

Biochemie

2.část

© Biochemický ústav LF MU 2008 - (H.P.)

PROTEINY

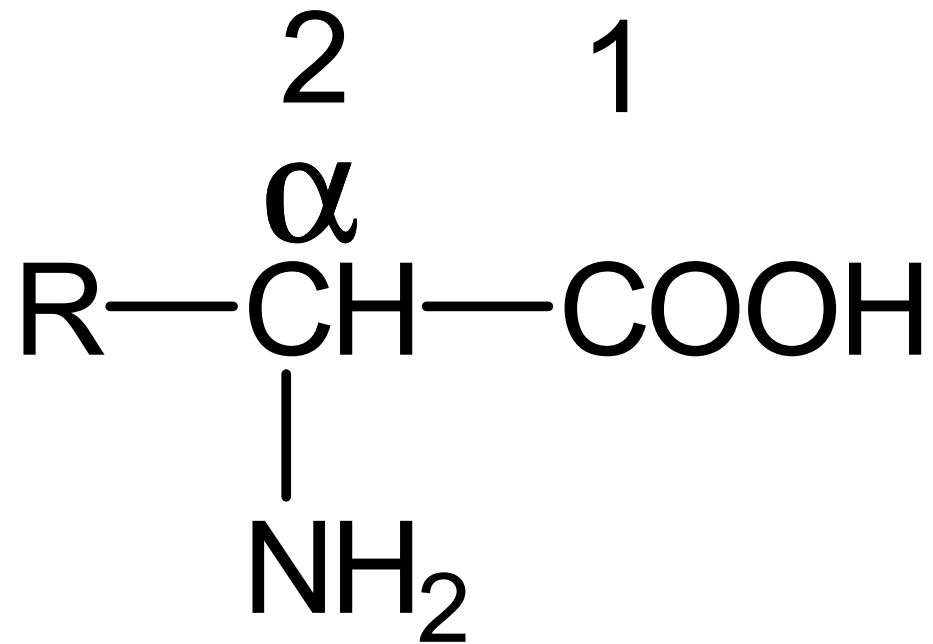


Aminokyseliny

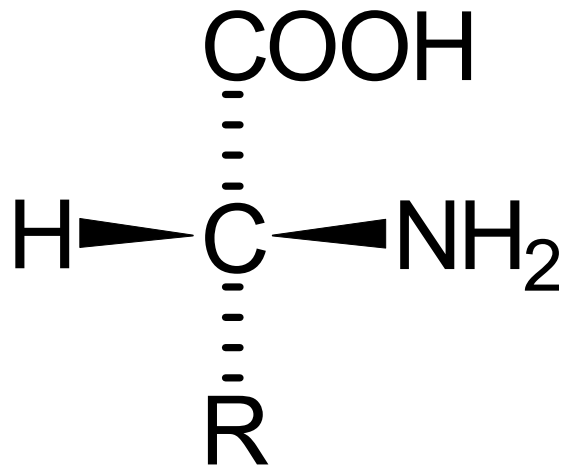
Charakteristika

- základní stavební jednotky proteinů
- geneticky kódované
- 20 základních aminokyselin

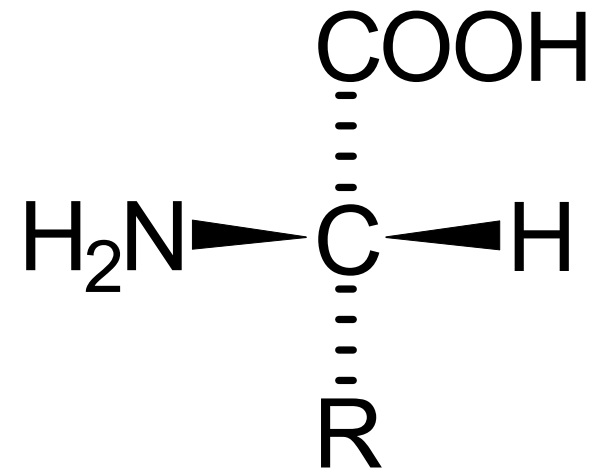
α -aminokyselina



L-aminokyselina



D - aminokyselina



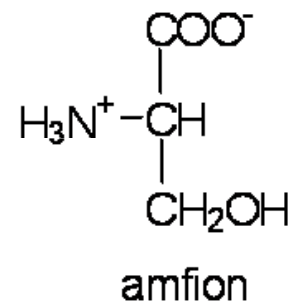
L - aminokyselina

Isoelektrický bod

- **pI**
- hodnota pH prostředí, při kterém se aminokyselina chová jako elektroneutrální

kladné a záporné náboje jsou vyrovnány

- amfion - obojetný ion



Rozdělení aminokyselin (AMK)

- počet karboxylových skupin
- počet aminoskupin
- postranní řetězec

postranní řetězec

AMK

alifatický

glycin (Gly)
alanin (Ala)
valin (Val)

leucin (Leu)
isoleucin (Ileu)

s OH skupinou

serin (Ser)

threonin (Thr)

se S

cystein (Cys)

methionin (Met)

s kyselými skupinami
(či jejich amidy)

kyselina asparagová (Asp) **asparagin** (Asn)
kyselina glutamová (Glu) **glutamin** (Gln)

s bazickými skupinami

lysin (lys)

arginin (Arg)

s aromatickým jádrem

phenylalanin (Phe)

tyrosin (Tyr)

s heterocyklem

histidin (His)
prolin (Pro)

tryptofan (Trp)

20 kódovaných aminokyselin

Gly, Ala, Val, Leu, Ileu, Ser, Thr, Cys, Met, Asp,
Glu, Asn, Gln, Lys, Arg, Phe, Tyr, His, Trp, Pro

21.AMK - selenocystein

Esenciální (nepostradatelné) aminokyseliny

Val, Leu, Ileu, Phe, Trp, Thr, Met, Lys
(Arg, His)

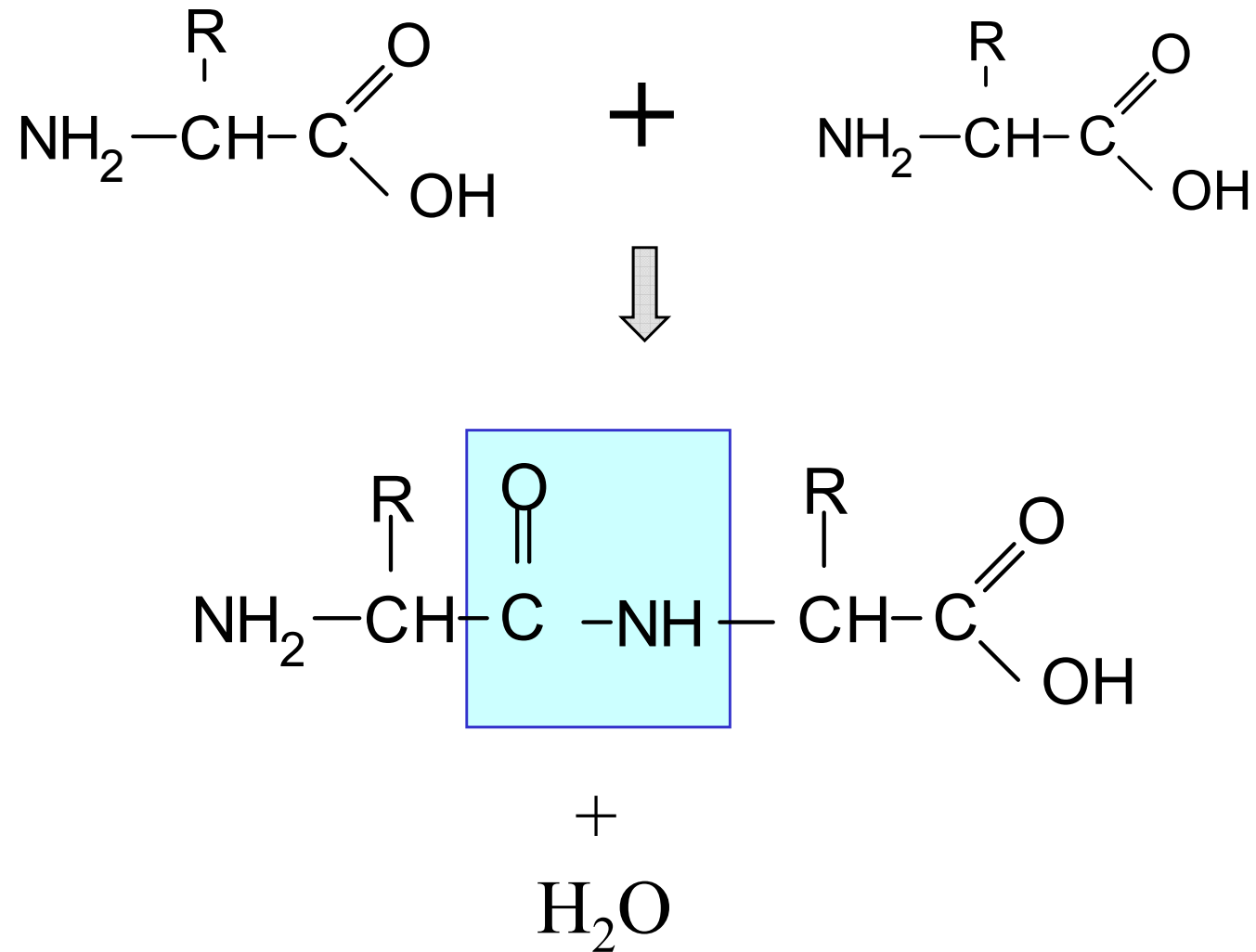
Peptidy

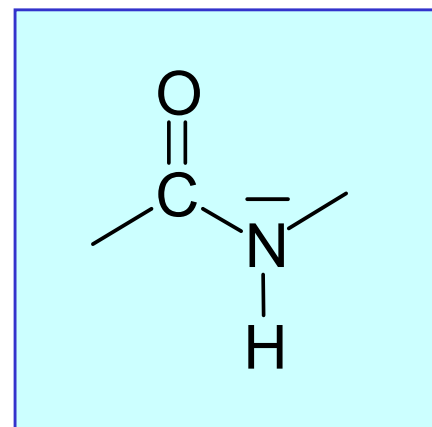
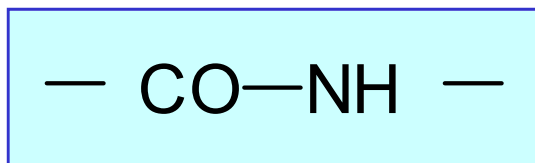
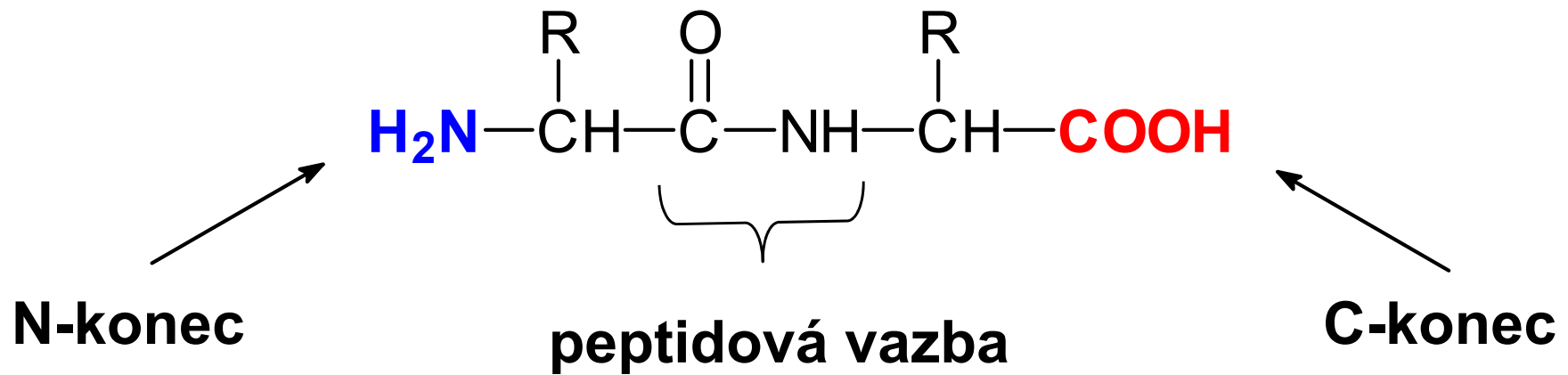
Charakteristika

- vznik z aminokyselin
- peptidová vazba
- počet aminokyselinových zbytků

2 ... \approx 50

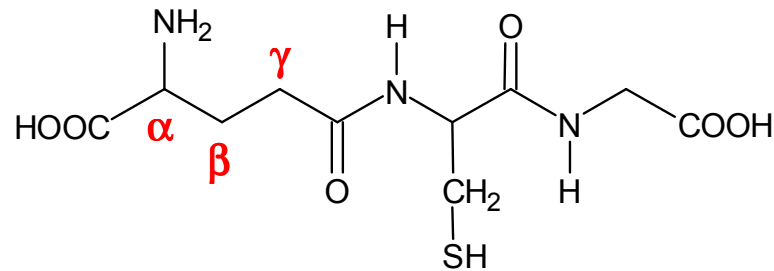
Peptidová vazba





Významné peptidy

- **Glutathion** (γ -Glu-Cys-Gly) GSH




antioxidant (GSH \rightleftharpoons GSSG)

udržuje -SH skupiny proteinů v redukovaném stavu
chrání hemoglobin před oxidací

detoxikace xenobiotik

Významné peptidy

- **hormony:** thyroliberin TRH
oxytocin
vasopresin
- **toxiny:** amanitiny
faloidiny

muchomůrka zelená (*Amanita phalloides*)
- **antibiotika:** gramicidin S
- **syntetické peptidy:** aspartam (metylester aspartylfenylalaninu)

Proteiny

Charakteristika

- biopolymery (> 50 AMK)
- proteosyntéza
- charakteristická struktura
- prostorové uspořádání

Funkce

- **strukturní**
 - buněčné struktury, svalové buňky
 - extracelulární - kolagen
- **metabolické**
 - enzymy (katalyzátory)
 - transport látek přes membrány
 - transportní bílkoviny
 - nutriční úloha
- **informační**
 - signální proteiny (obranný význam)
 - imunoglobuliny
 - receptorové bílkoviny

Struktura proteinů

popisována na více úrovních

- primární
- sekundární
- terciární
- kvartérní

Primární struktura

pořadí AMK v řetězci

začíná se od N-konce, pokračuje se k C-konci

hlavní řetězec

postranní řetězec

Sekundární struktura

prostorové uspořádání atomů
v hlavním řetězci

Pravidelná sekundární struktura:

α -helix

β -struktura

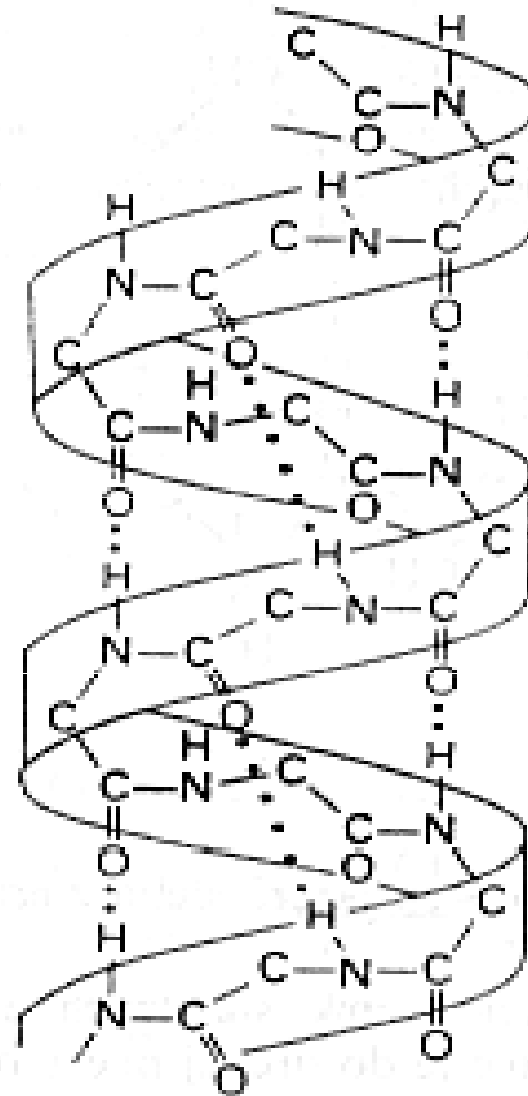
Další typy sekundární struktury: ohybové

nepravidelné

α -helix

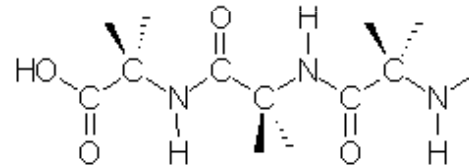
- pravotočivá šroubovice
3,6 AMK na 1 závit

vodíkové vazby
postranní řetězce vně helixu

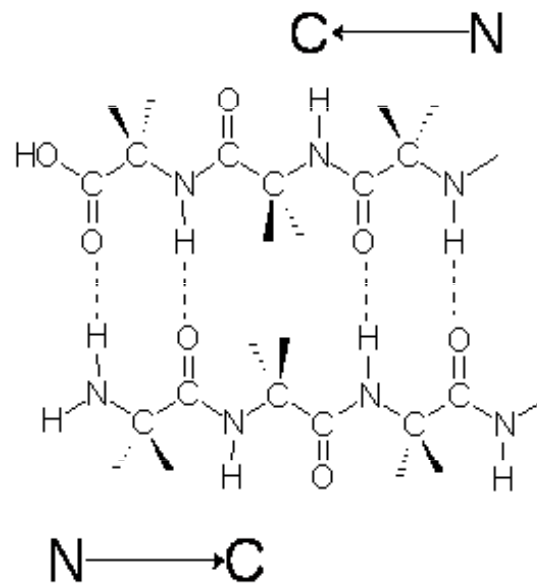


β - struktura

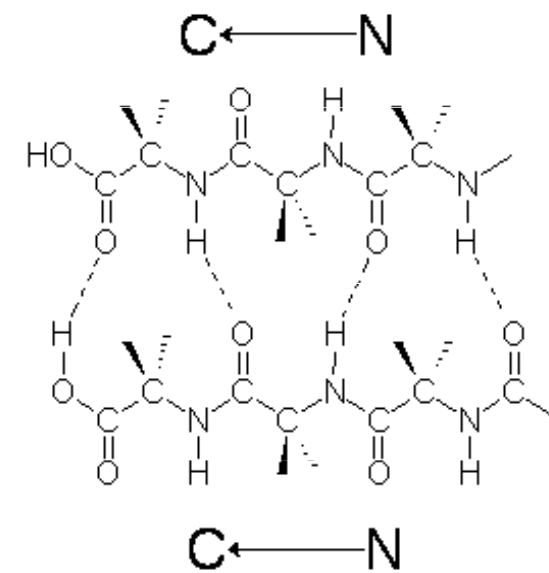
- jednořetězový β -hřeben



- skládaný list



antiparalelní



paralelní

vodíkové vazby
postranní řetězce vně

Terciární struktura

Prostorové uspořádání všech atomů
bílkoviny

nativní konformace

domény

Kvartérní struktura

počet a prostorové uspořádání podjednotek
(řetězců) v bílkovinné molekule

oligomery - obsahují 2 a více podjednotek
(monomerů, řetězců)

Vlastnosti bílkovin

- molekulárně koloidní roztok
- polyvalentní amfionty \longrightarrow pI
- dialýza

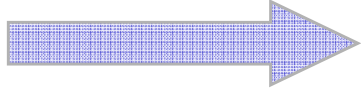
Denaturace

- ztráta biologických vlastností bílkoviny
- porušení kvartérní, terciární, sekundární struktury
- primární struktura bez porušení
- vlivy:
 - fyzikální - teplota, mechanický účinek, ultrazvuk
 - chemické - kyseliny, zásady, ionty těžkých kovů

Enzymy

- bílkoviny
- biokatalyzátory
- specifické
- regulovatelné

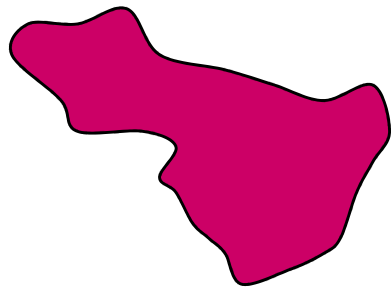
Enzymová reakce

Substráty  Produkty

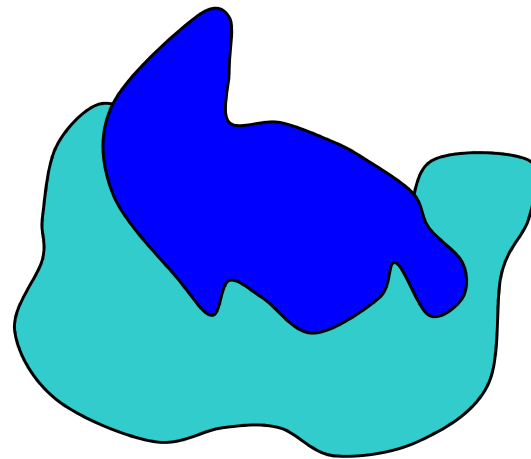
Reakce je katalyzovaná enzymem



*** aktivní centrum enzymu ***



substrát



enzym

produkt

Katalytický účinek enzymů a přítomnost kofaktorů

Kofaktor :

- **koenzym** - vázaný nekovalentně (druhý substrát)

NAD⁺

- **prostetická skupina** - vázaná kovalentně

FAD, Mg²⁺

*** Význam vitamínů ***

Aktivita enzymů

Katalytická aktivita enzymu

katal - přeměna 1 molu substrátu za 1 sekundu

kat ... mol/s

μkat **μmol/s**

Katalytická koncentrace (katalytická aktivita v biologických tekutinách)

μkat/l

Názvosloví enzymů

Koncovka **-asa** připojená:

⇒ název substrátu

lipasa

⇒ název substrátu, typ katalyzované reakce

laktátdehydrogenasa

Historické názvy : **pepsin, trypsin**

Jednoznačný systém nomenklatury enzymů (IUB)

Systémový název : např. L-alanin:2-oxoglutarát-aminotransferasa

Doporučený název : např. alaninaminotransferasa

Klasifikace enzymů

6 základních tříd enzymů

- 1. Oxidoreduktasy
- 2. Transferasy
- 3. Hydrolasy
- 4. Lyasy
- 5. Isomerasy
- 6. Ligasy

Faktory ovlivňující rychlost enzymové reakce

- teplota
- pH
- koncentrace substrátu
- aktivátory a inhibitory

Vliv teploty

- s rostoucí teplotou stoupá rychlost enzymové reakce
- teplotní optimum
- denaturace !

Vliv pH

- disociace ionizovatelných skupin enzymu i substrátu
- pH optimum

Vliv koncentrace substrátu

- s rostoucí koncentrací substrátu stoupá rychlost reakce až do „nasyčení“ enzymu substrátem

Vliv aktivátorů a inhibitorů

- aktivátory - zvyšují rychlost enzymové reakce
(Mg^{2+} , Cl^-)
- inhibitory - snižují rychlost enzymové reakce
vazba vratná a nevratná
(kyselina acetylsalicylová, allopurinol)

Enzymy v diagnostice

- stanovení aktivity enzymů v plasmě
- stanovení aktivity izoenzymů

izoenzymy – různé formy enzymů

stejný katalytický účinek

často výskyt v různých tkáních

specifická diagnostika

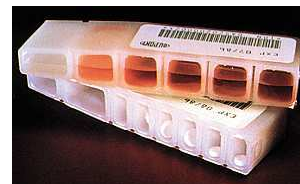
Stanovení enzymů v klinicko-biochemické laboratoři



Biochemické analyzátory

Diagnostické sety

Řádově až stovky (tisíce)
testů za hodinu



Vybrané příklady enzymů důležitých v klinické diagnostice

✿ **AST aspartátaminotransferasa**

infarkt myokardu
hepatopatie

(fyziologická hodnota : 0,22-0,87 μ kat/l)

✿ **ALT alaninaminotransferasa**

hepatopatie
srdeční onemocnění

(fyziologická hodnota : 0,15-0,9 μ kat/l)

✿ **ALP alkalická fosfatasa**

nemoci žlučových cest a jater
nemoci kostí

(fyziologická hodnota (nad 20 roků): 0,7-2,3 μ kat/l)

Vybrané příklady enzymů důležitých v klinické diagnostice

CK kreatinkinasa

3 izoenzymy: MB, MM, BB

infarkt myokardu CK-MB

nemoci kosterního svalstva CK-MM

(fyziologická hodnota celkové CK : do 3,25 μ kat/l)

LD laktátdehydrogenasa

5 izoenzymů: LD 1,2,3,4,5

hepatopatie LD 4,5

infarkt myokardu LD 1,2

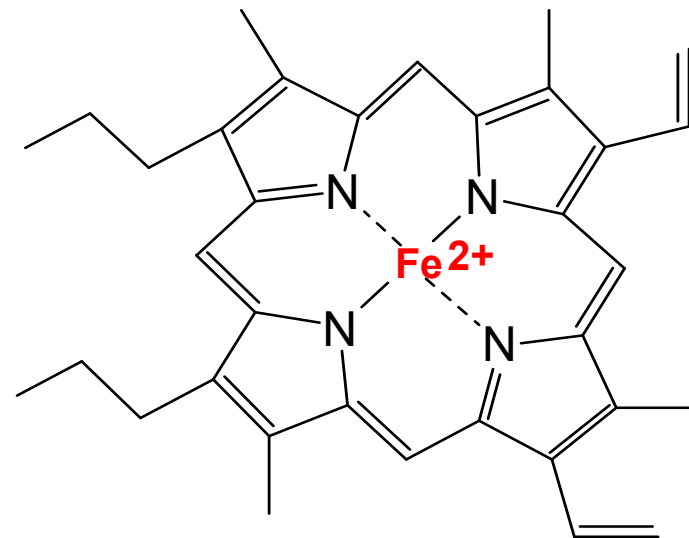
plicní embolie LD 3

(fyziologická hodnota celkové LD : 2,84-7,68 μ kat/l)

Hemoglobin

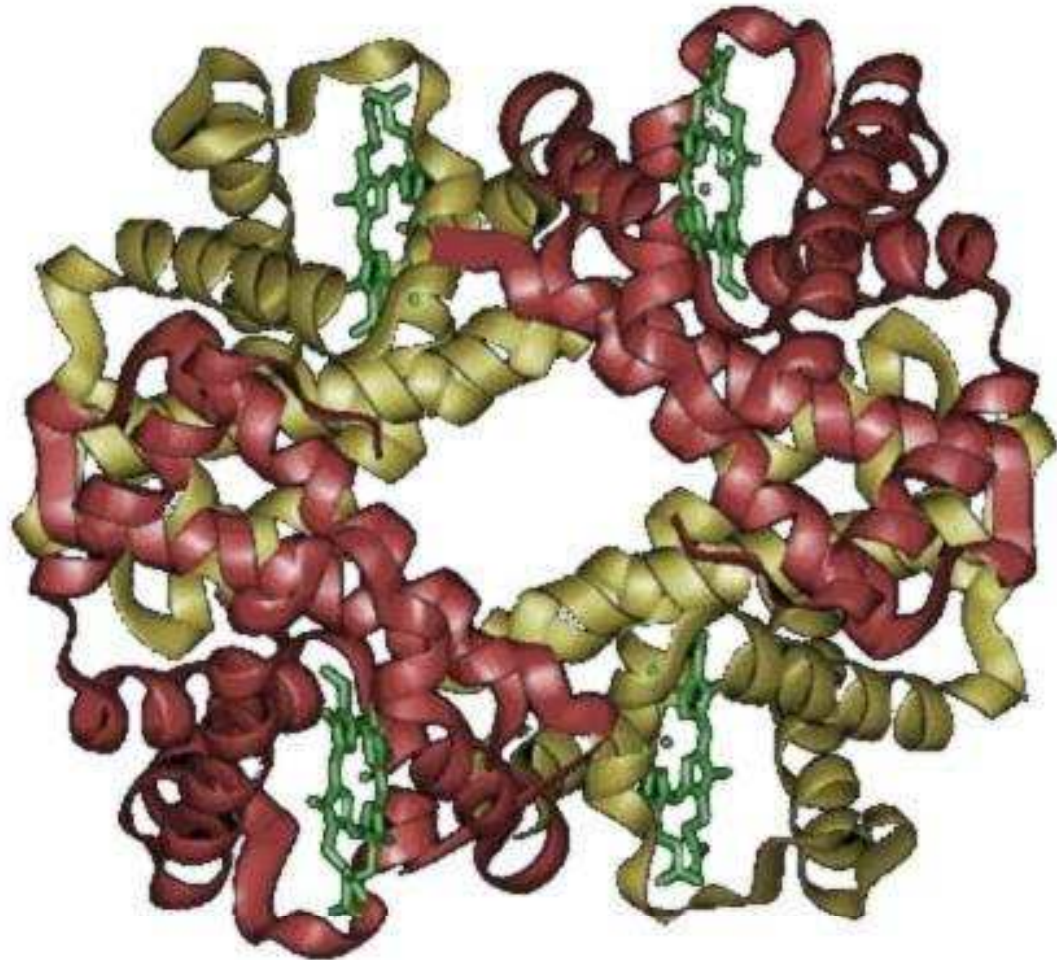
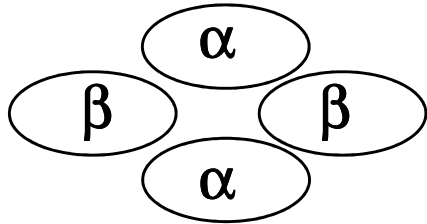
Složená bílkovina - hemoprotein

- bílkovina – globin
- hem



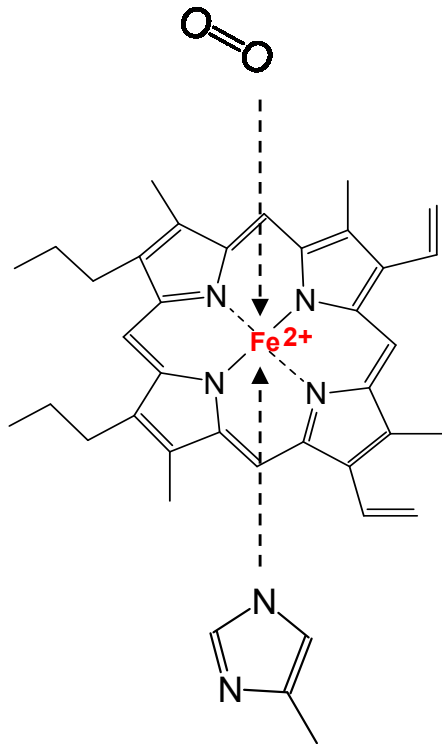
Hemoglobin je tetramer

4 podjednotky : podjednotky α a β

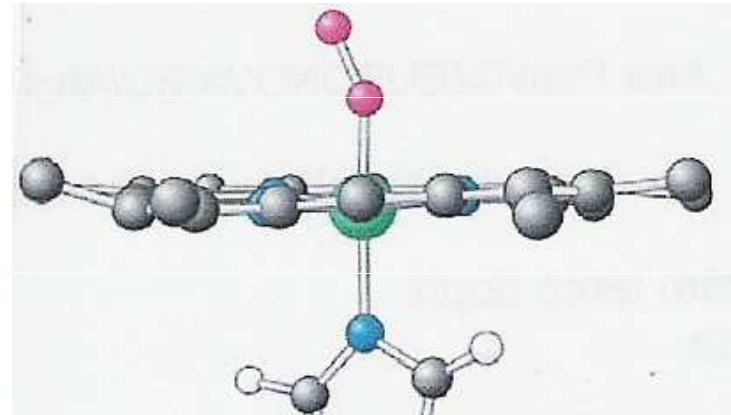


Transport kyslíku

vazba O_2 na hemoglobin - na Fe^{2+}

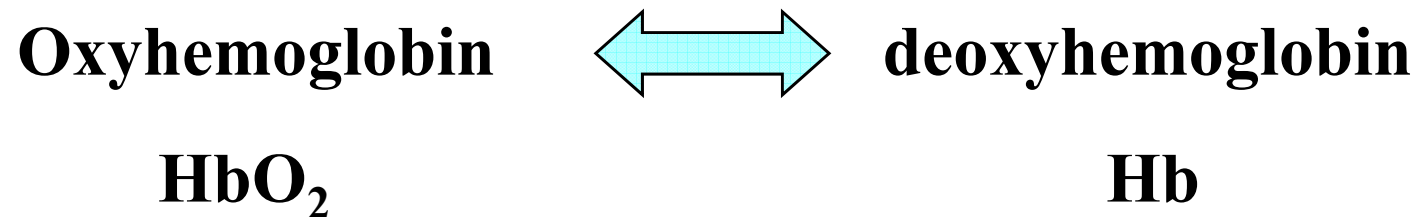


Peptidový řetězec globinu



Fe^{2+} váže 6 ligandů: čtyři vazby na N pyrrolů
pátá vazba na His globinu
šestá vazba na dikyslík

Vazba kyslíku v plicích – transport – uvolnění kyslíku v tkáních



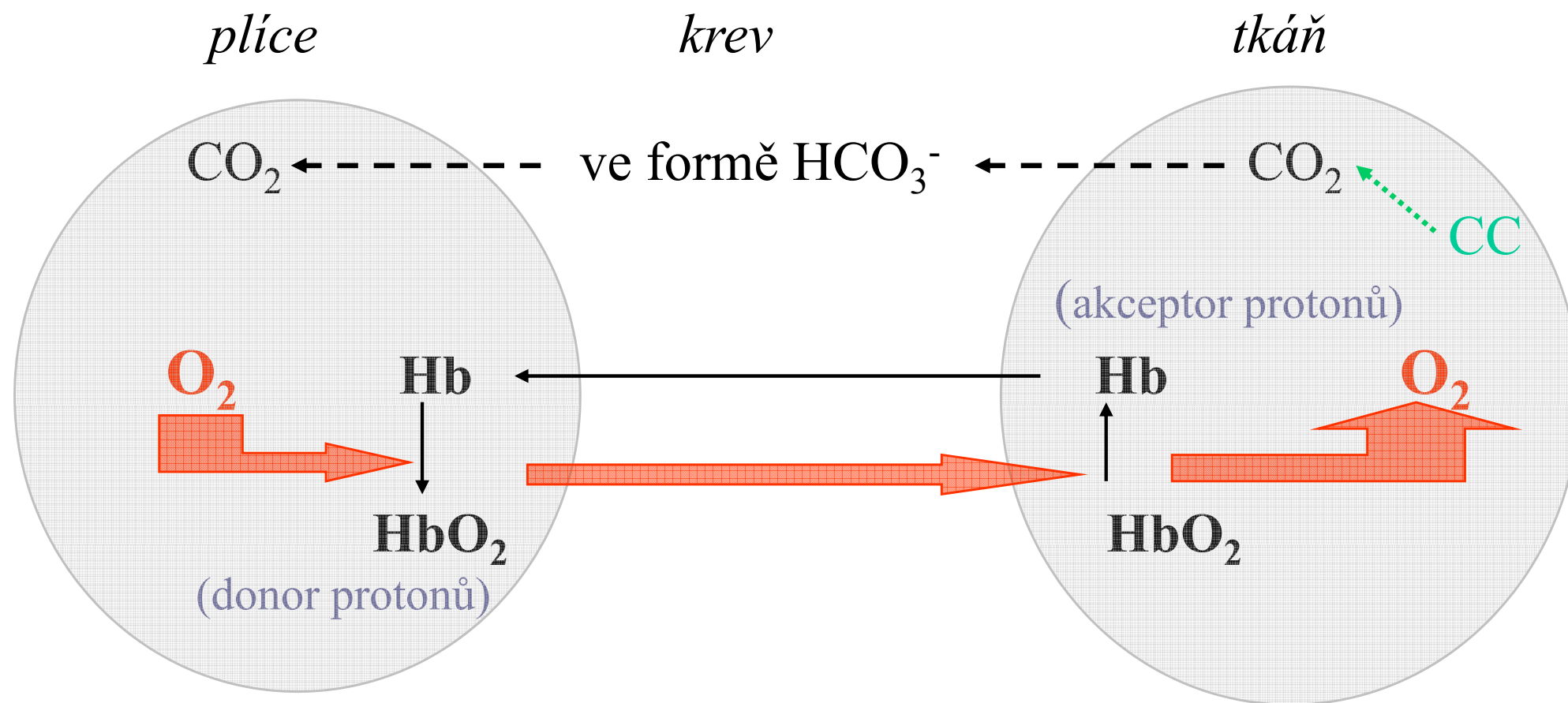
Plice - vysoký pO₂

- nasycení Hb kyslíkem

Tkáně - nízký pO₂

- uvolnění kyslíku

Zjednodušené schema transportu O_2 mezi plícemi a tkáněmi



Zábrana transportu kyslíku

- karbonylhemoglobin

vazba CO na hemoglobin - pevněji než O₂ (až 200x)

otrava CO

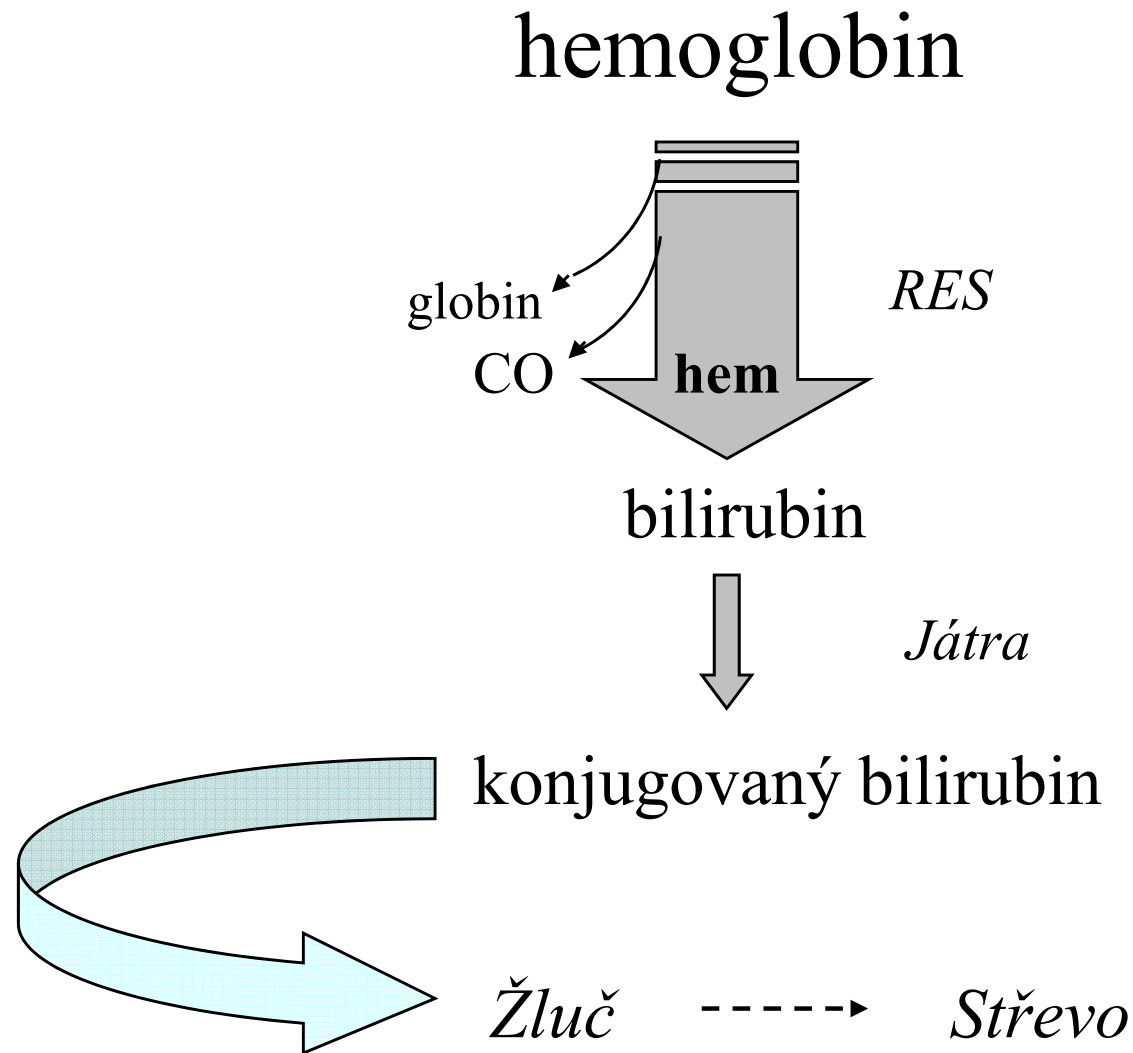
- methemoglobin

oxidovaná forma hemoglobinu (obsahuje Fe³⁺)

nepřenáší O₂

působení - chlorečnanů, dusitanů, dusičnanů

Odbourání hemoglobinu



Fyziologická koncentrace bilirubinu v krvi : 5 - 20 $\mu\text{mol/l}$

Karbonylhemoglobin v krvi

% CO-Hb z celkového hemoglobinu

Jedinec	CO-Hb (%)
Novorozenec	0,4
Dospělý (venkov)	1-2
Dospělý (město)	4-5
Kuřák	10-12 !
Dopravní policista	12-15

Situace	CO-Hb (%)
Otrava	20-50 !
Smrt	55-60 !

Hyperbilirubinémie

Ikterus - žloutenka

Zvýšená koncentrace bilirubinu – konjugovaný i nekonjugovaný

Příčina:

- zvýšené odbourání hemoglobinu (*hemolytický ikterus*)
- porucha ve funkci jater (*hepatocelulární ikterus*)
- snížená propustnost žlučovodů (*obstrukční ikterus*)

Novorozenecká žloutenka: - nezralost jaterního systému
- fototerapie

NUKLEOVÉ

KYSELINY

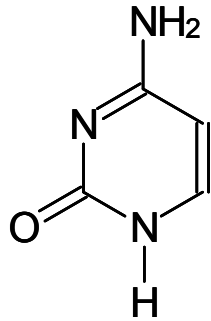
NUKLEOVÉ KYSELINY



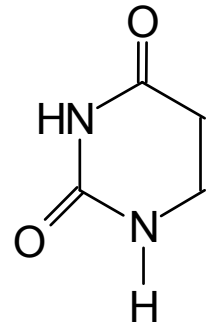
NUKLEOTIDY

Pyrimidinové báze

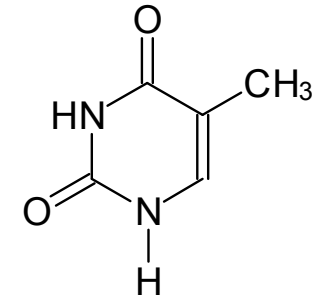
Cytosin



Uracil

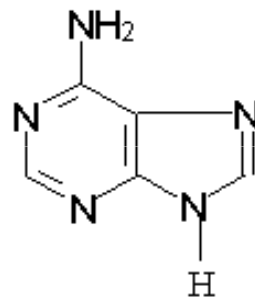


Thymin

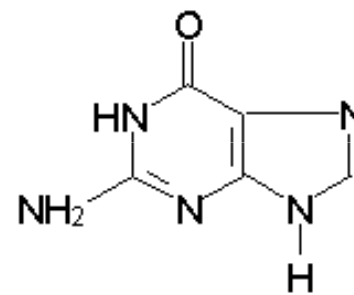


Purinové báze

Adenin



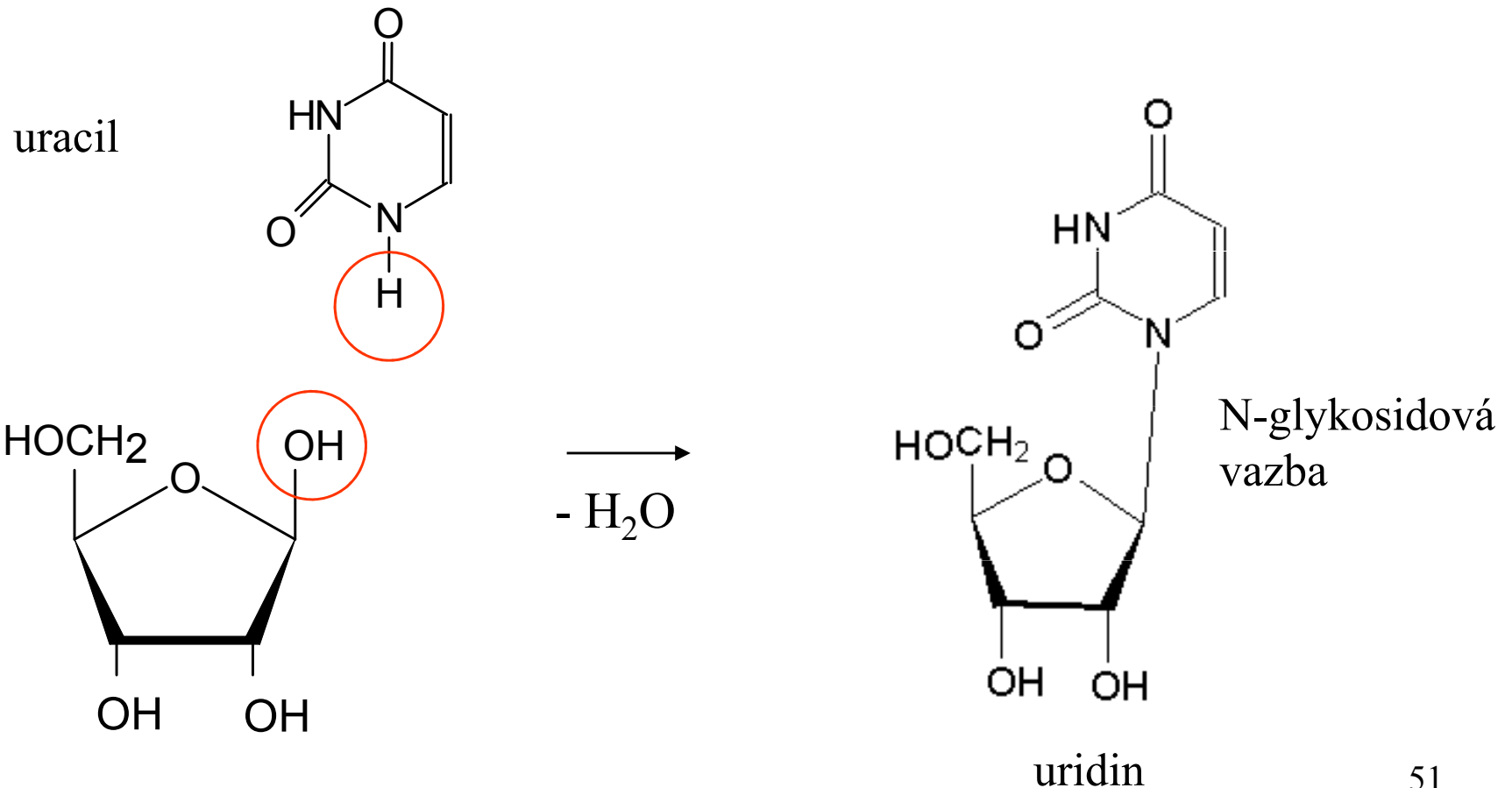
Guanin



Nukleosidy

Dusíkatá báze + sacharid (ribosa, 2-deoxyribosa)

N-glykosidová vazba



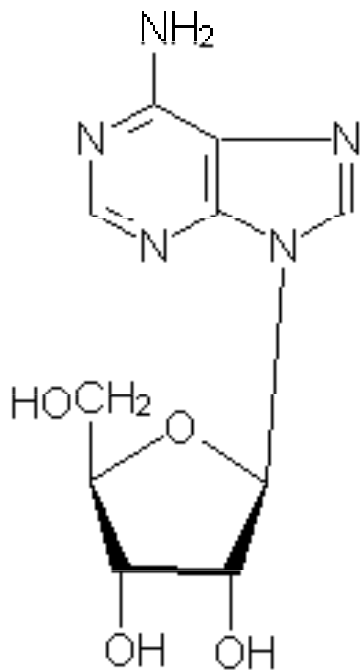
Purinové nukleosidy

adenosin

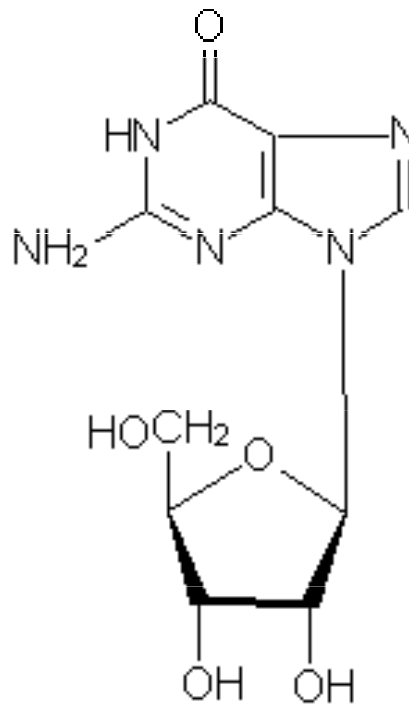
deoxyadenosin

guanosin

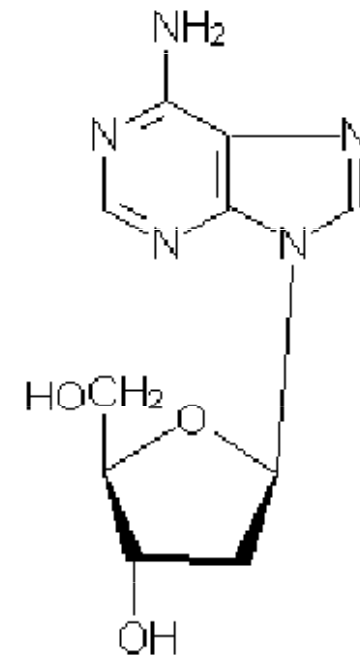
deoxyguanosin



adenosin



guanosin



deoxyadenosin

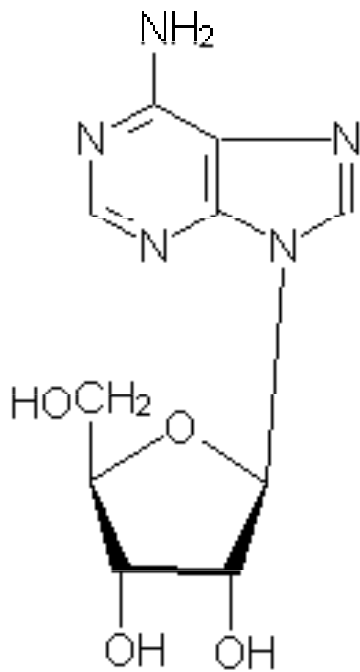
Purinové nukleosidy

adenosin

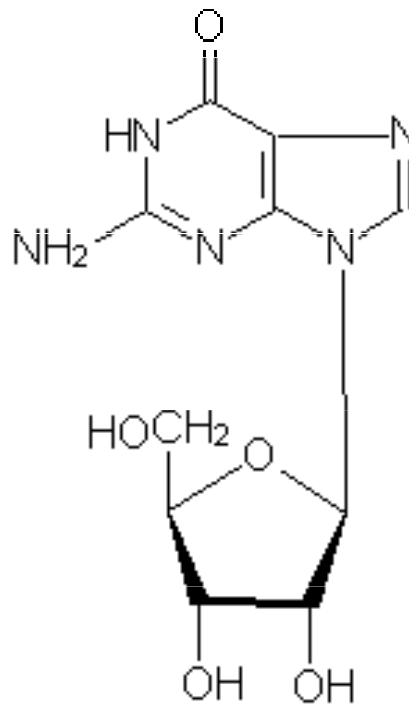
deoxyadenosin

guanosin

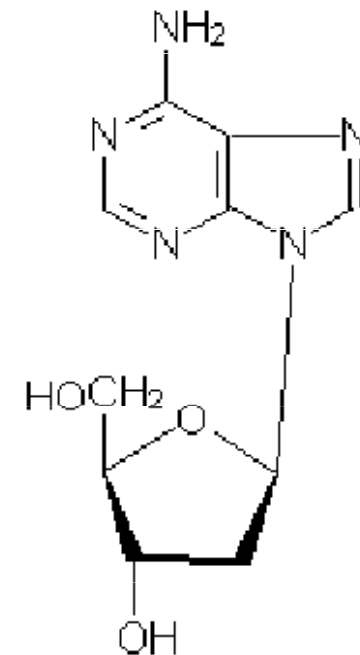
deoxyguanosin



adenosin



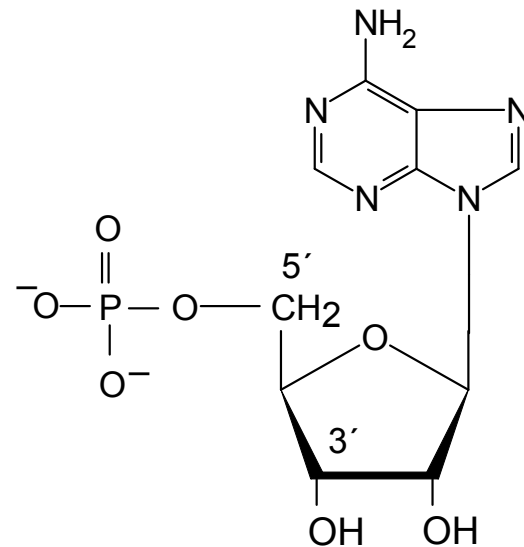
guanosin



deoxyadenosin

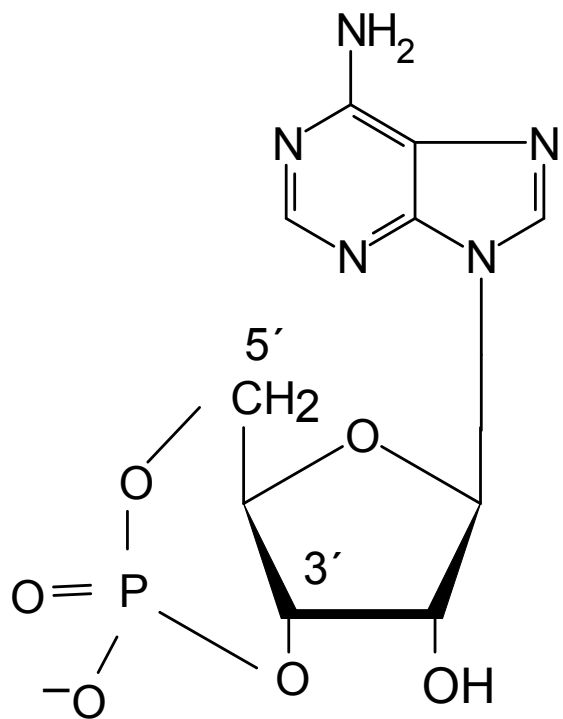
Nukleotidy

Nukleosid + kyselina fosforečná
esterová vazba



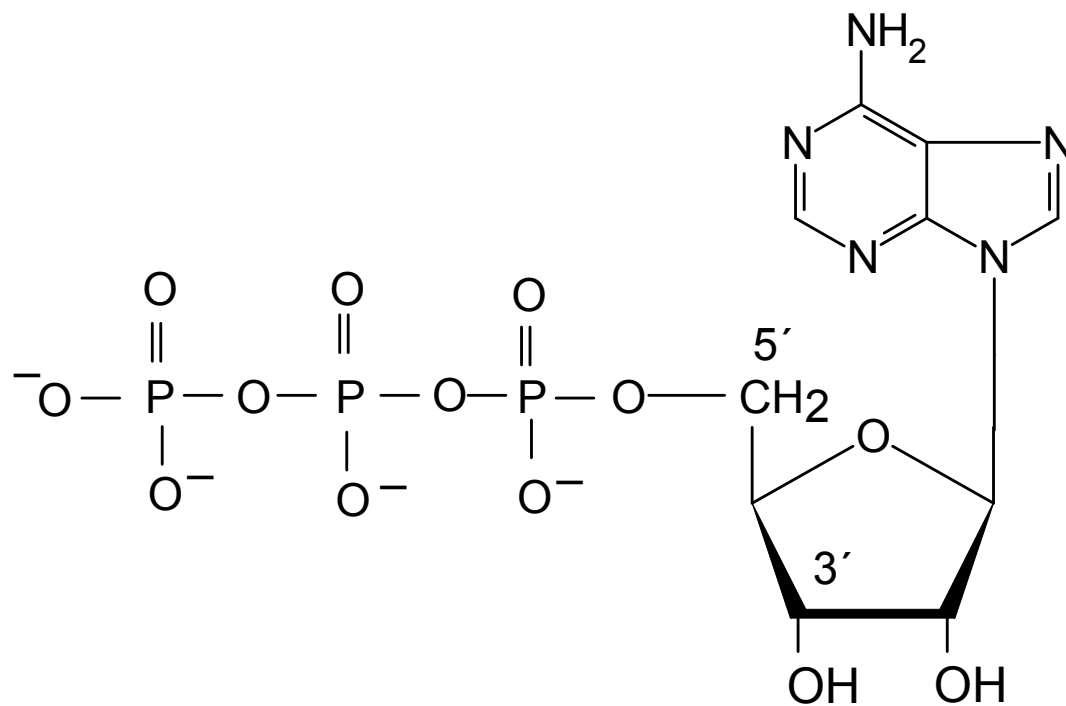
AMP

adenosin-5'-monofosfát



c-AMP

cyklický adenosin-3',5'-monofosfát



ATP

adenosin -5'-trifosfát

Báze	Nukleosid	Nukleotid	
adenin	adenosin (A)	adenosin-5'-monofosfát	AMP
guanin	guanosin (G)	guanosin-5'-monofosfát	GMP
cytosin	cytidin (C)	cytidin-5'-monofosfát	CMP
uracil	uridin (U)	uridin-5'-monofosfát	UMP
thymin	thymidin (dT)	thymidin-5'-monofosfát	dTMP

Nukleotidy v metabolismu

- **STAVEBNÍ JEDNOTKY NUKLEOVÝCH KYSELIN**

- **ATP**

makroergní sloučenina, zásoba energie

- **c-AMP**

zprostředkuje účinek hormonů nebo neurotransmiterů

„druhý posel“

- **UTP , CTP**

biosyntéza cukerných derivátů a lipidů

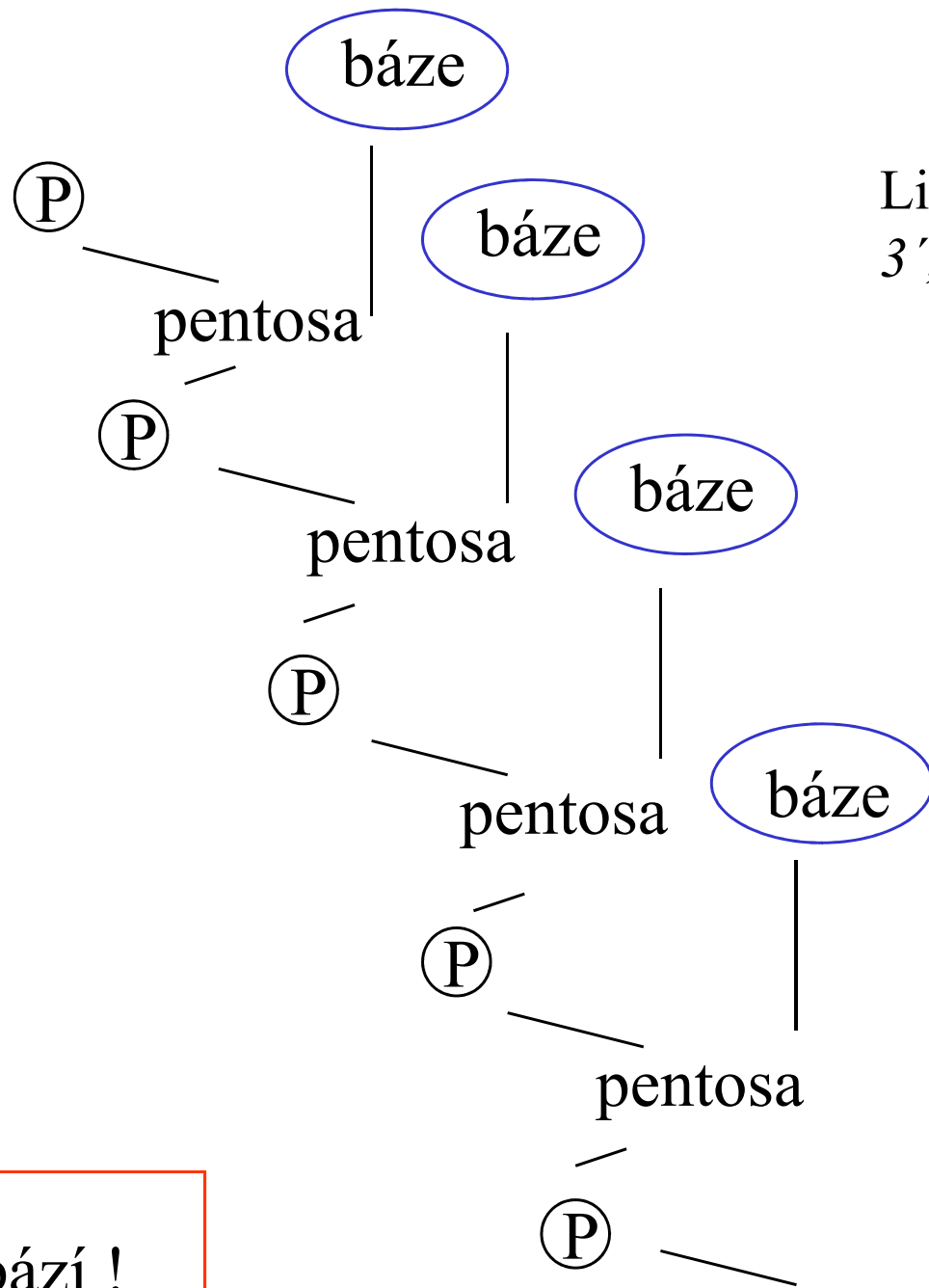
.....
NAD⁺ (nikotinamidadeninukleotid)

FAD a FMN (flavinadeninukleotid a flavinmononukleotid)

koenzymy oxidačně-redukčních reakcí (přenos vodíku)

Nukleové kyseliny

- biopolymery
- polynukleotidy
 - až miliony nukleotidů
- genetická informace



Lineární řetězec polynukleotidů
3', 5'-fosfodiesterová vazba

5' - konec

3' - konec

Pořadí bází !

Rozdělení nukleových kyselin

DNA

deoxyribosa

adenin, guanin, cytosin

thymin

RNA

ribosa

adenin, guanin, cytosin

uracil



Nositel genetické informace

- **genetická informace** – informace o syntéze
všech proteinů v buňce
- **strukturní gen** - informace o syntéze jedné bílkoviny
- **genom** - soubor všech genů

Struktura DNA

- dvouvláknová
- 2 komplementární řetězce
- vodíkové vazby $A = T$
 $G \equiv C$
- dvojitá pravotočivá šroubovice

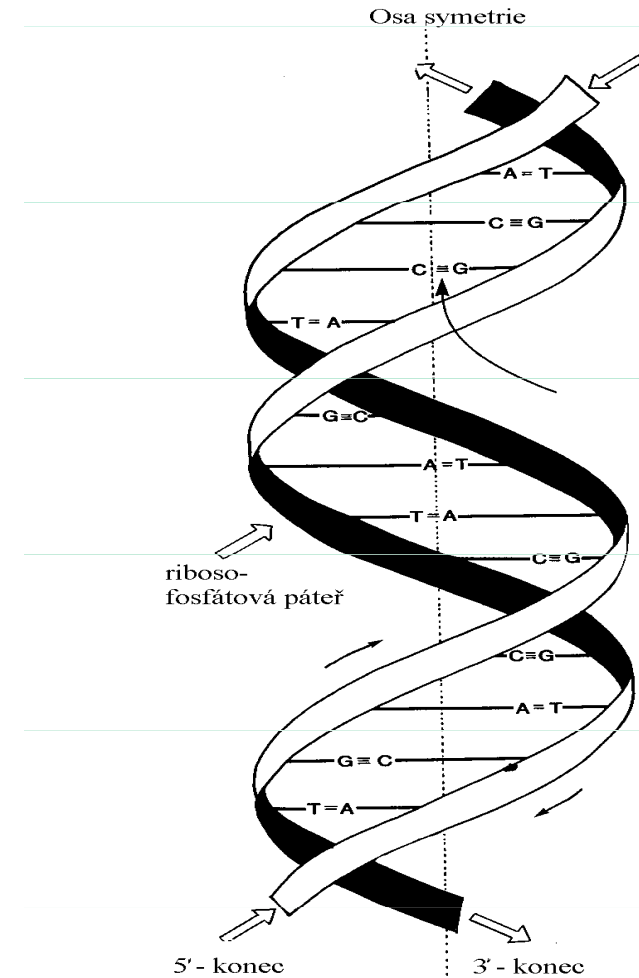
Model DNA

Watson a Crick

1953

1962 Nobelova cena

(Watson, Crick, Wilkins)



Pravotočivá šroubovice

Jak je genetická informace zapsána ve struktuře DNA ?

sekvence bází

čtyřpísmenná abeceda

Různé příklady lineárních zápisů:

objevení struktury DNA patří k....

♪♪♪♪♪♪♪♪

• — • — • • — • — • •

TTCGAGCGTAACCTA

Sekvence bází párování bází

genetická informace - zapsána

- uchována

- čtena

- předávána

Sekvence bází v DNA určuje sekvenci aminokyselin v proteinu

triplet bází - kóduje jednu aminokyselinu

Charakteristika DNA

- výskyt v jádře

obsahuje asi 3×10^9 nukleotidů – délka asi 1,5 m

ve formě chromatinu - molekuly DNA jsou

asociovány s histony

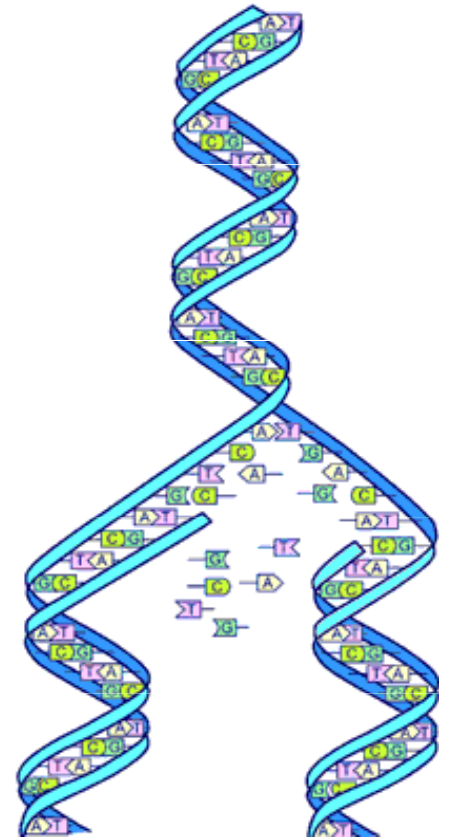
- při dělení buněk probíhá replikace DNA

přenos genetické informace

Replikace

- proces vytvoření komplementárního nového vlákna DNA k původnímu vláknu DNA

Buňka kopíruje celý svůj genom



RNA

- jednořetězové (kratší než DNA)
- vznik RNA - podle přepisu z určitých úseků DNA
(komplementarita bází)
- úprava enzymovým štěpením a sestřihem
- výskyt i různých modifikovaných bází
- rozdělení RNA: mediátorová - mRNA
transferová - tRNA
ribozomální - rRNA

Mediátorová RNA

mRNA

Informační, messenger

- přenos genetické informace z jádra na místo syntézy bílkovin

ribozomy - syntéza polypeptidických řetězců

Transkripce

- přepis genetické informace z DNA do mRNA

párování bází

úloha mRNA - matrice pro syntézu
polypeptidového řetězce

Kodon - triplet - sekvence 3 bází

každá aminokyselina má svůj triplet

64 kódujících tripletů:

61 kodonů - značí aminokyseliny

3 kodony - terminační signály,

signál k ukončení syntézy (terminace)

degenerovaný kód - každá aminokyselina je kódována

větším počtem tripletů

Transferová RNA

tRNA

- účastní se procesu translace na ribozomech

Translace

- **syntéza bílkovin**

probíhá v endoplasmatickém retikulu na ribozomech

úloha tRNA :

aminokyseliny: - navazuje

- přenáší

- zařazuje do polypeptidového

řetězce

Struktura tRNA

Jetelový list

raménka

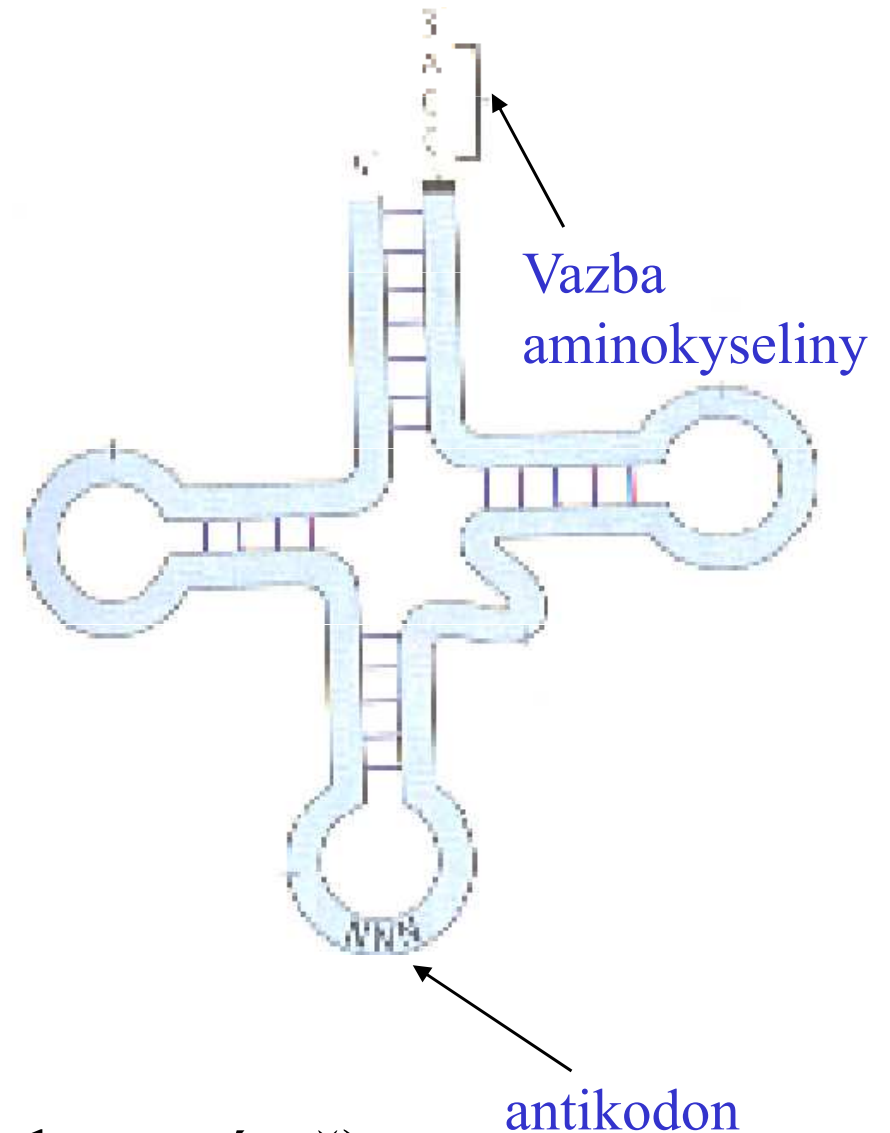
místo vazby aminokyseliny

antikodon

ANTI-KODON

ve struktuře tRNA

váže se na kodón v mRNA (komplementárně)



Ribosomová RNA

rRNA

- **strukturní součást ribosomů**

ribosomy- místo syntézy polypeptidových řetězců