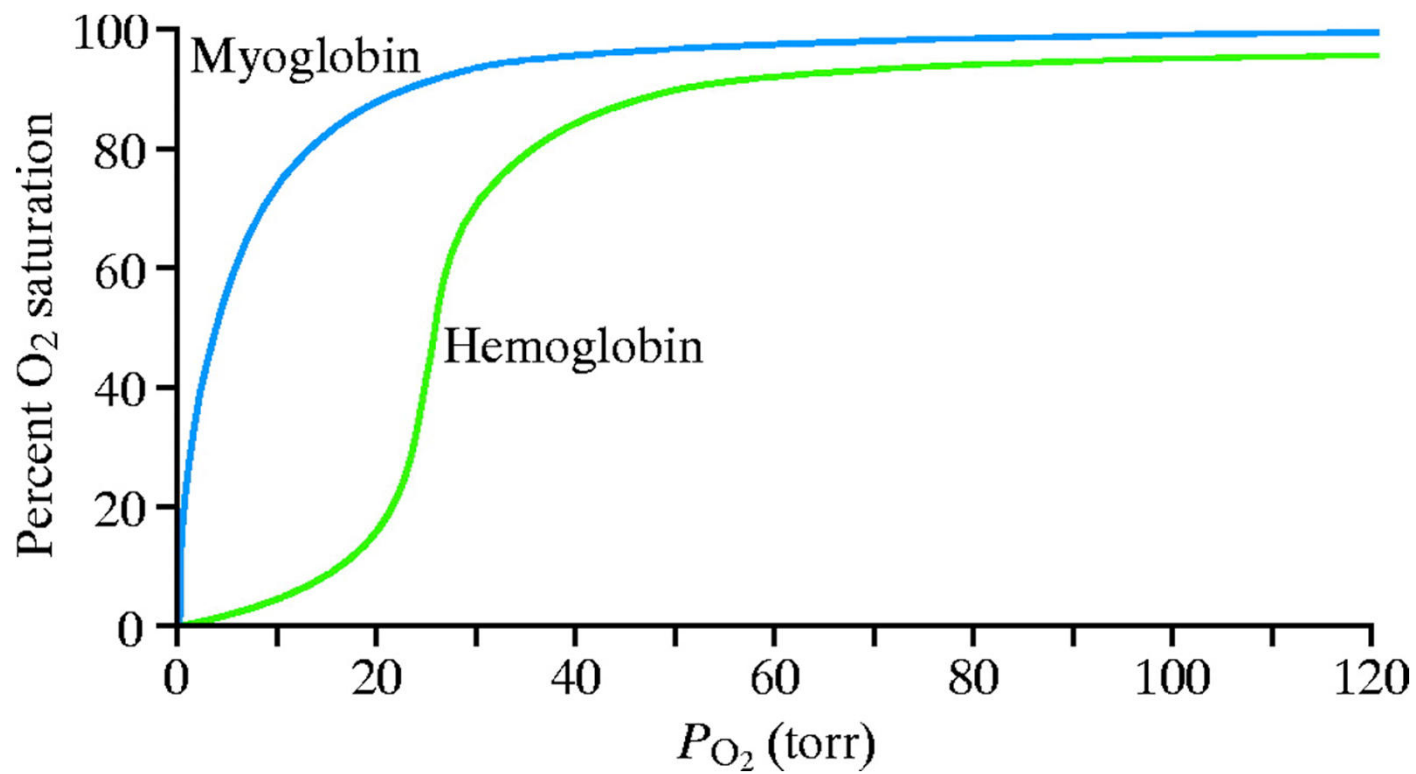
<http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Hemoglobin/MetalComplexinBlood.html>



- Na modelu savčího hemoglobinu je vidět, že se skládá ze **dvou párů jednořetězcových podjednotek, označovaných α a β**
- Mají přibližně stejnou délku (u lidského hemoglobinu 141 a 146 aminokyselin) a jednu hemovou skupinu, která je schopná na svůj Fe^{2+} ion vázat molekulu O_2
- Dvě α a dvě β podjednotky do sebe přesně zapadají a prostřednictvím nekovalentních vazeb vytvářejí kompaktní symetrický tetramer
- Význam oligomerní struktury molekuly hemoglobinu vyplývá ze srovnání s molekulou myoglobinu, který je jednořetězcovou bílkovinou s jednou hemovou skupinou podobné konstrukce
- Rovněž úkol myoglobinu je podobný – váže kyslík v kosterních svalech – má však jiné vazebné schopnosti, viz **saturační křivka**



Saturační křivka



- Hemoglobin navíc přenáší nejen O_2 , ale i H^+ a CO_2 a vazba kyslíku na jeho molekuly je regulována látkami v jeho okolí, jmenovitě H^+ , CO_2 a organickými fosfáty
- Odlišná saturační křivka je výsledkem **allosterických interakcí** uplatňujících se v tetramerní molekule
- Základem této představy je předpoklad, že oligomerní jednotky savčích hemoglobinů $\alpha_2\beta_2$ existují ve dvou odlišných konformacích a odlišné aktivitě
- Konformer označovaný jako T odpovídá deoxygenovanému hemoglobinu, má kvartérní strukturu fixovanou elektrostatickými vazbami mezi podjednotkami a vyznačuje se nízkou afinitou ke kyslíku
- Po navázání první molekuly kyslíku se projeví t.zv. **homotropní allosterický efekt**, který změní interakce mezi podjednotkami, hemoglobin přejde na formu R s vysokou afinitou ke kyslíku



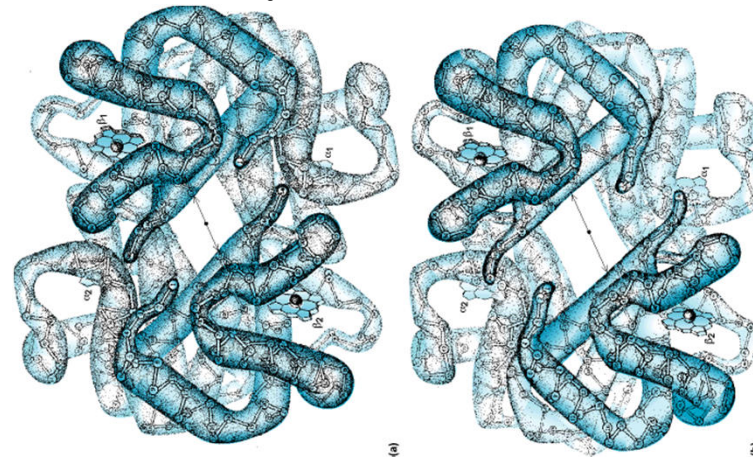
Mechanismus homotropního allostereického efektu

- Hem je uložen v zářezu globinové molekuly mezi helikálními pruty F a E
- Centrální atom Fe^{2+} má šest koordinačních vazeb, z nichž čtyři vedou k dusíkům pyrrolových jader, pátá vede k dusíku proximálního histidinu F8, šestá koordinační vazba v deoxygenovaném Hb zůstává neobsazena
- Na tu se váže molekulový kyslík a tím se vytvoří oktaedrové uspořádání
- Podrobnější studie ukázaly, že v deoxygenovaném hemoglobinu není centrální Fe^{2+} přesně v centru molekuly, ale je nad rovinou porfinu o 0,08 nm
- Vazba O_2 má za následek, že ion Fe^{2+} se zasune do roviny a zatáhne za sebou i histidin F8 (proximální)
- Druhý kyslíkový atom je vázán distálním histidinem E7 pomocí vodíkového můstku a proto se přitahuje ion Fe^{2+}
- Tím se posune celá globinová jednotka a zruší se některé elektrostatické interakce mezi podjednotkami a celý tetramer je přístupnější kyslíku
- Rovnováha T a R konformerů se posune k formě R



Vliv protonů na vazbu kyslíku

- Před asi 90 lety zjistil Ch. Bohr (1904), že pevnost vazby O_2 na hemoglobin klesá při poklesu pH
- Tento jev t.zv. Bohrův efekt znamená, že uvolňování O_2 z oxygenovaného hemoglobinu je podporováno přítomností iontů H^+
- Oxid uhličitý vzniká v tkáních při látkové přeměně, difunduje do erythrocytů, kde pomocí erythrocytárního enzymu karbonáthydrolázy hydratován na H_2CO_3 , která okamžitě disociuje na HCO_3^- a H^+ .
- Protony se vážou na $-NH_2$ skupiny globinu a tím zesilují elektrostatické inerakce vedoucí ke vzniku formy T
- Tím je v podstatě kyslík vylučován



Zdroj: <http://accessscience.com>

Podstatou Bohrova efektu je tedy heterotropní allosterický efekt



Transport CO₂

- Kromě protonů působí jako **allosterický efektor i CO₂**
- Rovněž stabilizuje formu T a vyvolává pokles afinity hemoglobinu ke kyslíku
- CO₂ se váže na koncové aminoskupiny všech čtyř podjednotek za tvorby snadno vratných karbonátových vazeb –NHCOO⁻
- Po odevzdání kyslíku v tkáních deoxygenovaný hemoglobin váže asi 15% CO₂ a odvádí jej venózní krví do plic
- Větší část, asi 85% CO₂ se v erythrocytech přemění na HCO₃⁻, vzniklé ionty H⁺ se vážou na deoxygenovaný hemoglobin za vzniku HbH⁺
- Aby byla zachována rovnováha iontového prostředí difundují HCO₃⁻ ionty erythrocytů do krevní plazmy a z plazmy difundují do erythrocytů ionty Cl⁻.
- Když venózní krev dojde do plic, vstupují do erythrocytu kyslík ze vzduchu a HCO₃⁻ z krevní plazmy
- Kyslík se váže na H₂CO₃, která se karbonáthydrolázou rozpadne na CO₂ a H₂O
- CO₂ difunduje do plazmy a do plic, odkud je vydechován.
- Tělo vyprodukuje denně asi **300-360 l CO₂**
- pH krve se při těchto procesech téměř nemění, venózní krev má pH o 0,03 nižší než arteriální krev. **pH krve 7,36-7,44.**



LITERATURA

- Mathews, Ch. K. – Halde, K. E. – Ahern, K. G.,
Biochemistry, 3. vydání, San Francisco,
Benjamin Cummings, 1999, 1186 s., ISBN 99-
043683
- Voet, D. – Voet, J. G. – Pratt, Ch. W.,
Fundamentals of Biochemistry: life at the
molecular level, 2. vydání, USA, Willey, 2006,
1264 s., ISBN 0-471-21495-7

