

Organická chemie

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny




Doc. Ing. Pavel Bobál, CSc.
Ústav chemických léčiv, Farmaceutická fakulta VFU,
Palackého 1/3, 642 12 Brno

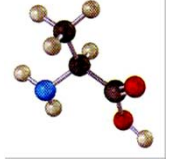
Úvod

Bílkoviny (proteiny) – dlouhé řetězce – z mnoha aminokyselinových jednotek

- bazická aminoskupina a kyselá karboxylová skupina

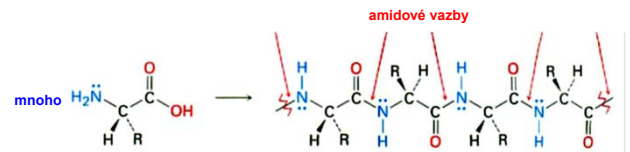
$$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{OH} \\ | \\ \text{H} \end{array}$$

alanin



- peptidy – řetězce menší než 50 aminokyselin
- proteiny – řetězce větší než 50 aminokyselin

amidové vazby



25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Struktura aminokyselin

- struktura betainů, zwitterionů

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{OH} \\ | \\ \text{H} \end{array} & \rightleftharpoons & \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\ | \\ \text{H} \end{array} \\ \text{(bez náboje)} & & \text{(zwitterion)} \\ \text{alanin} & & \end{array}$$

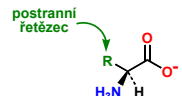
- dipolární ionty – vnitřní soli,
- velké dipólové momenty, rozpustné ve vodě, nerozpustné v organických rozpouštědlech, krystalické látky s vysokými teplotami tání
- **amfoterní** – reagují jako kyseliny i jako báze

3 25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

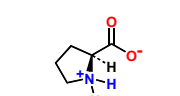
Struktura aminokyselin

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\ | \\ \text{H} \end{array} + \text{H}_3\text{O}^+ & \rightleftharpoons & \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{OH} \\ | \\ \text{H} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \text{ v kyselém prostředí} \\ \text{(zwitterion)} & & \end{array}$$

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\ | \\ \text{H} \end{array} + \text{OH}^- & \rightleftharpoons & \begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{C}(=\text{O})\text{O}^- \\ | \\ \text{H} \end{array} + \text{H}_2\text{O} \text{ v bazickém prostředí} \\ \text{(zwitterion)} & & \end{array}$$



primární α -aminokyselina

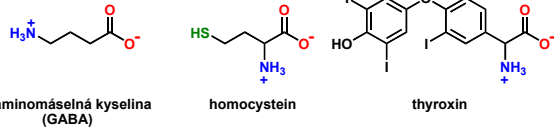


prolin
sekundární α -aminokyselina

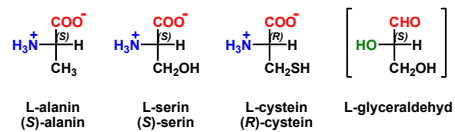
4 25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Struktura aminokyselin

Nebílkovinné aminokyseliny – biologicky aktivní



Fischerova projekce – L-aminokyseliny



5

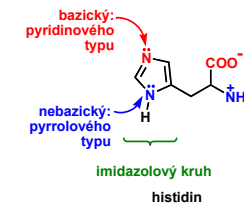
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Struktura aminokyselin

- 20 aminokyselin – nezbytných pro lidský organismus
- 10 - esenciální aminokyseliny
- 15 neutrálních aminokyselin
- 2 kyselé aminokyseliny
- 3 bazické aminokyseliny



6

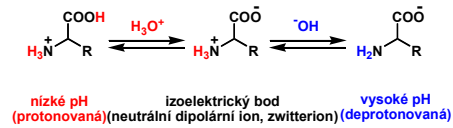
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie

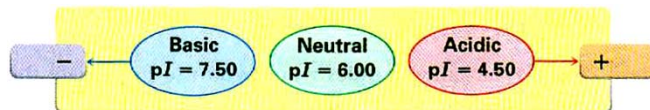


Izoelektrický bod

Izoelektrický bod – pI – pH neutrálního dipolárního iontu



Elektroforéza



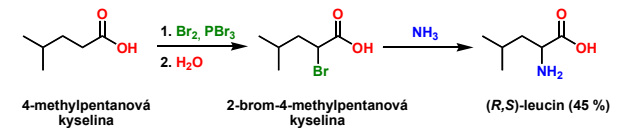
7

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

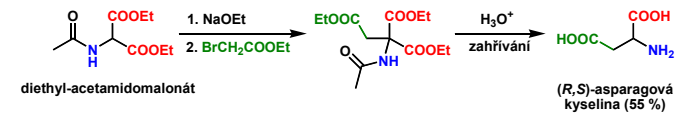
Organická chemie



Syntéza aminokyselin



Acetamidomalonátová syntéza



8

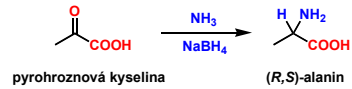
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Syntéza aminokyselin

Reduktivní aminace α -ketokyselin



9

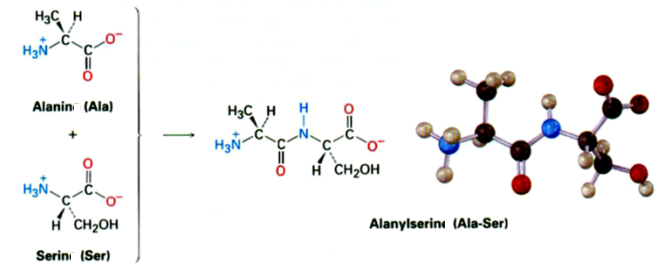
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Peptidy a bílkoviny

- amidové (peptidové) vazby
- dipeptid



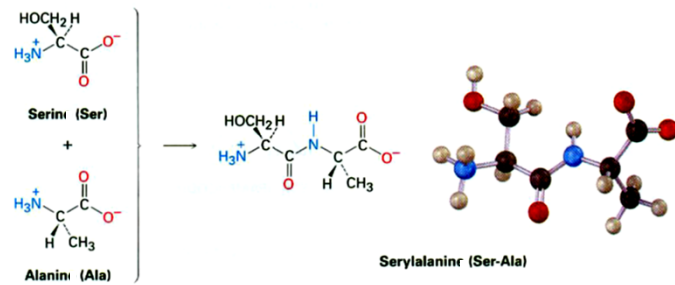
10

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Peptidy a bílkoviny



- sekvence atomů -NH-CH-CO- - řetězec (backbone – páteř)
- N-koncová (N-terminální) aminokyseliny – vždy vlevo
- C-koncová (C-terminální) aminokyseliny – vždy vpravo

11

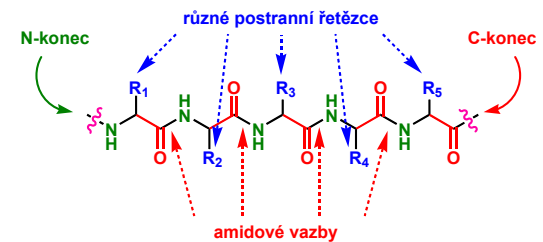
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Kovalentní vazba v peptidech

Bílkovina



12

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Kovalentní vazba v peptidech

vasopresin

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Stanovení struktury peptidů: aminokyselinová analýza

- analyzátoři aminokyselin - ninhydrin

(purpurové zbarvení)

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Stanovení sekvence aminokyselin: Edmanovo odbourávání

Určení sekvence – Edmanovo odbourávání (omezení 50 cyklů)

N-fenylothiohydantoin (PTH)
anilinothiazolinon (ATZ)

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Stanovení sekvence aminokyselin: Edmanovo odbourávání

Určení sekvence – Edmanovo odbourávání (omezení 50 cyklů)
- enzymatická hydrolyza – fragmenty – kratší peptidy

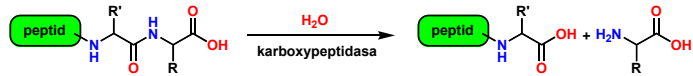
Val-Phe-Leu-Met-Tyr-Pro-Gly-Trp-Cys-Glu-Asp-Ile-Lys-Ser-Arg-His

chymotrypsin štěpí tyto vazby trypsin štěpí tyto vazby

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Stanovení sekvence aminokyselin: určení C-koncové aminokyseliny

enzym – karboxypeptidasa – selektivní štěpení C-koncových aminokyselin



Proteomika – hmotnostní spektrometrie

17

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Enzymy

Biokatalyzátory – látky (biologické povahy), které snižují nebo modifikují rychlost chemické reakce v živých organismech, beze změn v jejich struktuře

- **enzymy** (proteiny)
- **ribozomy** (nukleová kyselina) – můžou mít enzymatickou funkci
- první zmínky (18. století) – kvasné procesy – **fermenty**,
- **Berzelius** (1835) – tisíce katalyzovaných reakcí probíhá v rostlinách a živočiších, schopnost sladu štěpit škrob,
- **Pasteur** (1860) – kvašení způsobeno fermenty – spojení s buňkou,
- **Kühne** (1878) – „en zymé“ = v kvasnicích,
- **Sumner** (1926) – bílkovinná povaha enzymů

18

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Enzymy

Enzymy - jsou obvykle vysokomolekulární bílkoviny, které působí jako katalyzátory biochemických reakcí (katalyzují chemické přeměny v živých organismech),

- jako všechny katalyzátory ani enzymy neovlivňují polohu rovnováhy a nemohou vyvolat reakci, která je jinak nevýhodná,
- enzymy určují povahu a rychlost chemických reakcí a vytvářejí tak v živých organismech harmonickou souhru chemických funkcí,
- aktivita enzymů spočívá v ovlivnění rychlosti chemických reakcí snižováním aktivační energie reakce, dochází k urychlení chemických reakcí (glykosidasa - působí při hydrolyze polysacharidů, zvyšuje reakční rychlost > 10¹⁷ krát - doba reakce z miliónů let → milisekundy),
- aktivita enzymů je závislá zejména na koncentraci substrátu, teplotě, pH, aktivátorech nebo inhibítorech,

19

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Enzymy

- enzymy (na rozdíl od mnoha katalyzátorů používaných v laboratoři) jsou obvykle **vysoce specifické**,
- často mohou katalyzovat pouze jedinou reakci jediné sloučeniny, která se označuje jako **substrát** pro daný enzym - amylasa v lidském zažívacím traktu katalyzuje pouze hydrolyzu škrobu na glukosu (celulosa a další polysacharidy se nemění),
- enzymy se liší svou **specifitou**
 - specifické (amylasa) pro jediný substrát,
 - méně specifické - působí v určitém okruhu substrátů (papain, globulární protein s 212 aminokyselinami, hydrolyzuje mnoha druhů peptidových vazeb,
- většina z ~ 3 000 známých enzymů jsou **globulární** bílkoviny (rozpuštěné),

20

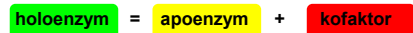
25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny

Organická chemie



Enzymy

- kromě bílkovinné části má většina enzymů v molekule i nízkomolekulové neaminokyselinové části, nazývané **kofaktory**,
- je-li pevně vázán na bílkovinnou složku enzymu, můžeme je považovat za stavební součást molekuly - **prostetická skupina** (riboflavinové složky u flavinových transhydrogenas, pyridoxalfosfát u aminotransferas, hem u cytochromů),
- bílkovinná část takových enzymů se označuje **apoenzym** a kombinace apoenzymu s **kofaktorem** je **holoenzym**,



- biologicky aktivní je pouze holoenzym, (kofaktor a apoenzym samotné – inaktivní),
- **kofaktory** mohou být buď anorganické ionty, např. Zn^{2+} , nebo menší organické molekuly, označované jako **koenzymy**,

21

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie



Enzymy

- funkční závislost mnoha enzymů na přítomnosti anorganických kofaktorů vysvětluje, proč je pro nás nezbytný přísun stopových prvků z potravy,
- ionty železa, zinku, mědi, manganu, selenu a mnoha dalších kovů patří mezi esenciální minerální látky, potřebné jako kofaktory enzymů, jejich biologická funkce není dosud úplně známá,
- **koenzymy** - rozmanité organické sloučeniny (NAD, NADP, ...),
- v mnoha případech jsou to vitaminy, nízkomolekulární organické sloučeniny potřebné ve stopových množstvích, které je nutno dodávat organismu potravou, je nutno dodávat organismu potravou,

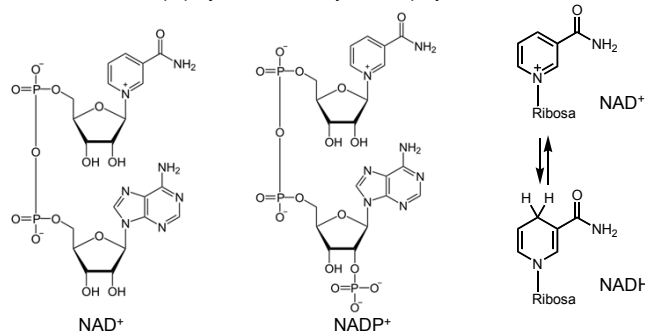
22

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie



Enzymy

- mezi kofaktory oxidačně-redukčních enzymů mají významné postavení pyridinové koenzymy (NAD^+ , NADP^+) známé již od roku 1906,
- jsou to dinukleotidy skládající se z nikotinamidové, adeninové a ribosyl-difosforibosové části, popř. ještě třetí fosforylové skupiny,



23

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie



Enzymy

Struktura enzymů:

Enzymy = bílkoviny (+nebílkovinná část)

- **primární** – sekvence aminokyselin v polypeptidickém řetězci, podmiňuje vlastnosti bílkovin a jejich biologickou funkci,
- **sekundární** – geometrické uspořádání polypeptidického řetězce (forma α -helixu, skládaného listu, ...),
- **terciární** – uspořádání α -helixu, skládaného listu, ... do konečného prostorového tvaru molekuly bílkoviny - trojrozměrné uspořádání,
 - fibrilární (tvar vlákna)
 - globulární (tvar klubka)
- **kvarterní** – vzájemné prostorové uspořádání subjednotek (několik peptidických řetězců) v proteinových aglomerátech

24

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie



Enzymy

Specifická enzymů

- **substrátová (vazebná)**
 - absolutní (ureasa)
 - relativní (skupinová)
 - glukosa/fruktosa (hexokinasa),
 - ethanol/methanol (ADH)
- **reakční**
 - deaminace, dekarboxylace, transaminace, dehydrogenace, ...
 - závisí na apoenzymu i koenzymu,
- **stereospecifita** – R-, S- (D-, L-)

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

Enzymy

Mechanismus katalytického působení enzymů

$$E + S \rightleftharpoons E - S \rightleftharpoons E - P \rightleftharpoons E + P$$

25. Biomolekuly: aminokyseliny, peptidy a bílkoviny
Organická chemie

