C4182
Biochemie II

05-Funkce bílkovin, typické příklady
C- Transportní

FRVŠ **1647/2012**

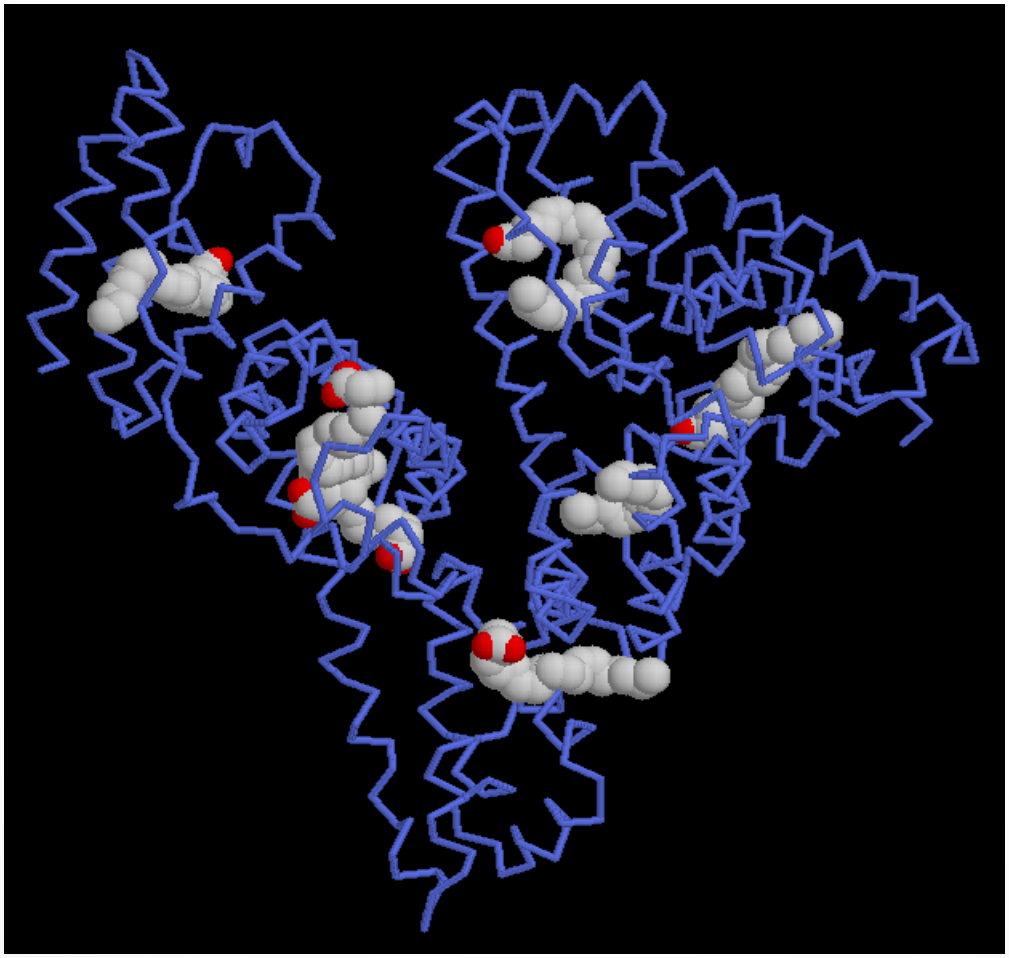
Transportní bílkoviny

- Různé typy bílkovin odlišné dle způsobu transportu
- Nepolární látky v polárním prostředí – krev apod.
  - Transport na větší vzdálenosti
  - Vazba látky na bílkovinu – polární a nepolární oblasti
  - Kyslík – hemoglobin, myoglobin
  - Mastné kyseliny, lipidy apod.
- Polární látky v nepolárním prostředí – membrány
  - Speciální přenašečové systémy – speciální kapitola

Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
- Serový albumin
- Transport MK
  - 7 na molekulu
  - Acyl obalen polárními úseky
  - Přenos dalších látek – léčiva

Serový albumin

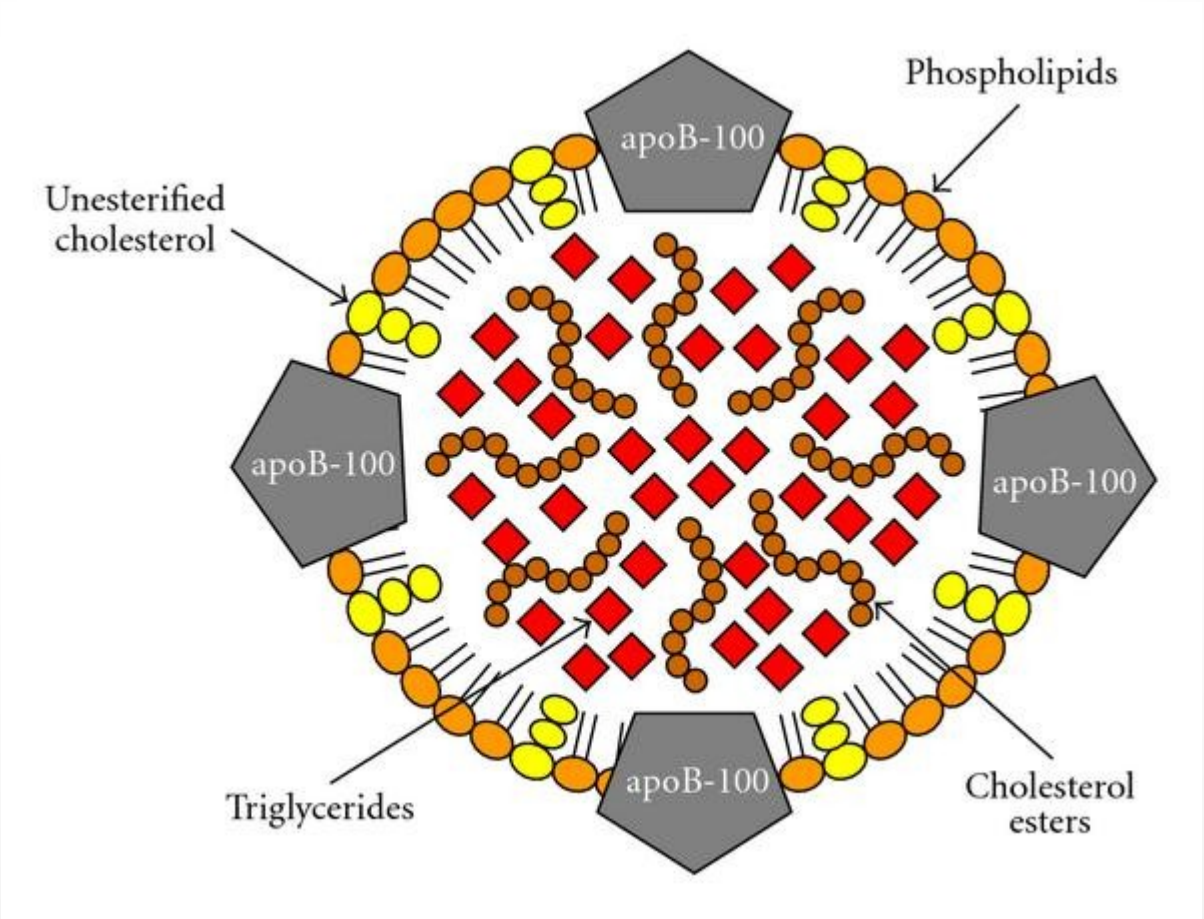


Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
- Lipoproteiny
  - Komplexní útvary, agregáty mnoha molekul
  - Různá struktura, složení, velikost apod.
- Transport lipidů
  - Cholesterol
  - Tuky aj. lipidy
  - Karotenoidy apod.
  - Nepolární komponenty obaleny fosfolipidy a apoproteiny – orientce

Lipoproteiny

- Schema lipoproteinu



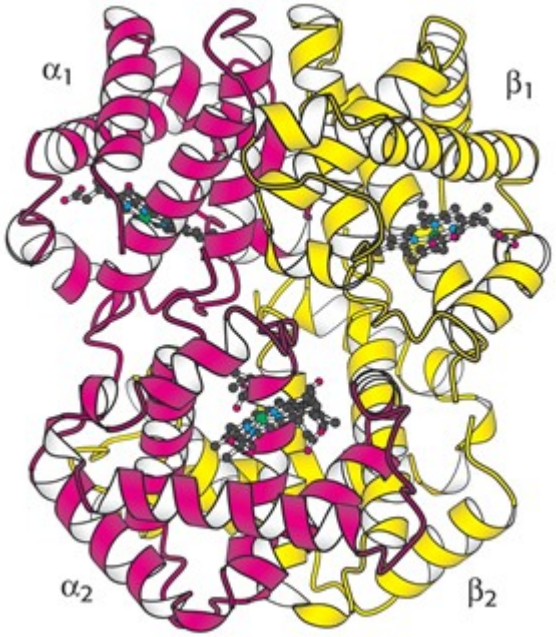
Transportní bílkoviny

- Nepolární látky v polárním prostředí
  - Přenos kyslíku v krvi – nepolární – málo rozpustný
- Hemoglobin
- Jiné přenašeče
  - Myoglobin – v cytoplasmě
  - Monomerní
  - Bezobratlí aj.

Struktura hemoglobinu (Hb)

- Funkční hemoglobin je tetramer složený ze
  - - 2 podjednotek a (lehké řetězce, 141 aminokyselin) a
  - - 2 podjednotek β (těžké řetězce, 146 aminokyselin)
  - - symbolicky označujeme tento tetramer jako α2 β2
- Označuje se HbA (adult)
  - ev. HbA1 chceme-li odlišit od minoritního (2,5%) HbA2 o složení α2 δ2 rovněž se v organismu vyskytujícího
- V každé podjednotce je vázán jeden hem jako prostetická skupina
  - koordinační vazbou Fe^{2+} na zbytky His
  - přímo na proximální His 93
  - zprostředkovaně na distální His 64

Struktura hemoglobinu (Hb)



- Model Hb
  - *v řetězcích se dále rozlišují oblasti (ramena) A – H*

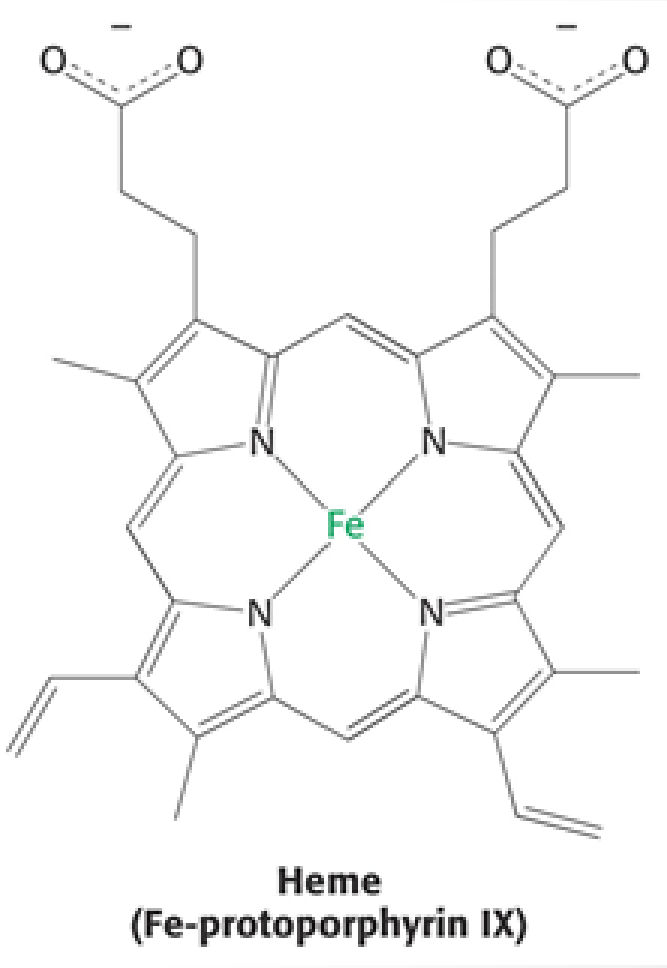
Struktura hemoglobinu (Hb)

Prostetická skupina Hb

Hem má Fe^{2+}

Oxidací na Fe^{2+} vzniká hemin

a hemoglobin se mění na methemoglobin



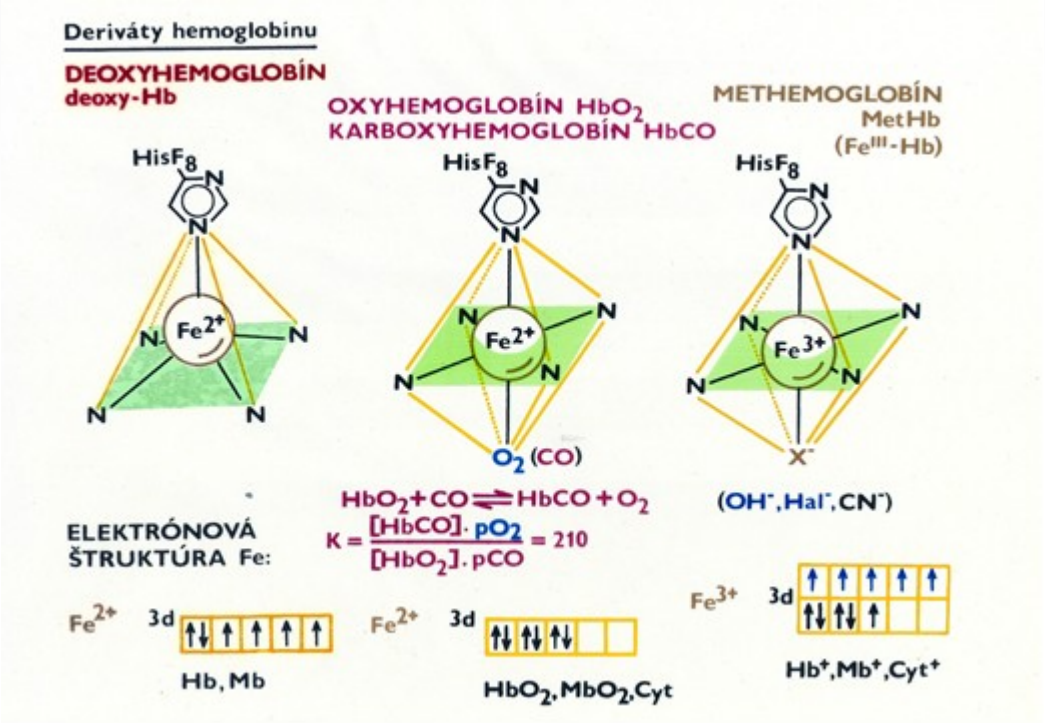
Heme
(Fe-protoporphyrin IX)

Funkce hemoglobinu

- Fe^{2+} je vázán 4 vazbami na porfyrinový kruh
- 5. koordinační místo je obsazeno proximálním His 93
- Fysiologickým ligandem 6. koordinační místa je O_2
  - vázat se mohou i jiné ligandy
  - velmi pevně se váže CO (otrava svítiplynem, spalinami nedokonalého hoření apod.)
- Vazba je vratná a lze ji popsat rovnicemi

  $Hb + O_2 = Hb.O_2$ ev. $Hb + CO = Hb.CO$
- Hb nazýváme dexoyHb, $Hb.O_2$ – oxyHb, Hb.CO – karbonylHb
  - Spektrální rozlišení – stanovení

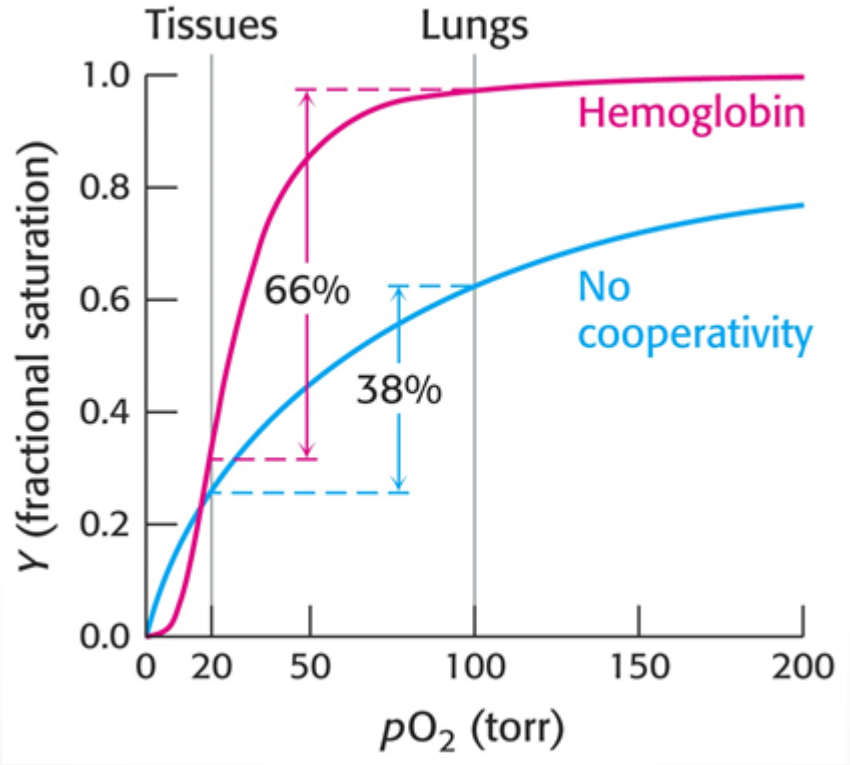
Funkce hemoglobinu



- ***Formy a struktury Hb s různými ligandy.*** Povšimněte si vlivu obsazení 6. koordinačního místa ligandem, kdy se Fe^{2+} přemisťuje do roviny porfyrinového kruhu. Vedle změn elektronové struktury vidíme rovnici reakce mezi Hb, O_2 a CO, hodnota K nás přesvědčí, že CO je mnohem pevněji vázán než kyslík. Přesto lze otravě zabránit eliminací CO a zvýšeným přívodem kyslíku.

Funkce hemoglobinu

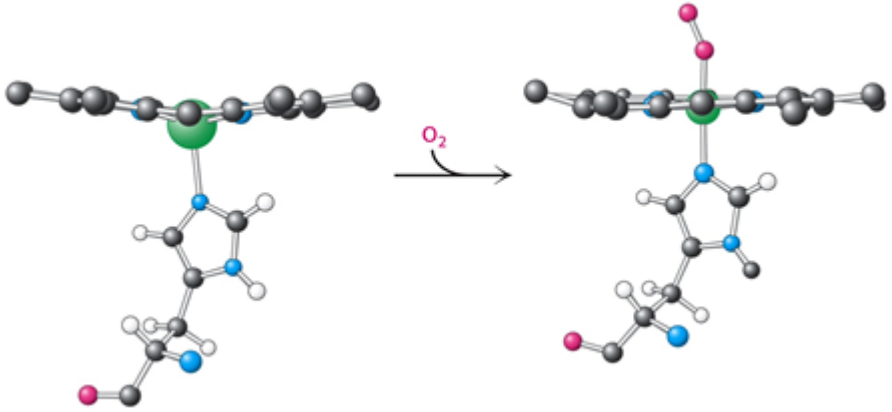
- Fysiologickou funkcí Hb je přenos kyslíku v krvi (z plic ev. žaber do tkání)
- Stupeň nasycení Hb kyslíkem (tj. $HbO_2/(HbO_2 + Hb)$) závisí na jeho parciálním tlaku pO_2 v okolním prostředí – červená křivka (torr = 133 Pa)



Alosterické chování Hb

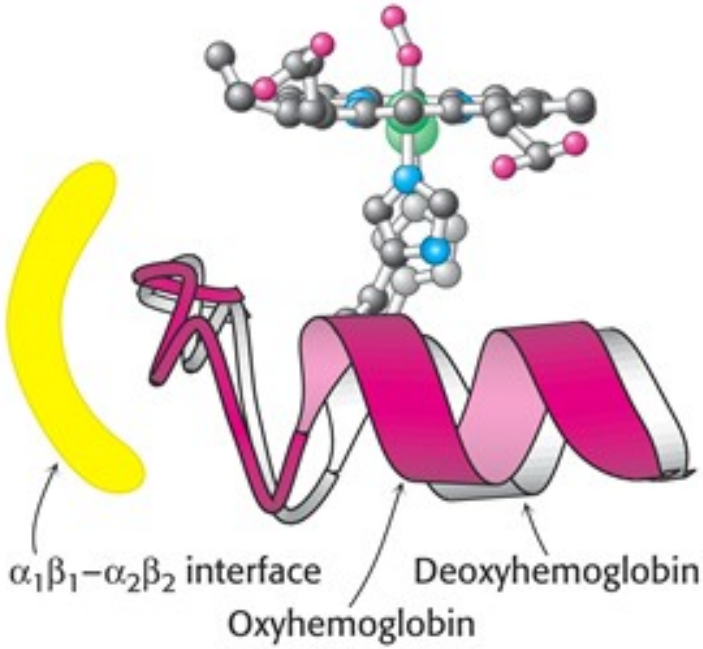
- Hb se sytí kyslíkem v plicích, uvolňuje ho v tkáních
  - Proces je zefektivněn kooperativitou vazných míst pro kyslík (4 hemy v celém tetrameru).
  - Navázáním první molekuly kyslíku na jeden hem dochází ke konformační změně způsobující zvýšení afinity zbylých vazných míst pro kyslík – viz červená křivka.
  - Pokud k tomuto efektu nedochází (například u myoglobinu, který je monomerem), je přenos kyslíku méně efektivní – viz modrá křivka.

Alosterické chování Hb



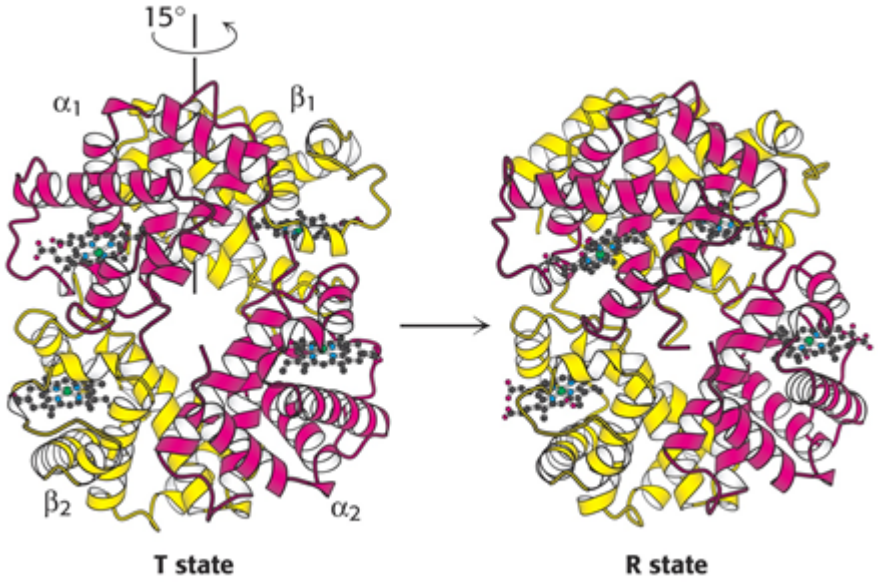
- Základem tohoto efektu změna konformace vyvolaná vazbou kyslíku na Fe^{2+} jedné z podjednotek

Alosterické chování Hb



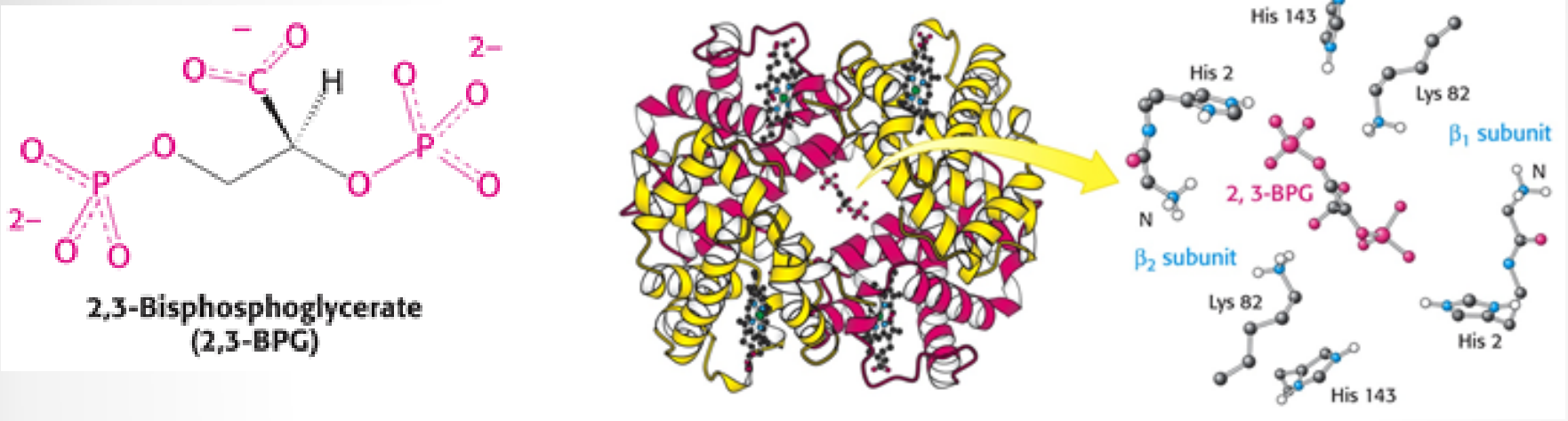
- *Schematické znázornění konformační změny vlivem vazby kyslíku na hem.*
  - Fe^{2+} za sebou táhne His 93 a s ním celé raménko (úsek) F příslušného řetězce, které pak jako páka způsobí konformační změnu celé molekuly hemoglobinu.

Alosterické chování Hb



- *Modely konformačních stavů T a R*
  - Změna se přenese na ostatní podjednotky. Molekula Hb přechází z tesnější konformace T (tense) s nízkou afinitou ke kyslíku do uvolněné konformace R (relaxed) s vyšší afinitou. Toto chování je jedním z typů allosterie.

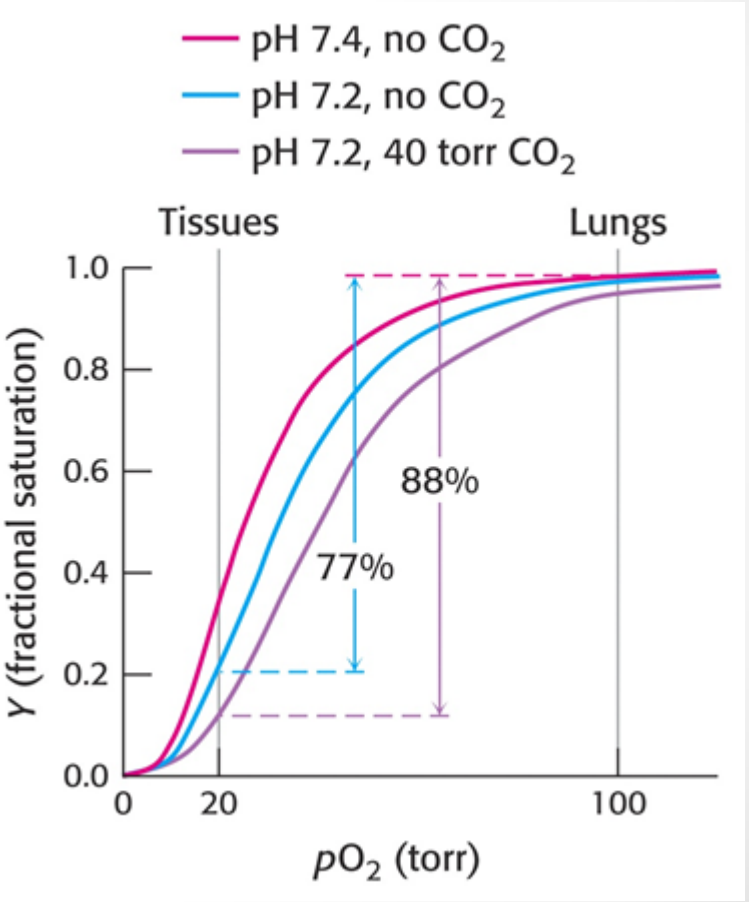
Alosterické chování Hb



- Zvýšení efektivity přenosu kyslíku
  - Vliv některých metabolitů, které působí na allosterické chování Hb
  - Allosterické efektory
  - Mimo CO_2 a H^+ takto působí i meziprodukt glykolýzy 2,3-bisfosfoglycerát
    - Tento metabolit stabilisuje deoxy-Hb interakcí svých kyselých skupin s His 143 β-řetězců - Tak si lze představit snazší uvolňování kyslíku při intensivnější glykolýze

Vliv pH na vazbu kyslíku na Hb

- ***Vliv pH a CO_2***
- ***na saturaci Hb.***
  - Kromě pH je patrný také specifičtější vliv CO_2
  - Množství využitelného kyslíku se zvýší o dalších ca 11%
  - Hb je slabší kyselinou než HbO_2
  - Bohrův efekt
  - Preference pracujícího svalu - laktát



Fetální Hb

- ***Srovnání saturace***

HbF a HbA

  - Vyšší afinita HbF pro kyslík umožňuje jeho přečerpávání z placentární krve do krve plodu

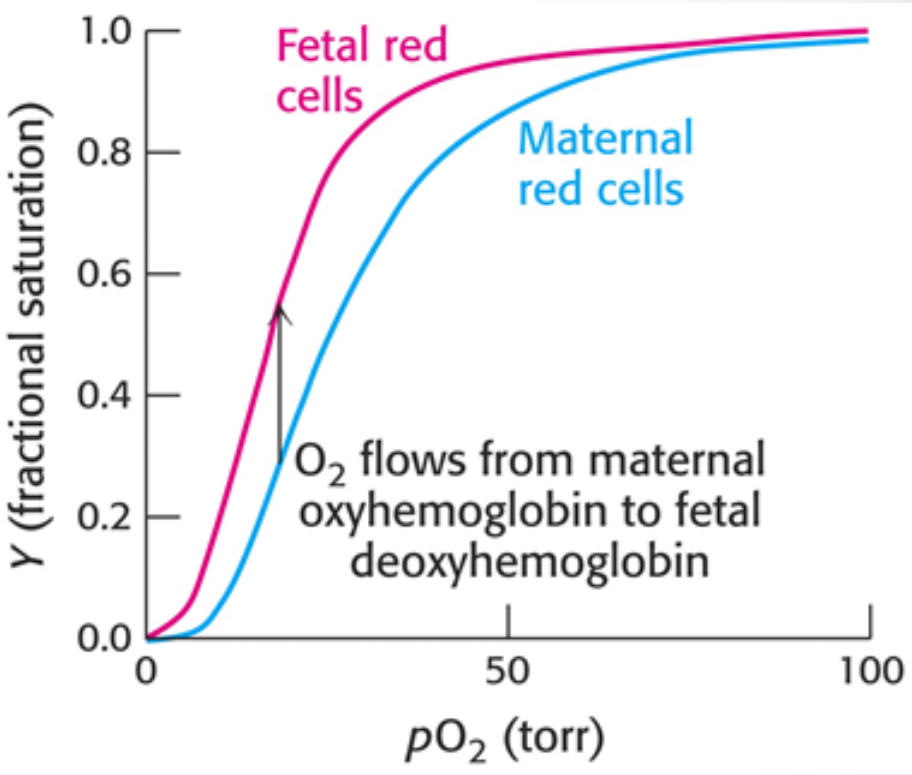
- Syntéza fetálního

Hb – HbF – $\alpha_2\gamma_2$

- Regulace syntézy

podjednotek

  - Po porodu kyslík – syntéza β
  - Rozklad HbF



Patologické hemoglobiny

- Mutace v jednotlivých řetězcích Hb
- Příklad HbS

HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):

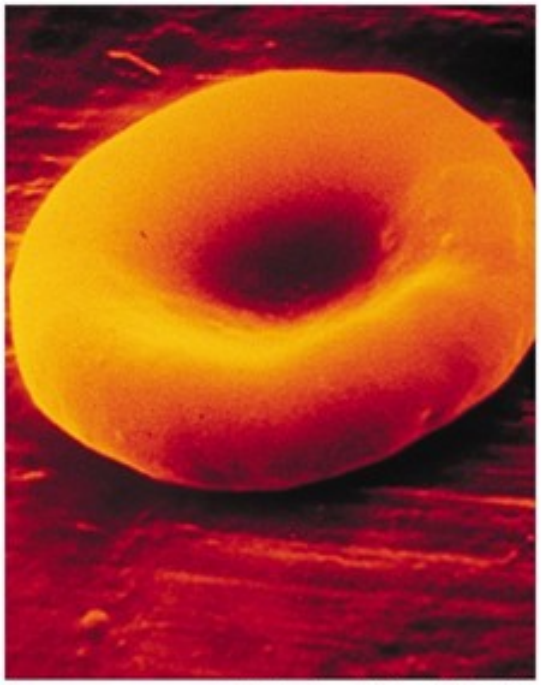
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

HBB Sequence in Mutant Adult Hemoglobin (Hb S):

Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	Ser
	3			6			9

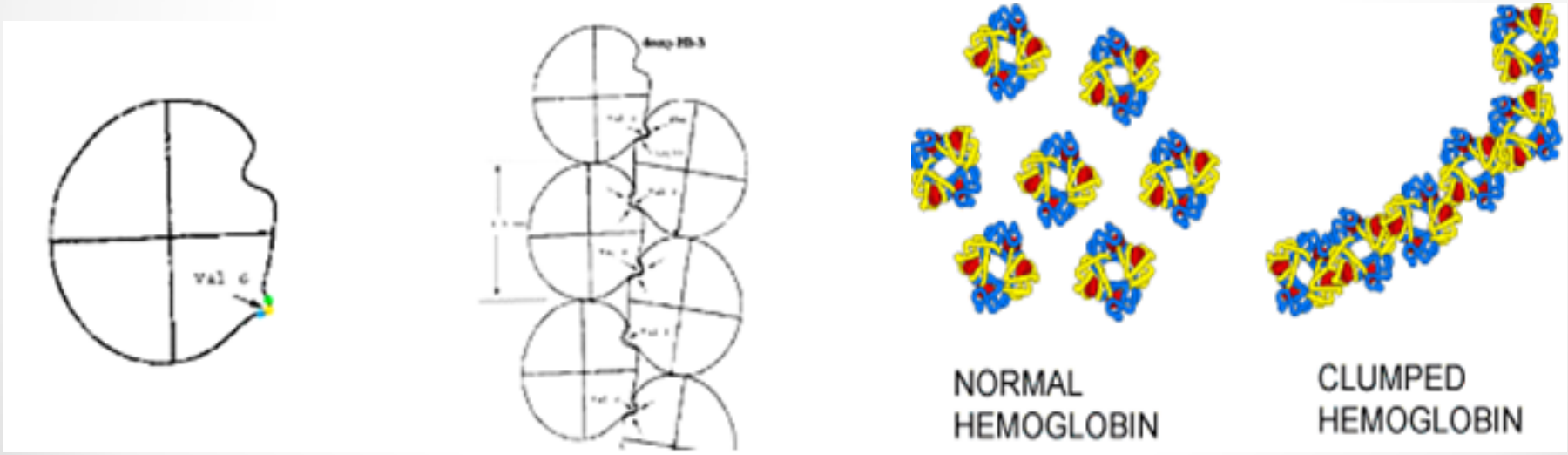
Srpkovitá anemie

- Morfologický projev této mutace
  - Změněný tvar erytrocytů, které nabývají srpkovitého tvaru (sickle cells – odtud HbS)



Srpkovitá anemie

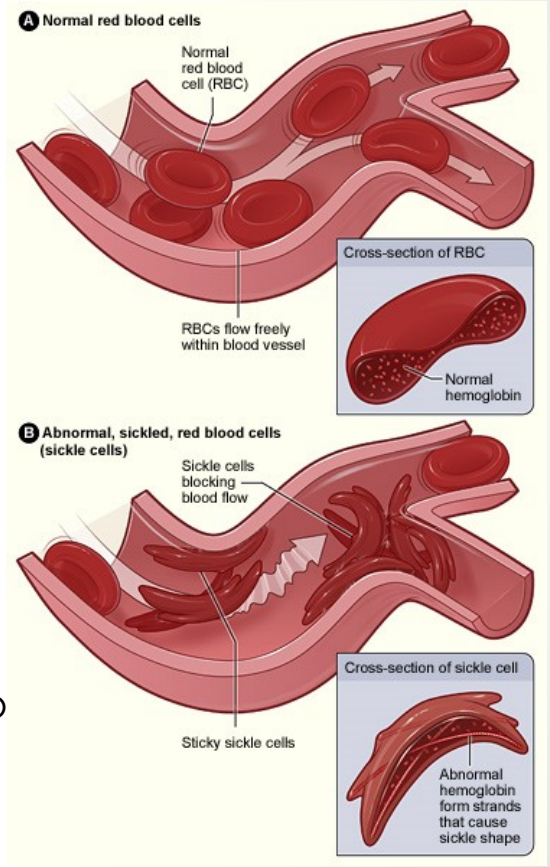
- Základem morfologických změn je nová vlastnost HbS.
  - Záměna Glu-6-Val vytváří nepolární oblast
  - Místo tetrameru řetízkové aglomeráty připomínající strukturu aktinu – významné součásti cytoskeletu



Srpkovitá anemie

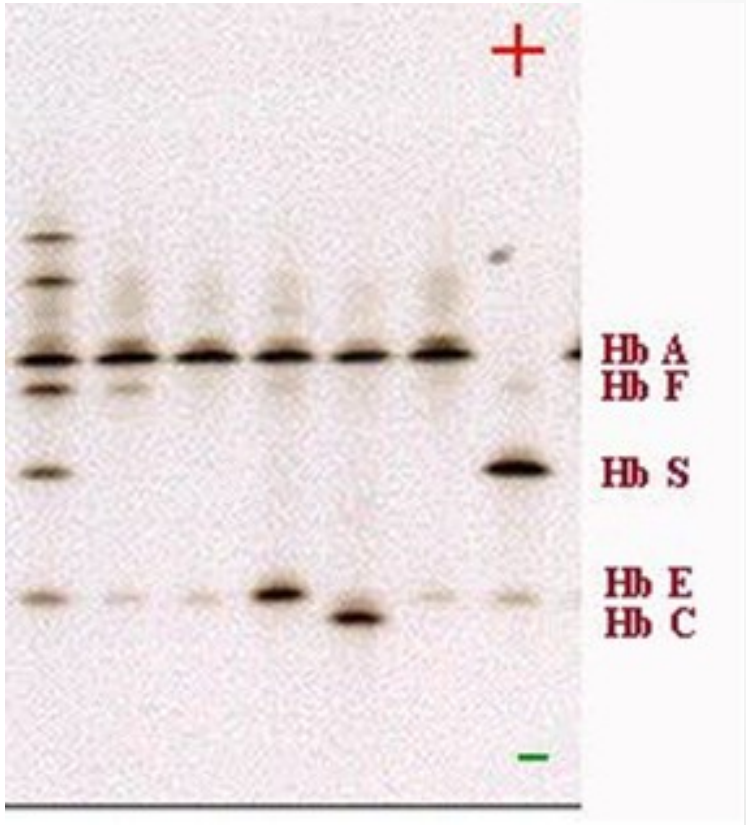
- Fysiologický projev – ca 10 odvozených poruch
  - Nedokonalý transportu kyslíku v krvi – odtud ***srpkovitá anémie***
  - Nevhodný tvar, životnost ca 20 dní (ca 120 u normálních)
  - Ucpávání cév

- SYMPTOMS
- •Fever.
- •Swelling of the hands and feet.
- •Enlargement of the belly (heart, liver, and spleen).
- •Frequent lung infections.
- •Fatigue.
- •Irritability.
- •Yellowing of the skin (jaundice).
- •Severe bone and joint pain.
- •Delayed puberty.
- •Shortness of breath.
- •Pain in the belly, especially in the upper right side of the abdo
- •Nausea.
- •Prolonged, sometimes painful erections (priapism).
- •Rapid or labored breathing.
- •Frequent infections.



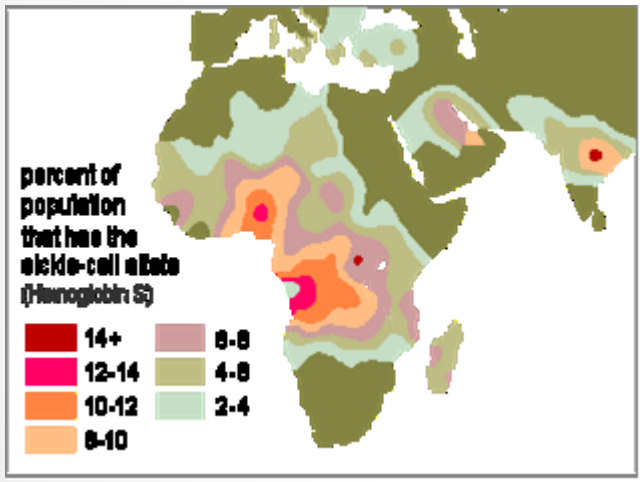
Srpkovitá anemie

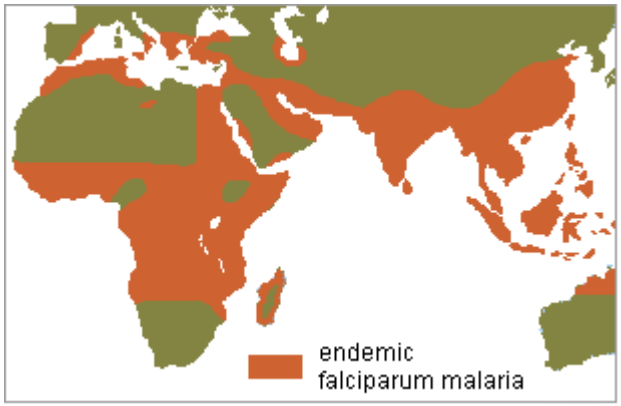
- Rozlišení forem Hb elektroforezou
  - Anionty – směr k +
  - HbS je bazičtější – pomalejší



Srpkovitá anemie

- Význam mutace
  - Nevýhoda – anemie, malá výkonnost
  - Výhoda – odolnost proti *P. falciparum*





- Korelace výskytu genu HbS a malarie