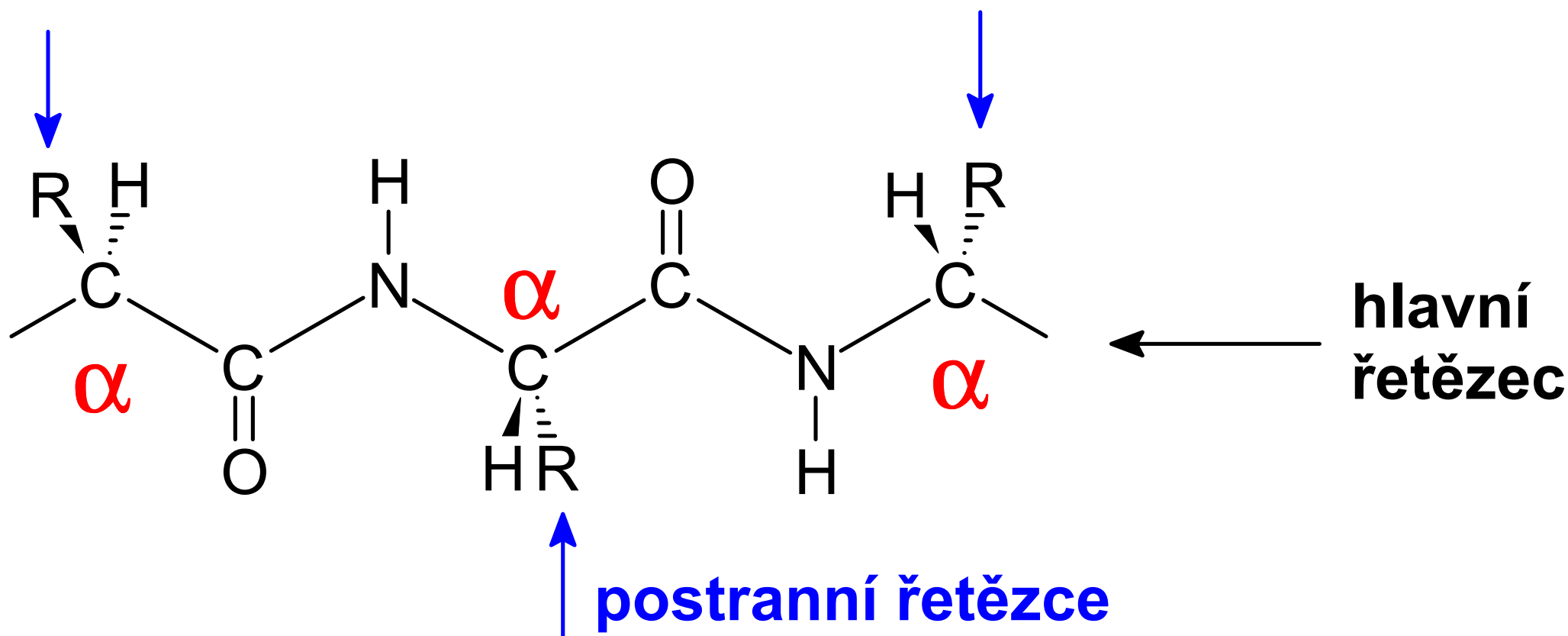


# Proteiny & Glykoproteiny

© Biochemický ústav LF MU (J.D.) 2008

# Proteiny jsou polypeptidy (anhydropolymery L-AK)



mají identickou páteř: peptidové vazby oddělené  $\alpha$  uhlíky

# Úrovně popisu struktury proteinů

- primární struktura
- sekundární struktura
- terciární struktura
- kvartérní struktura

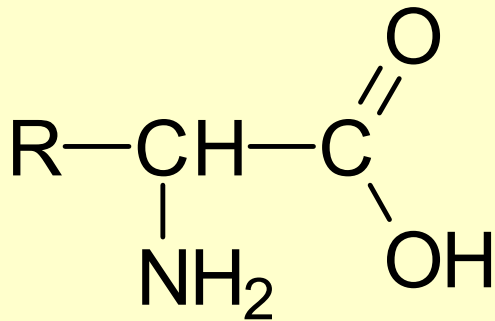


všechny  
proteiny

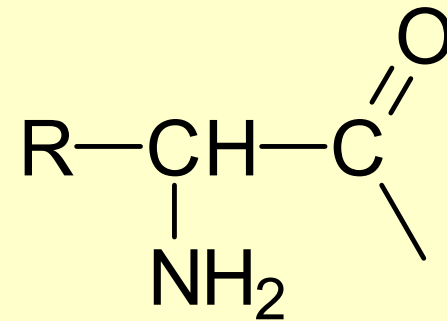
# Primární struktura

- sekvence všech aminokyselin  
v polypeptidovém řetězci
- číslování AK začíná od *N*-konce

# Aminokyselina po odtržení –OH skupiny z karboxylu vytvoří aminoacyl

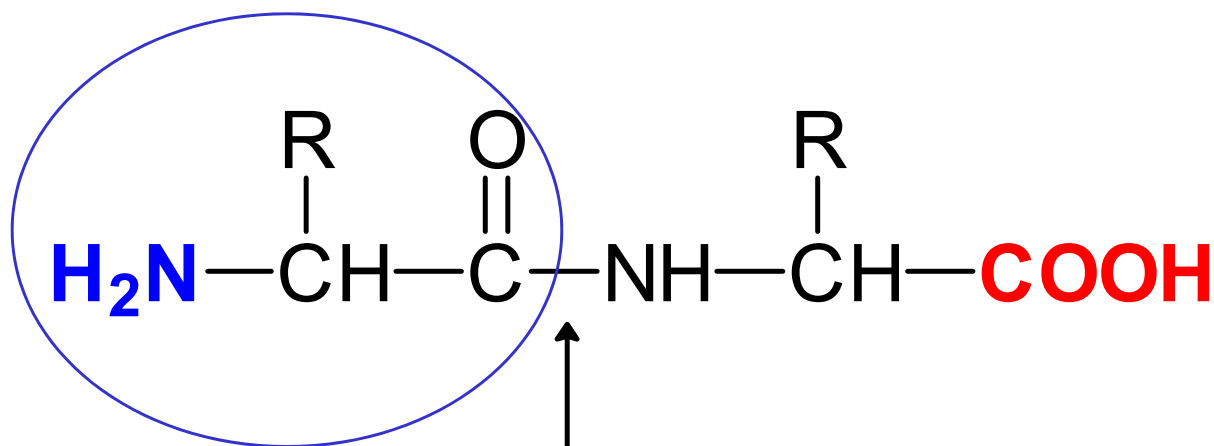


**aminokyselina**



**aminoacyl**

# Dipeptid je *N*-aminoacylaminokyselina



**N-konec**

**peptidová vazba**

**C-konec**

**Názvy acylů AK: přípona *-in/-an* se nahradí příponou *-yl***  
(je pět výjimek)

Ala alanyl

Arg arginyl

**Asn** asparaginylyl

**Asp**  $\alpha$ -aspartyl /  $\beta$ -aspartyl

**Cys** cysteinylyl

**Gln** glutaminylyl

**Glu**  $\alpha$ -glutamyl /  $\gamma$ -glutamyl

Gly glycylyl

His histidylyl

Iso isoleucylyl

Leu leucylyl

Lys lysylyl

Met methionylyl

Phe fenylalanyl

Pro prolylyl

Ser serylyl

Thr threonylyl

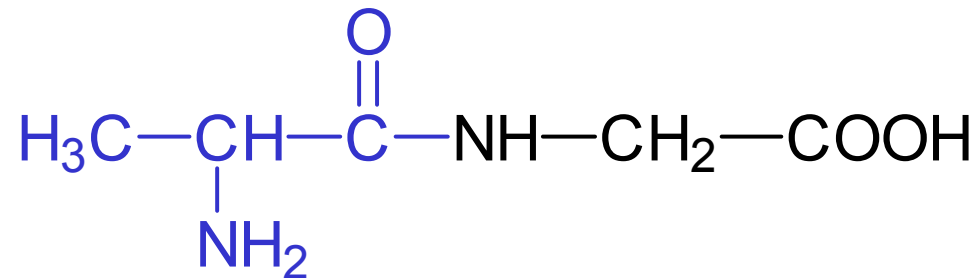
Trp tryptofylyl

Tyr tyrosylyl

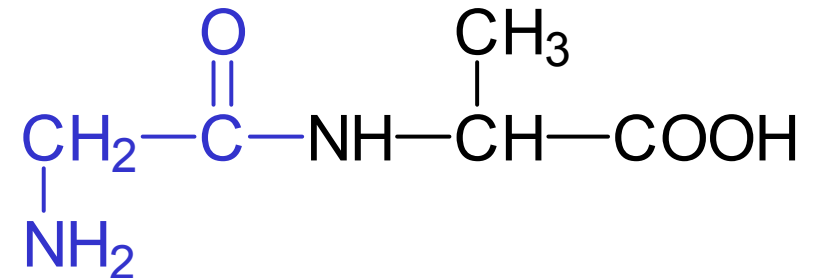
Val valylyl

# Srovnejte

Alanylglycin × Glycylalanin



**alanyl**  
**(acyl alaninu)**



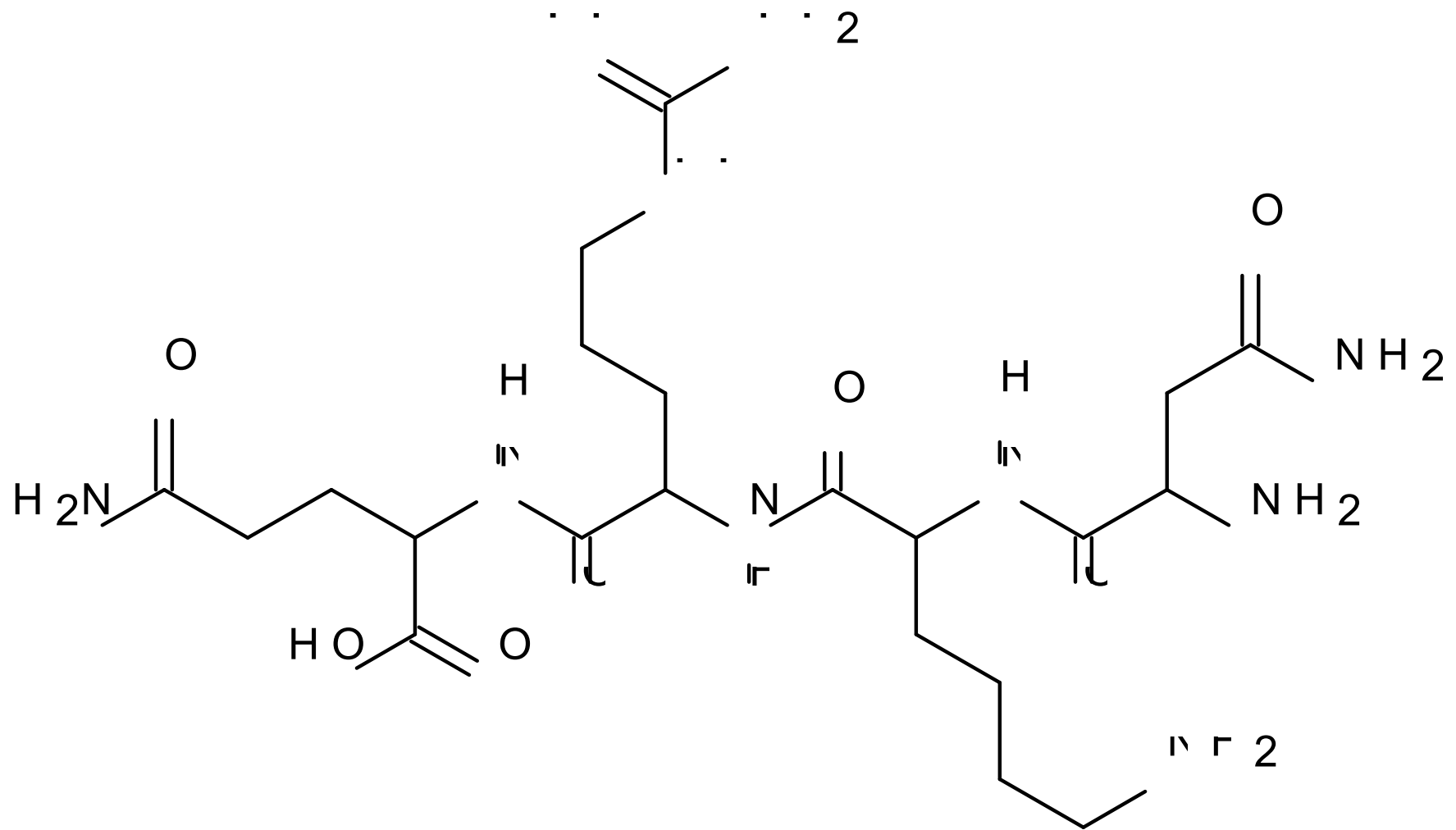
**glycyl**  
**(acyl glycinu)**



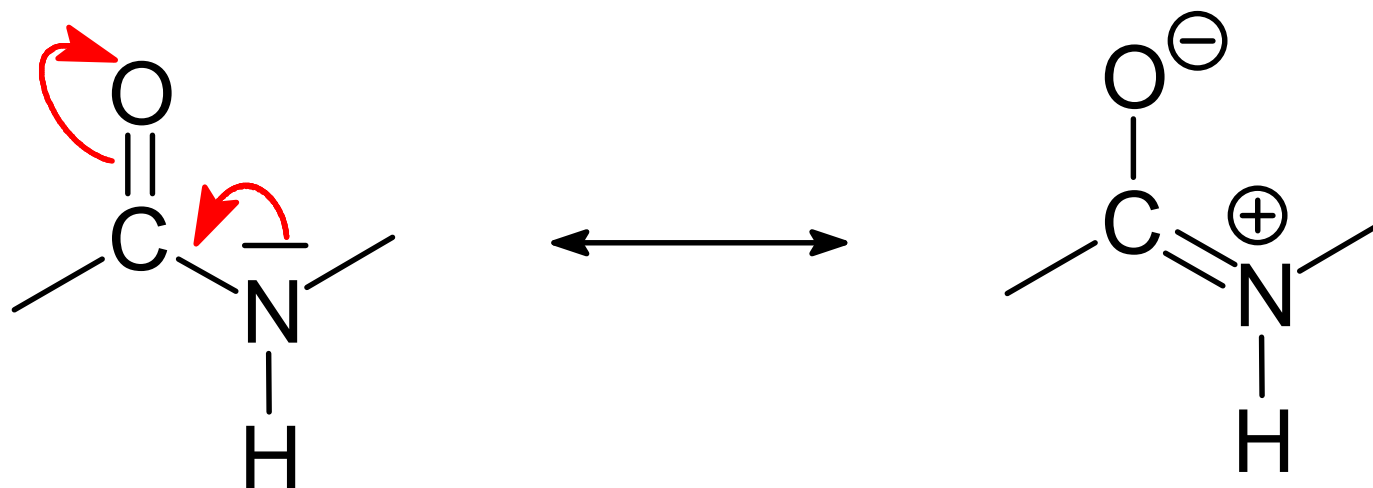
# Jak postupovat při určení názvu?

1. Zjistíme počet peptidových vazeb
2. Najdeme N-konec
3. Vytvoříme acyl N-koncové aminokyseliny
4. U dipeptidu přidáme název C-koncové AK
5. U tripeptidu apod. přidáme ještě další acyl(y), zakončíme názvem C-koncové AK

# Příklad

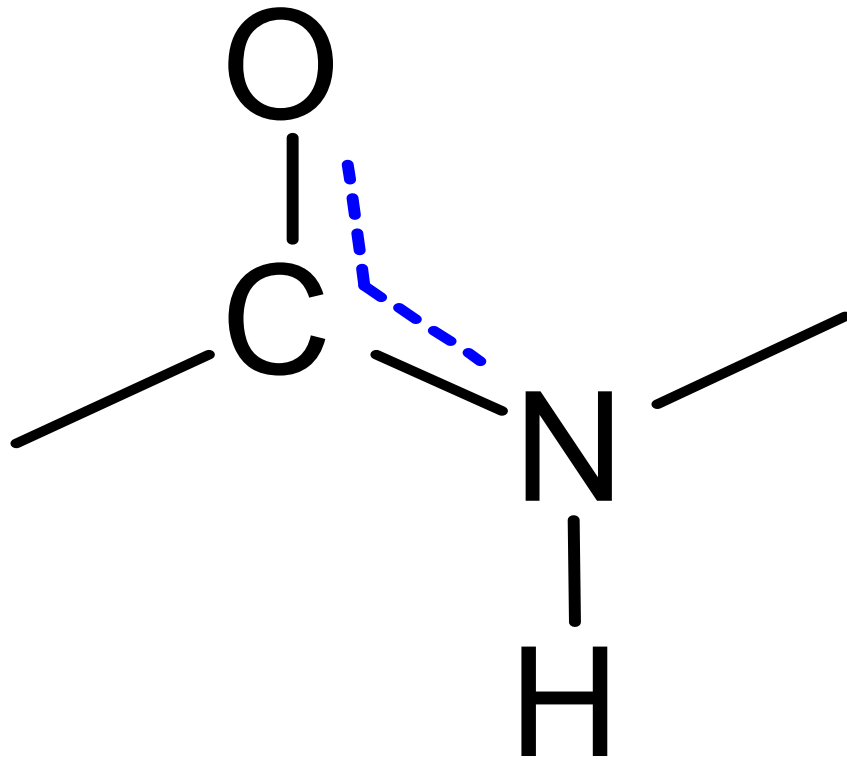


# Peptidová vazba -CO-NH-



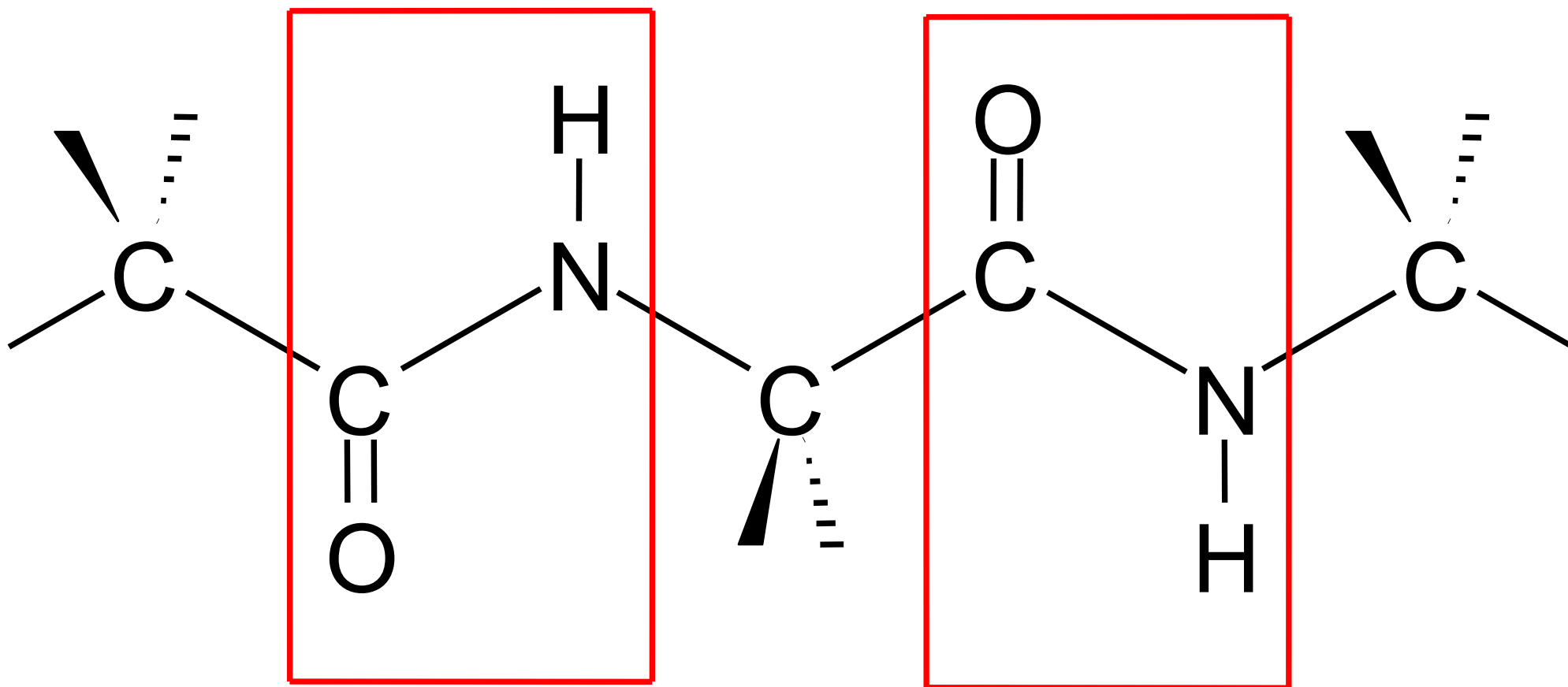
je rezonanční hybrid dvou mezních struktur  
vazba C-N má charakter **částečně dvojně vazby**  
(řád vazby cca 1,5)

# $\pi$ -Elektrony jsou sdíleny třemi atomy

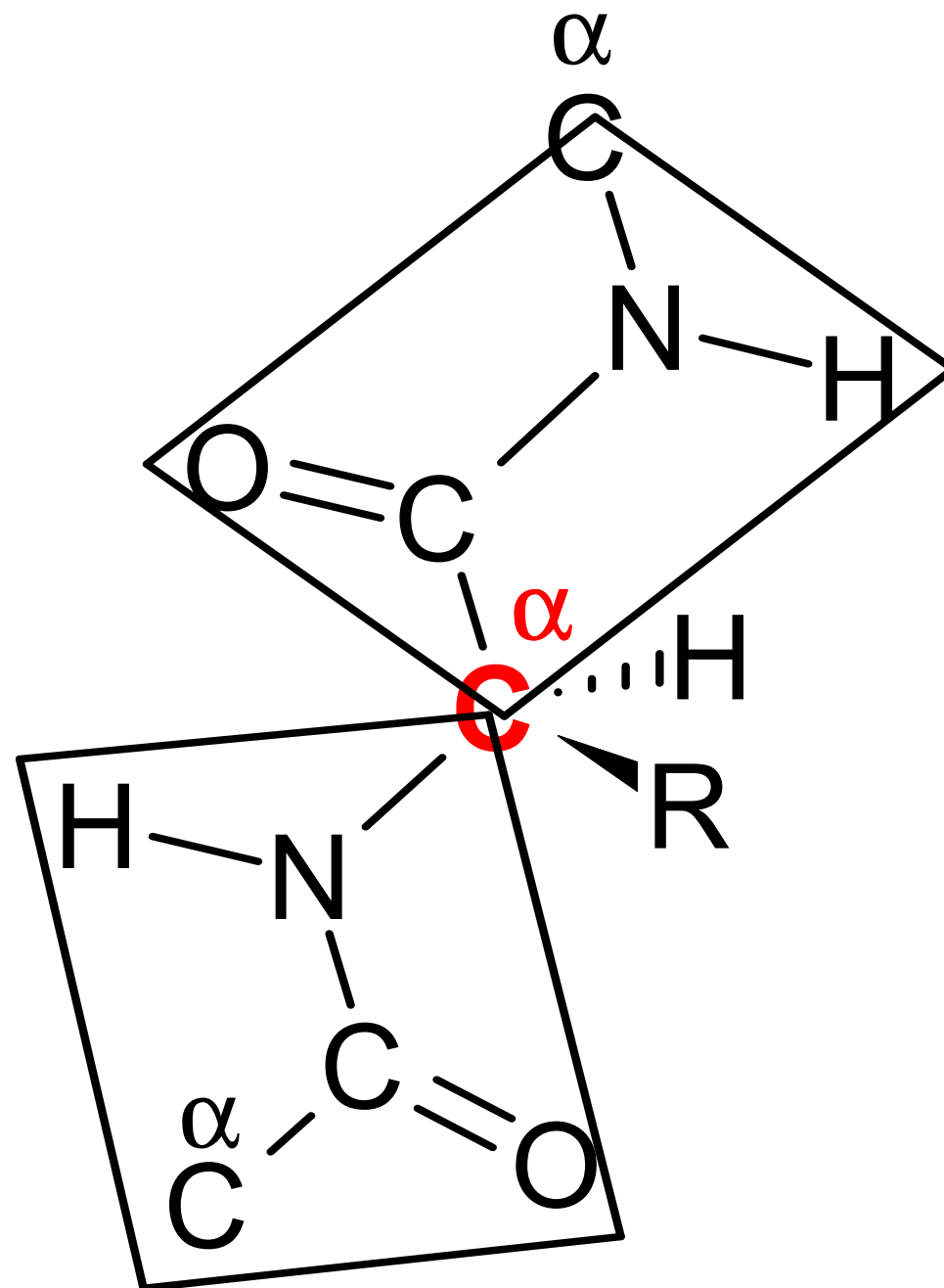


- peptidový dusík je **nebazický**
- peptidová vazba je rigidní a planární útvar
- H je v **trans** poloze vůči O (u většiny proteinů)

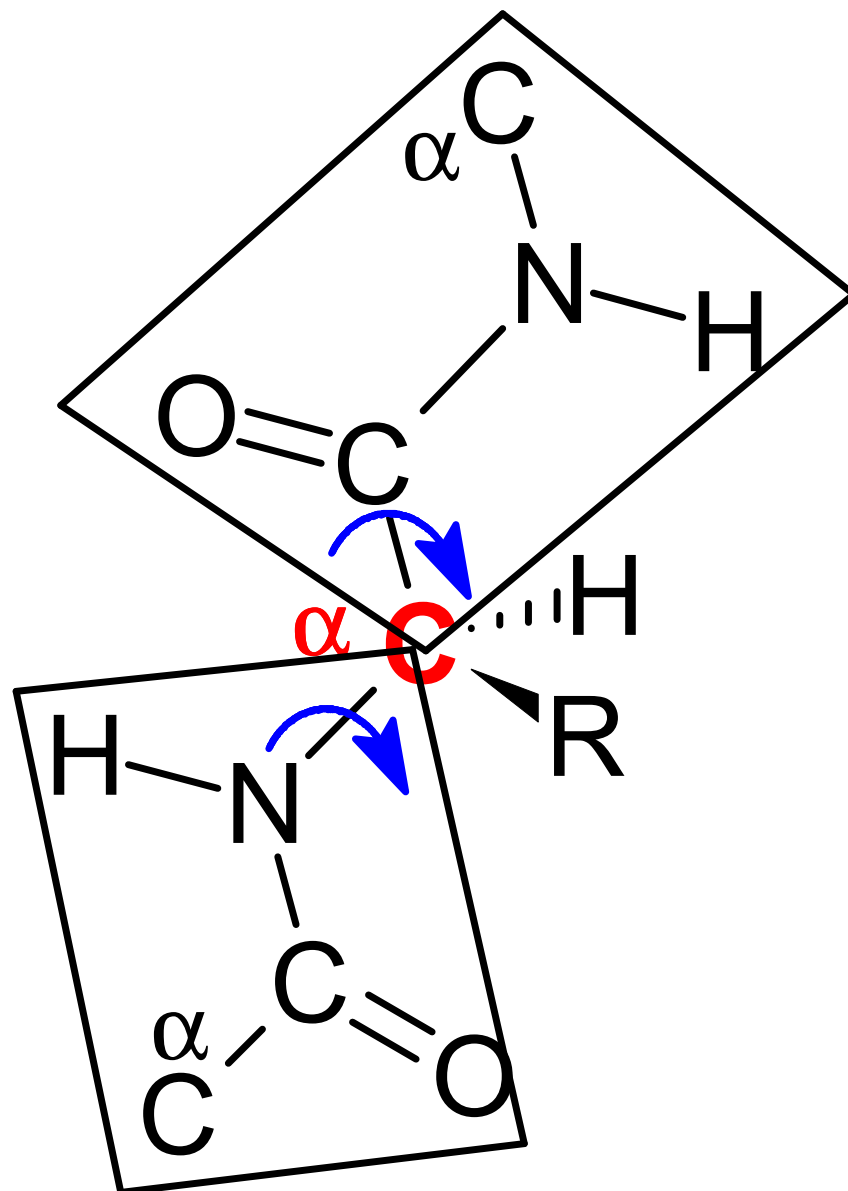
# Atomy -CO-NH- jsou v rovině



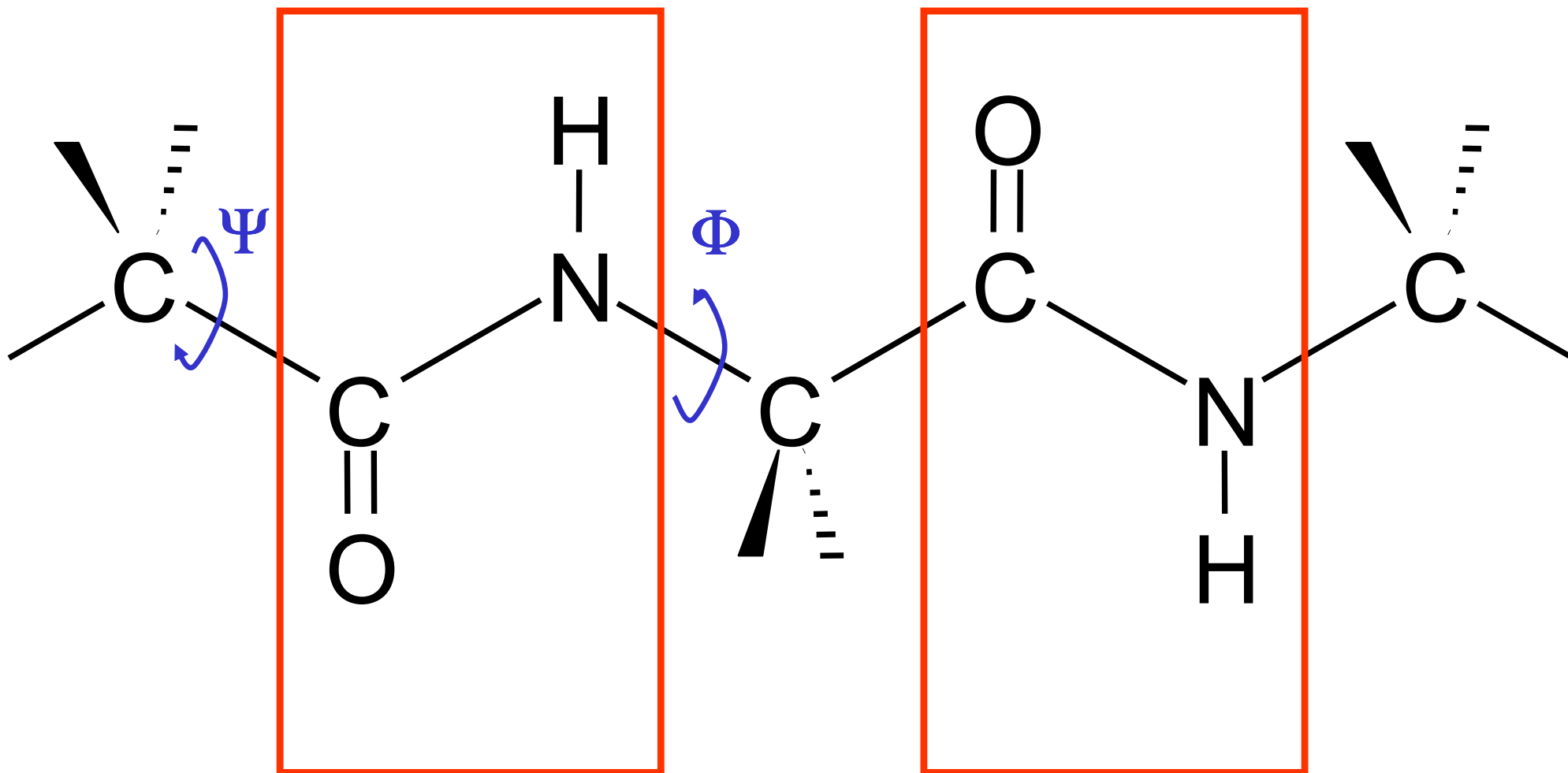
Šest  
atomů  
peptidové  
vazby  
leží  
v rovině



# Roviny peptidových vazeb mohou rotovat



# Rotací peptidových vazeb se utváří různé typy sekundární struktury





# Kombinace torzních úhlů

- kombinace torzních úhlů  $\Phi$  a  $\Psi$  nejsou neomezené
- uplatňují se prostorové nároky bočních řetězců aminokyselin na  $C\alpha$
- pro určité typy **sekundární struktury** existují konkrétní hodnoty obou úhlů

- $\alpha$ -helix  $\Phi = -57^\circ$   $\Psi = -47^\circ$
- $\beta$ -struktura  $\Phi = -140^\circ$   $\Psi = 150^\circ$
- natažený řetězec  $\Phi = 180^\circ$   $\Psi = 180^\circ$

(LCH II, str. 13)

# Sekundární struktura

se týká pouze určité části polypeptidového řetězce (segmentu)

- lokální prostorové uspořádání atomů v peptidovém řetězci
- bez ohledu na uspořádání postranních řetězců R
- bez ohledu na vztahy segmentu k jiným segmentům peptid. řetězce
- Typy sekundární struktury:

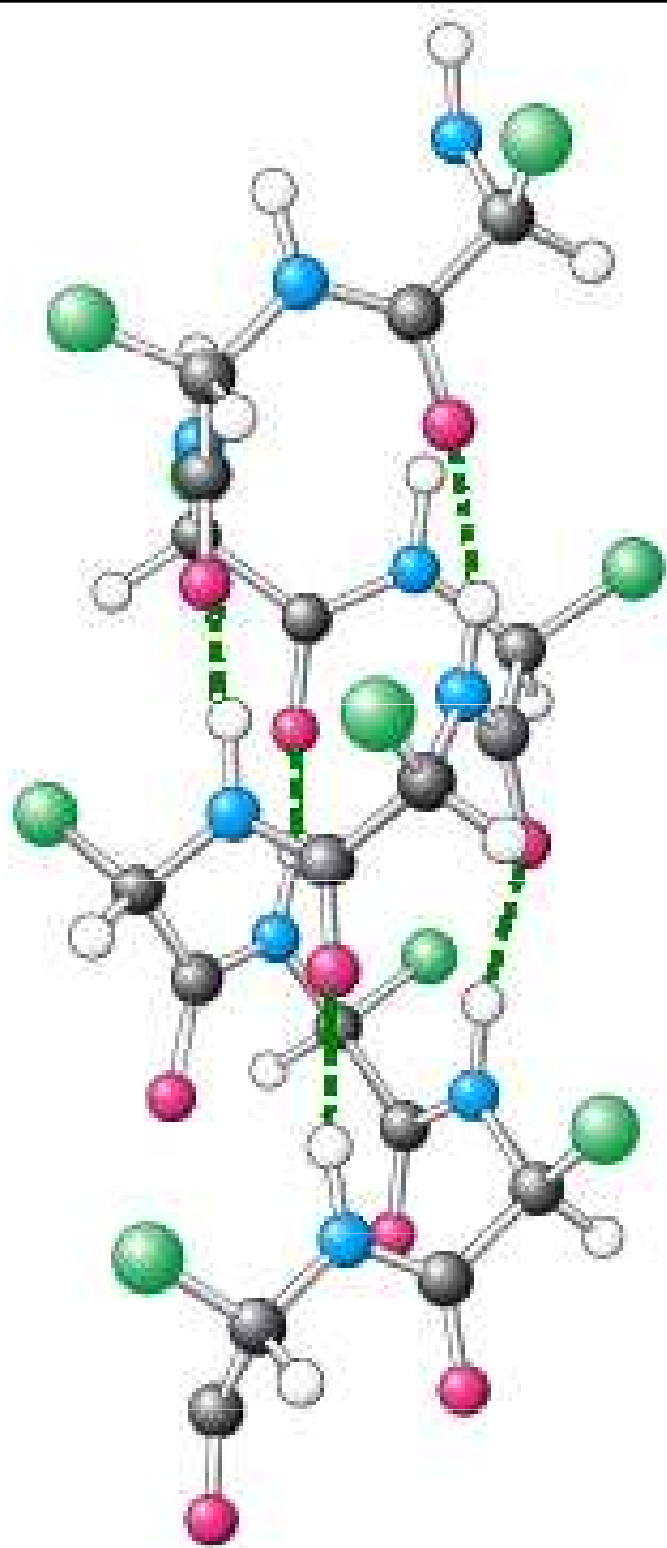
**Pravidelná** (helixy,  $\beta$ -struktura)

**Ohybová** (stočení skládaného listu,  $\beta$ -ohyb)

**Nepravidelná** (deformace vlivem prolinu, plápolající konce)

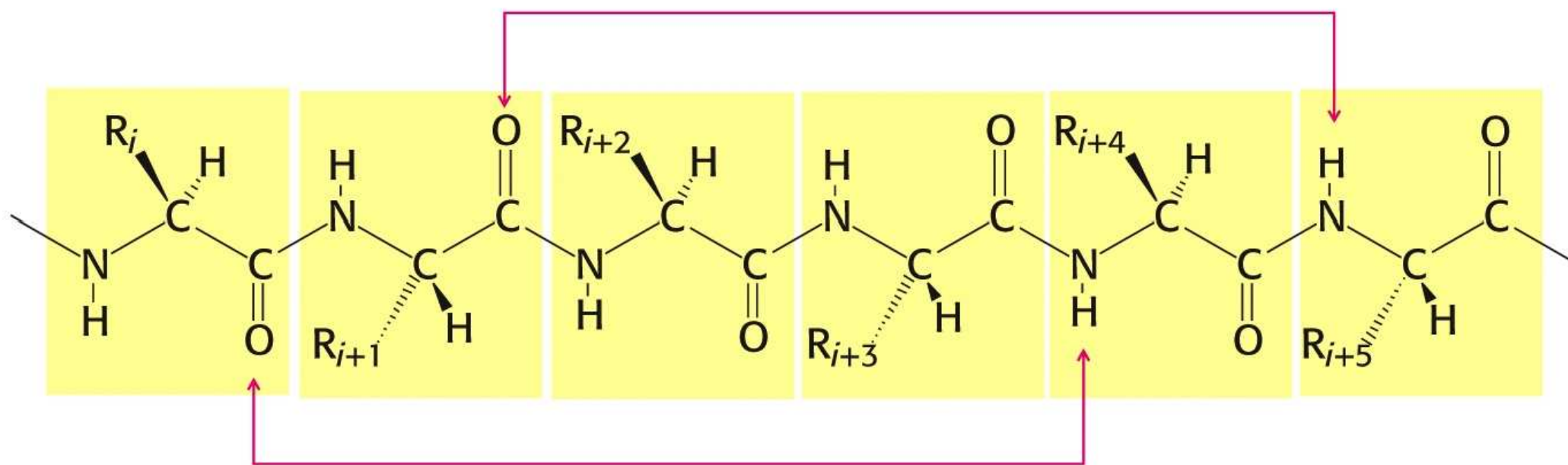
# $\alpha$ -Helix

- **Jeden úsek** peptidového řetězce vytváří pravotočivou šroubovici
- C=O a NH skupiny jsou paralelní s dlouhou osou šroubovice
- každá C=O skupina je vázána H-vazbou s NH o čtyři AK vzdálenější
- H-vazby jsou souběžné s osou helixu
- postranní řetězce R jsou na **vnější straně** helixu



H-vazby jsou  
rovnoběžné  
s osou helixu

**Každá C=O skupina je vázána H-vazbou  
s NH skupinou o čtyři AK vzdálenější**

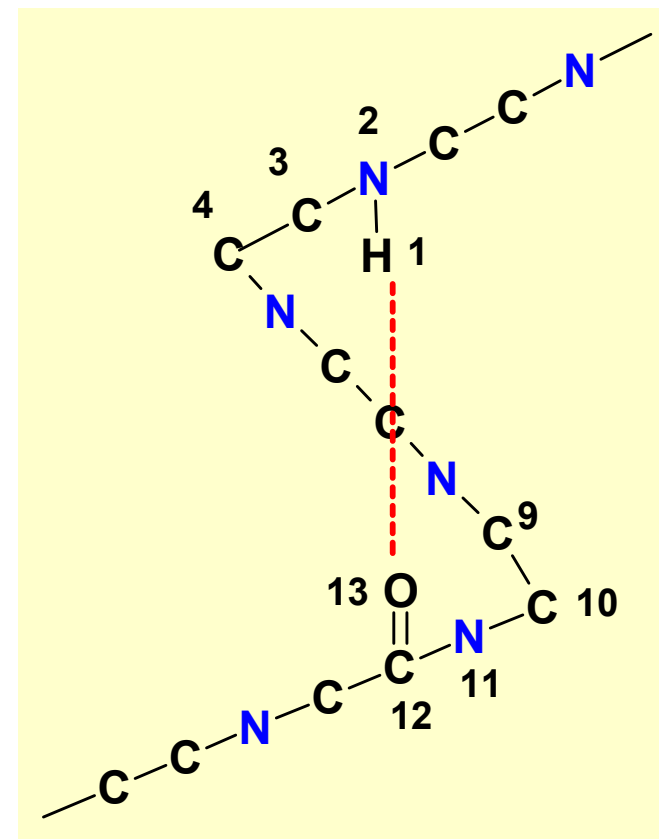


# Braggova symbolika $\alpha$ -helixu

**3,6**  
**13**

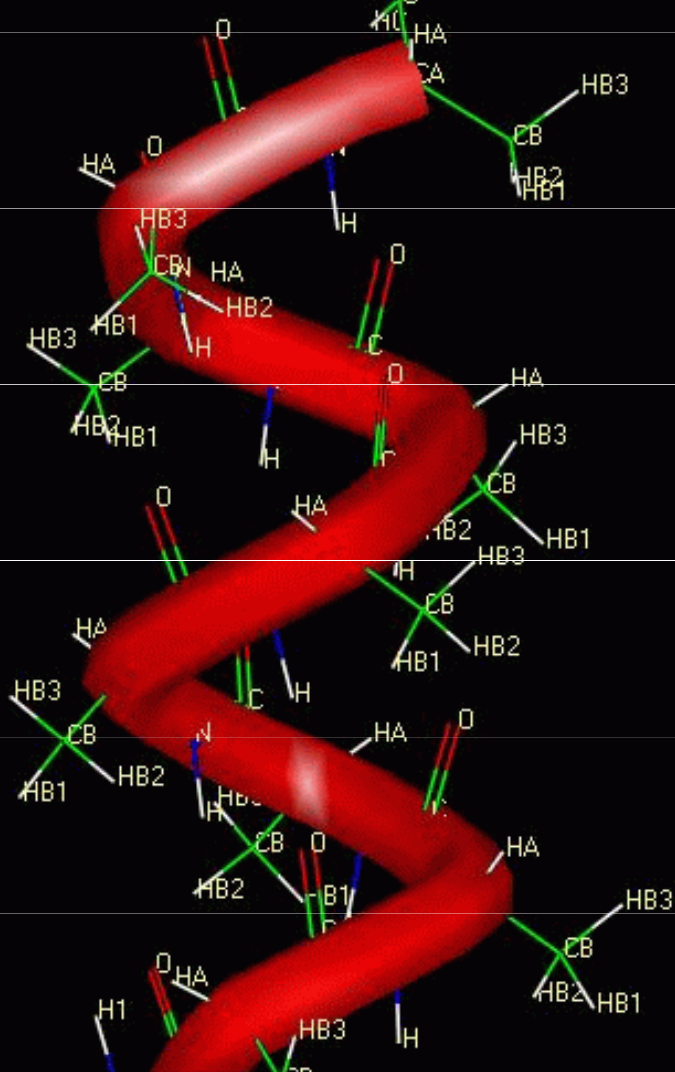
počet AK na jeden závit

počet atomů v heterocyklu  
vzniklém H-vazbou: 11 + O + H

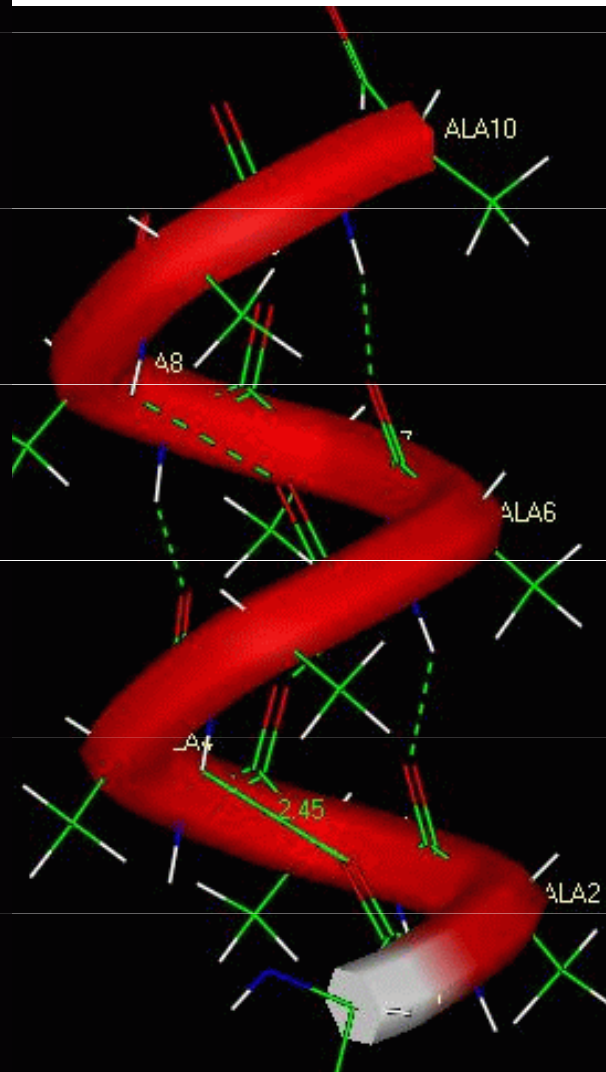


# Další typy helixů

$\alpha$ -helix (3,6<sub>13</sub>)

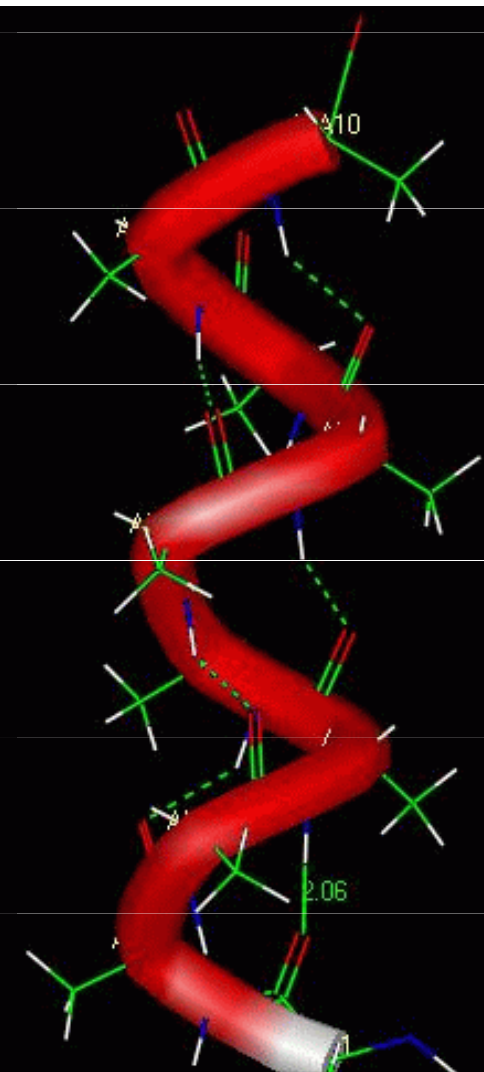


$\pi$ -helix 4,4<sub>16</sub>



„volnější“

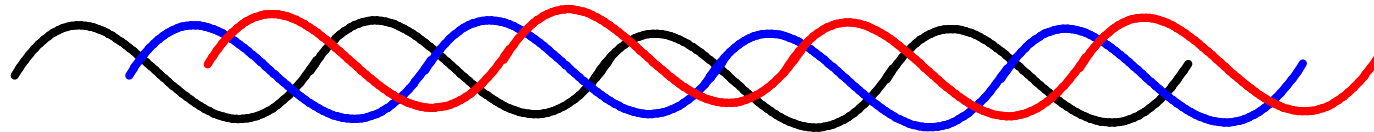
3,0<sub>10</sub>-helix



„těsnější“

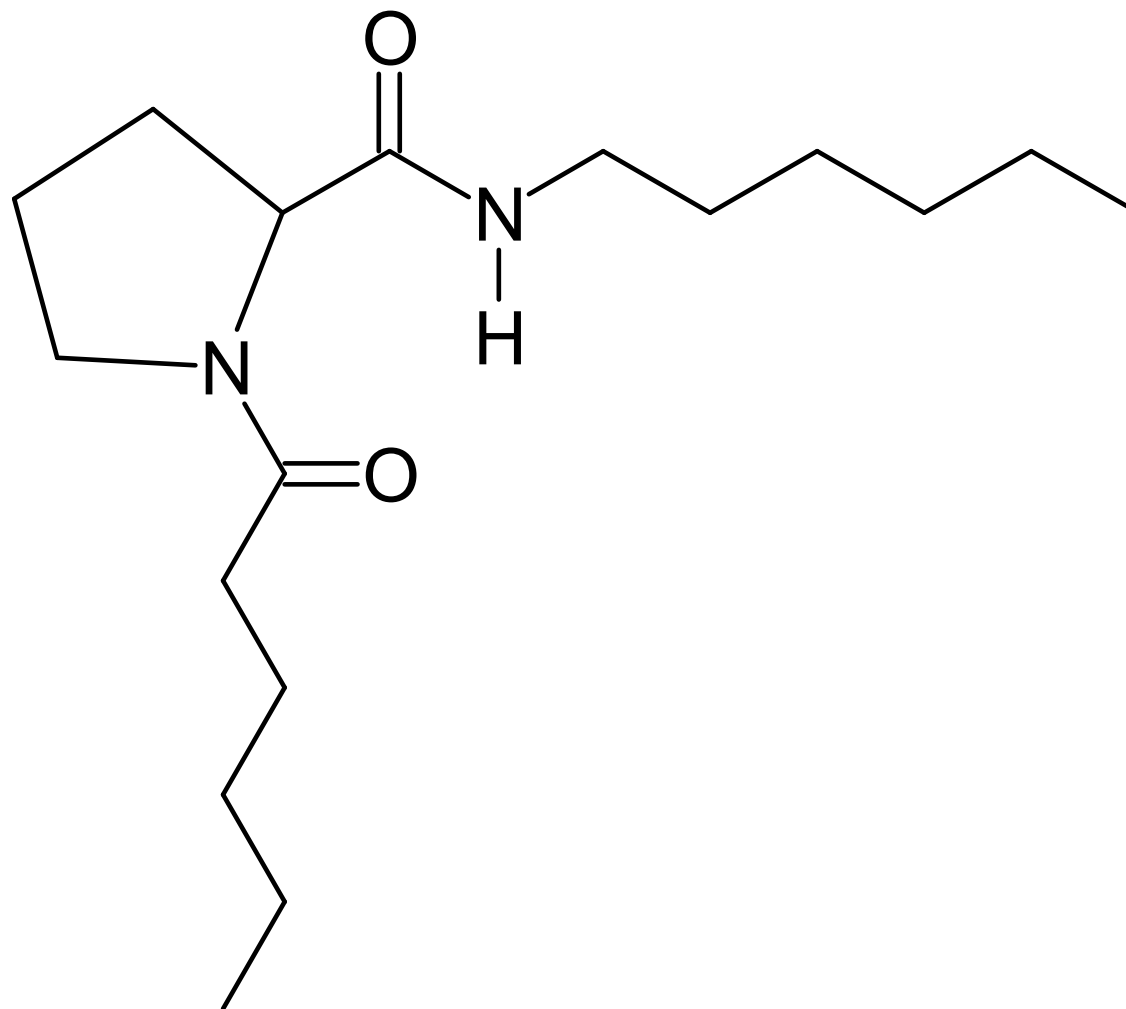
# Strmý helix kolagenu

- prim. strukt. (Gly-X-Pro) a (Gly-X-hyPro)
- C=O a NH skupiny vybočené do stran, kolmo na svislou osu
- helix je levotočivý a „natažený“
- H-vazby mezi třemi helixy - **triplhelix**
- velmi pevná a rigidní bílkovina



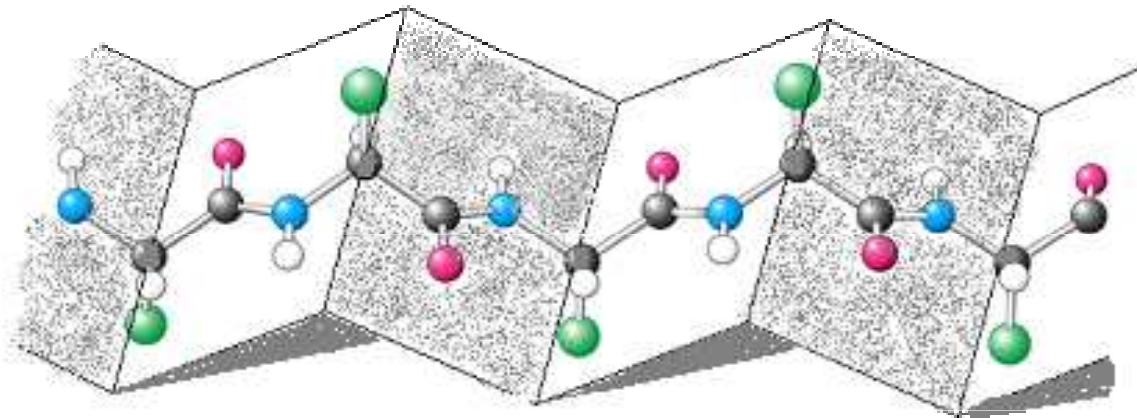


# Prolin způsobuje ohnutí řetězce (zlom)

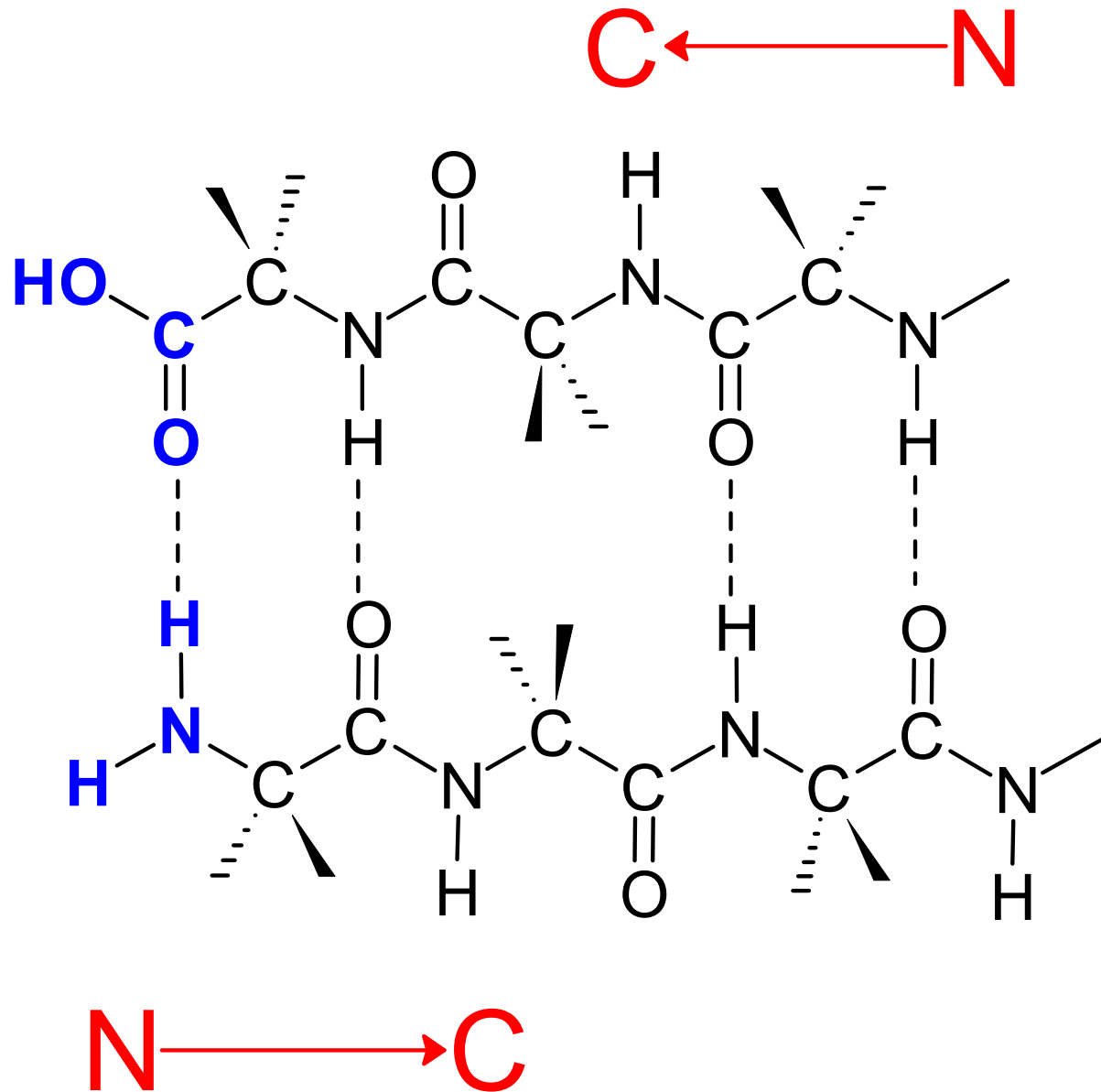


# $\beta$ -Struktura

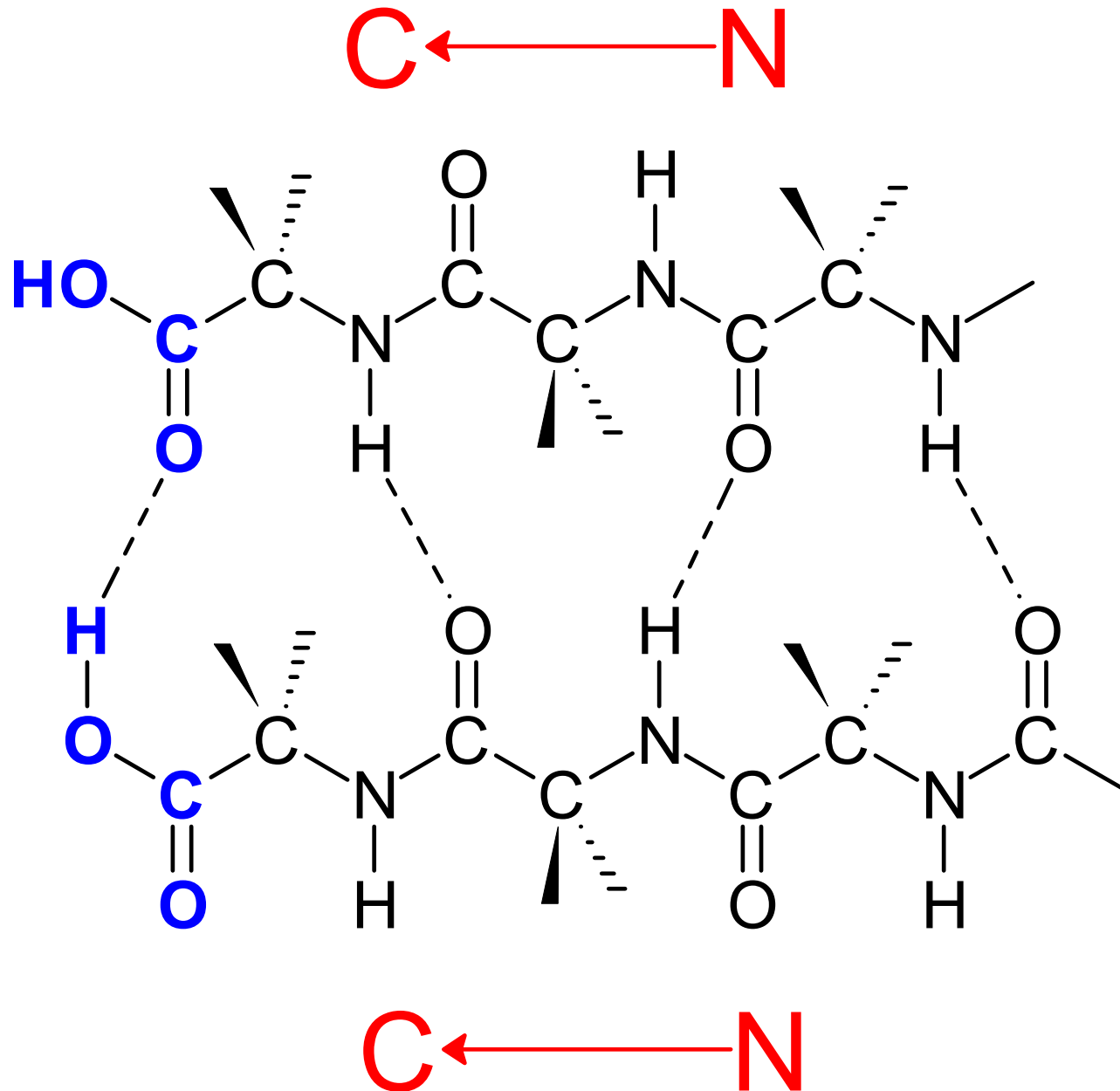
- natažený řetězec („šroubovice se dvěma zbytky na závit“)
- H-vazbami se spojuje se sousedními segmenty do tzv. skládaného listu
- H-vazby mezi NH a CO jsou kolmo na řetězce
- postranní řetězce AK nad a pod myšlenou rovinou



# Antiparalelní skládaný list (častější)



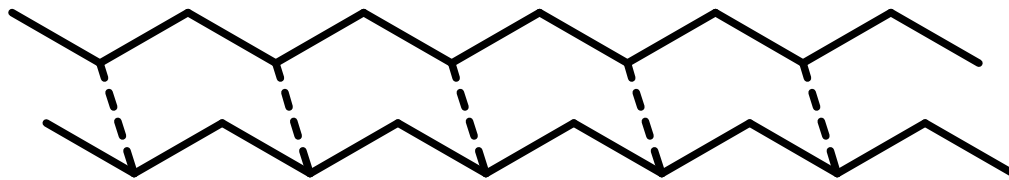
# Paralelní skládaný list



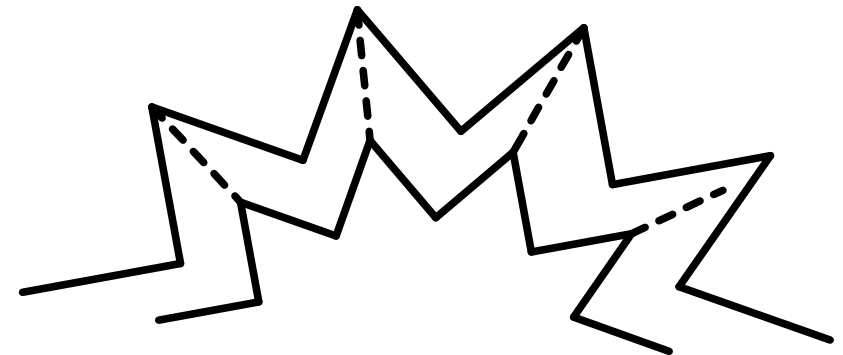
# Deformace pravidelných struktur



**$\beta$ -struktura**



**$\beta$ -list**

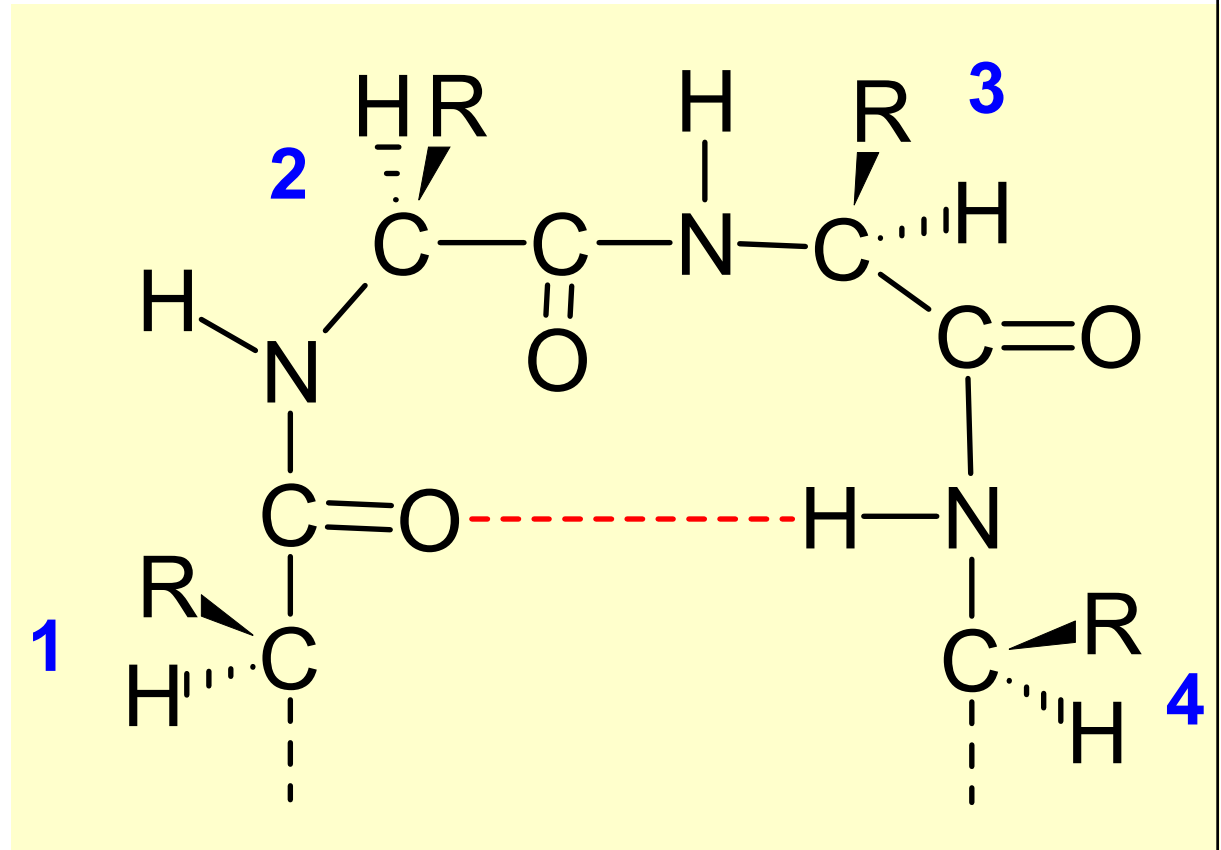


**$\beta$ -list stočený**

- poměrně často nastává stočení nebo ohnutí pravidelných struktur
- skládaný list  $\rightarrow$  stočený list

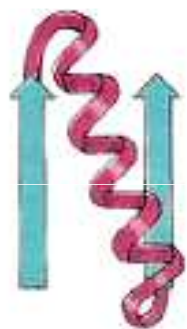
# $\beta$ -Ohyb

- tetrapeptidový segment, často Gly, Pro
- umožňuje otočení řetězce o  $180^\circ$
- stabilizován H-vazbou mezi 1. a 4. AK

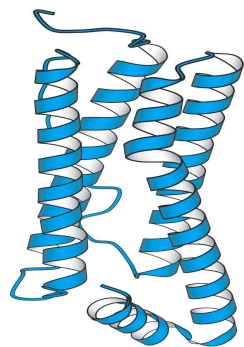


# Supersekundární struktury

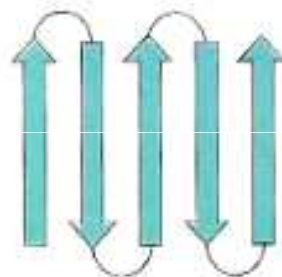
- kombinace pravidelných sekundárních struktur
- vyskytují se ve stejné podobě v různých a nepříbuzných bílkovinách



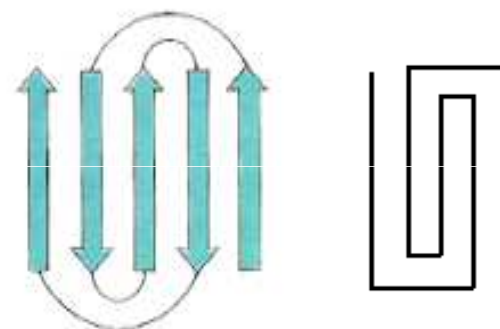
$\beta\alpha\beta$



4- $\alpha$ -helix



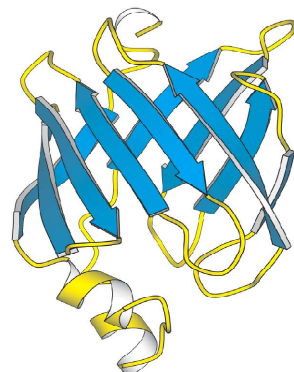
$\beta$ -meandr



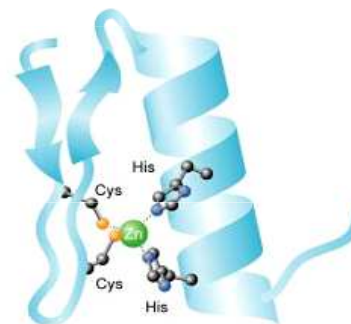
Řecký klíč



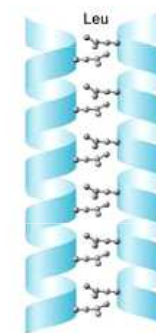
stočené helixy



$\beta$ -barel



zinkový prst



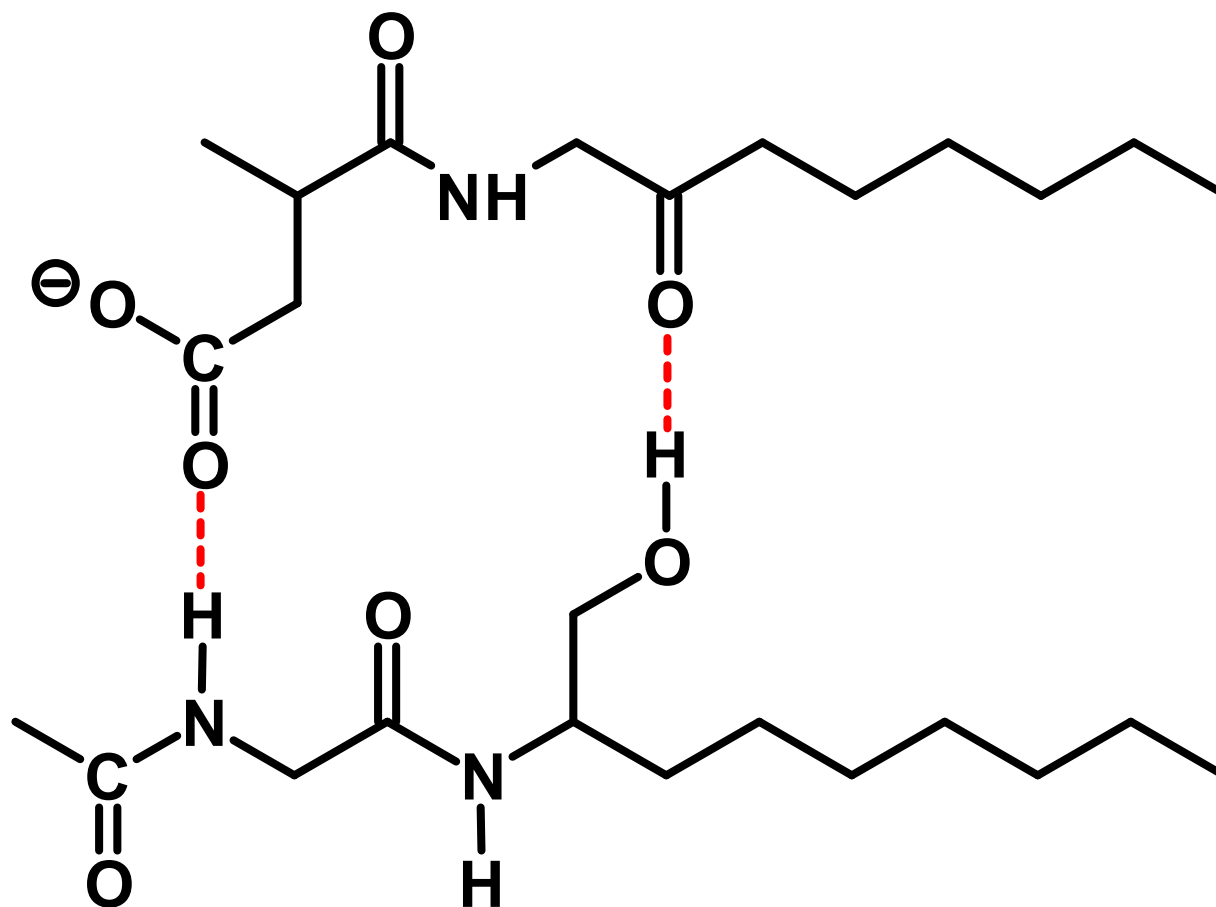
leucinový zip

# Terciární struktura

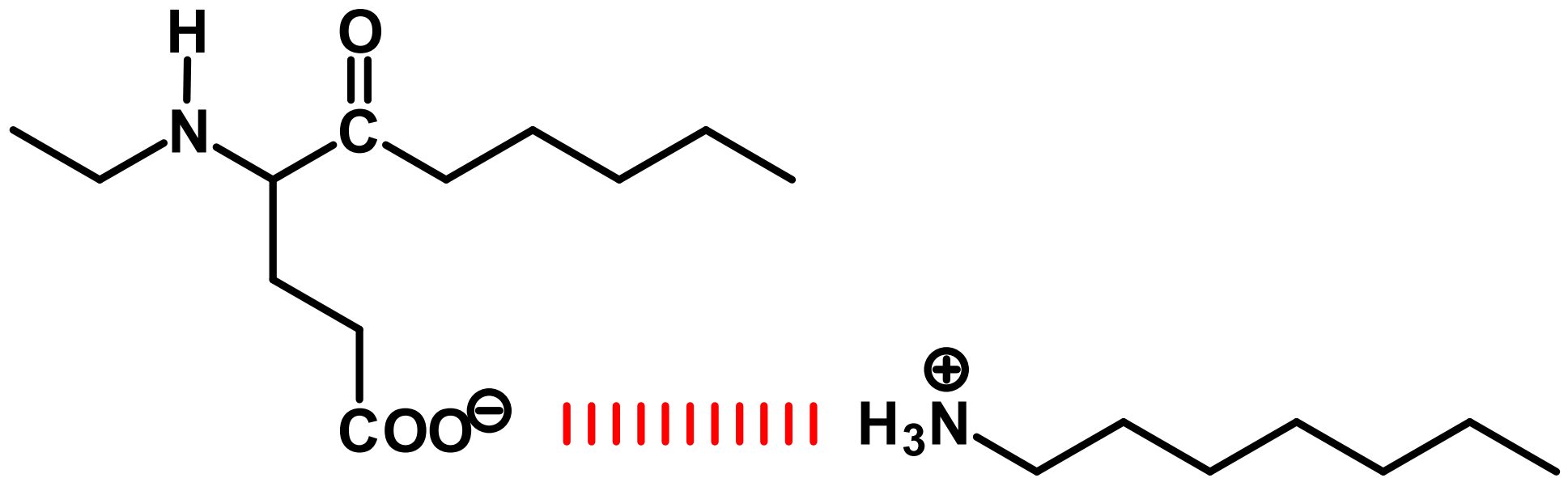
- prostorové uspořádání všech atomů jednom polypeptidovém řetězci
- je udržována nevazebnými interakcemi postranních řetězců AK (H-vazby, elektrostatické, hydrofobní)
- **polární** postranní řetězce jsou lokalizovány **na povrchu**
- **hydrofobní** zbytky jsou zanořeny **dovnitř**



# Vodíkové vazby



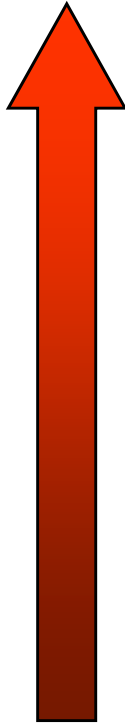
# Elektrostatická interakce (kation ..... anion)



„solný můstek“

# Ionizující skupiny v postranních řetězcích AK

Skupina	$pK_A$	AK	Náboj (pH 7,40)
$\beta$ -Karboxyl	3,9	<b>Asp</b>	<b>záporný</b>
$\gamma$ -Karboxyl	4,3	<b>Glu</b>	<b>záporný</b>
Imidazolium	6,0	<b>His</b>	<b>kladný</b>
$\epsilon$ -Amonium	10,5	<b>Lys</b>	<b>kladný</b>
Guanidinium	12,5	<b>Arg</b>	<b>kladný</b>



# Pět aminokyselin vytváří solné můstky

- **Dvě kyselé: Asp, Glu**

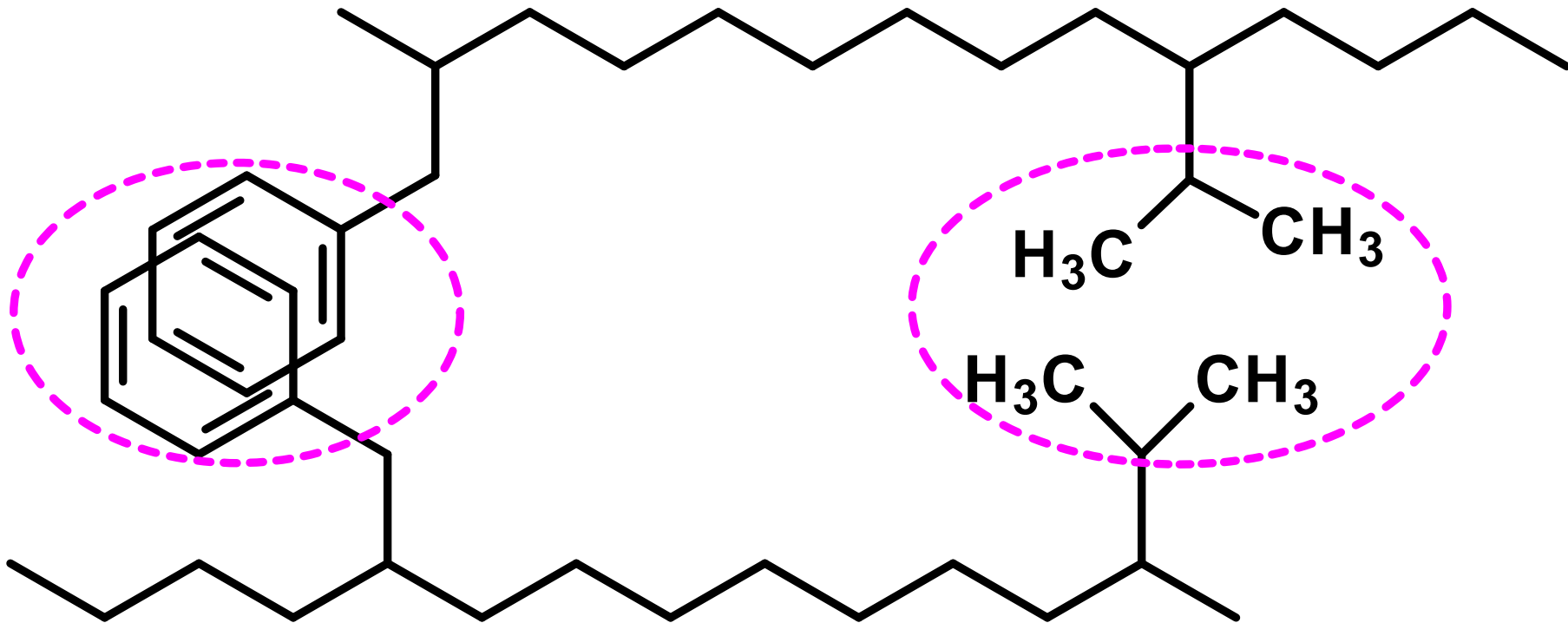
v postranním řetězci záporný náboj

karboxylátového aniontu (-COO<sup>-</sup>)

- **Tři bazické: Arg, Lys, His**

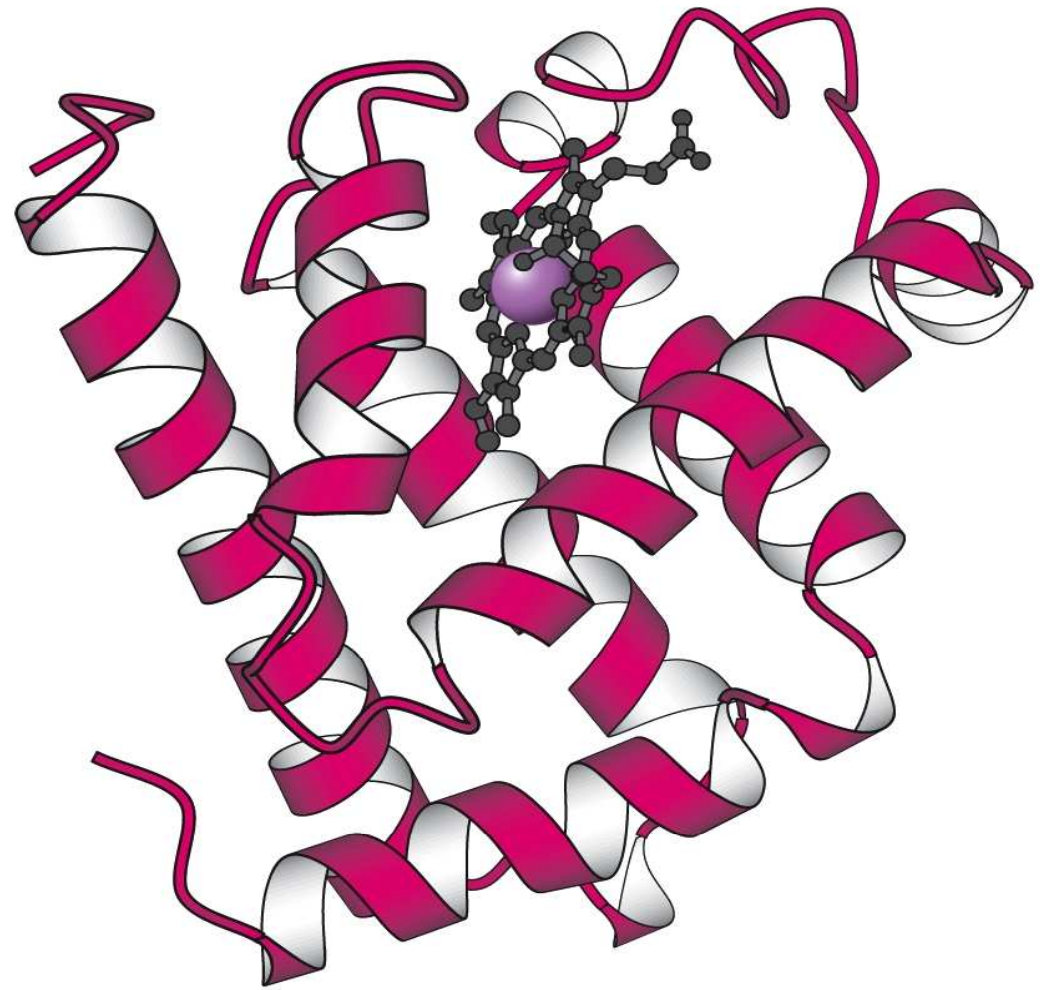
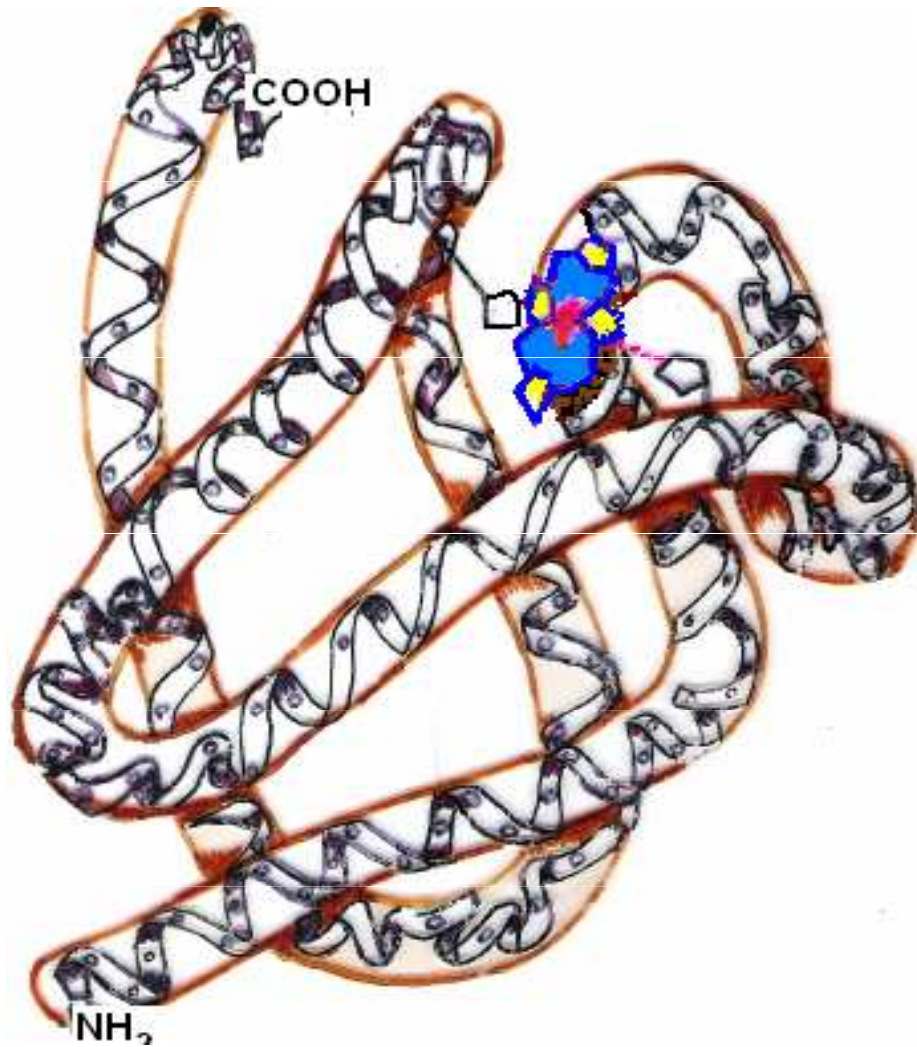
v postranním řetězci kladný náboj na dusíku

# Hydrofobní interakce



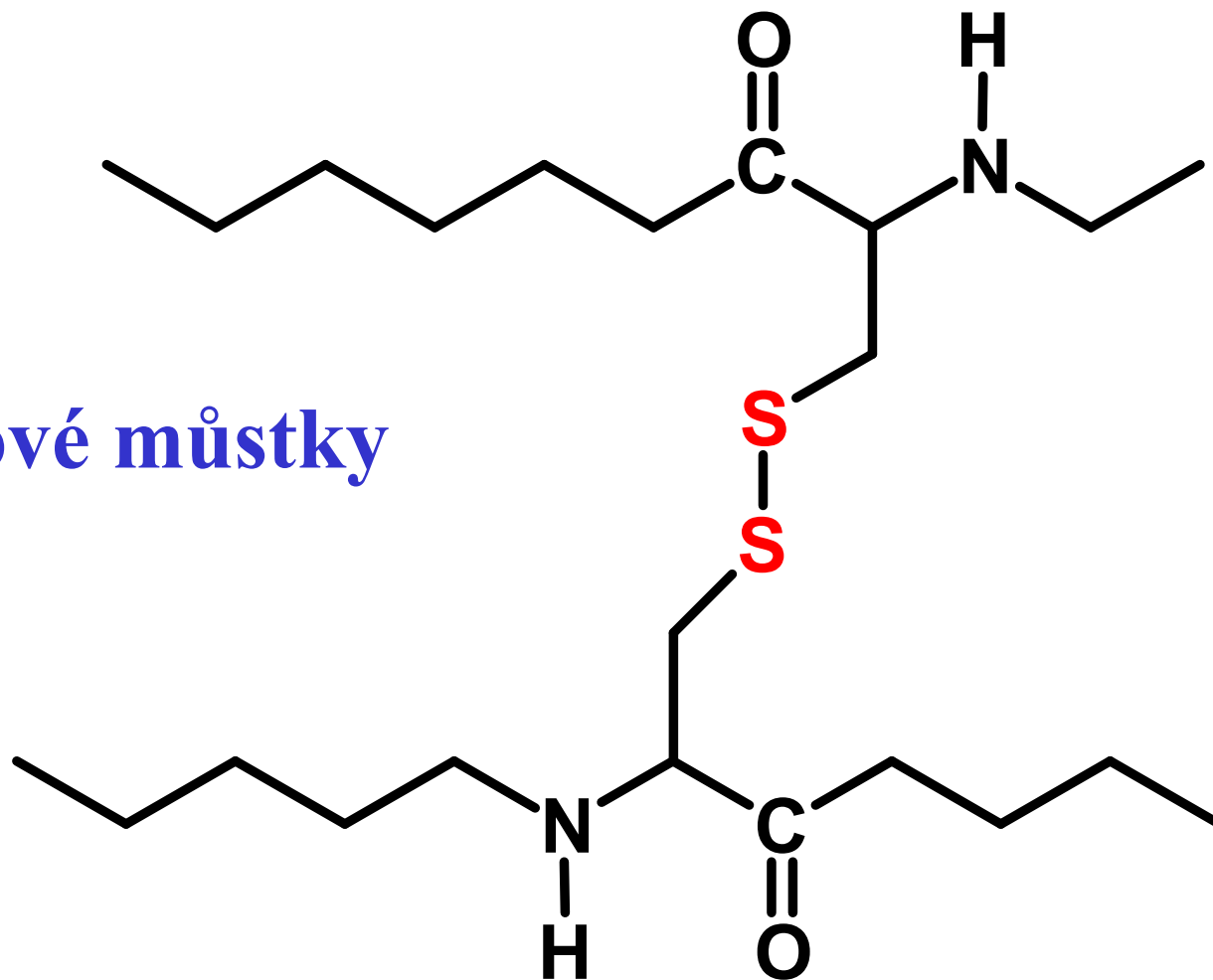
Molekuly vody vytěsněné z prostoru interakce zvyšují celkovou entropii systému + okolí (viz přednáška *Energetika*).

# Terciární struktura hemoglobinu

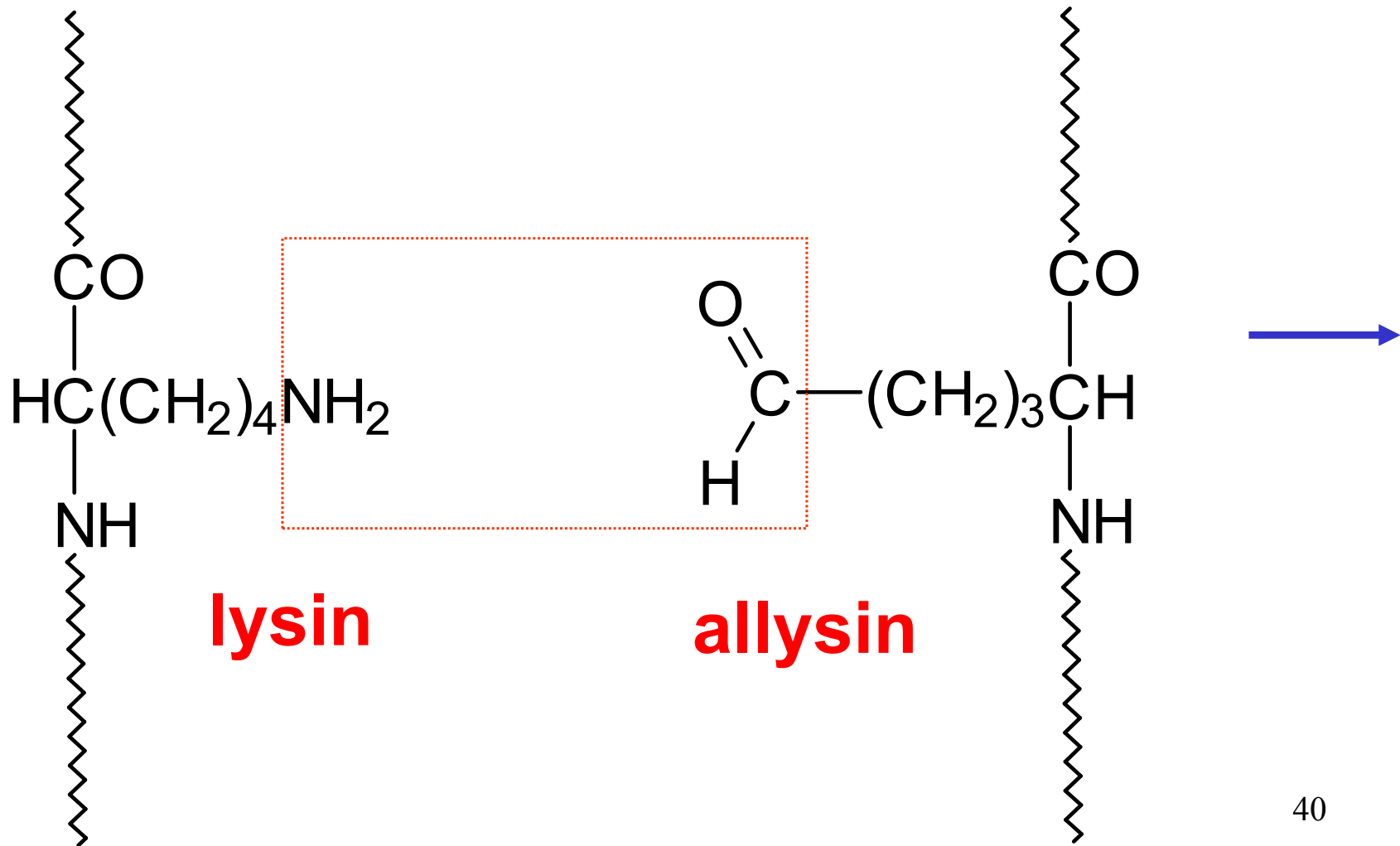


# Silné kovalentní vazby zpevňují terciární strukturu

disulfidové můstky

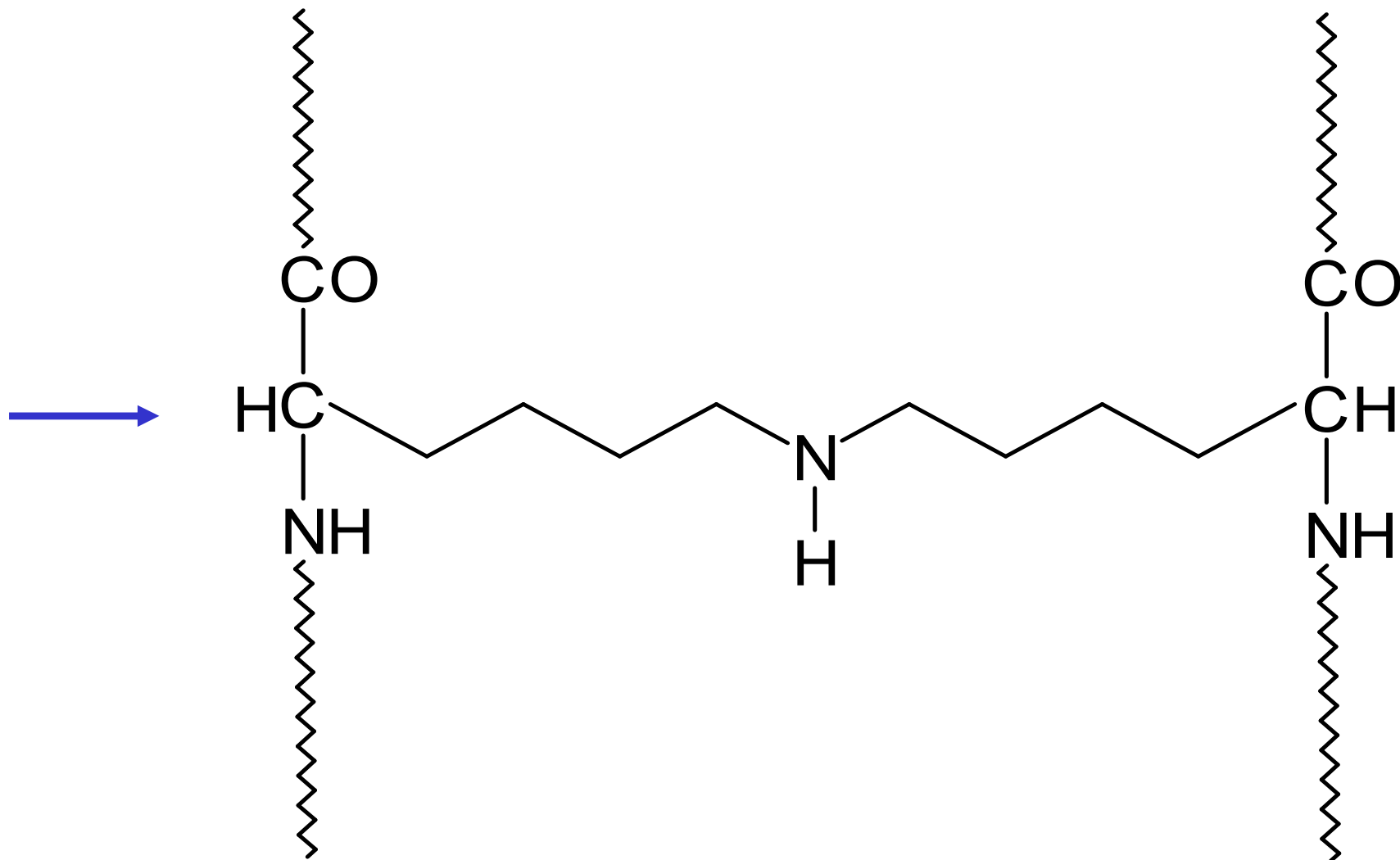


# Příčné můstky v kolagenu vznikají reakcí koncových skupin Lys + alLys





# Příčný můstek bílkovin pojiva vzniklý hydrogenací Schiffovy báze



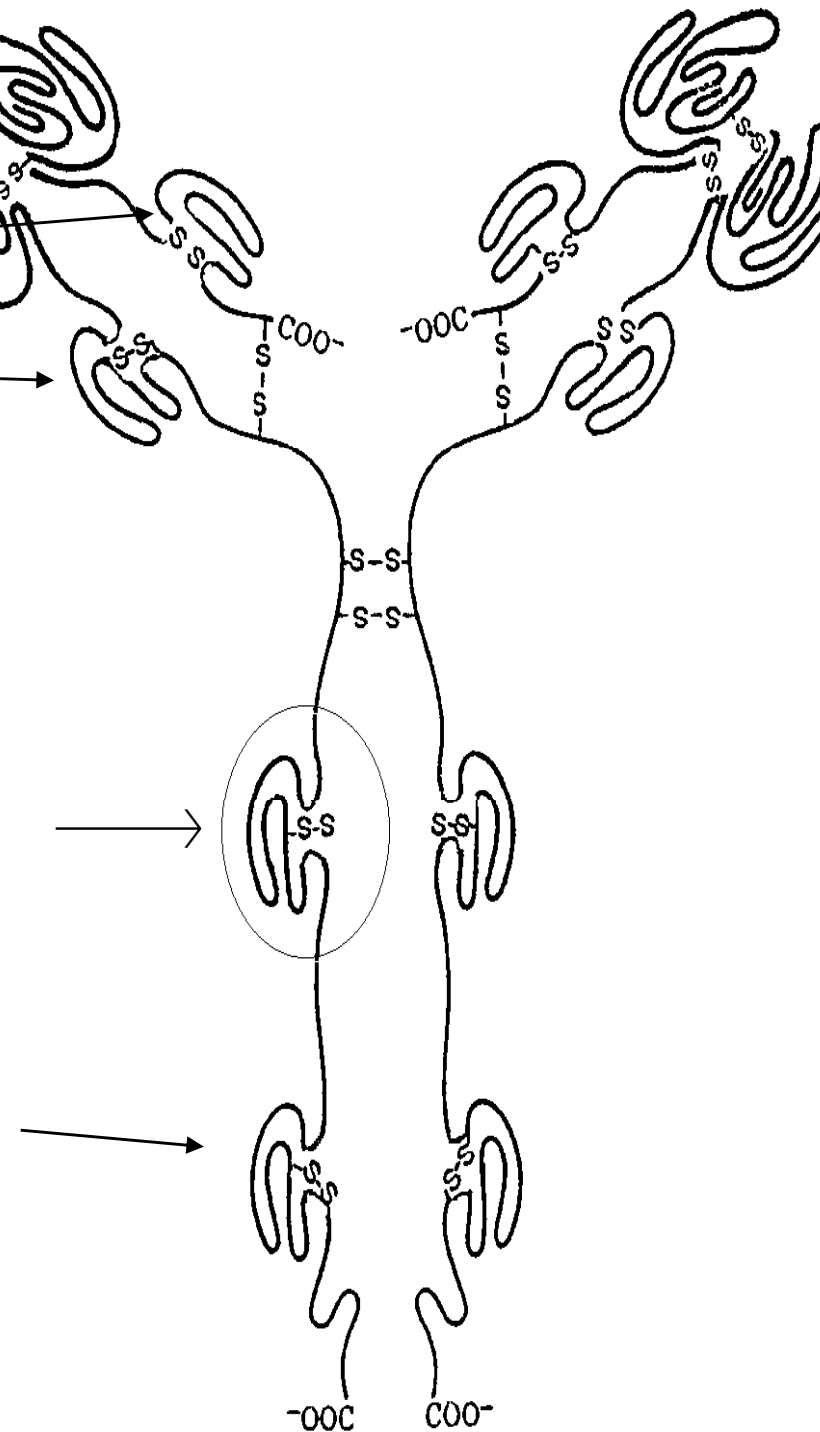
# Domény

- relativně samostatné kompaktní globulární oblasti (samostatné „ostrůvky ve struktuře“)
- odděleny obvykle nestrukturovaným polypeptidem
- mohou zahrnovat supersekundární struktury
- jsou často zodpovědné za určitou aktivitu proteinu
- příklad: domény lehkých a těžkých řetězců imunoglobulinů

# Imunoglobuliny

variabilní domény  
jsou zodpovědné  
za specifitu  
protilátky

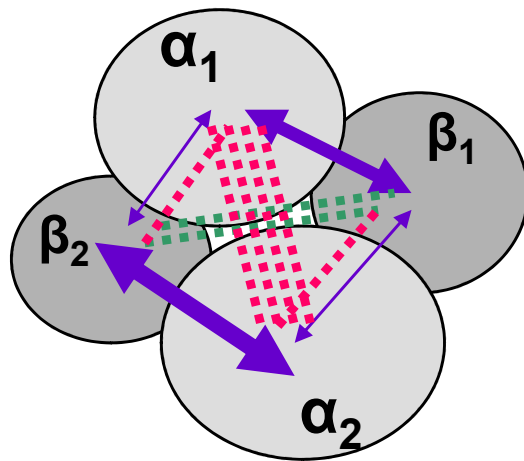
konstantní domény  
odpovídají např. za  
vazbu ke komplemetu



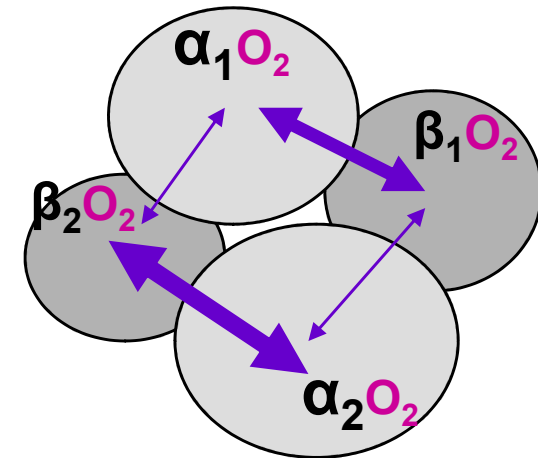
# Kvartérní struktura

- **jen u oligomerních proteinů**
- popisuje počet podjednotek (samostatných polypeptid. řetězců), jejich prostorové uspořádání a interakce mezi nimi
- stabilizace nevazebnými interakcemi
- podjednotky mohou být stejné nebo různé

# Kvartérní struktura hemoglobinu



deoxyhemoglobin  
T-forma



oxyhemoglobin  
R-forma

# Příklady proteinů s kvartérní strukturou

Protein	Podjednotky	Význam
$\alpha$ -Amylasa	2	štěpí škrob na maltosu
Kreatinkinasa	2	fosforylace kreatinu
Laktátdehydrogenasa	4	glukoneogeneze
Hemoglobin	4	transport O <sub>2</sub>
Proteinkinasa A	4	regulační protein
Myosin	6	svalový protein
Asp-karbamoyltransferasa	12	syntéza pyrimidinových bází
Ferritin	20	zásoba Fe <sup>3+</sup> v játrech

# Úrovně popisu struktury - shrnutí

<b>Struktura</b>	<b>Popisuje</b>	<b>Nevaz. interakce</b>
Primární	jeden polypeptidový řetězec	žádné
Sekundární	část jednoho řetězce	H-vazby
Supersekundární	několik částí řetězce	všechny
Terciární	jeden řetězec	všechny
Kvartérní	několik řetězců	všechny

# Konformační změny (flexibilita) proteinů

- změny konformace proteinu jsou hybnou silou biochemických pochodů
- např. fosforylace proteinu vyvolá změnu konformace – enzym se stává aktivním (princip aktivačního působení kinas)
- hormon se naváže na receptor – receptor změní konformaci a stane se např. iontovým kanálem
- změny konformace se přenášejí z jedné molekuly na druhou (aktivace podjednotek hemoglobinu vazbou první molekuly O<sub>2</sub>)



# Denaturace proteinů

- rozvolnění terciární a sekundární struktury
- rozrušení nevazebných interakcí
- beze změn v primární struktuře
- ztráta biologické funkce
- většinou irreverzibilní proces

Nativní protein je v přirozené, biologicky účinné konformaci

# Denaturace proteinů

(viz Praktická cvičení, str. 37)

## Chemická

- silné kyseliny
- silné hydroxidy
- těžké kovy
- deproteinační činidla
- tenzidy

## Fyzikální

- zvýšená teplota
- mechanické vlivy
- ultrazvuk
- ionizující záření

# Šlehání bílku z pohledu chemika

- vaječný bílek je viskózní roztok **globulárních** bílkovin (ovalbumin, ovotransferrin, ovomukoid, ovomucin, ovoglobuliny, avidin ad.)
- šlehání (vznik pěny) = uzavírání malých bublinek vzduchu do bílku
- vysoká viskozita bílku ztěžuje unikání bublinek a stabilizuje pěnu
- bílkoviny jsou amfoterní tenzidy, orientují se na fázovém rozhraní, tím se rozpletou do **volných řetězců** a ty se vzájemně propojí = denaturace
- z pěny se stane tuhý sníh = denaturace dokončena a nevratná
- denaturaci (vznik sněhu) usnadňují další faktory:
  - zvýšená teplota (šlehání v páře)
  - změna iontové síly (přidat špetku soli)
  - změna pH (přidat několik kapek citronové šťávy)

# Strukturní typy proteinů

- **vláknité** (nerozpustné, větší molekulová hmotnost)
- **globulární** (rozpustné, nižší molekulová hmotnost)
- **membránové** (nerozpustné, struktura uzpůsobena pro interakci s membránou)

# Vláknité (fibrilární) proteiny

- keratiny
- kolagen, elastin (pojivo)\*
- proteiny cytoskeletu
- svalové proteiny\*
- fibroin

\*Podrobněji ve 4. semestru

# Keratiny

- vlasy, chlupy, nehty, u zvířat kopyta, peří, srst
- polypeptidové řetězce jsou vzájemně vázány disulfidovými a vodíkovými vazbami
- $\alpha$ -helixy svinuty do protofibrily
- mechanicky a chemicky odolný
- horkou vodou se H-vazby rozruší - vlas lze natáhnout,  $\alpha$ -helix  $\rightarrow$   $\beta$ -list

# Keratin a „trvalá ondulace“

- vlasový keratin obsahuje mnoho disulfidových můstků
- působením thioglykolové kyseliny ( $\text{HS-CH}_2\text{-COOH}$ ) se disulfidové můstky zredukují na -SH skupiny
- vlasy jsou pak natočeny do nového tvaru
- $\text{H}_2\text{O}_2$  oxiduje -SH skupiny na -S-S- můstky a ty fixují keratin v novém tvaru



# Keratin a moli ve skříní

- keratin je pro člověka nestravitelný  
(Pozor na vlas v polévce)
- ovčí vlna je keratin
- mol šatní (larva) má v zažívacím traktu značné množství thiolů R-SH, kterými houževnatě a vytrvale redukuje -S-S- můstky v keratinu vlněného oblečení
- keratin pak může nutričně využít





# Kolagen

- kolagen je hlavní bílkovina pojiva, mechanicky pevná (30 % glycinu, 20 % prolinu, 10 % alaninu)
- trojšroubovice tropokolagenu asociují do mikrofibril, které jsou zpevněné kovalentními příčnými můstky
- **želatina** je produkt denaturace kolagenu, skládá se z volných řetězců bez příčných můstků

# Fibroin je produkt hmyzu a pavouků

- bílkovina hedvábí a pavučin
- struktury  $\beta$ -listů jsou vrstevnatě uspořádány
- mezi postranními řetězci jsou hydrofobní interakce



# Srovnejte

## Bavlna (cotton)

- celuloza
- rostlinný produkt
- polysacharid
- H-vazby
- dobře saje pot
- cena: ★

## Hedvábí (silk)

- fibroin
- živočišný produkt
- bílkovina
- hydrofobní interakce
- špatně saje pot
- cena: ★★ ★★

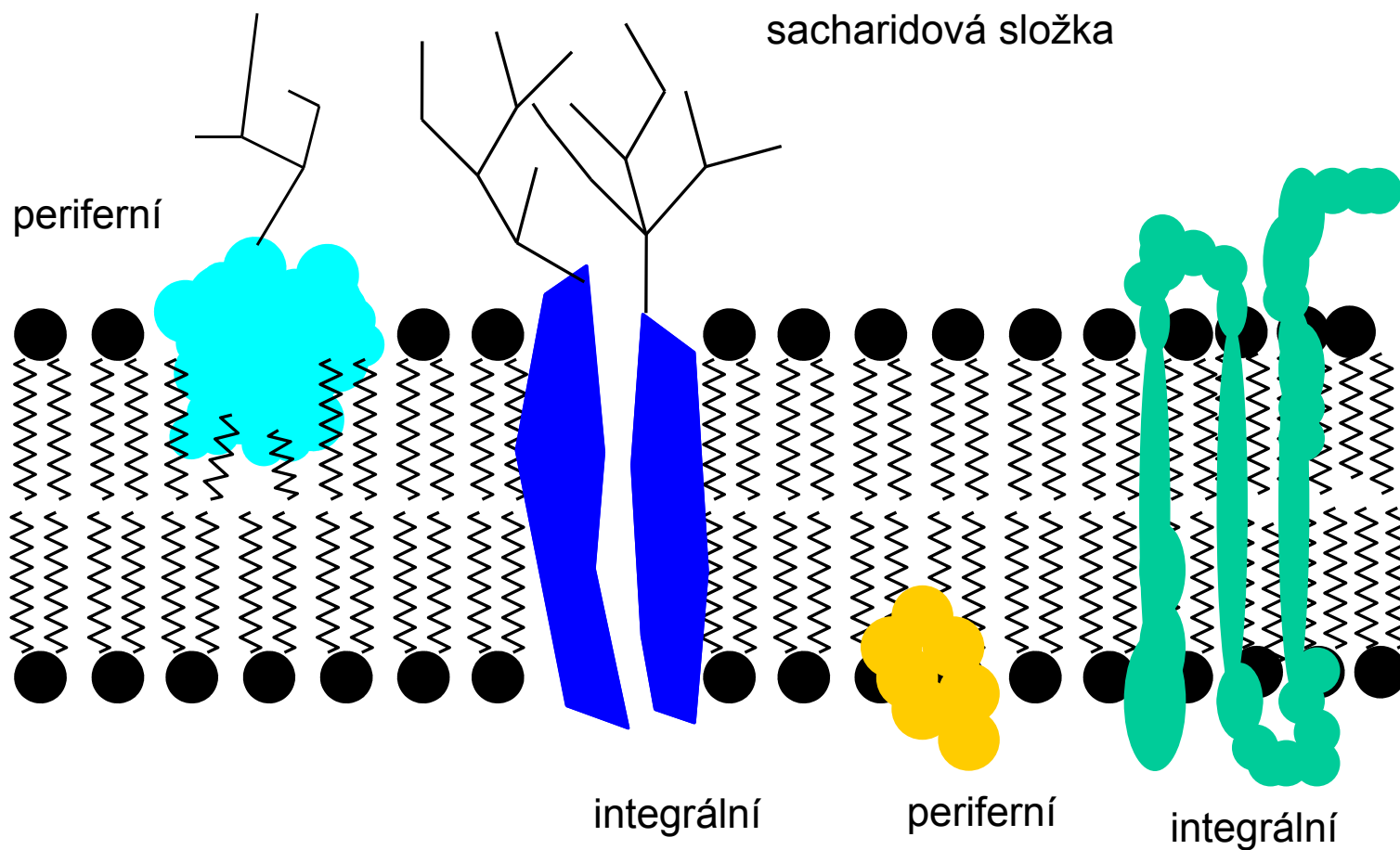
# Globulární proteiny

- **$\alpha$ -proteiny** - převažuje  $\alpha$ -helix  
(hemoglobin, myoglobin)
- **$\beta$ -proteiny** - převažuje  $\beta$ -list  
(proteasy, imunoglobuliny)
- **$\alpha/\beta$ -proteiny** - supersekundární struktury  
interagujících  $\alpha$ -helixů a  $\beta$ -struktur (kinasy)
- **$(\alpha+\beta)$ -proteiny** -  $\alpha$ -helixy a  $\beta$ -struktury neinteragují  
(insulin)

# Membránové proteiny

- **periferní** - vázány volně, globulární
- **integrální** - zanořeny nebo procházejí, často tvoří kanály
- mohou být zanořeny i několikrát (sedmihelixový typ)
- v oblasti membrány jsou hydrofobní části molekuly
- do ECT a ICT vyčnívají hydrofilní řetězce
- funkce přenašečů a receptorů

# Membránové proteiny



# Glykoproteiny

- glykosylované proteiny, typický obsah sacharidů 1-15 %
- sacharidy vázané kovalentní vazbou, dvojím způsobem:
  - N*-glykosidově (Asn)
  - O*-glykosidově (Ser, Thr)
- oba typy se liší způsobem biosyntézy

## Biosyntéza glykoproteinů

- glykosylace je nejčastější posttranslační modifikace proteinů
- probíhá buď v ER v průběhu syntézy proteinu nebo po ukončení syntézy v Golgiho aparátu

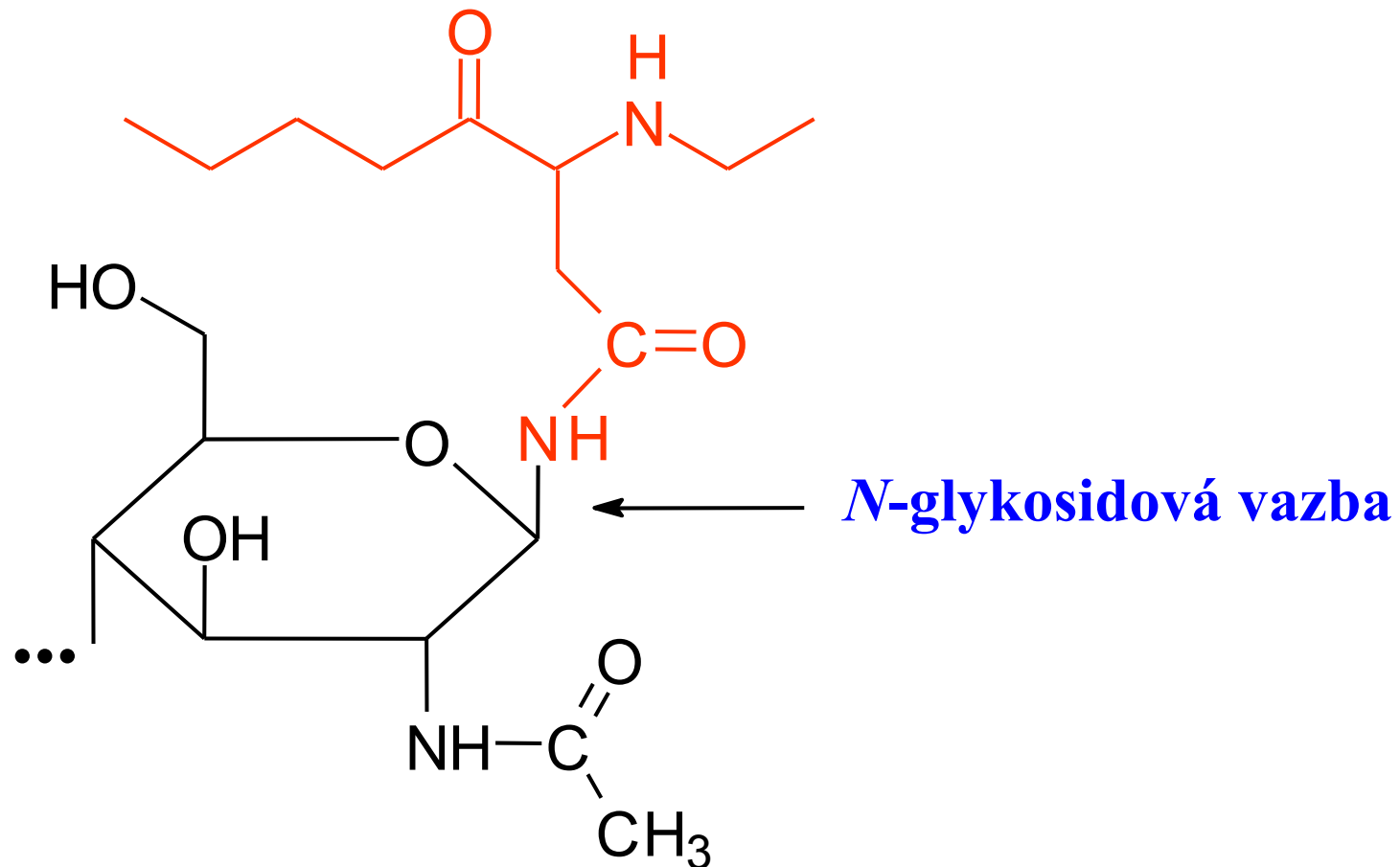
# Sacharidové složky glykoproteinů

- hexosy (mannosa, galaktosa)
- *N*-acetylhexosaminy (GlcNAc, GalNAc)
- pentosy (arabiosa, xylosa)
- 6-deoxyhexosy = methylpentosy (L-fukosa)
- sialové kyseliny



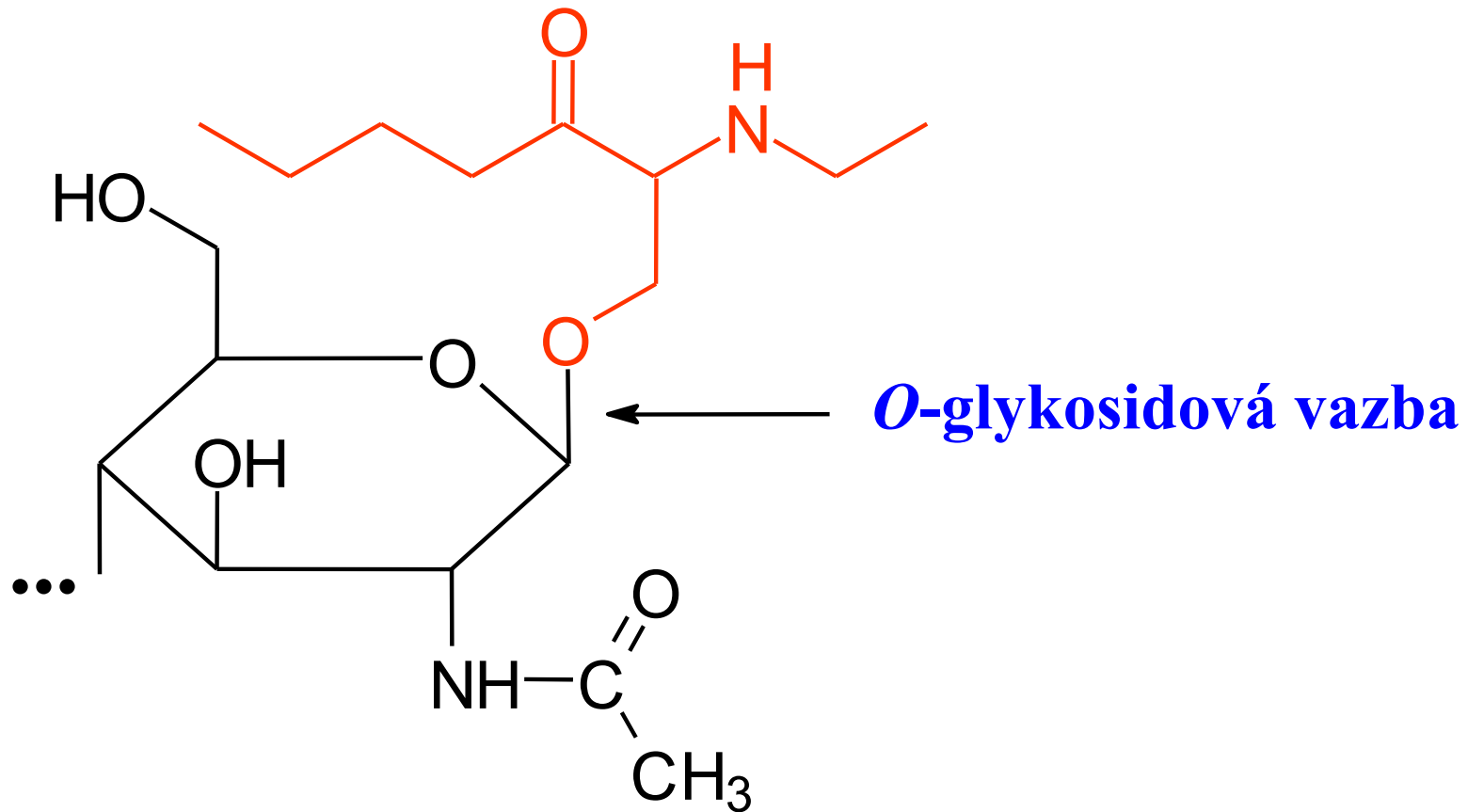
# N-Glykoproteiny

Vazba přes Asn v polypeptidovém řetězci



# *O*-Glykoproteiny

Vazba přes serin v polypeptidovém řetězci



# Diverzita oligosacharidů

- spojování monosacharidů glykosidovou vazbou
- dva monosacharidy mohou být spojeny několika typy glykosidových vazeb  $\Rightarrow$  **velká možnost větvení**

$\alpha$ 1,2    $\alpha$ 1,3    $\alpha$ 1,4    $\alpha$ 1,6    $\beta$ 1,2    $\beta$ 1,3    $\beta$ 1,4    $\beta$ 1,6

- srovnejte s možností spojení dvou aminokyselin  
 $\Rightarrow$  **velká diverzita struktur oligosacharidů**

# Funkce sacharidové složky glykoproteinů

- zvyšuje polaritu (rozpustnost) proteinu ve vodě
- vytváří povrchový náboj (sialové kyseliny)
- chrání protein před účinkem proteas
- často určuje biologický poločas proteinu (desializace)
- ovlivňuje správnou orientaci proteinu v membráně
- stabilizuje konformaci proteinu
- vytváří antigenní determinanty pro rozlišení druhů
- rozhoduje o vazbě bakterií a virů na povrch buňky
- usnadňuje specifickou vazbu hormon-receptor

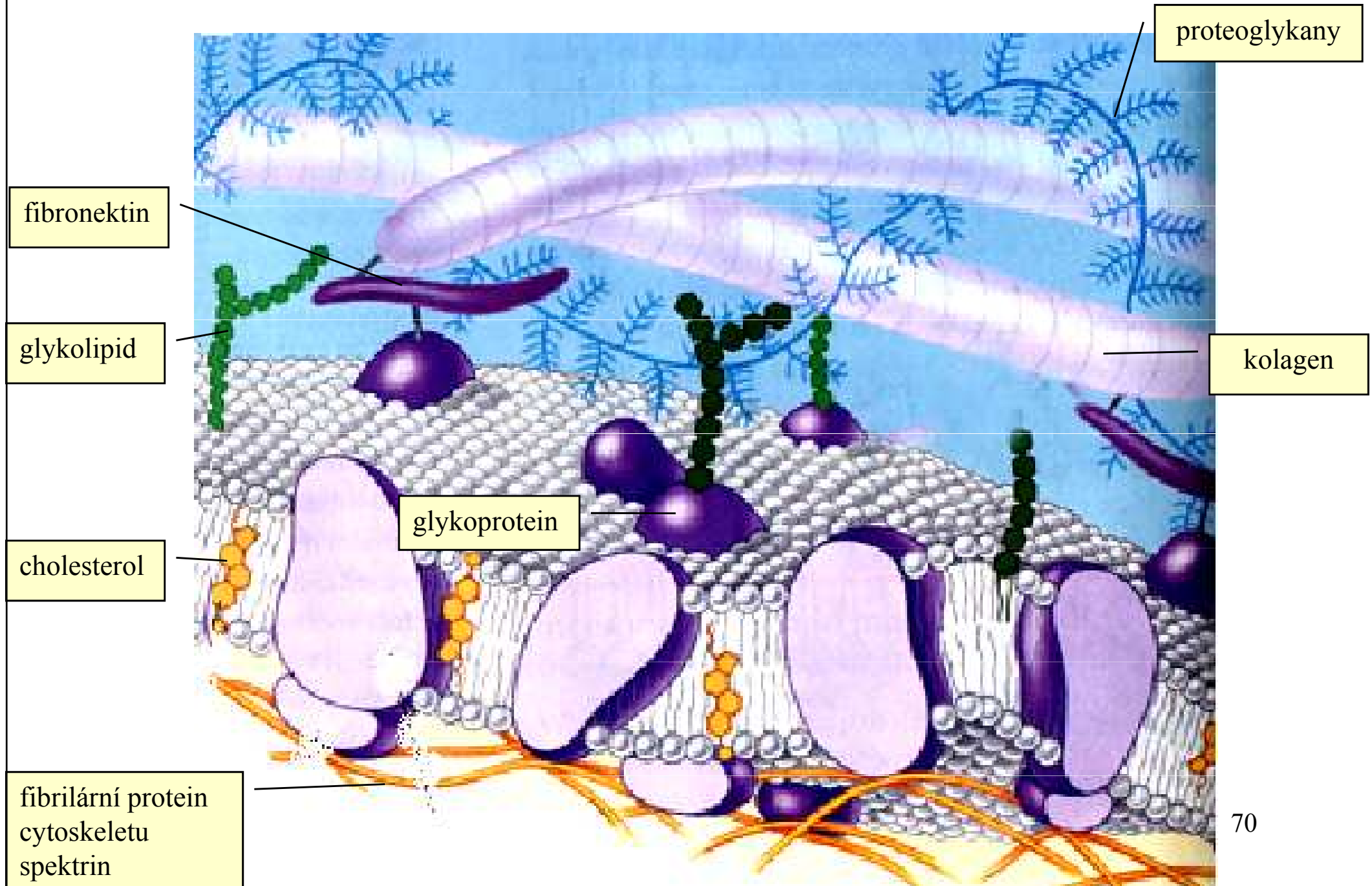
# Hlavní typy glykoproteinů

**Membránové** - integrální, glykokalyx (střevní epitelie)

**Plazmatické** - většina proteinů krevní plazmy

**Mucinové** - součásti sekretů

# Membránové glykoproteiny



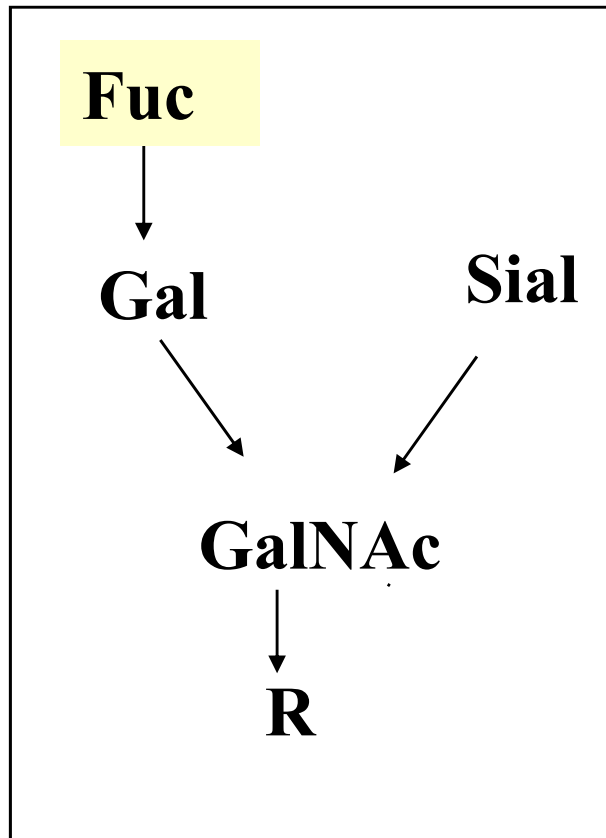
# Oligosacharidové značení buněk

- oligosacharidy vázané na proteiny a lipidy představují **rozpoznávací signály** na povrchu buněk
- zodpovídají za specifickou interakci buňky s dalšími buňkami nebo specifickými proteiny
- systém krevních skupin je jedním z příkladů

# Oligosacharidy jako antigeny krevních skupin

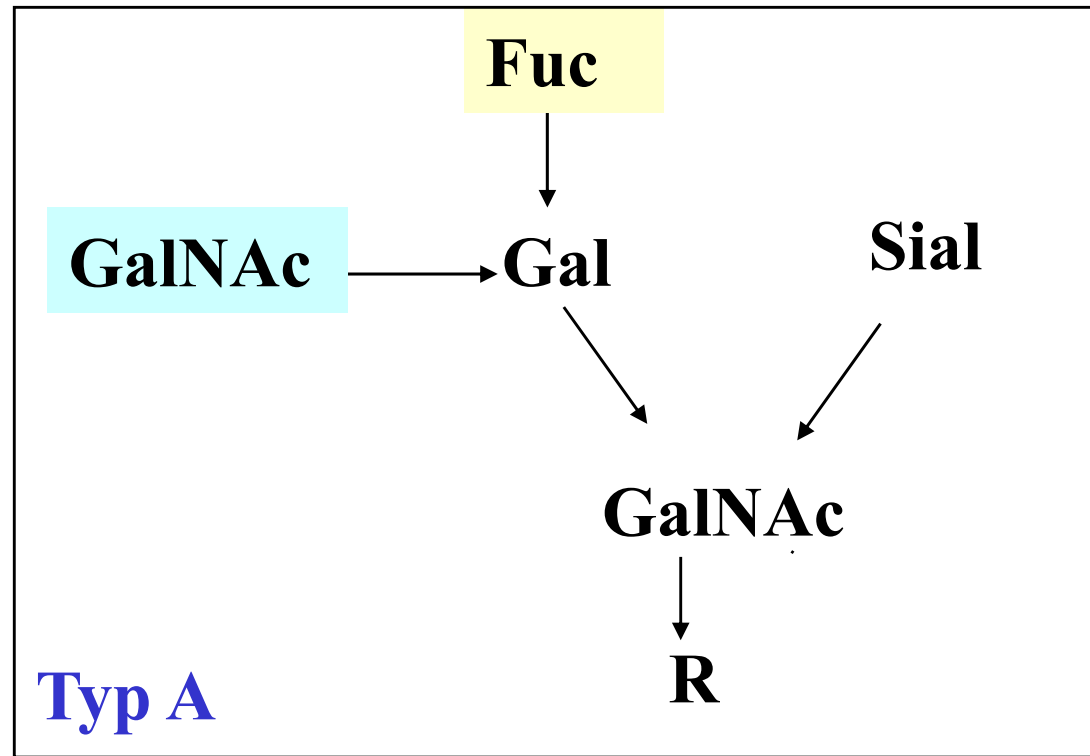
- oligosacharidy vázané na povrchu buněk na proteiny (*O*-glykosidová vazba) nebo lipidy
- nejznámější systém A-B-0, je však známo kolem 14 geneticky charakterizovaných systémů krevních skupin
- jsou přítomny i u jiných buněk a tkání



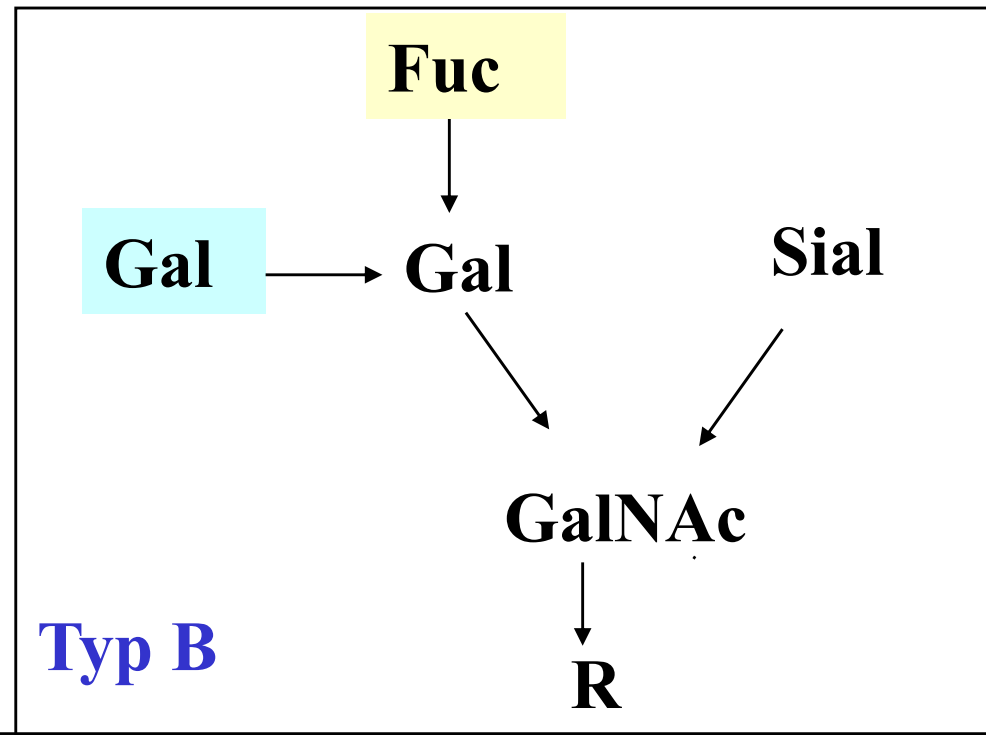


**Typ 0**

Typy A a B vznikají  
připojením GalNAc,  
resp. Gal



**Typ A**



**Typ B**

# Vztahy mezi typy A, B, 0

- téměř všichni lidé jsou vybaveni enzymovým systémem pro syntézu oligosacharidu typu 0
- pouze někteří jedinci mají enzymové vybavení pro připojení galaktosy (typ B) nebo *N*-acetylgalaktosy (typ A)
- heterozygoti mohou tvořit oba typy (typ AB)
- **typ 0 je neantigenní**, člověk proti němu netvoří protilátky
- jedinec netvoří protilátky proti vlastnímu typu
- jedinec typu A však bude tvořit protilátky proti typu B a naopak, jedinec typu 0 bude tvořit protilátky proti A i B
- tvorba protilátek vyvolává shlukování a precipitaci buněk

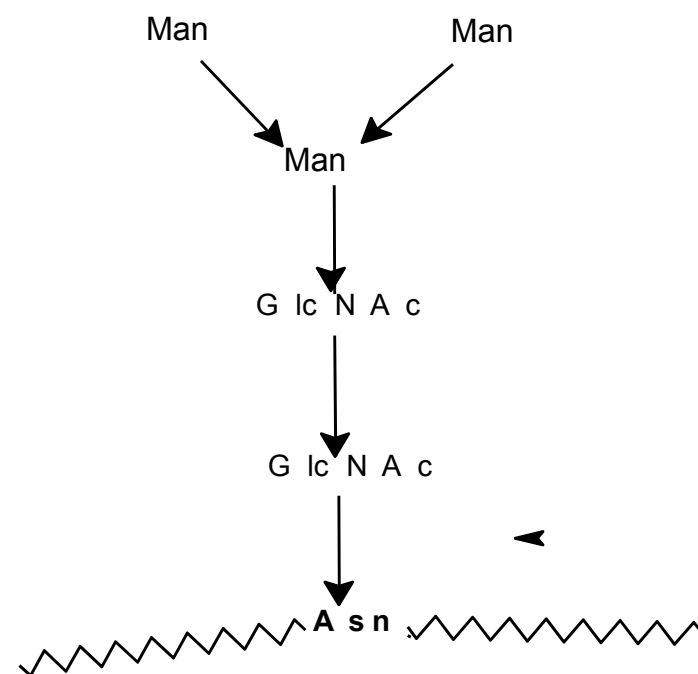
# Význam krevních skupin pro transfuzi

Jedinec s typem	Tvoří protilátky	Může získat krev od jedince	Může darovat krev jedinci
0	A, B	0	0, A, B, AB
A	B	0, A	A, AB
B	A	0, B	B, AB
AB	žádné	0, A, B, AB	AB

# Plazmatické glykoproteiny obsahují *N*-vázané oligosacharidy

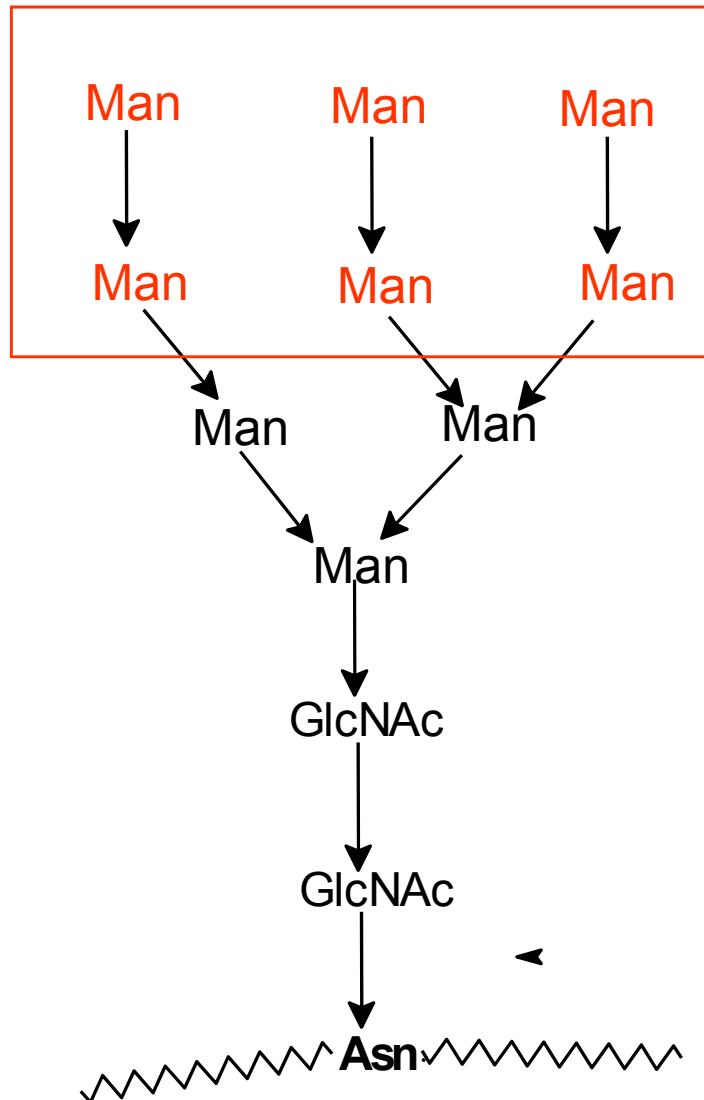
Typy:

- vysoce mannosový
- hybridní
- komplexní



společný základ všech  
*N*-vázaných oligosacharidů

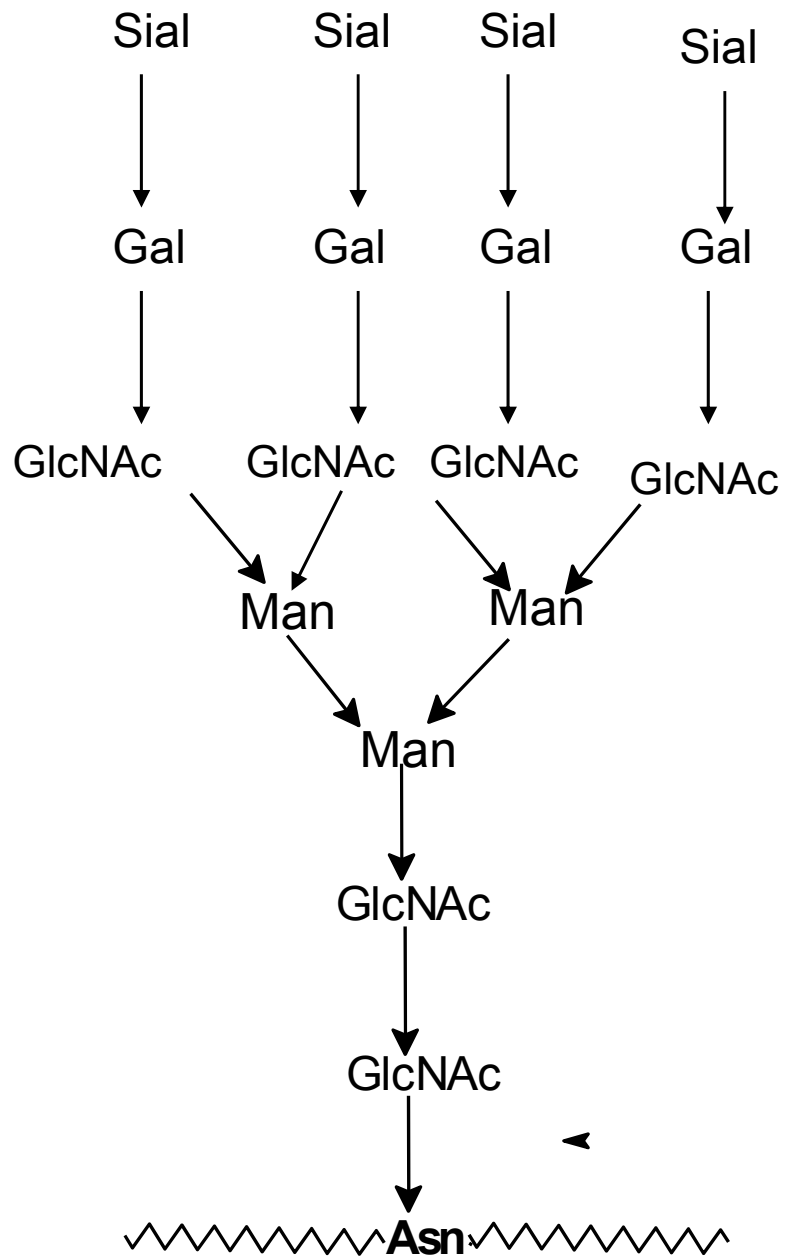
# Vysoce mannosový typ



- je základním prekursorem při biosyntéze
- u živočichů se vyskytuje málo, nachází se u nižších eukaryontů a u virů

# Komplexní typ

- mannosové zbytky (označené na předchozím snímku červeně) jsou při další syntéze nahrazeny jinými monosacharidy → vzniká komplexní oligosacharid (při pochodu nazývaném processing)
- terminálním sacharidem komplexních oligosacharidů je často kyselina sialová
- větvení oligosacharidů připomíná antény (označení bianténové, trianténové, tetraanténové komplexní řetězce)



Příklad komplexního  
*N*-vázaného oligosacharidu,  
tetraanténový typ

# Příklady plazmatických glykoproteinů

Glykoprotein	Význam
Transferrin	transport $\text{Fe}^{3+}$
Ceruloplazmin	transport $\text{Cu}^{2+}$ , oxidace $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$
Haptoglobin	vazba volného Hb
Hemopexin	vazba volného hemu po rozpadu erytrocytů
$\alpha_1$ -Antitrypsin	inhibice proteas
Fibrinogen	srážení krve
$\alpha_2$ -Makroglobulin	indikátor zánětu
CRP	indikátor zánětu



# Mucinové glykoproteiny

- *O*-glykosidově vázané, nejčastěji GalNAc na Ser/Thr, na něj další monosacharidy
- sacharidový podíl poměrně vysoký (až 75 %)
- obsaženy ve slizničních sekretech
- ochranná a lubrikační funkce
- často kys. sialová a sulfatované cukry – zvyšují viskozitu sekretu

# !! Rozlišujte !!

Charakteristika	Glykoprotein	Glykovaný protein	Proteoglykan
Obsah sacharidů	do 15 %	minimální	90-95 %
Vazba sacharidu	<i>O-/N-glykosid*</i>	aldimin	<i>O-/N-glykosid*</i>
Sacharid. složky	Man, Gal, GlcNAc	glukosa	GlcA, GlcNAc
Vznik	enzymově	neenzymově	enzymově
Hlavní výskyt	plazma, membrány	erytrocyty**	pojivo
LCH II	str. 151	str. 40	str. 99

\* Na Ser, Thr (*O-*), Asn (*N-*)

\*\* Glykovaný hemoglobin HbA<sub>1c</sub>