

# Aminokyseliny & Peptidy

© Biochemický ústav LF MU (J.D.) 2008

# Osnova

- Výslovnost a etymologie aminokyselin
- Chiralita aminokyselin
- Charakter vedlejšího řetězce a důsledky z toho plynoucí
- Acidobazické vlastnosti aminokyselin
- Hlavní biochemické přeměny aminokyselin
- Nestandardní aminokyseliny
- Vybrané peptidy (hormony, toxiny)

# Jazyková poznámka: výslovnost

- výslovnost přípony *-nin* je tvrdá [nyn]
- **česky:** alanin [alanyn]
- **anglicky:** alanine [æləny:n]
- stejně i v jiných názvech:  
threonin, arginin, adenin, guanin,  
chinin, serotonin, kreatinin ...



# Jazyková poznámka: Původ názvů aminokyselin

Aminokyselina	Původ názvu
alanin	složenina z <u>al</u> dehyd ky <u>an</u> hydr <u>in</u> (substrát syntézy)
arginin	arginin nitrát připomíná stříbro, lat. <i>argentum</i>
asparagin	poprvé izolován z chřestu, lat. <i>asparagus</i>
asparagová kys.	od asparaginu (produkt hydrolýzy)
cystin	poprvé izol. z moč. kamene, řec. <i>cystis</i> (moč. měchýř)
cystein	od cystinu (produkt hydrogenace)
fenylalanin	fenyl derivát alaninu
glutamin	poprvé izolován z rostlinného proteinu <i>glutenu</i>
glutamová kys.	od glutaminu (produkt hydrolýzy)
glycin	má sladkou chuť, řec. <i>glykos</i>

# Jazyková poznámka: Původ názvů aminokyselin

Aminokys.	Původ názvu
histidin	z řec. <i>histos</i> (tkáň)
leucin	tvoří bílé krystalky, řec. <i>leukos</i> (bílý)
isoleucin	<u>isomer</u> leucinu
lysin	objeven při hydro <u>lýze</u> kaseinu, z řec. <i>lysis</i>
methionin	obsahuje <u>methyl</u> na atomu síry, řec. <i>theion</i>
prolin	obsahuje heterocyklus <u>pyrrolidin</u>
serin	poprvé izolován z hedvábí, lat. <i>sericum</i>
taurin	poprvé izolován ze žluče býka, lat. <i>taurus</i> , nestandardní AK
threonin	má podobnou konfiguraci jako monosacharid <i>threosa</i>
tryptofan	objeven při štěpení trypsinem, řec. <i>tryptic</i> + <i>phane</i> (objev)
tyrosin	poprvé izolován ze sýru, řec. <i>tyros</i>
valin	podle kys. valerové, izolované z <i>Valeriana officinalis</i>

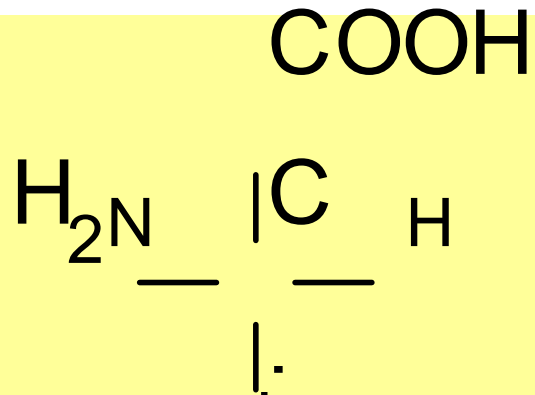


# Chiralita aminokyselin

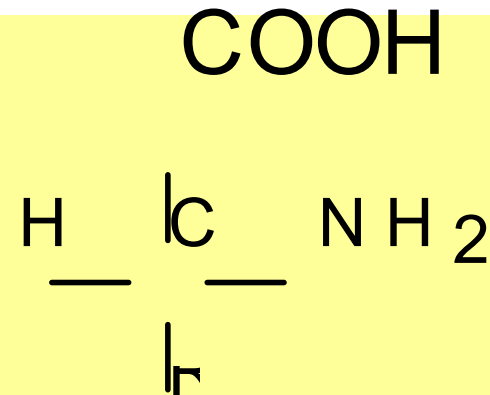
- Většina AK je chirální (jeden C\*)
- Pouze glycin je achirální = nemá asymetrický uhlík
- Threonin a isoleucin mají dva C\*  $\Rightarrow$  4 izomery
- V lidském těle se vyskytují a jsou biochemicky využitelné jen L-aminokyseliny
- D-aminokyseliny jen zřídka – jejich role nejasná

# Fischerova D/L-konvence

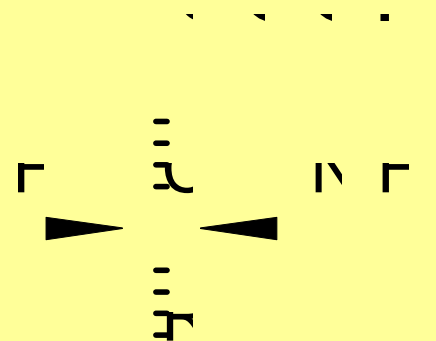
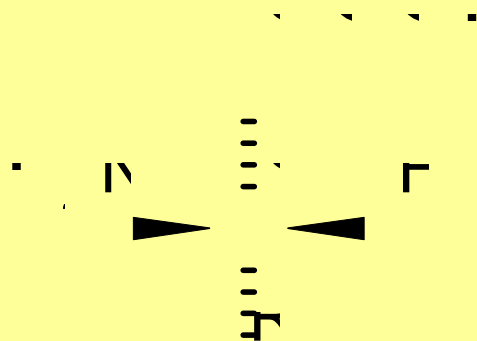
pravidla:  
LCH II, s. 12



L-aminokyselina

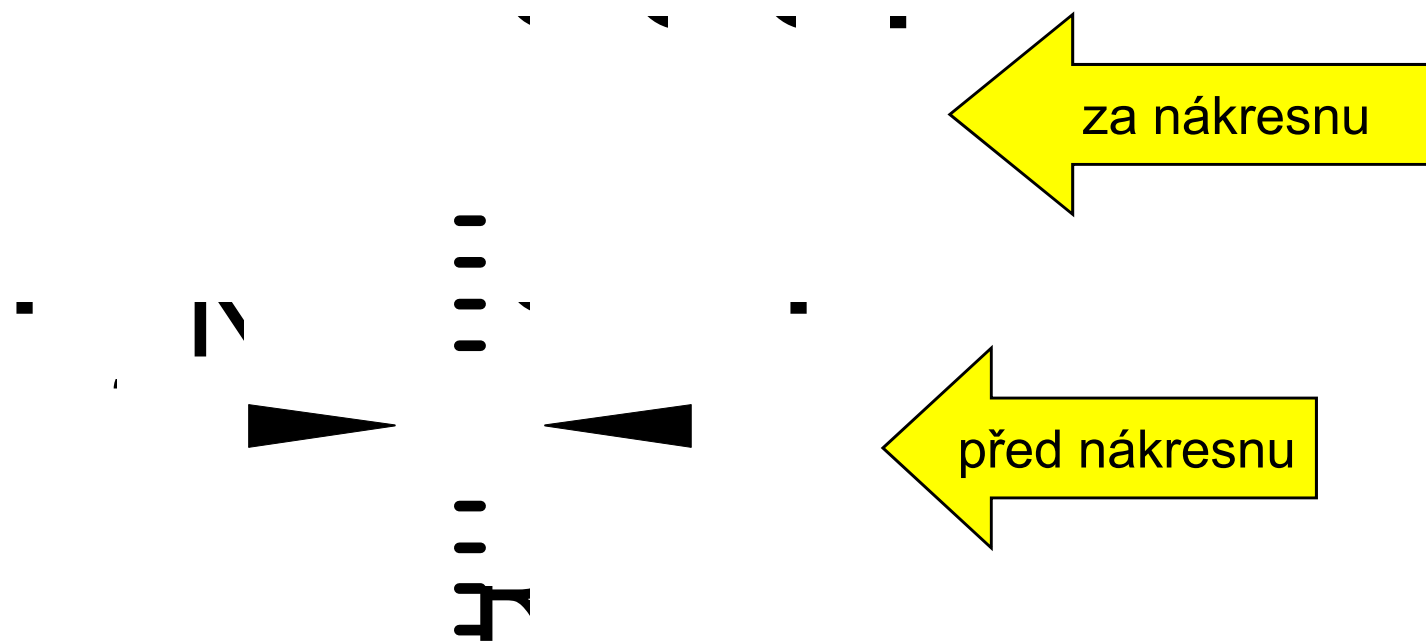


D-aminokyselina

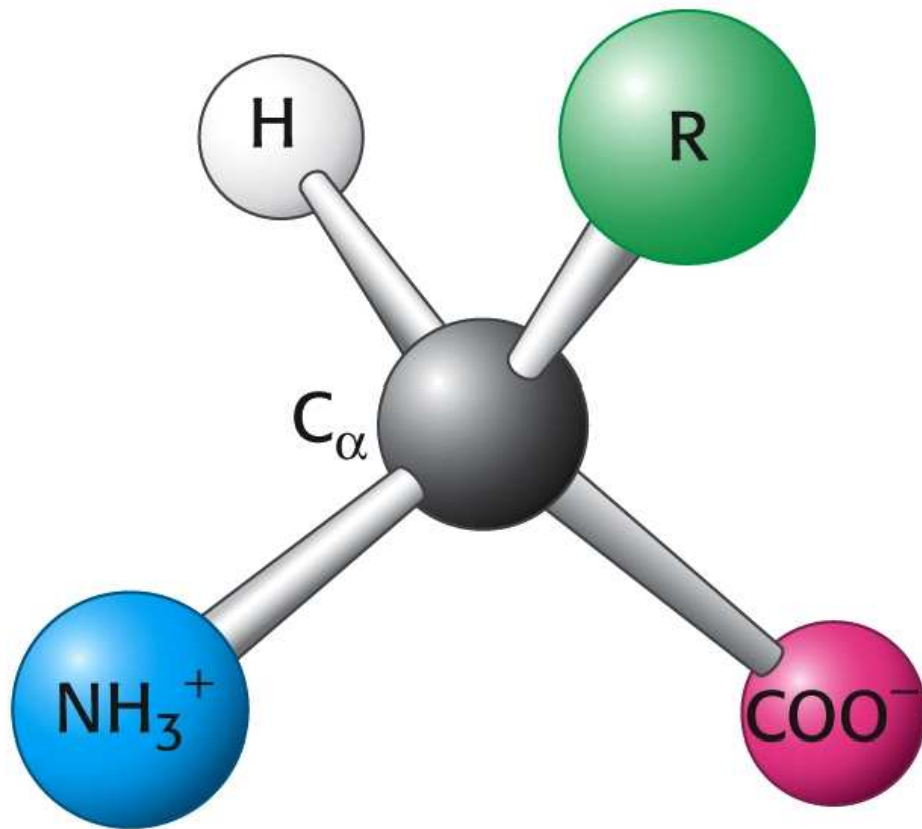




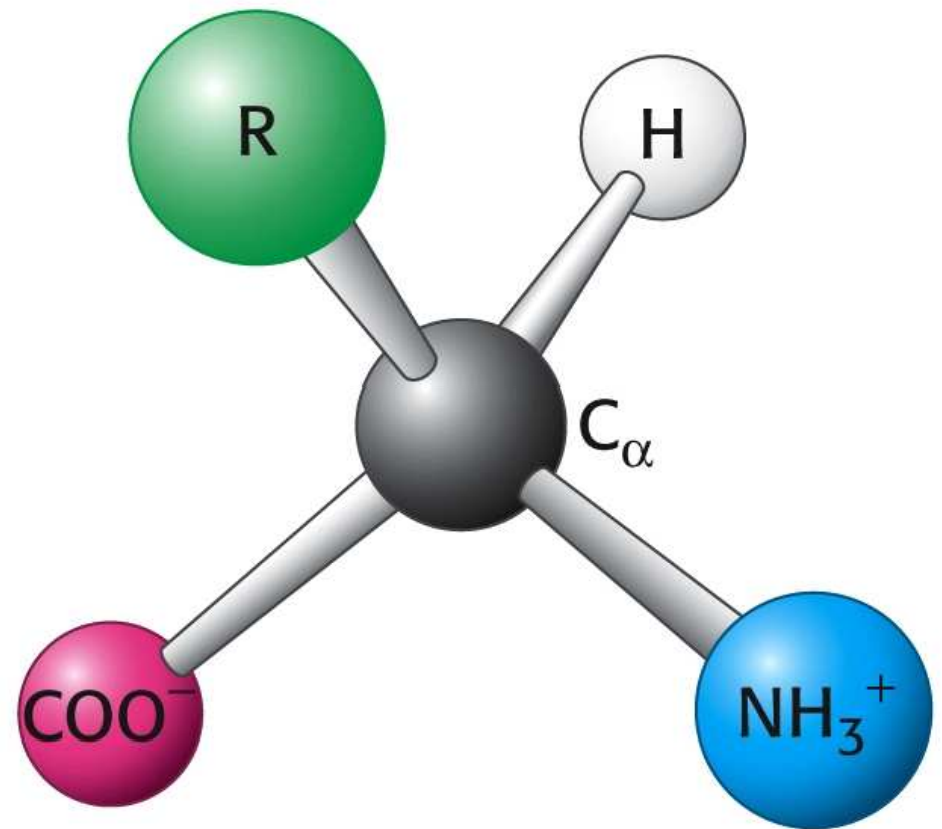
# Stereoprojekce



# Dvojí pohled na chirální centrum

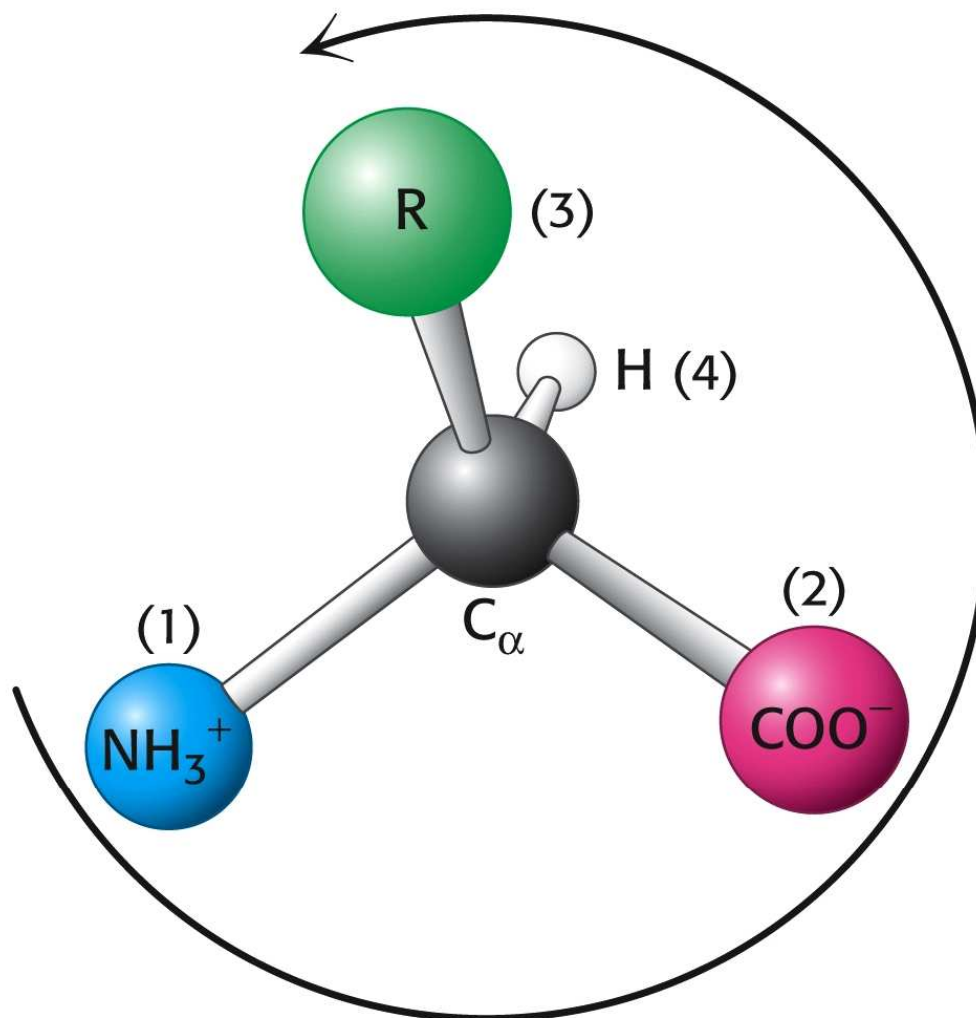


**L-forma**  
**S-izomer**



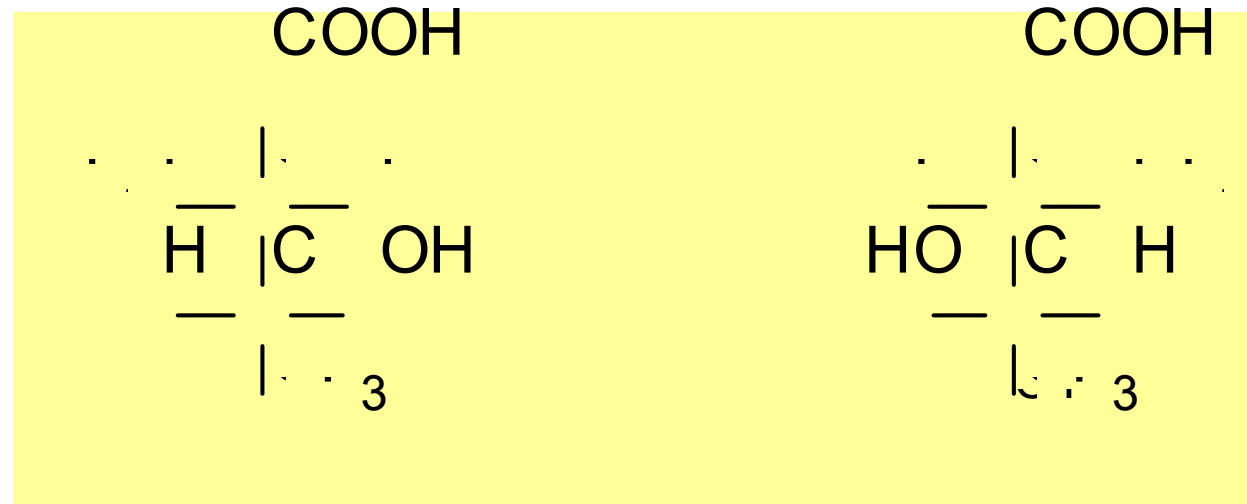
**D-forma**  
**R-izomer**

## R/S-konvence: pořadí substituentů na obvodu volantu



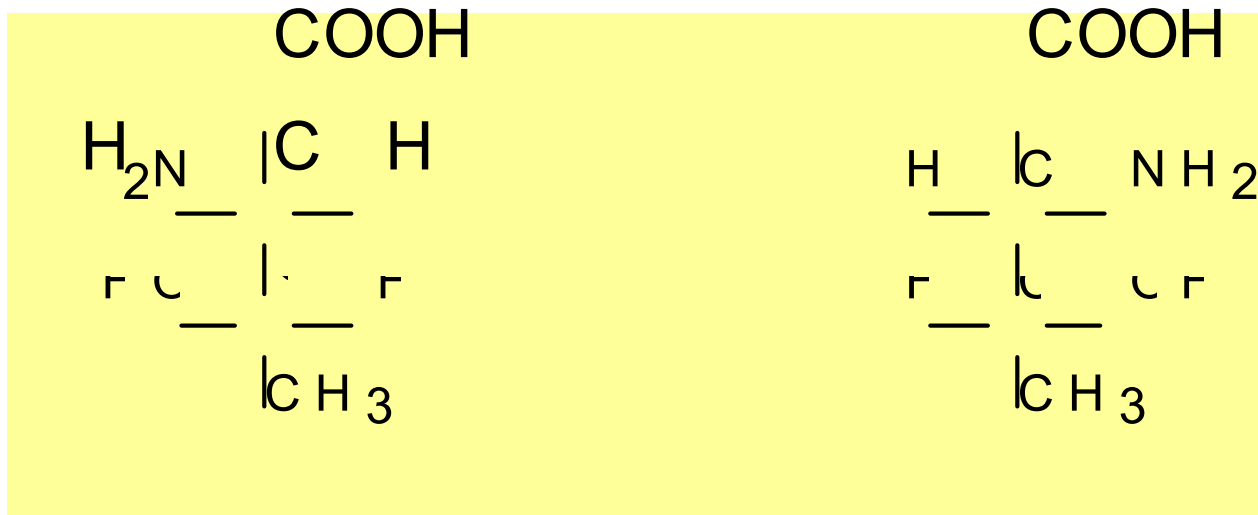
Pořadí 1-2-3 je proti směru hod. ručiček  $\Rightarrow$  S-konfigurace

# Čtyři izomery threoninu ( $2^2 = 4$ )



L-threonin

D-threonin



L-allothreonin

D-allothreonin



# Výskyt D-aminokyselin

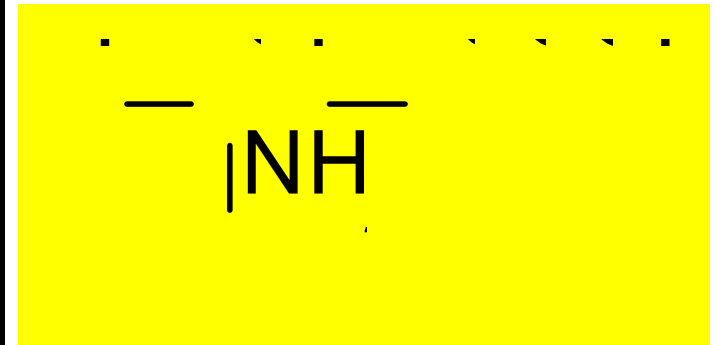
- V buněčných stěnách bakterií
- V metabolických produktech bakterií a plísní (antibiotika často obsahují D-AK)
- Volné D-AK se vyskytují ve fermentovaných nebo mikrobiálně kontaminovaných potravinách
- V lidském těle se s věkem zvyšuje obsah D-aspartátu v metabolicky inertních proteinech (zubní sklovina) – *in situ* racemizace
- Racemizace L-AK může být příčinou a/nebo indikátorem různých chorob (šedý zákal, Alzheimerova choroba ...)

# Charakter vedlejšího řetězce (R) rozhoduje o typu nevazebných interakcí v proteinech

- vedl. řetězec je nepolární (9 AK) .... **hydrofobní interakce**
- vedl. řetězec je polární (6 AK) .... **H-můstky**
- vedl. řetězec je ionizovaný kladně (3 bazické AK)  
**nebo záporně (2 kyselé AK) .... elektrostatické interakce**

# Nepolární skupiny vytvářejí hydrofobní interakce

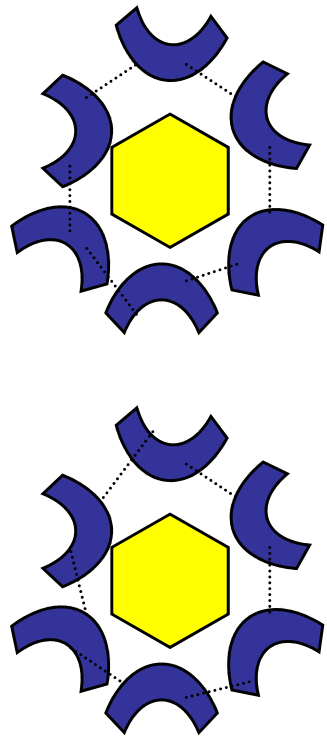
AK	Nepolární skupina R
Glycin	H
Alanin	methyl
Valin	isopropyl (propan-2-yl)
Leucin	isobutyl (2-methylpropyl)
Isoleucin	isobutyl (1-methylpropyl)
Fenylalanin	fenyl
Prolin	trimethylen (cyklizovaný)
Tryptofan	indolylmethyl
Methionin	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3$ *



\* 2-(methylsulfanyl)ethyl

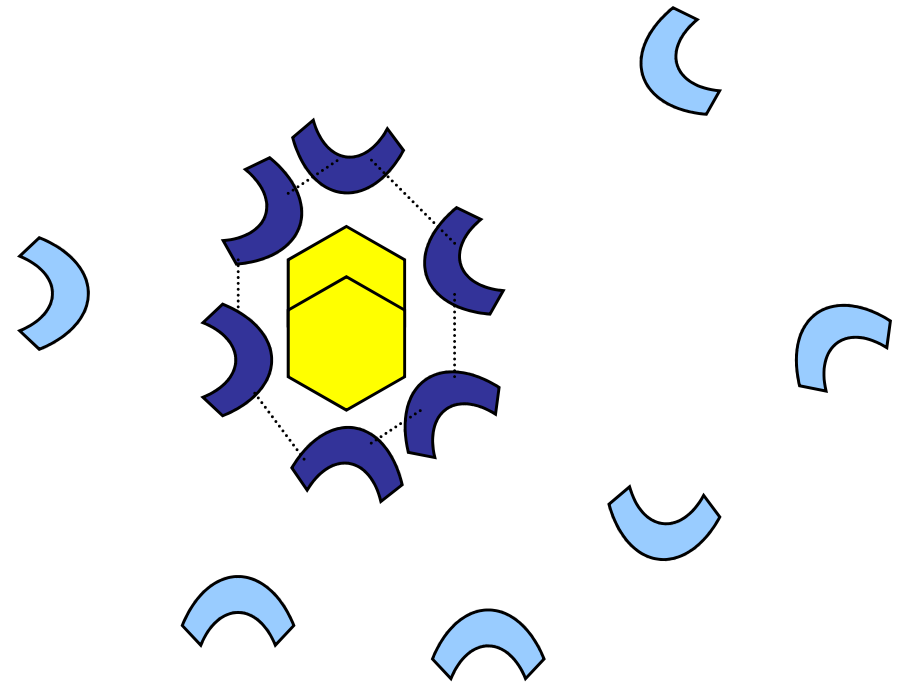
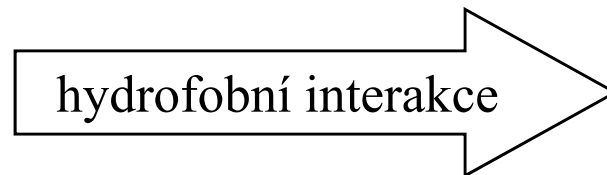


# Hydrofobní interakce ve vodném prostředí



dvě nepolární molekuly  
ve vodném prostředí

molekuly vody jsou „násilně“  
organizované (klíčka, klastr)  
– mají **nízkou entropii**



dvě nepolární molekuly se shlukly,  
přiblížily k sobě

šest molekul vody se uvolnilo,  
jsou „neorganizované“  
– mají **vysokou entropii**

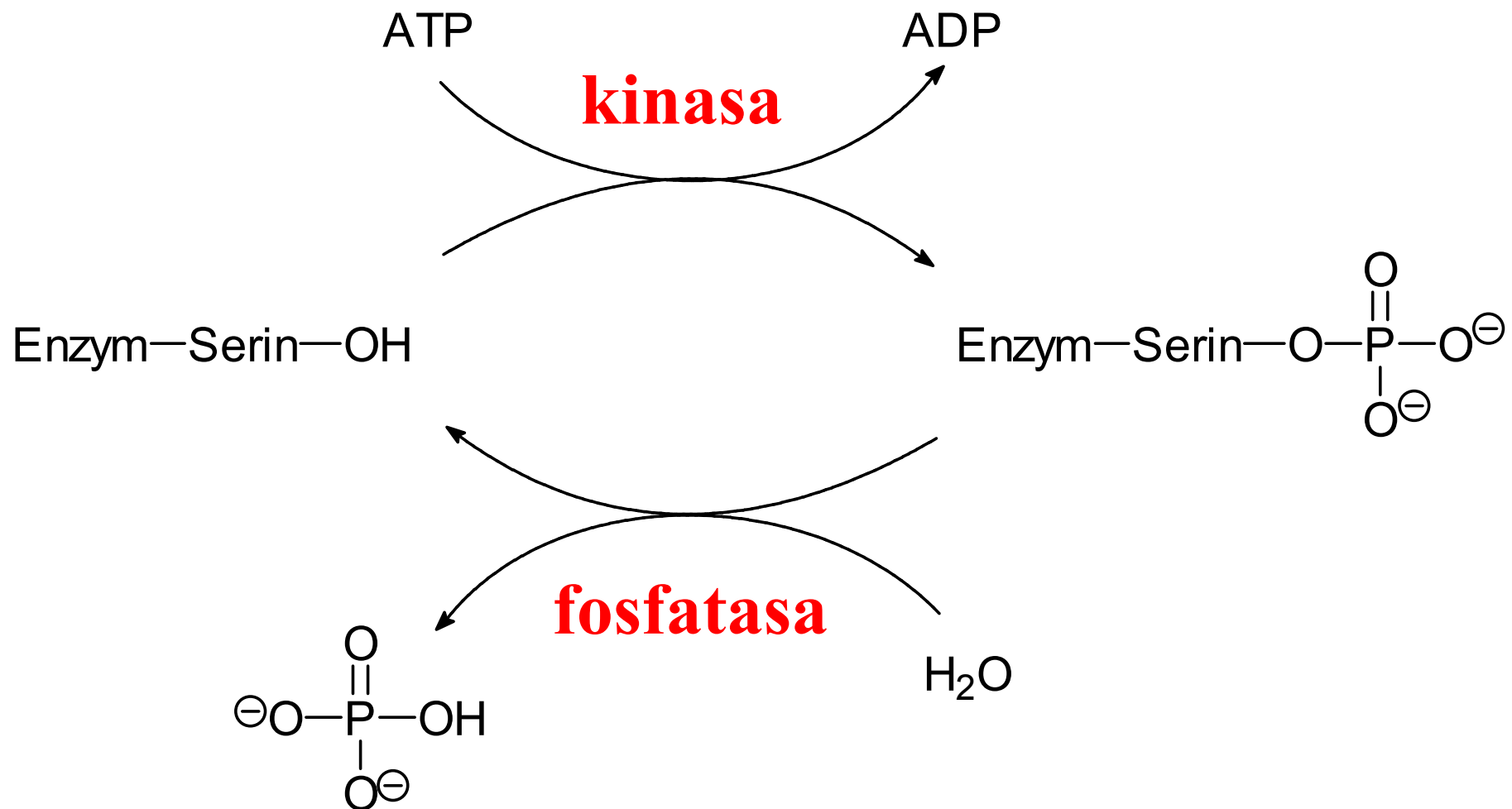
Při hydrofobní interakci se zvyšuje neuspořádanost většího počtu molekul  
vody – celková entropie systému se zvyšuje

# Aminokyseliny s polárními skupinami

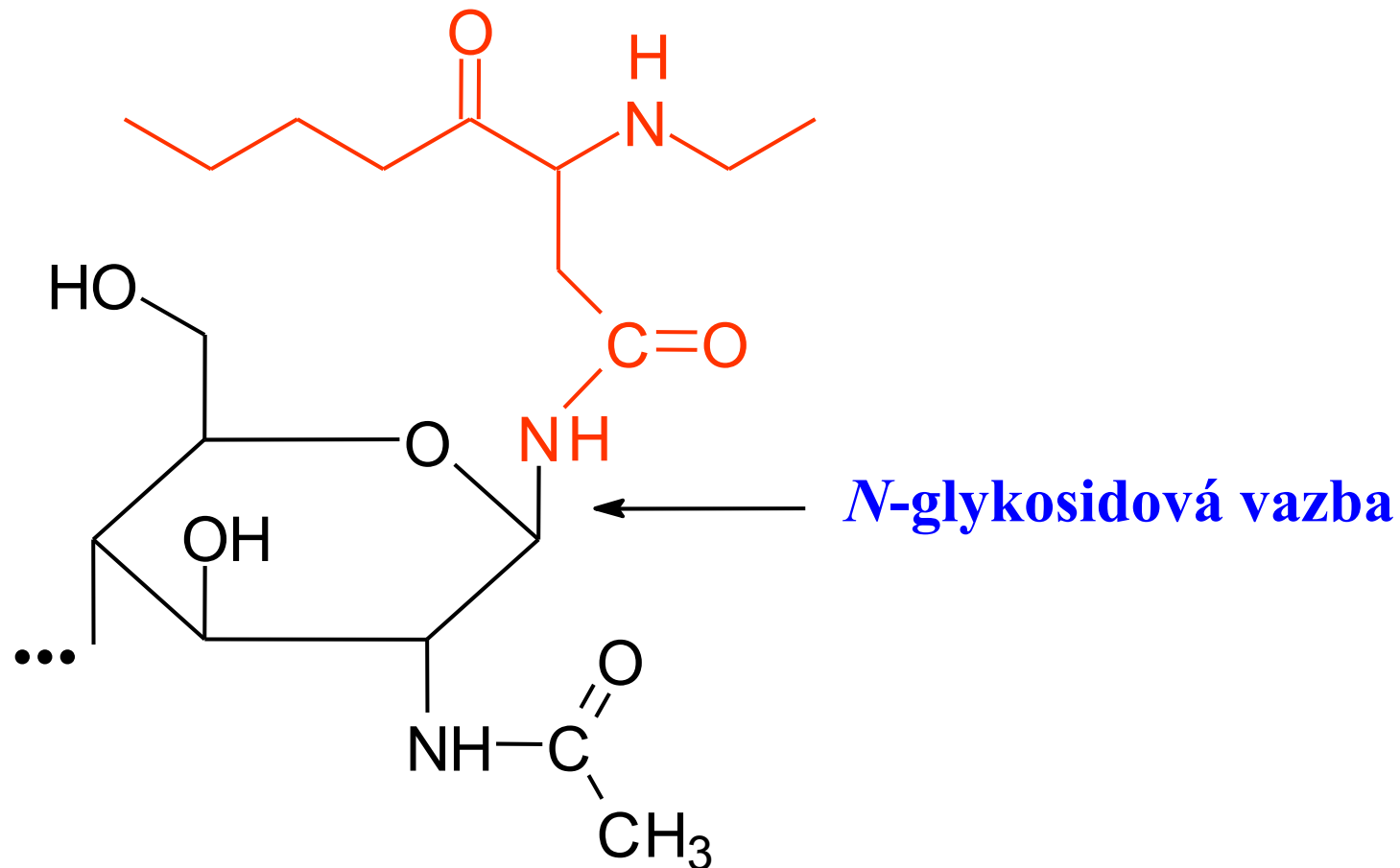
AK	Polární skupina	Funkce skupiny v bílkovině
Ser	alkohol. hydroxyl (-OH)	H-vazby, fosforylace, glykosylace, katalýza*
Thr	alkohol. hydroxyl (-OH)	H-vazby, fosforylace, glykosylace
Tyr	fenol. hydroxyl (-OH)	H-vazby, fosforylace,
Asn	amidová -CO-NH <sub>2</sub>	H-vazby, glykosylace (N-glykoproteiny)
Gln	amidová -CO-NH <sub>2</sub>	H-vazby
Cys	-SH (sulfanyl)	nukleofil ⇒ katalýza

\* serinové proteázy

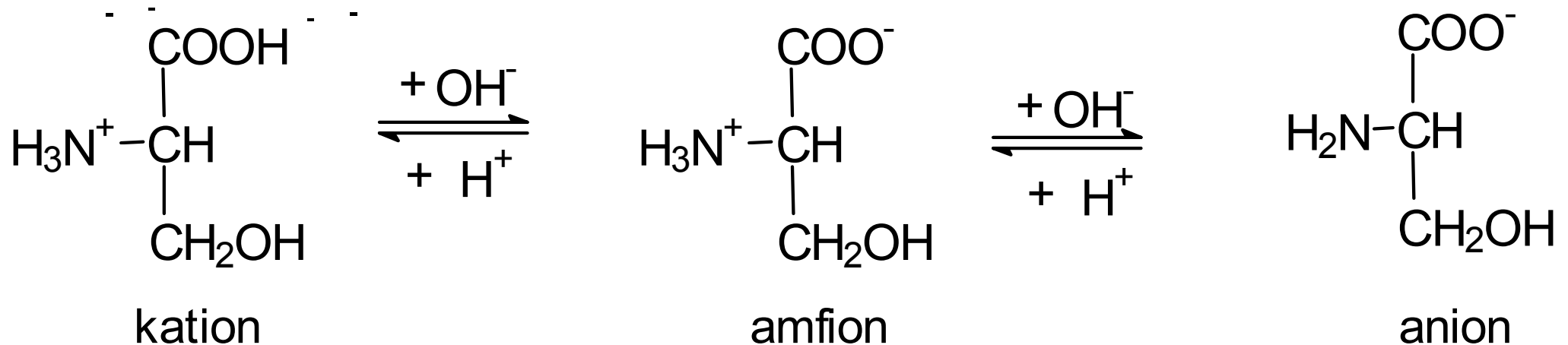
# Fosforylace a defosforylace enzymu ovlivňuje jeho aktivitu



# *N*-glykosidová vazba mezi asparaginem (Asn) a *N*-acetylglukosaminem v *N*-glykoproteinech



# Ionizace aminokyselin závisí na pH



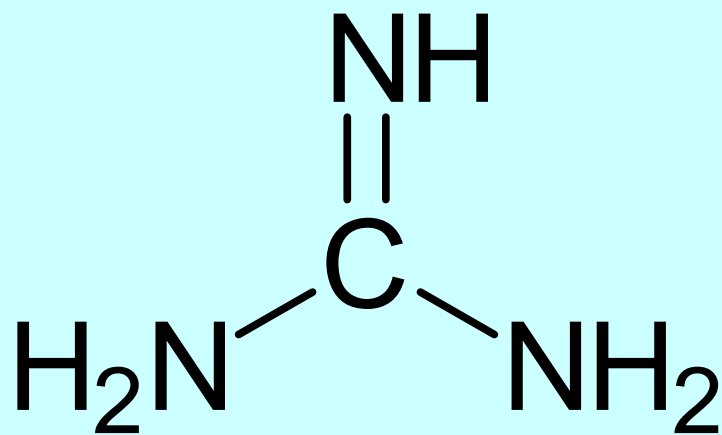
Které aminokyseliny mají při fyziologickém pH 7,40 v postranním řetězci ionizovanou skupinu?

# Aminokyseliny s ionizovanými skupinami

AK	Kyselá skupina	$pK_A$	Disociace	Náboj
			Při pH 7,40	
<b>Asp</b>	$\beta$ -Karboxyl	3,9	úplná	<b>záporný</b>
<b>Glu</b>	$\gamma$ -Karboxyl	4,3	úplná	<b>záporný</b>
<b>His</b>	Imidazolium	6,0	částečná*	<b>kladný</b>
<b>Lys</b>	$\epsilon$ -Amonium	10,5	žádná	<b>kladný</b>
<b>Arg</b>	Guanidinium	12,5	žádná	<b>kladný</b>

\* Rozmezí 50 - 100 %

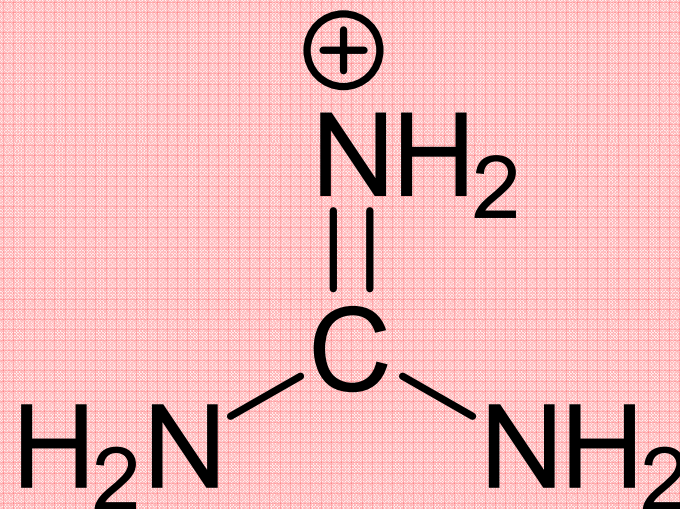
# Rozlišujte



guanidin (iminomočovina)

relativně silná báze (iminodusík)

$$pK_B = 1,5$$

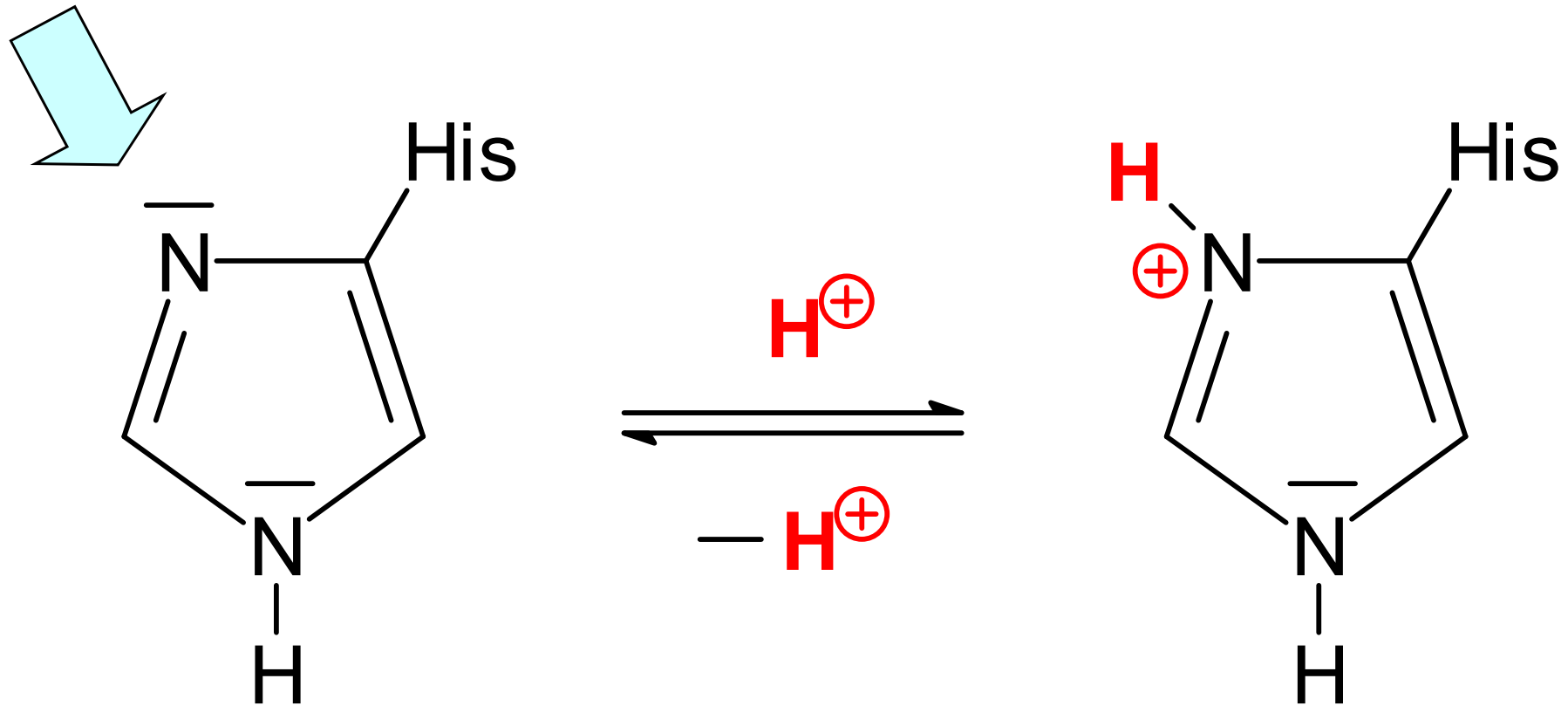


guanidinium

velmi slabá kyselina

$$pK_A = 12,5$$

# Histidin podmiňuje pufrační vlastnosti bílkovin



$$pK_B = 8$$

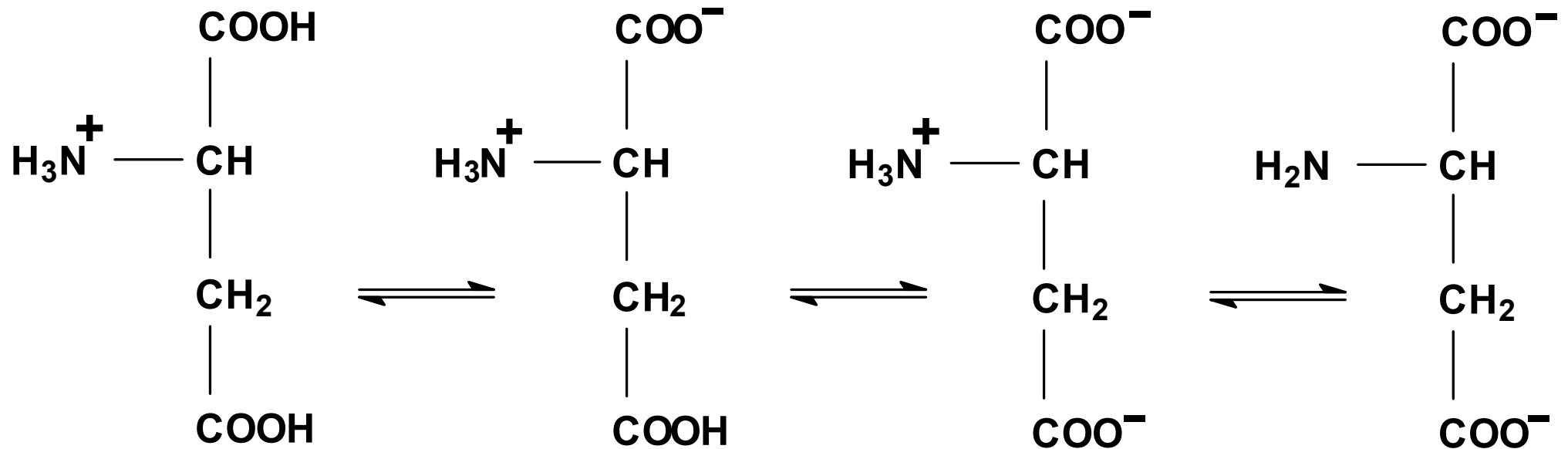
$$pK_A (\text{His}) = 6$$

$$pK_A (\text{His v bílk.}) = 6-8$$





# Postupná disociace asparagové kyseliny



maximálně  
protonizovaná forma

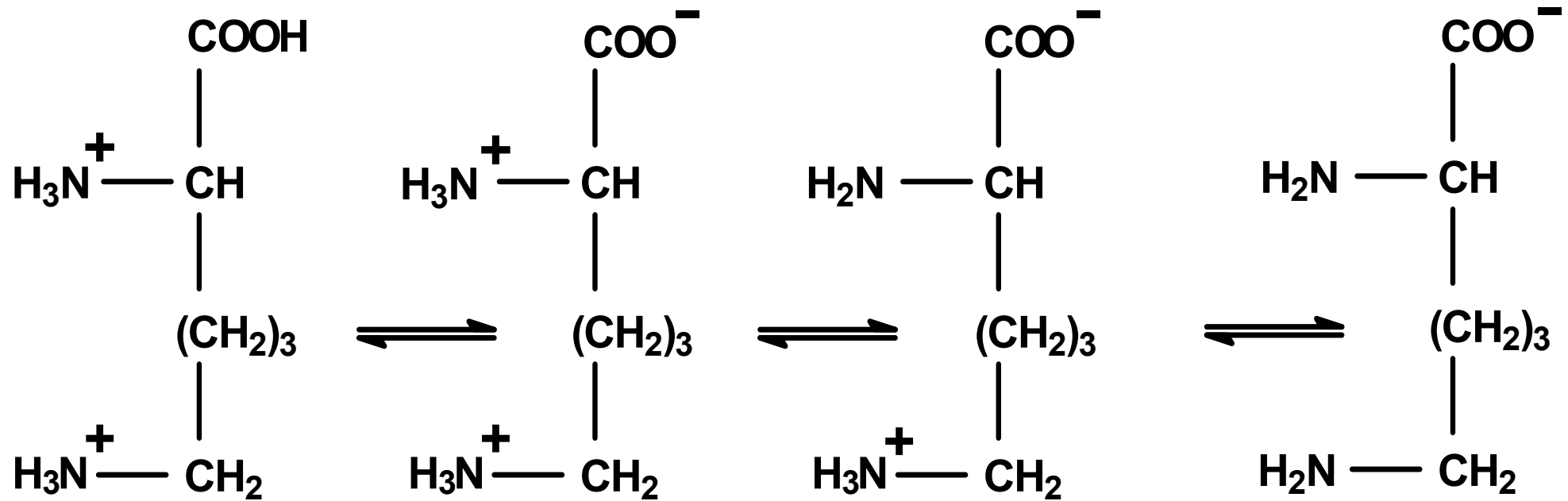
pH

$\text{pK}_{\text{A}1} = 2,19$

$\text{pK}_{\text{A}2} = 3,87$

$\text{pK}_{\text{A}3} = 9,82$

# Postupná disociace lysinu



maximálně  
protonizovaná forma

pH

$\text{pK}_{A1} = 2,18$

$\text{pK}_{A2} = 8,93$

$\text{pK}_{A3} = 10,55$

# Isolelektrický bod je hodnota pH roztoku

- aminokyselina/bílkovina za isoelektrického bodu:
- existuje ve formě amfiontu
- má celkový náboj nulový
- nepohybuje se v elektrickém poli
- má nejmenší stabilitu v roztocích

# Jak počítat pI ?

<b>Neutrální AK</b>	$pI = \frac{1}{2} (pK_{A1} + pK_{A2})$
<b>Bazické AK</b>	průměr $pK$ obou bazických skupin
<b>Kyselé AK</b>	průměr $pK$ obou kyselých skupin

# Jak určit iontovou formu AK

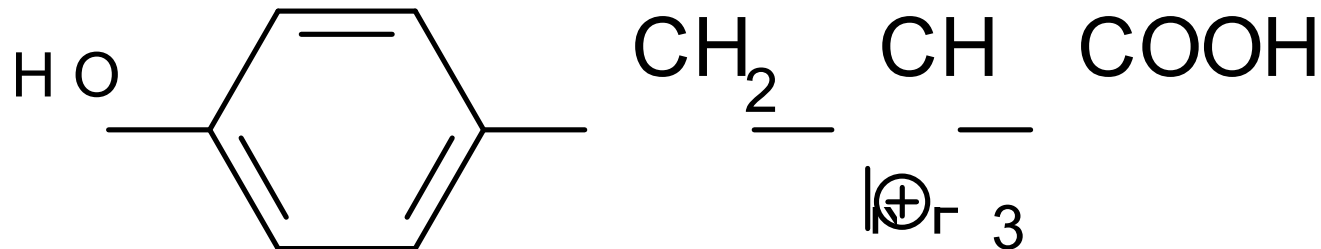


- Nakreslete maximálně protonizovanou formu AK.
- Ke všem kyselým skupinám přiřaďte jejich  $pK_A$  hodnoty.
- U každé kyselé skupiny zvlášť (!) rozhodněte, zda je při daném pH disociovaná či ne.
- Jestliže  $\text{pH} < pK_A \Rightarrow$  skupina je převážně protonizovaná.
- Jestliže  $\text{pH} > pK_A \Rightarrow$  skupina je převážně disociovaná.
- Jestliže  $\text{pH} = pK_A \Rightarrow$  skupina je disociovaná z 50 %.

**Jaká je převažující iontová forma tyrosinu při pH 12 ?**

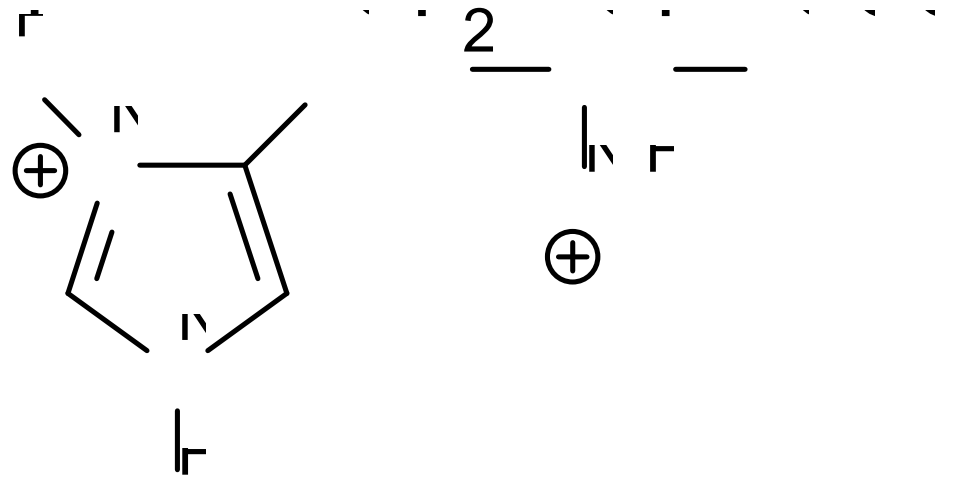
**( $pK_{A1} = 2,2$   $pK_{A2} = 9,1$   $pK_{A3} = 10,1$ )**

**Maximálně protonizovaná forma:**



**Jaká je převažující iontová forma histidinu při pH 7,4 ?**  
**( $pK_{A1} = 1,7$   $pK_{A2} = 9,2$   $pK_{A3} = 6,0$ )**

**Maximálně protonizovaná forma:**

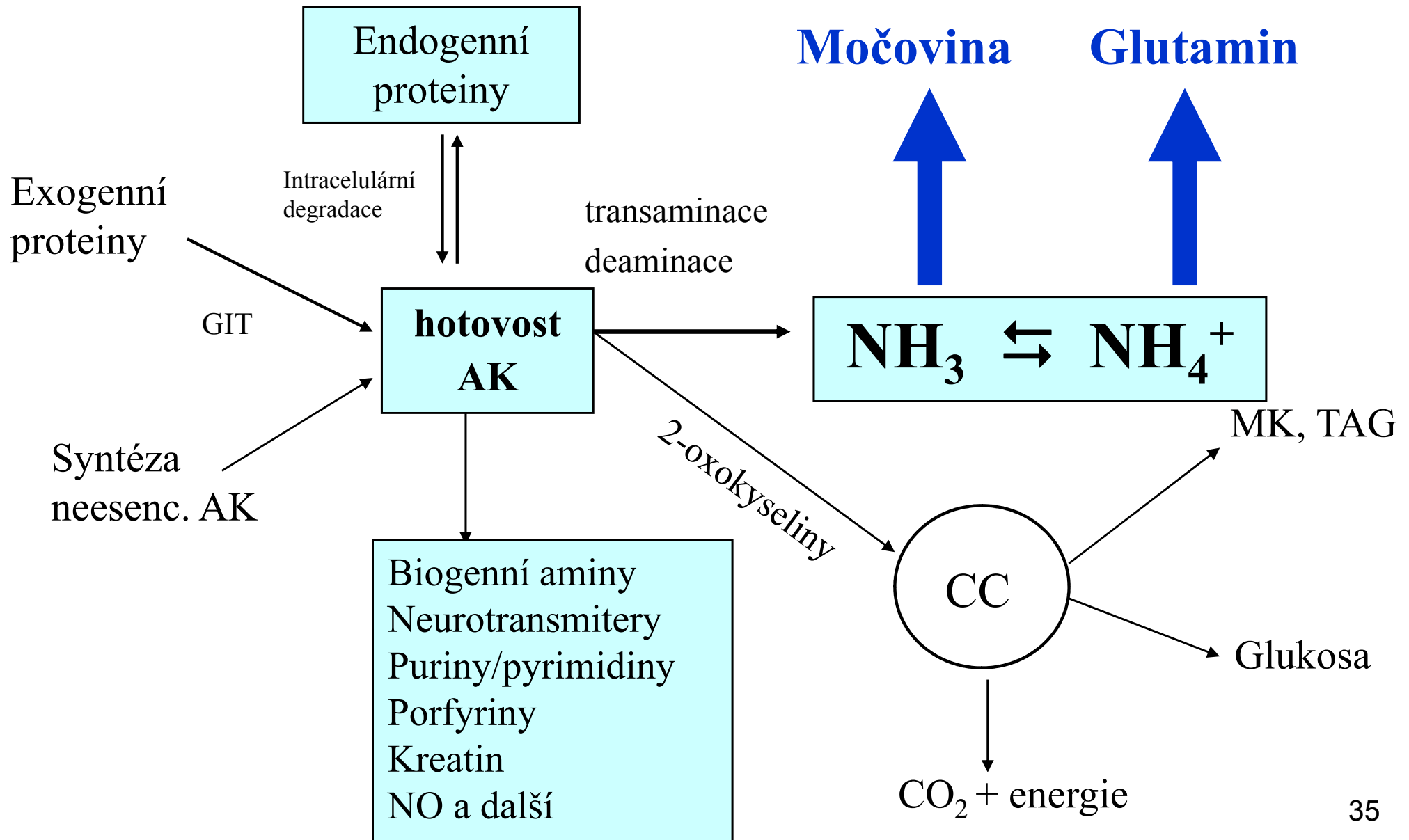






# Biochemické přeměny AK

# Přehled metabolismu aminokyselin



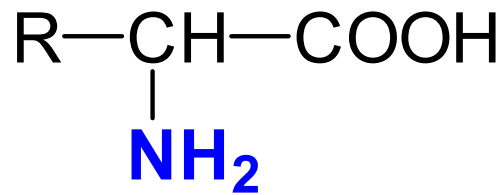
# Esenciální aminokyseliny

- valin
- leucin
- isoleucin
- threonin
- fenylalanin
- tryptofan
- lysin
- methionin

## Podmíněně esenciální

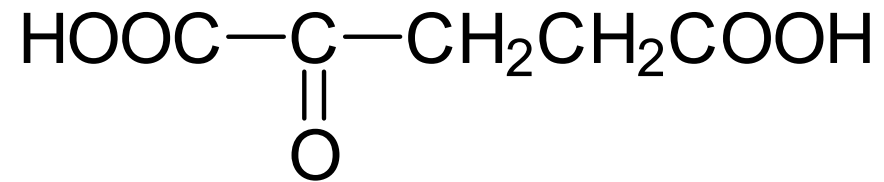
- histidin, arginin - v období růstu
- alanin, glutamin - při metabolickém stresu

# Obecné schéma transaminace



**aminokyselina**

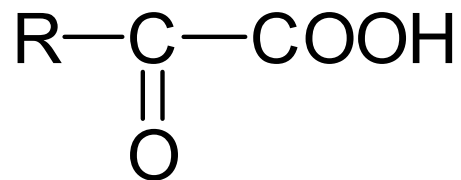
+



**2-oxoglutarát**

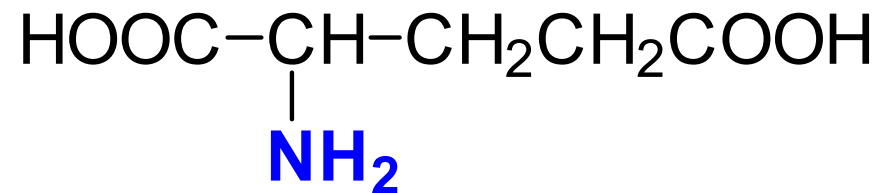


aminotransferasa  
pyridoxalfosfát



**2-oxokyselina**

+



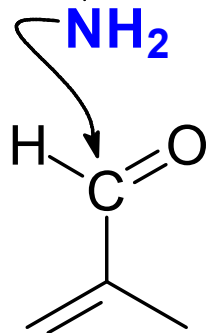
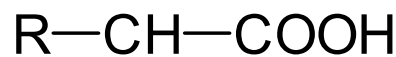
**glutamát**

# 1. Fáze transaminace

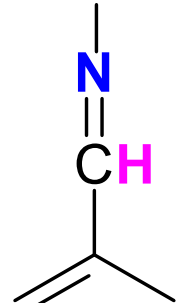
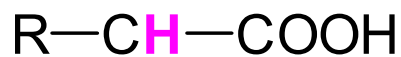
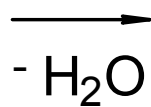
AK → oxokyselina

pyridoxal-P → pyridoxamin-P

aminokyselina

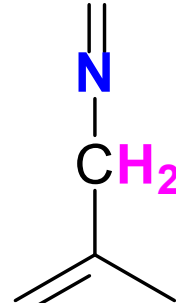
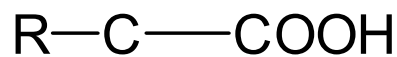


pyridoxal-P

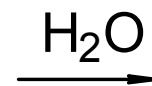


Schiffova báze  
aldimin pyridoxalu

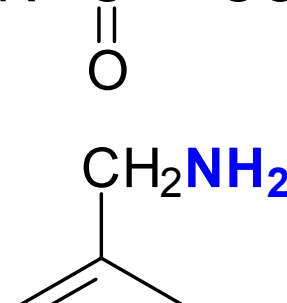
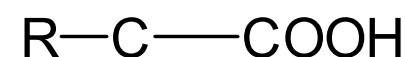
izomerace



iminokyselina  
ketimin oxokyseliny



oxokyselina

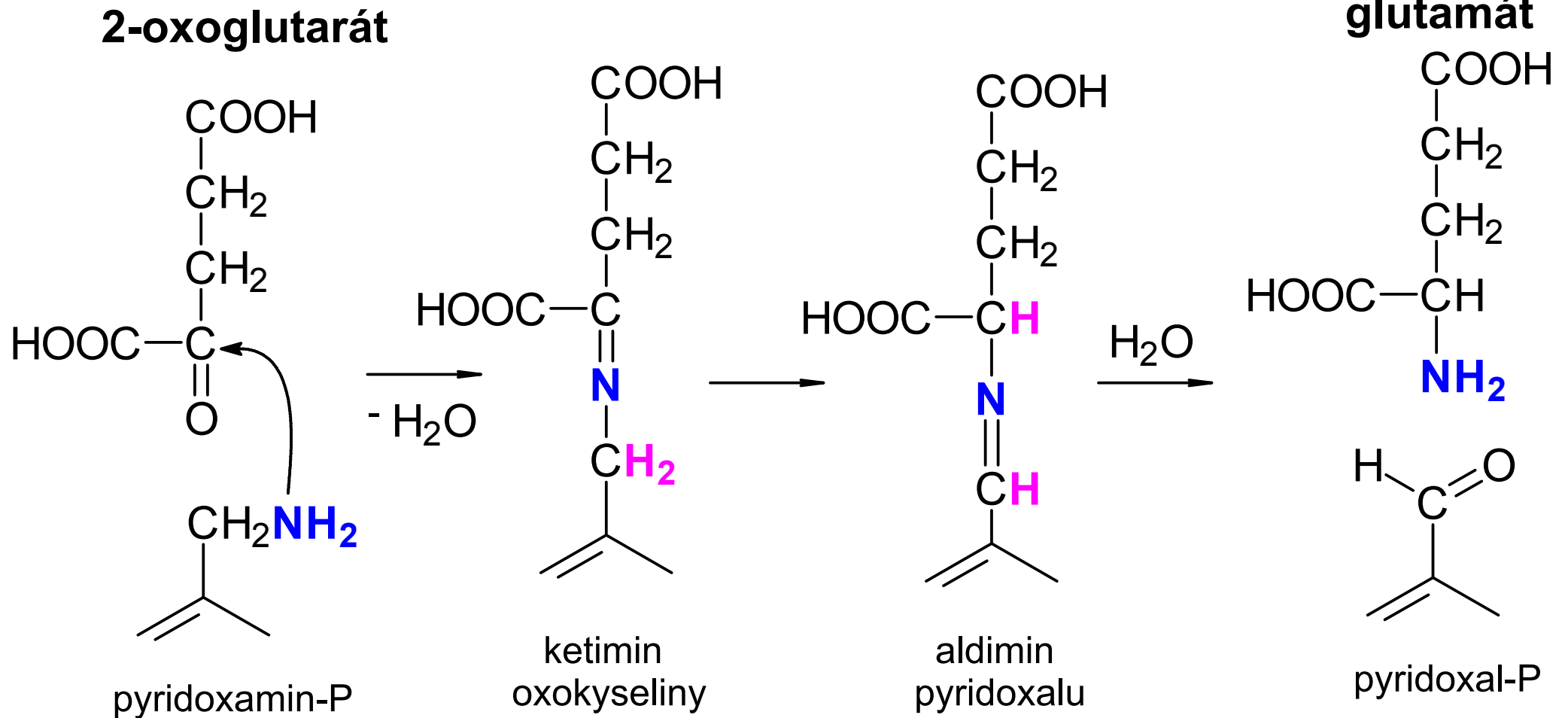


pyridoxamin-P

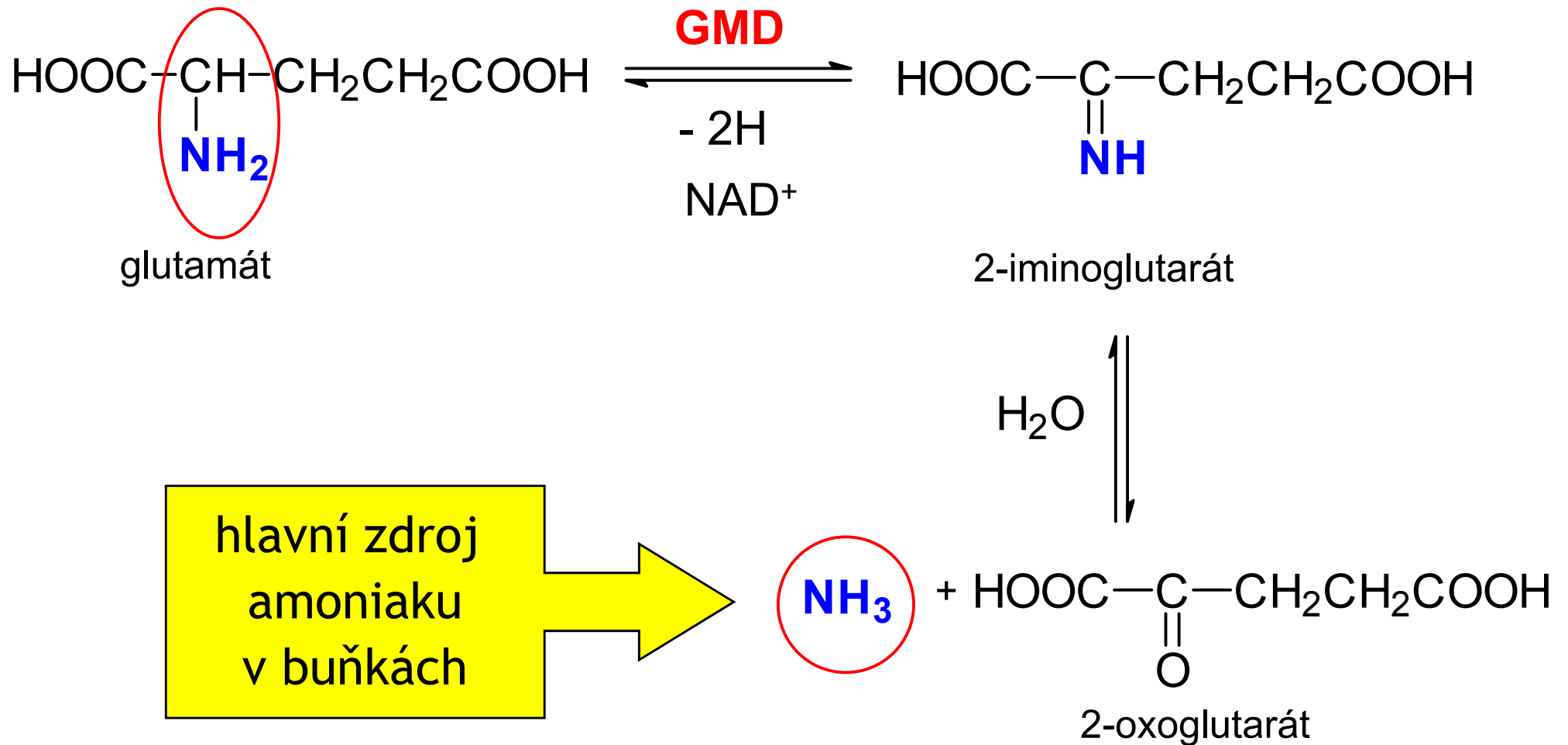
## 2. Fáze transaminace

2-oxoglutarát → glutamát

pyridoxamin-P → pyridoxal-P

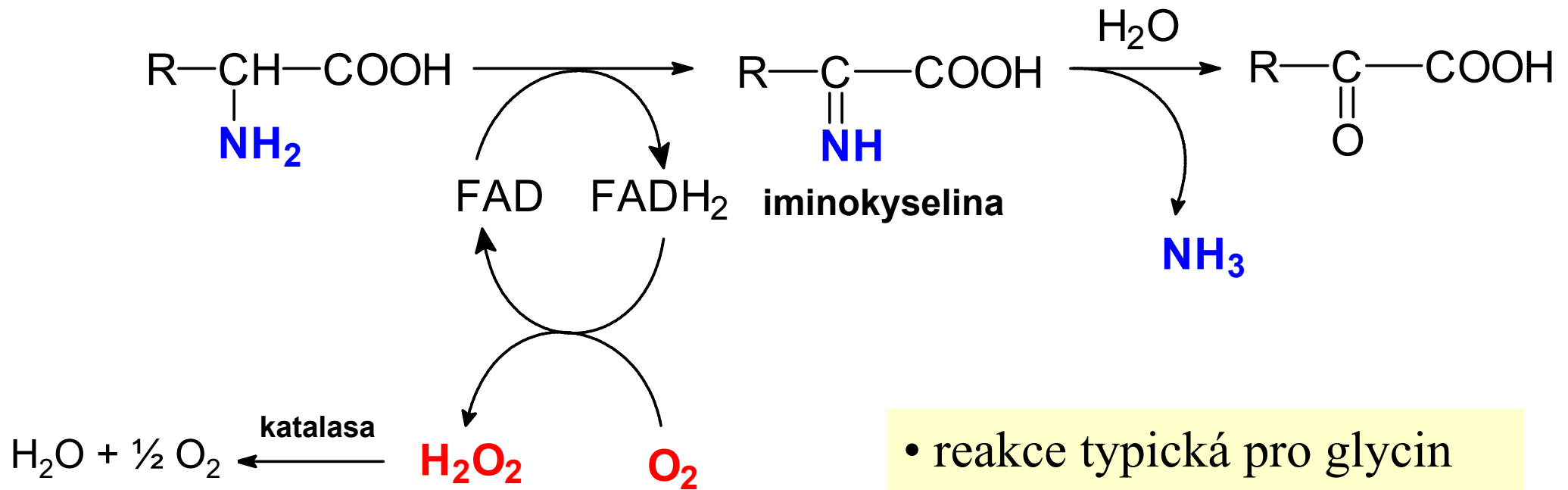


# Dehydrogenační deaminace glutamátu využívá pyridinový kofaktor NAD<sup>+</sup>



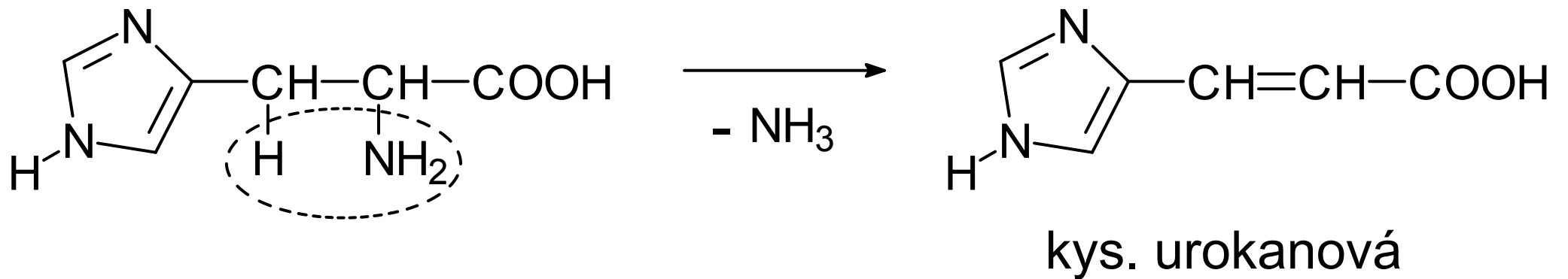


# Oxidační deaminace AK se účastní flavinový kofaktor a v následné reakci dikyslík

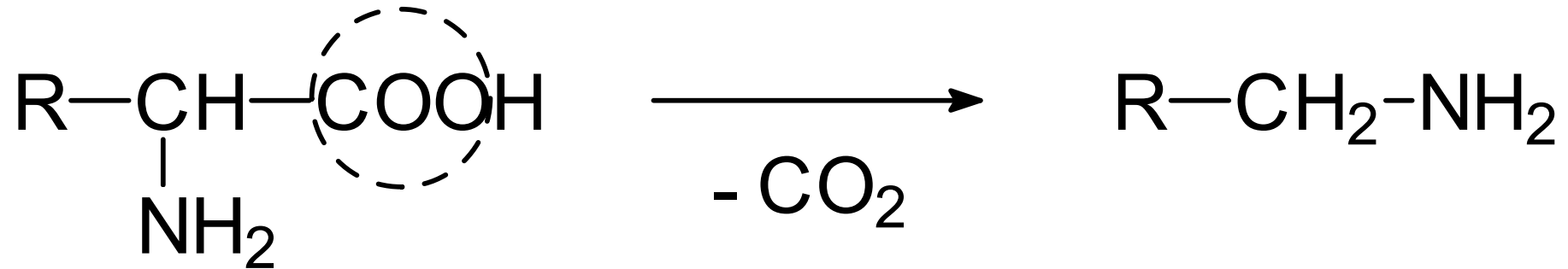


- reakce typická pro glycin
- odbourání D-aminokyselin
- vedlejší produkt  $\text{H}_2\text{O}_2$

# Desaturační deaminace histidinu



# Dekarboxylace AK poskytuje biogenní aminy



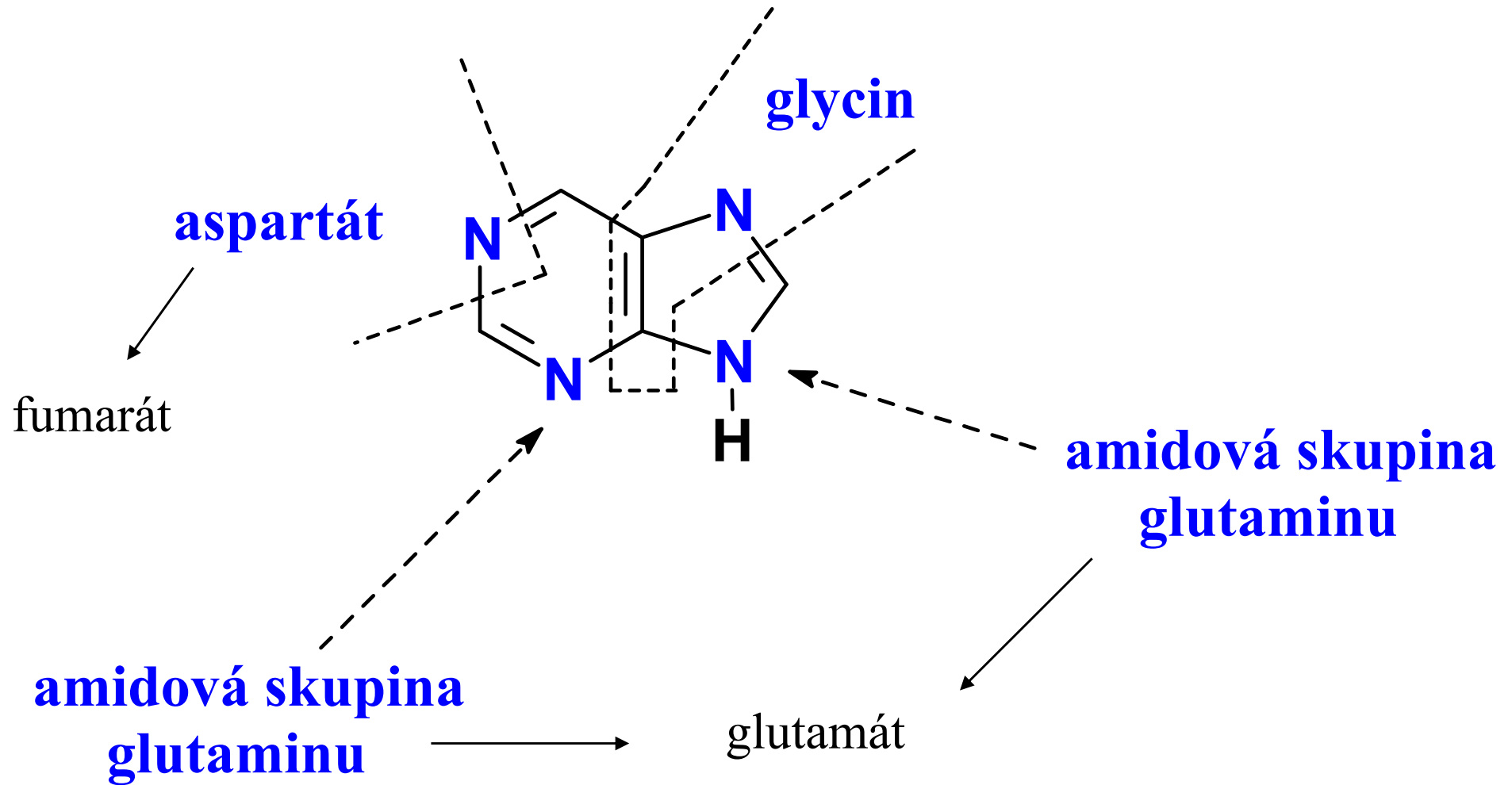
Reakce vyžaduje:

Enzym: dekarboxylasa

Kofaktor: pyridoxalfosfát

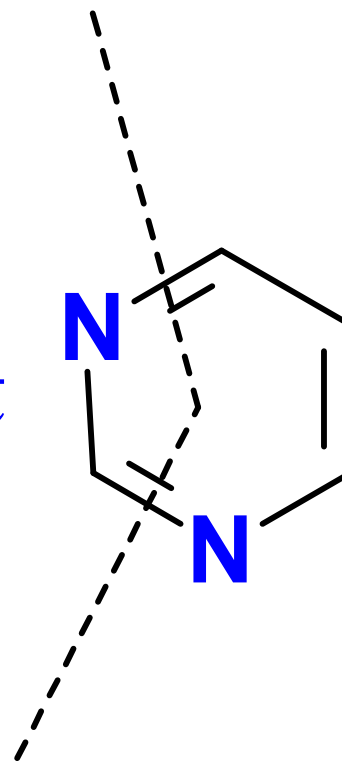


# Tři AK poskytují čtyři atomy N při biosyntéze purinových bází



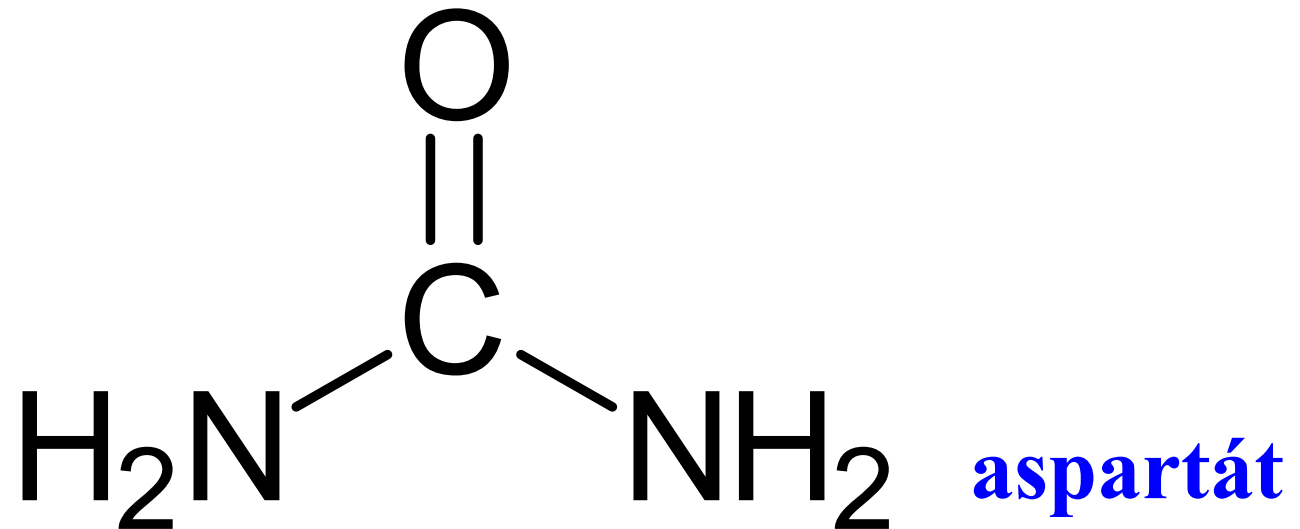
# Aspartát poskytuje dusík při biosyntéze pyrimidinových bází

karbamoylfosfát



aspartát

# Aspartát poskytuje jeden dusík do močoviny

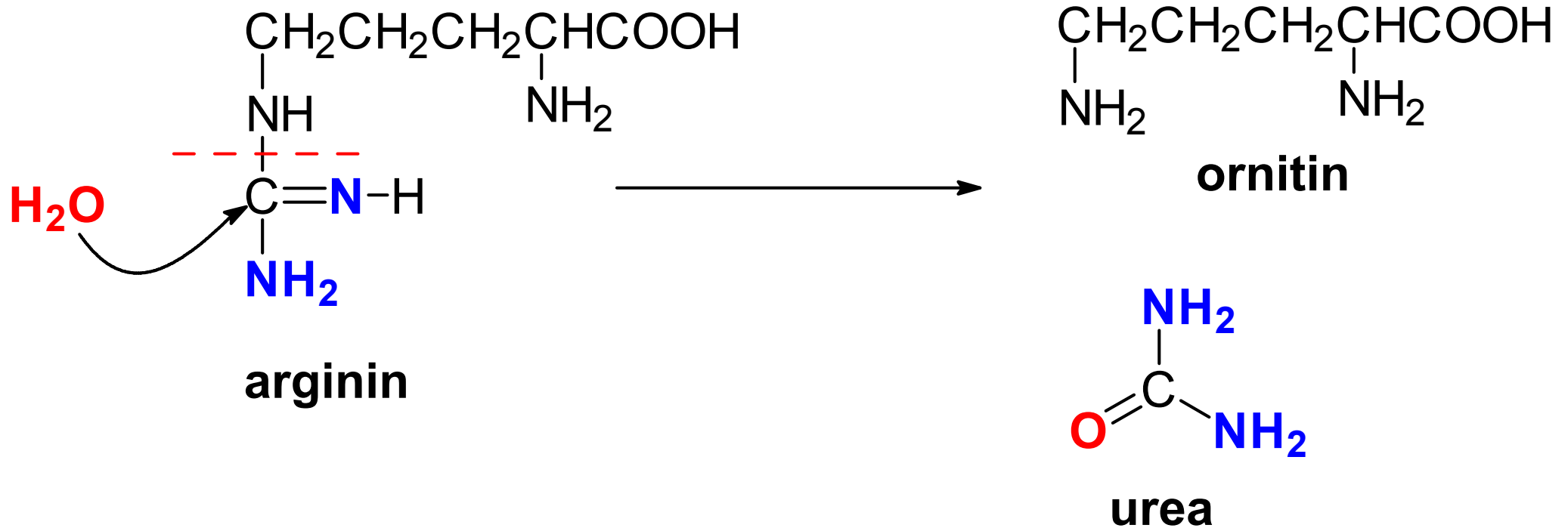


**volný amoniak**



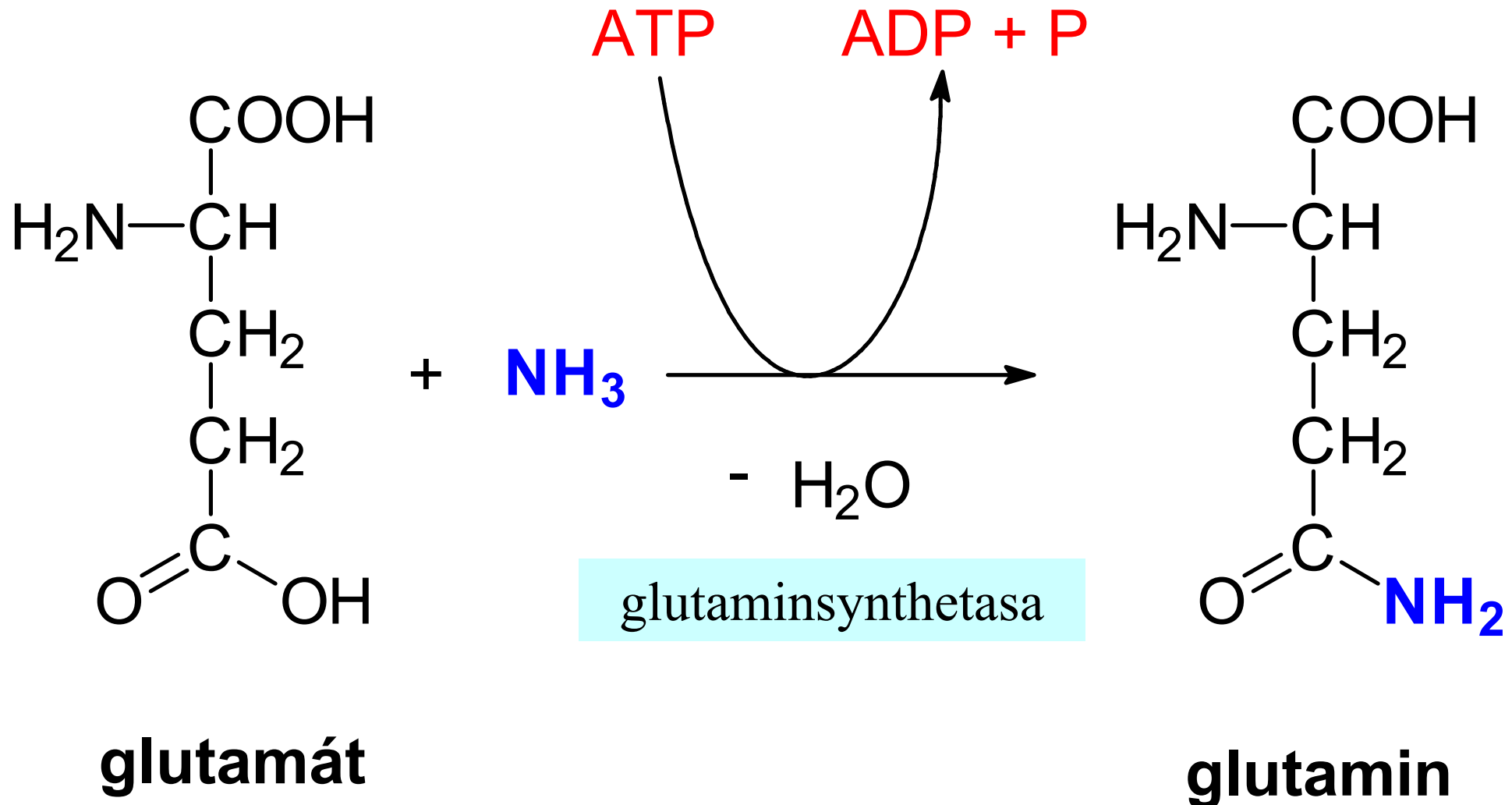
**Arginin je meziprodukt močovinového cyklu.**

**Hydrolýza argininu poskytne močovinu a ornitin**

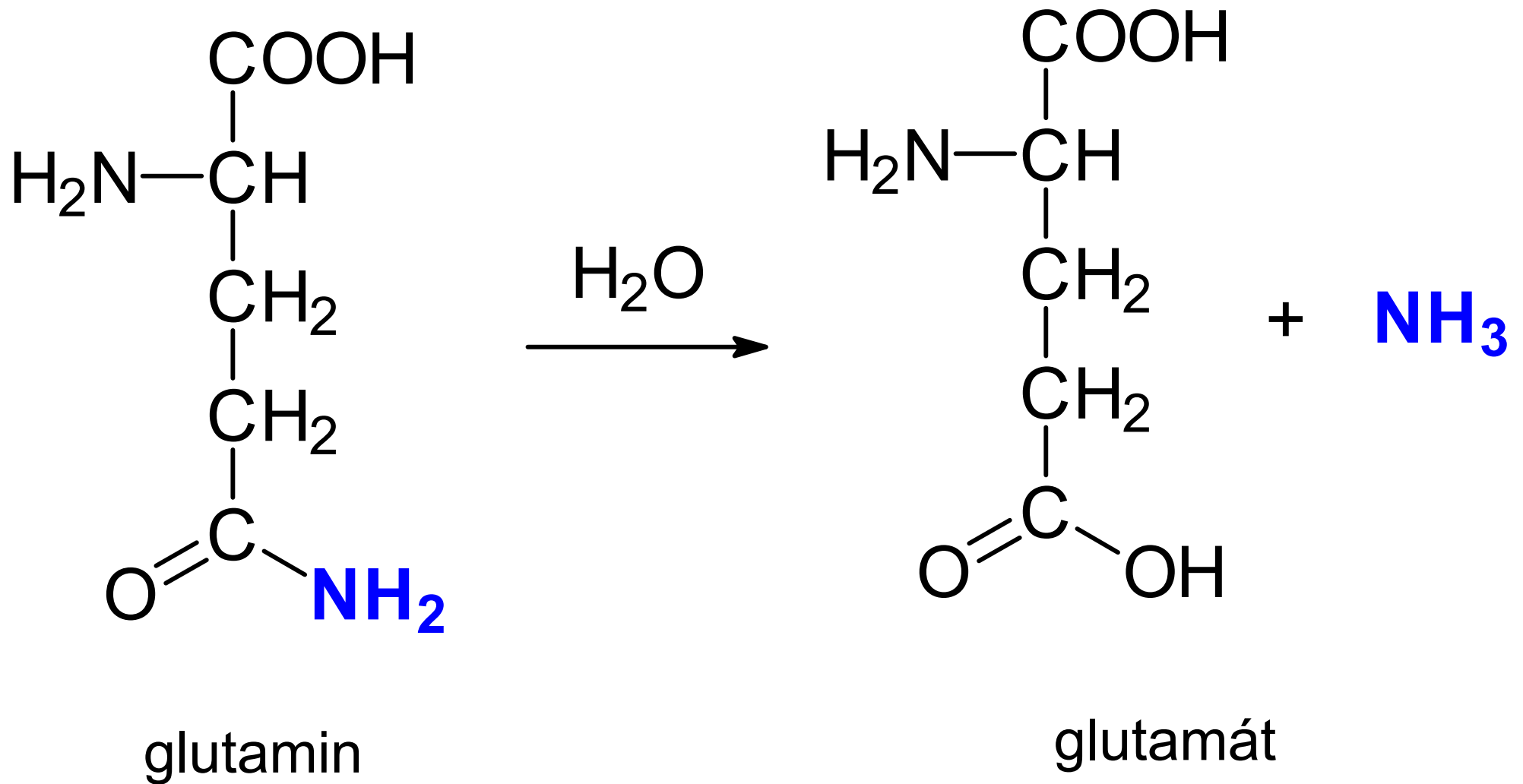




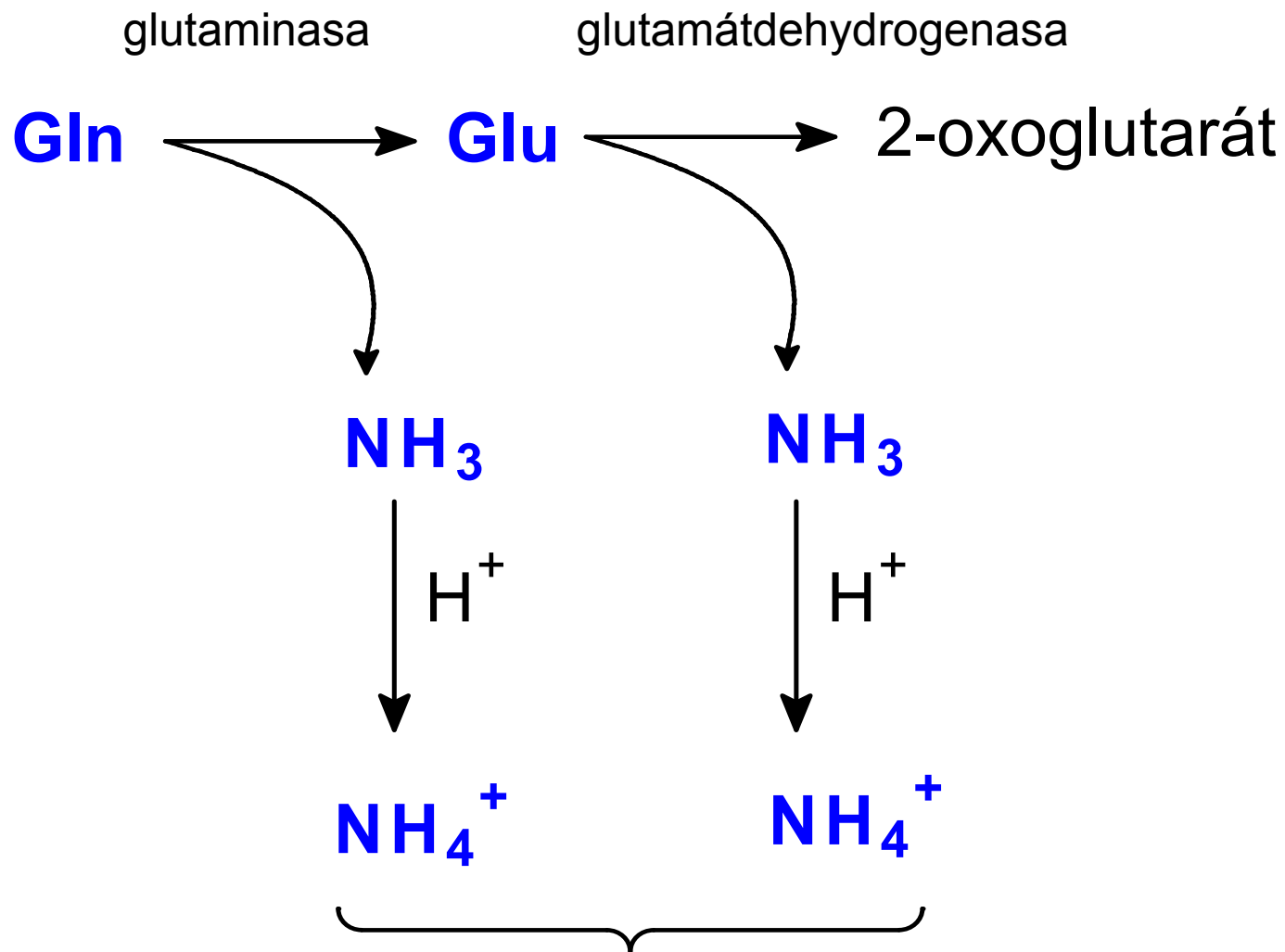
# Syntéza glutaminu je způsob detoxikace amoniaku



# Hydrolýza glutaminu uvolňuje amoniak v ledvinách

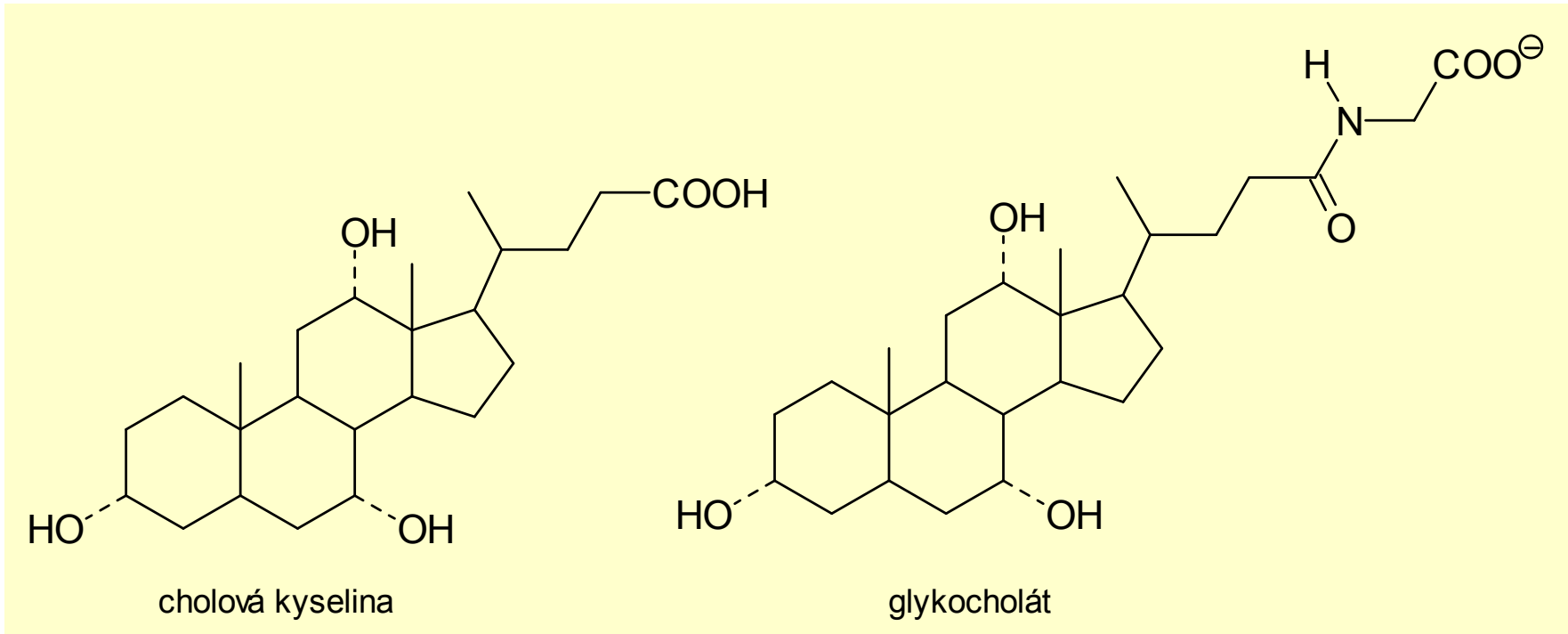


# Z glutaminu se v ledvinách uvolňuje $\text{NH}_4^+$

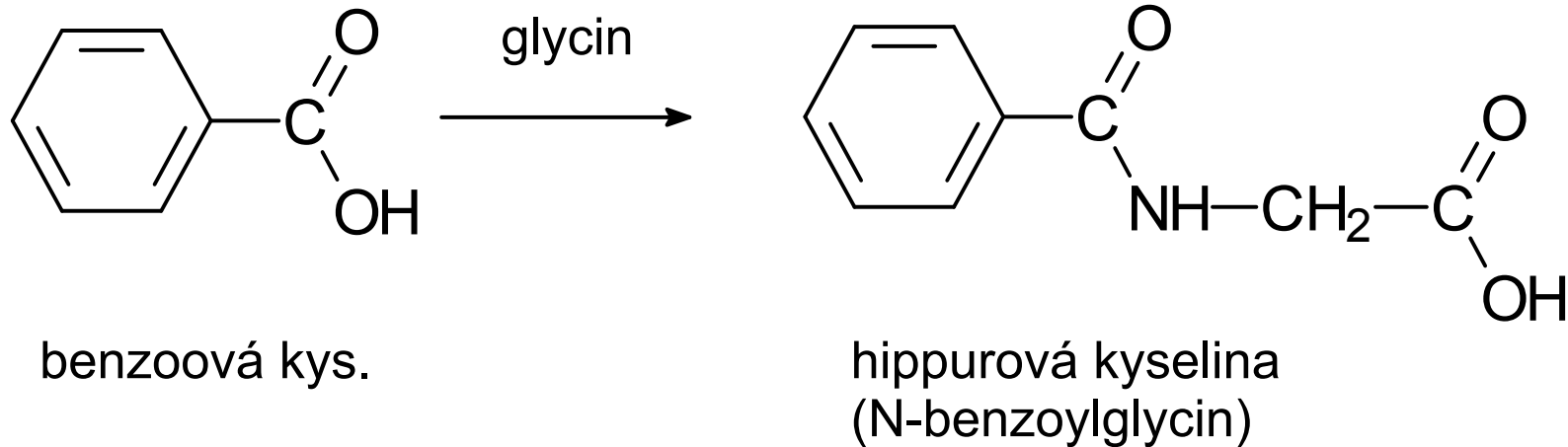
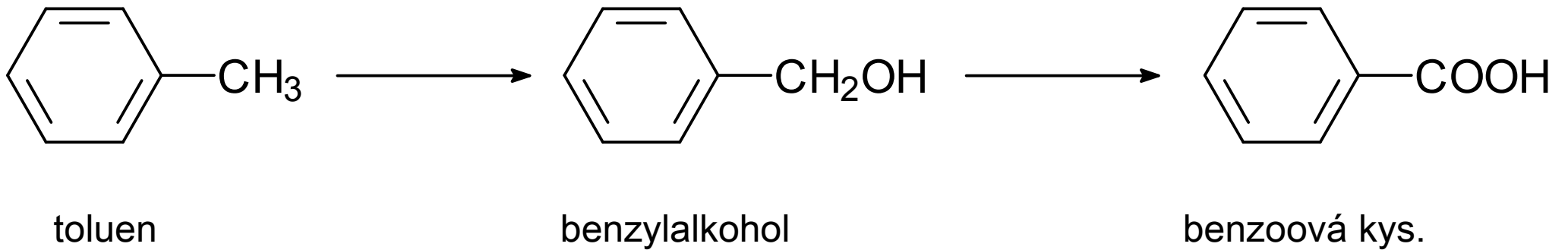


moč (pH ~ 5)

# Glycin jako konjugační činidlo

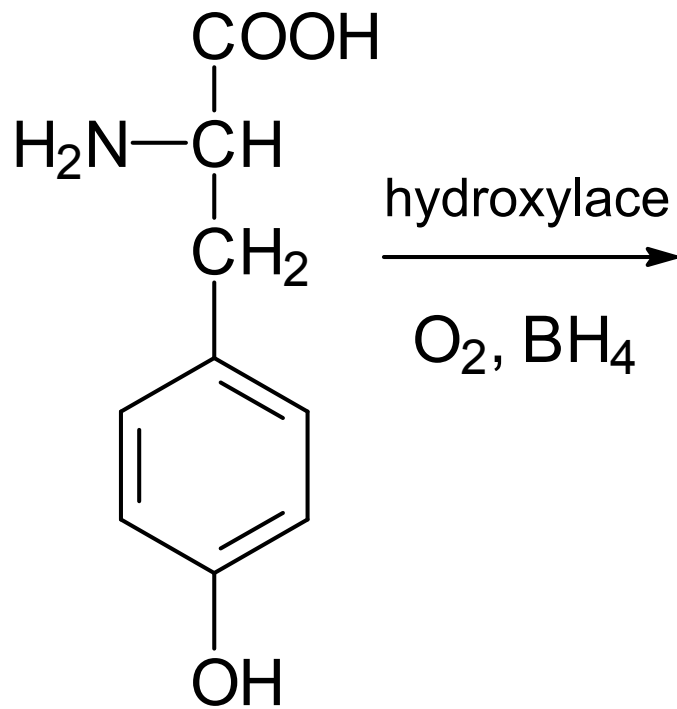


# Jak odhalit čičače toluenu?

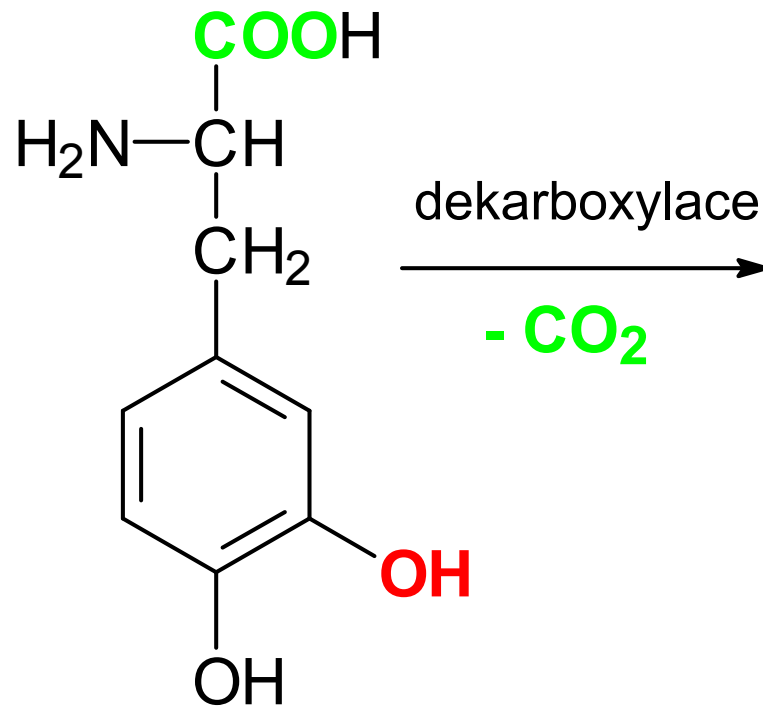
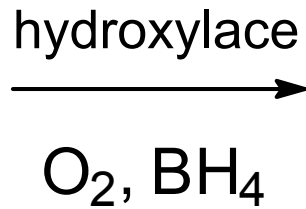


test na hippurát v moči

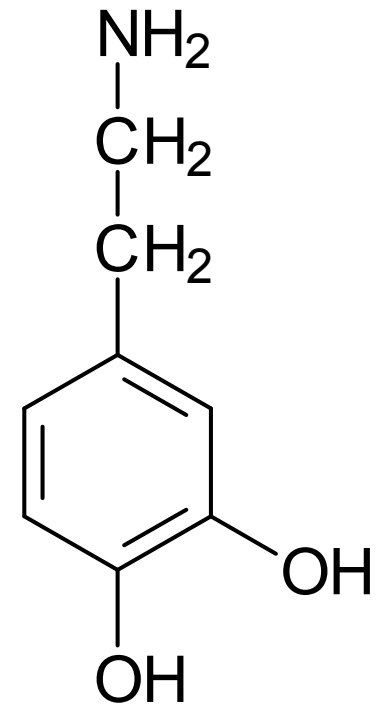
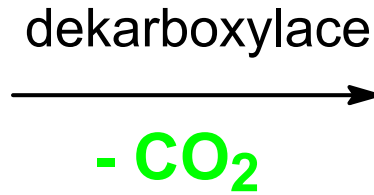
# Z tyrosinu vzniká DOPA a dopamin



tyrosin

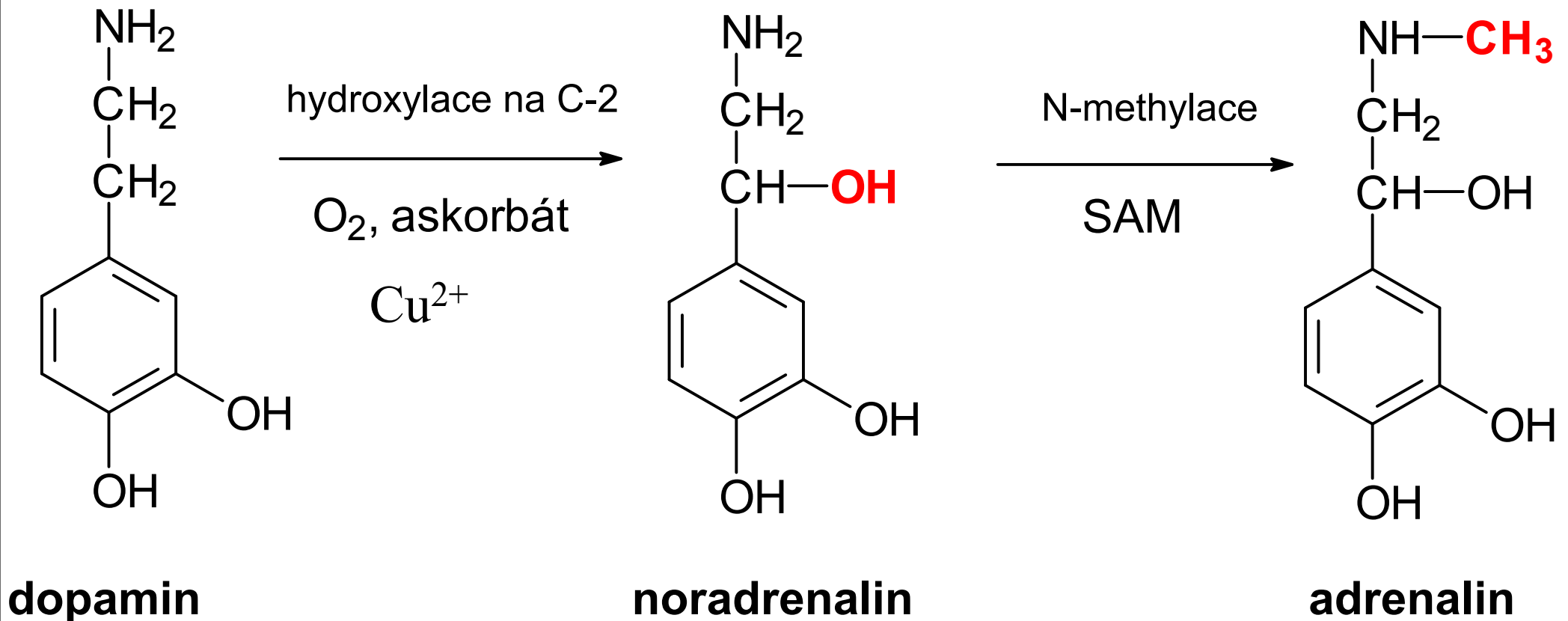


DOPA  
(3,4-dihydroxyfenylalanin)



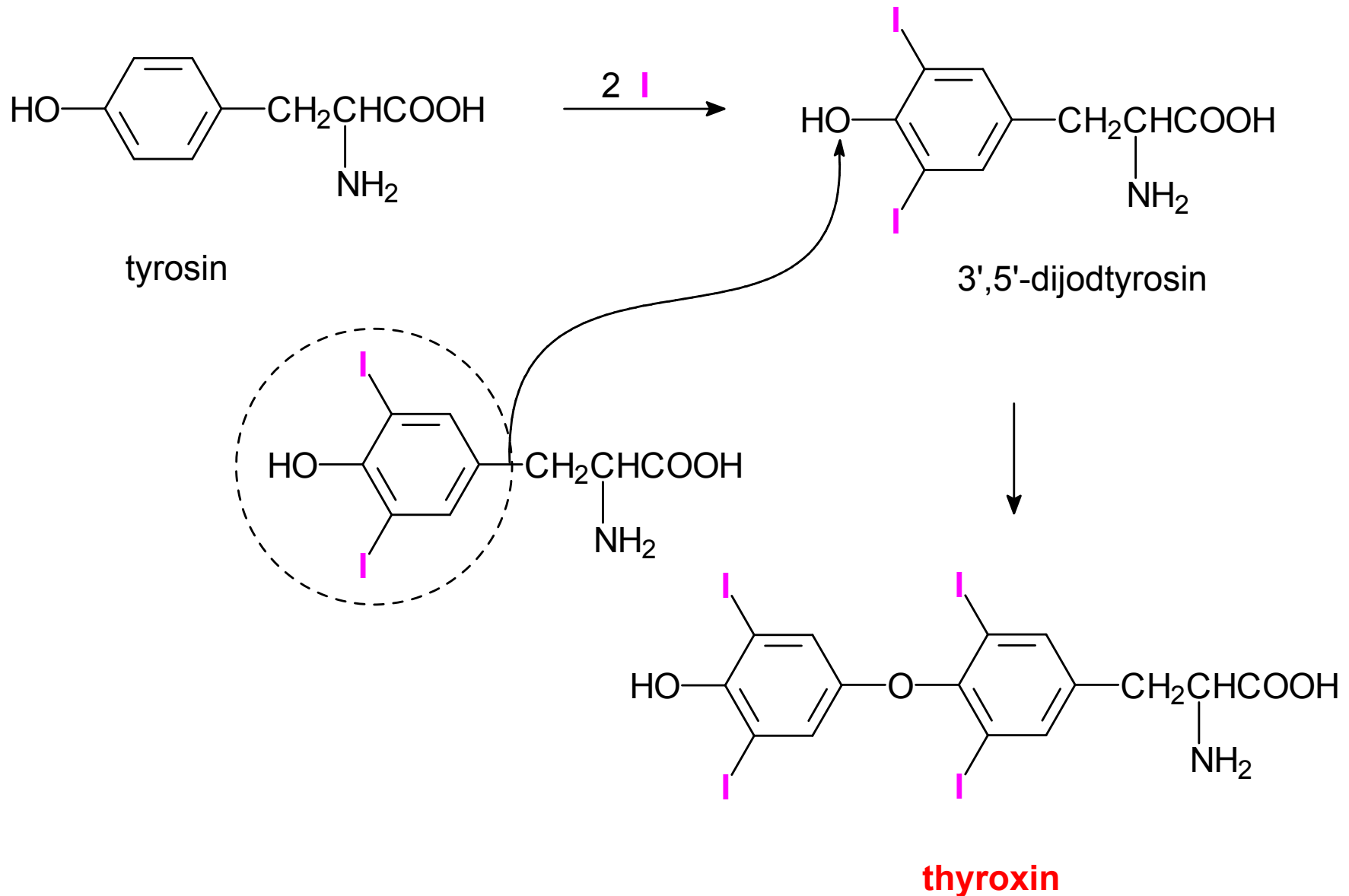
dopamin  
(katecholamin)

## Další dva katecholaminy z dopaminu



Předpona *nor-* znamená *N*-demethyl

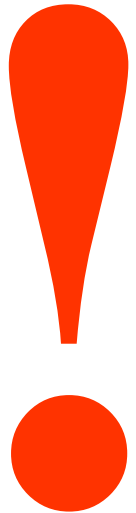
# Přeměna tyrosinu na thyroxin



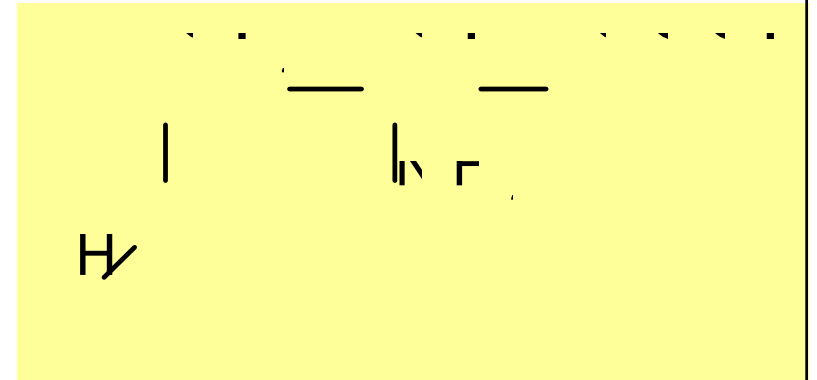


## AK Biochemicky významný produkt

Ala	pyruvát → glukosa
Arg	močovina, NO, kreatin
Ser	ethanolamin → cholin → betain; donor 1C fragmentu
Gly	hem, kreatin, GSH, konjugační činidlo (např. glykocholát)
Met	donor methyly, kreatin, homocystein
Cys	GSH, taurin, $\text{SO}_4^{2-}$ , cysteamin (CoA-SH)
Asp	donor $-\text{NH}_2$ (urea, pyrimidiny), OA + fumarát (CC), $\beta$ -alanin (CoA)
Glu	2-oxoglutarát, GABA
Gln	donor $-\text{NH}_2$ (syntéza glukosaminu, purinů)
Pro	hydroxyprolin
His	histamin, donor 1C fragmentu
Lys	allysin (bílkoviny pojiva), karnitin, kadaverin
Tyr	fumarát (CC), katecholaminy, thyroxin, melaniny
Trp	nikotinamid, serotonin, melatonin, donor 1C fragmentu



## Selenocystein - 21. aminokyselina



- Několik enzymů (redoxní reakce) obsahuje selenocystein
- **Glutathionperoxidasa** ( $2 \text{ GSH} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{ H}_2\text{O} + \text{G-S-S-G}$ )
- **Dejodasy thyroninů** (thyroxin T4  $\rightarrow$  trijodthyronin T3)
- **Thioredoxin reduktasy** (ribosa  $\rightarrow$  deoxyribosa)

# Aminokyseliny v potravinách

- v běžné stravě téměř **nejsou** volné aminokyseliny, jen bílkoviny
- obsah volných L-AK svědčí o rozložení potravy
- obsah volných D-AK svědčí o mikrobiální kontaminaci

## Komerčně užívané volné L-aminokyseliny:

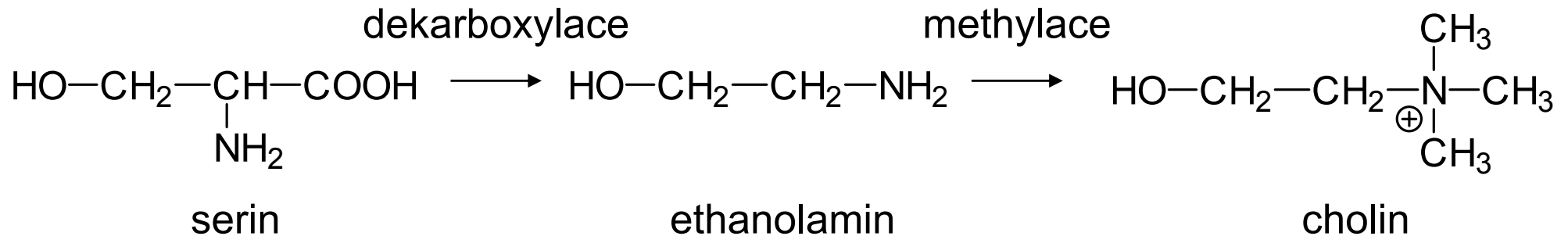
- glutamát sodný – potravinářské aditivum
- arginin – různé přípravky v lékárnách
- rozvětvené AK: potravinové doplňky pro sportovce

# Infuzní roztoky aminokyselin

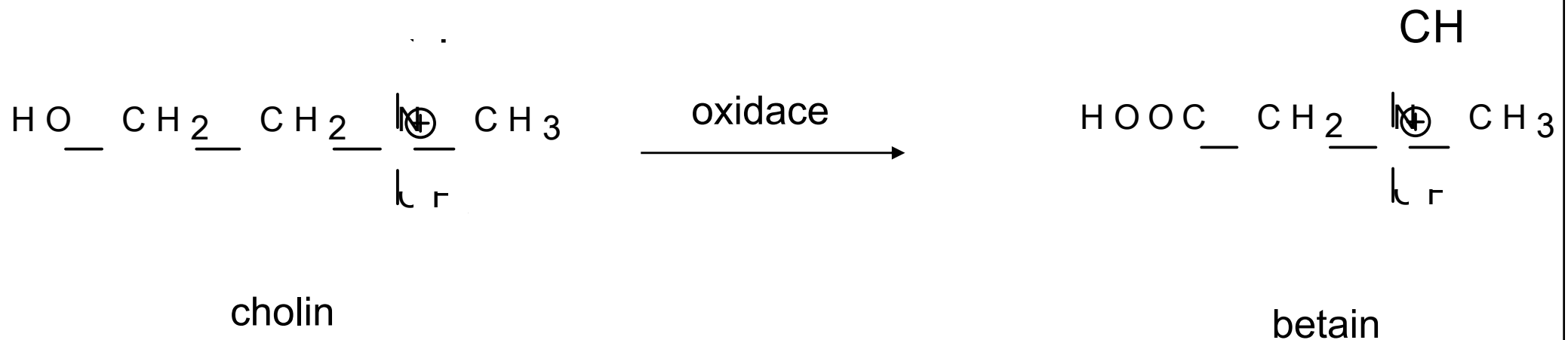
- Výhradně L-AK
- Různé směsi, různé poměry, dávkování: 1-2 g/kg/den
- Pro krytí potřeby bílkovin při parenterální výživě, když není možné přijímat potravu ústy
- Při postižení jater – speciální roztoky, nižší obsah dusíku
- Infuze rozvětvených AK mají velmi příznivý léčebný efekt (antikatabolický) – např. při selhávání ledvin

# **Nestandardní aminokyseliny**

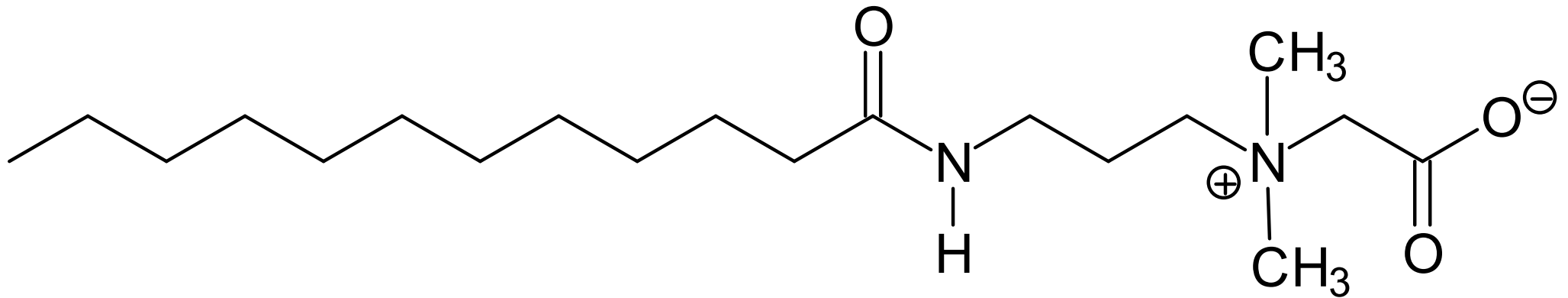
# Dekarboxylací serinu vzniká ethanolamin. Methylací ethanolaminu vzniká cholin



## Betain vzniká oxidací cholinu



# Syntetické betainy jsou amfoterní tenzidy



## Šampon na vlasy

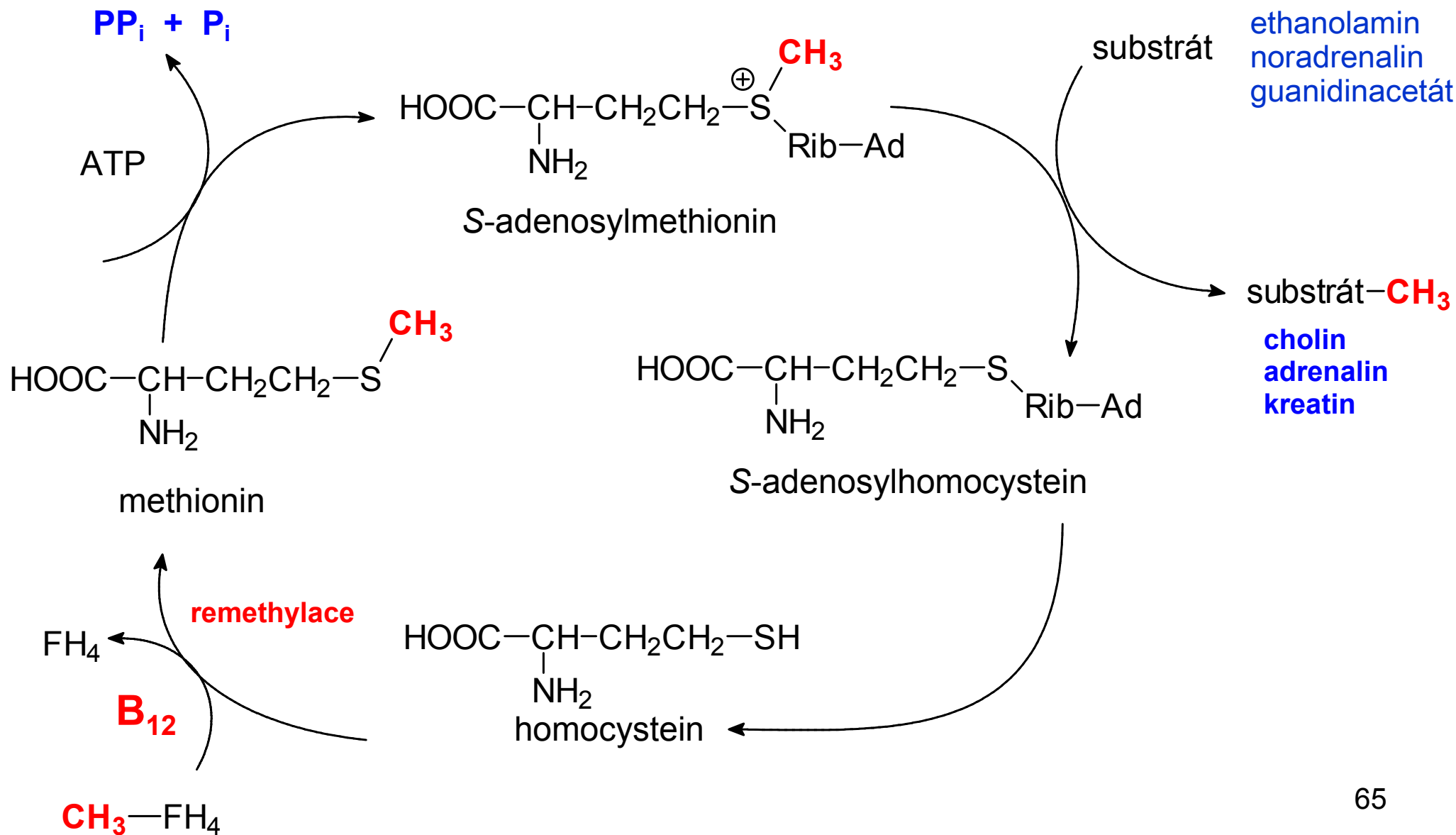
Aqua, Sodium Laureth Sulfate, **Cocamidopropyl Betaine**, Sodium Chloride, Benzylalcohol, Betula pendula extract, Perfume, 2-Bromo-2-Nitropropane-1,3-Diol, CI 42051

viz Semináře, str. 24-25

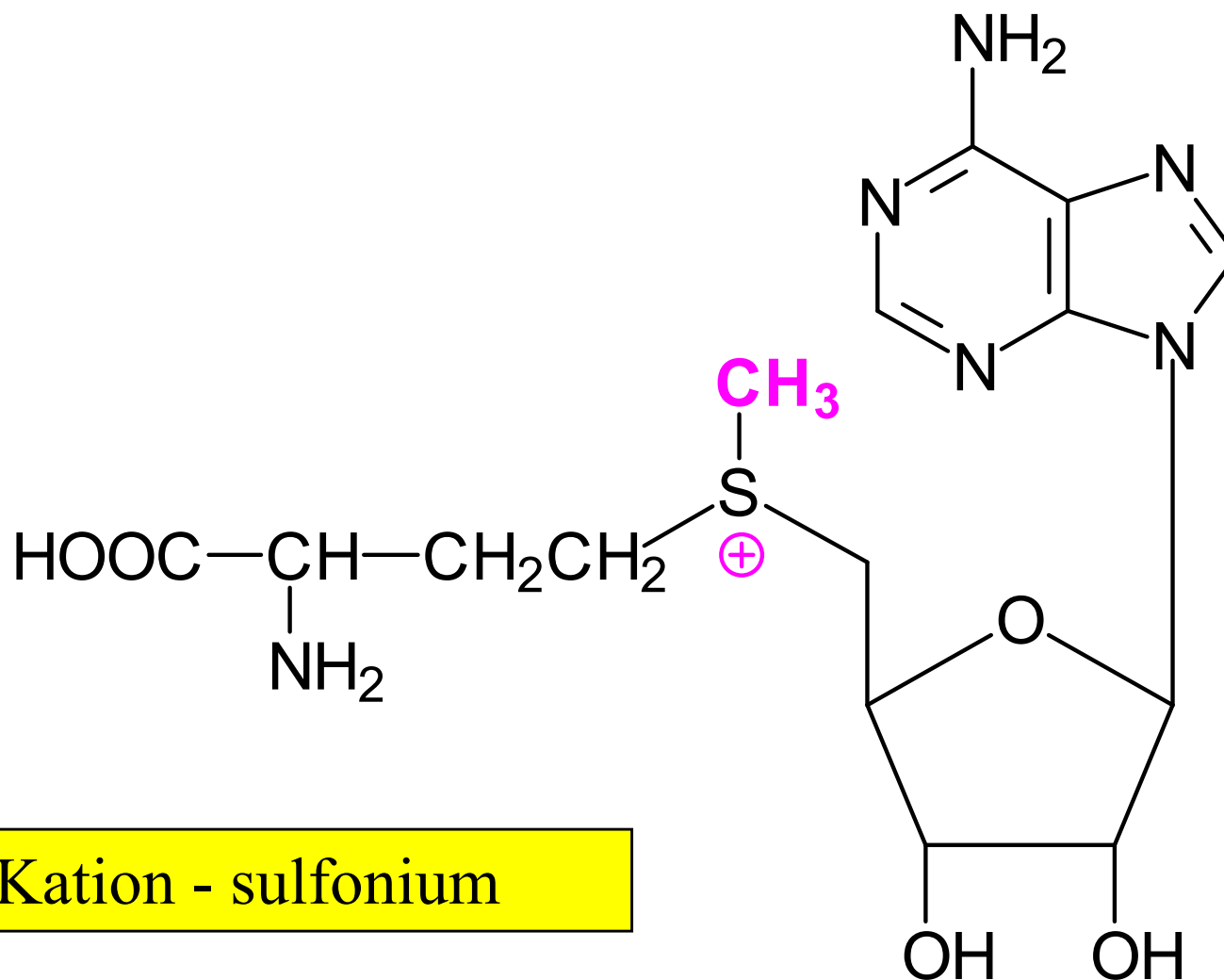




# Methionin po odštěpení methyly poskytuje homocystein



# *S*-Adenosylmethionin (SAM) obsahuje trojvaznou kladně nabitou síru



Kation - sulfonium

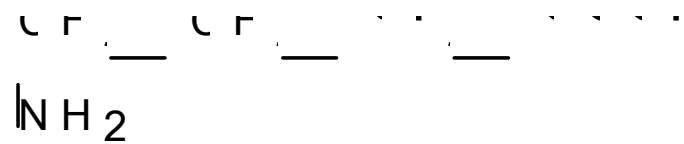
# Homocystein poškozujc cévy

- nový marker kardiovaskulárních onemocnění
- zvýšená koncentrace homocysteinu v krvi je rizikovým faktorem aterosklerózy nezávislým na cholesterolu
- mechanismus účinku není dosud úplně objasněn
- přímé působení na cévní stěnu – poškození epitelu, zkracuje životnost trombocytů, snižuje fibrinolýzu, podporuje vznik kyslíkových radikálů – poškození cévní stěny, zvyšuje lipoperoxidaci LDL

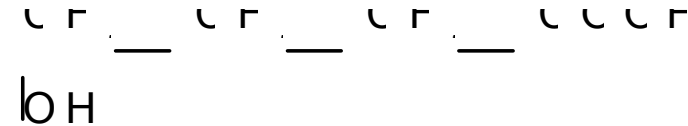
# Rozlišujte: Deriváty kyseliny máselné

<b>GABA</b>	$\gamma$ -aminomáselná kys., <b>g</b> amma- <b>a</b> mino <b>b</b> utyric <b>a</b> cid, inhibiční neurotransmitter v CNS, vzniká dekarboxylací glutamátu
<b>GHB</b>	<b>g</b> ama- <b>h</b> ydroxy <b>b</b> utyrate, synt. droga, liquid ecstasy, patří mezi “date rape drugs”, euforie, sedace, útlum CNS
<b>Ketolátky</b>	3-oxobutyrate (acetoacetát) a $\beta$ -hydroxybutyrate, vznikají z acetyl-CoA

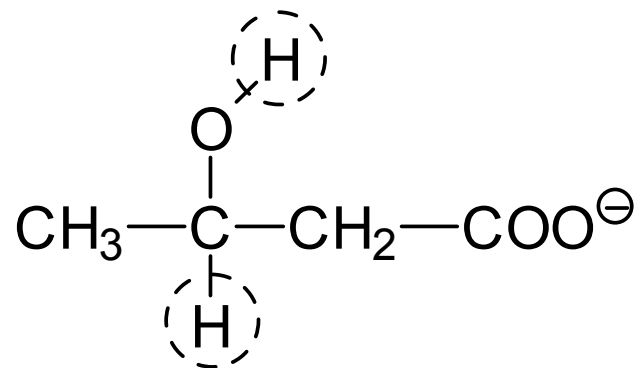
# Rozlišujte: Deriváty kyseliny máselné



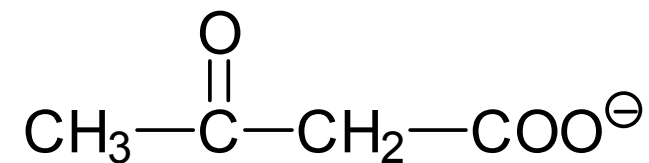
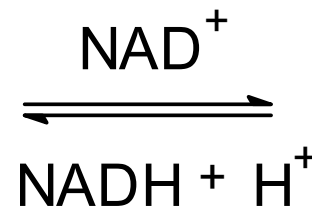
GABA



GHB



β-hydroxybutyrát



acetoacetát

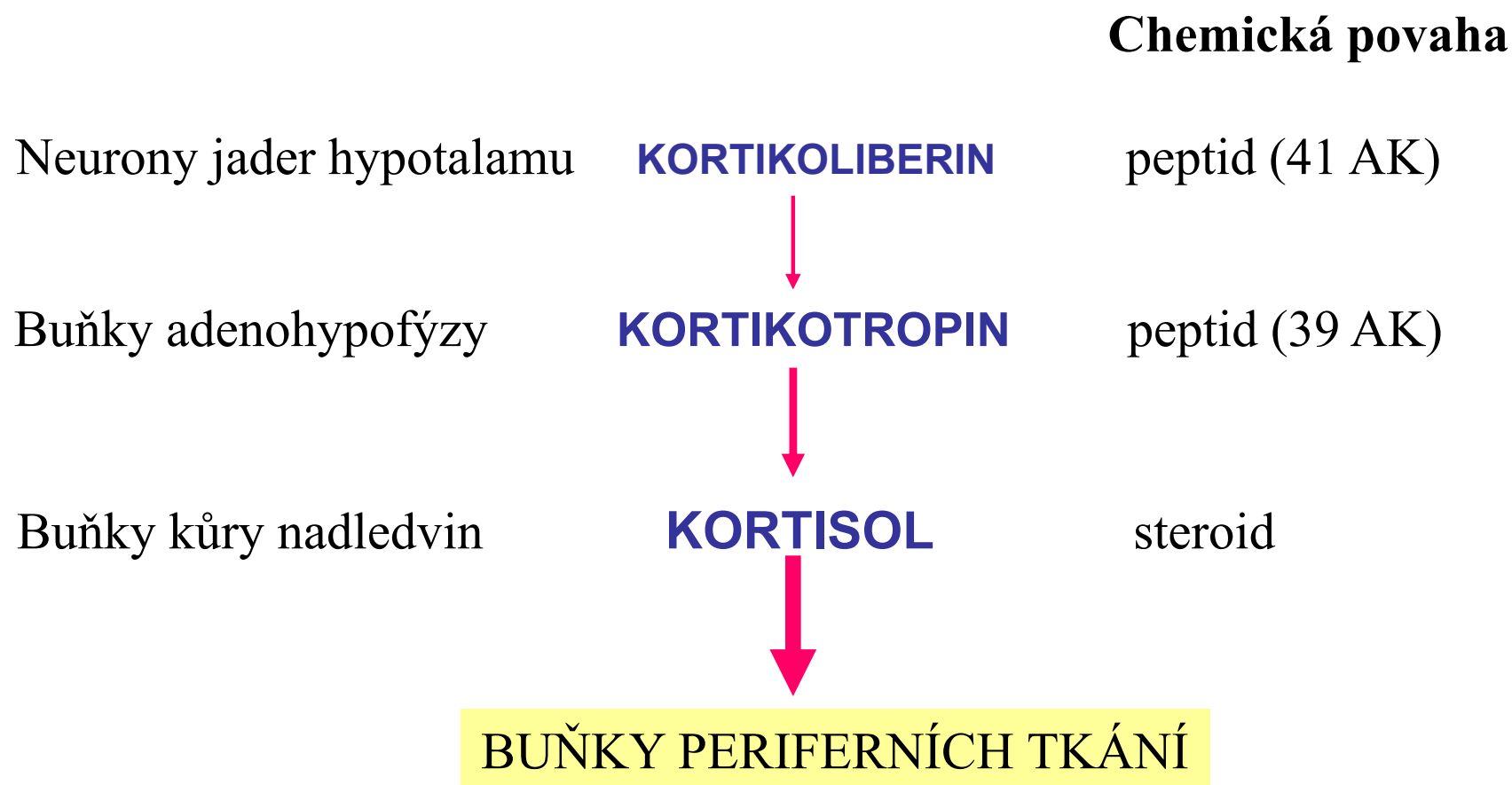
# **Vybrané biologicky aktivní peptidy**

Hormony & Toxiny

# Peptidové hormony

- Hormony hypothalamu (liberiny, releasing hormones, RH)
- Hormony hypofýzy (tropiny)
- Pankreatické hormony (inzulin, glukagon)
- a mnoho dalších ....

# Příklad hierarchie hormonálních regulací

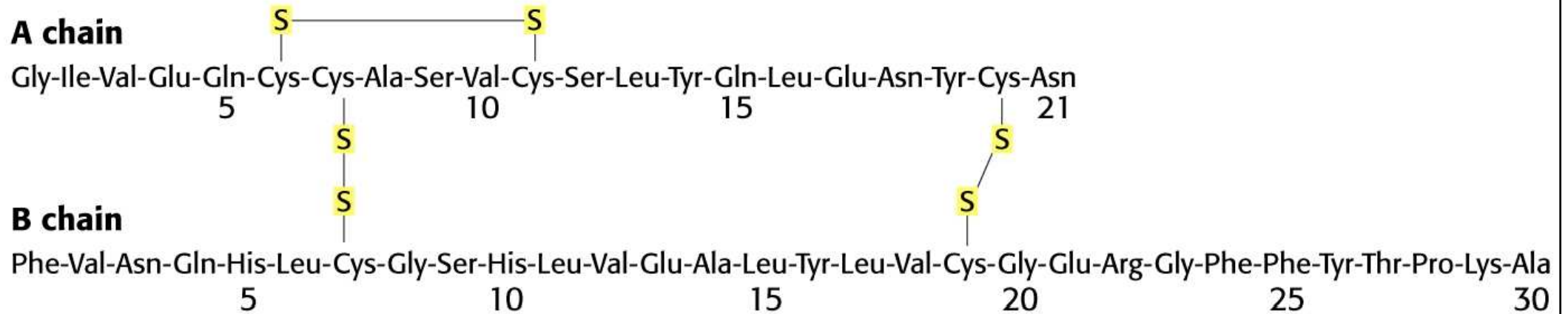




# Inzulin a glukagon

<b>Charakteristika</b>	<b>Inzulin</b>	<b>Glukagon</b>
Vznik v pankreatu	beta-buňky	alfa-buňky
Počet AK/řetězců	51/2	29/1
Prekurzor	(pre)proinzulin	proglukagon
Poločas v plazmě	3 min	5 min
Inaktivace hormonu	játra, ledviny	játra

# Struktura inzulinu



## Antagonistické vlivy inzulínu a glukagonu na metabolismus

Děj	Inzulin	Glukagon
Glukoneogeneze (játra)	↓	↑
Glykolýza v játrech	↑	↓
Glykolýza ve svalech	↑	-
Glykogenolýza ve svalech	↓	-
Glykogenolýza v játrech	↓	↑
Glykogeneze v játrech	↑	↓
Lipolýza v adipocytech	↓	↑
Lipogeneze v adipocytech	↑	↓

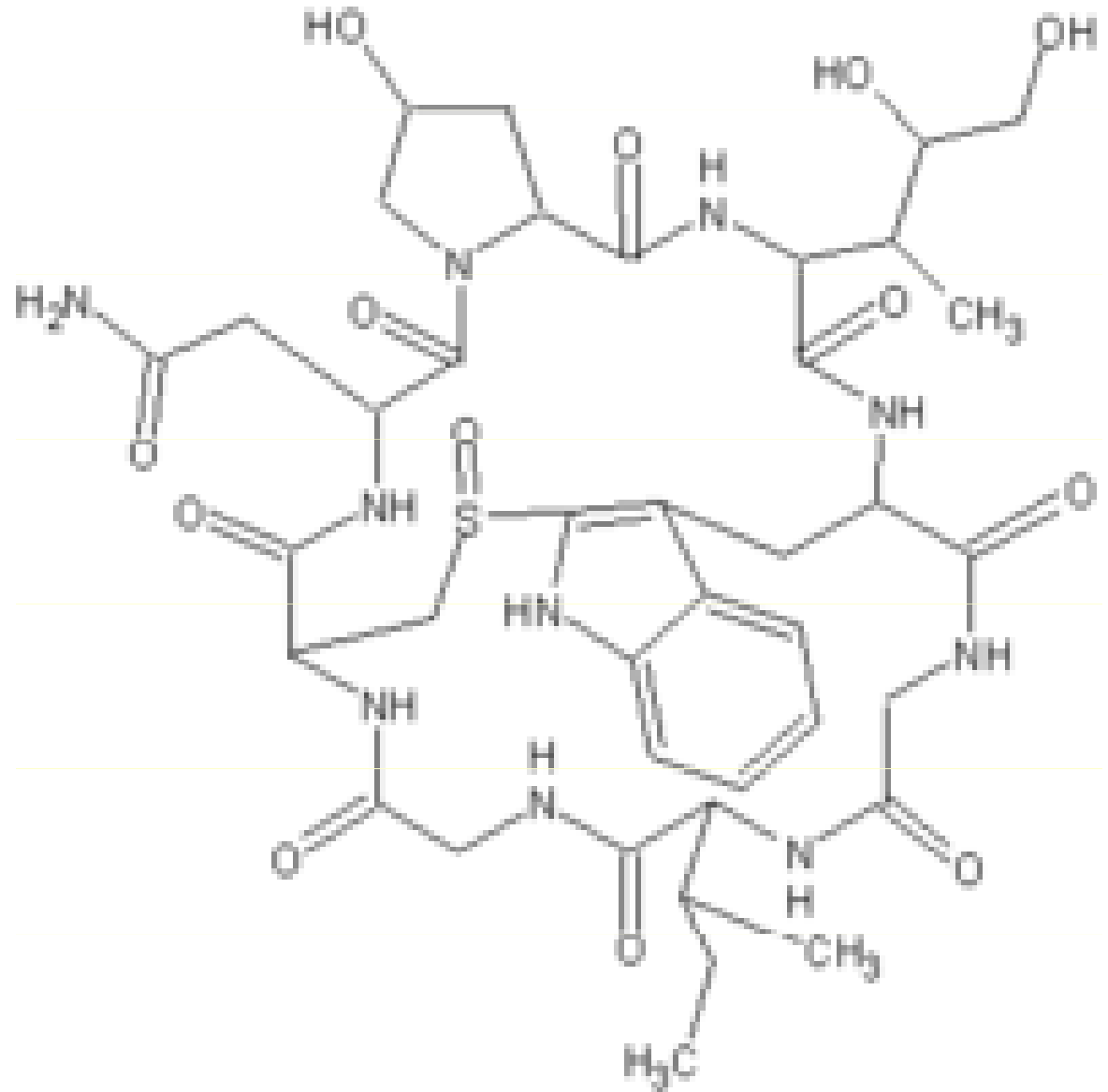
↑ stimuluje    ↓ inhibuje

# Toxiny muchomůrky zelené (*Amanita phalloides*) jsou bicyklické peptidy s neobvyklými AK

- **Amatoxiny** – hlavní složky – oktacyklopeptidy
- $\alpha$ -amanitin,  $\beta$ -amanitin,  $\gamma$ -amanitin ....
- **Falotoxiny** – heptacyklopeptidy
- Faloidin, faloin, falisin, falin, falacidin ....
- Termicky stabilní, acidorezistentní
- Poškozují játra a ledviny



# $\alpha$ -amanitin



$\alpha$ -amanitin je používán ke genetickým studiím –  
je inhibítozem RNA polymerasy II, která zajišťuje transkripci DNA do mRNA.

# Složení včelího jedu (*Apis mellifera*)

## **Peptidy**

melittin

apamin

MCD peptid (mast cell degranulating peptid)

adolapin

minimin

procamin A,B

secarpin

tertiapin

## **Enzymy**

## **Biogenní aminy**

Po bodnutí je důležité žihadlo rychle odstranit, protože ještě asi 1 min pokračuje pumpování jedu z jedového váčku

## Jed zmije obecné (*Vipera berus*)

- Přesné složení dosud málo prozkoumané
- Různé peptidy, podle účinky se rozdělují na:
- Toxiny cirkulační (vyvolávají cirkulační kolaps)
- Hemotoxiny (hemolyziny) – destrukce kapilár, hemolýza
- Neurotoxiny – paréza dechového centra
- Enzymy – fosfolipasa A, hyaluronidasa

# První pomoc při uštknutí (morsus viperae)

- postiženého uklidníme (možno podat sedativa, analgetika)
- končetinu imobilizujeme a přiložíme široký kompresivní obvaz (postižené místo se méně prokrvuje)
- místo vpichu nevysávat ani nerozřezávat!!
- vpichy se pouze dezinfikují a obvážou sterilním obvazem.
- pokud se nerozvíjí generalizovaná reakce je možno podávat nápoje (mimo kávy a alkoholu)
- transport do nemocnice pokud možno vleže



# Terapie při uštknutí

- Při nespecifické terapii – **kortikoidy, antihistaminika, kalcium.** Kortikoidy stabilizují buněčnou membránu a buňku samu a jejich účinek je i antiedématózní. Při vzniku celkových příznaků s poklesem krevního tlaku se postupuje symptomaticky.
- Ke specifické imunoterapii podáváme koňské antisérum, které je ovšem indikováno jen při výskytu systémových nebo velmi těžkých lokálních příznacích, zvláště u dětí. Podání specifického antiséra může vyvolat anafylaktický šok.
- Proto pokud je možné adekvátní zajištění vitálních funkcí, není podání specifického antiséra součástí urgentní terapie.