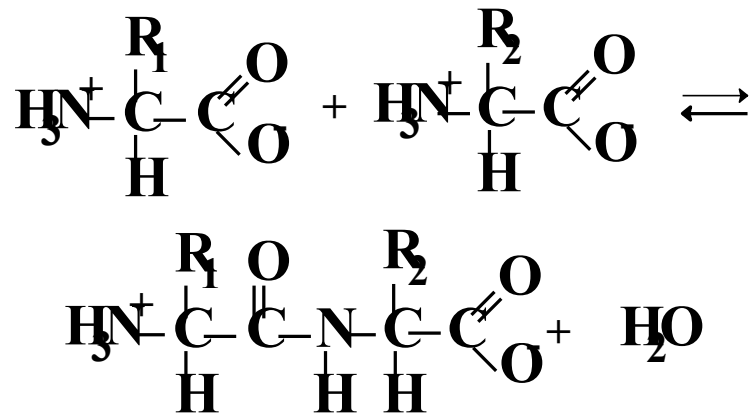


4. Peptidy a bílkoviny

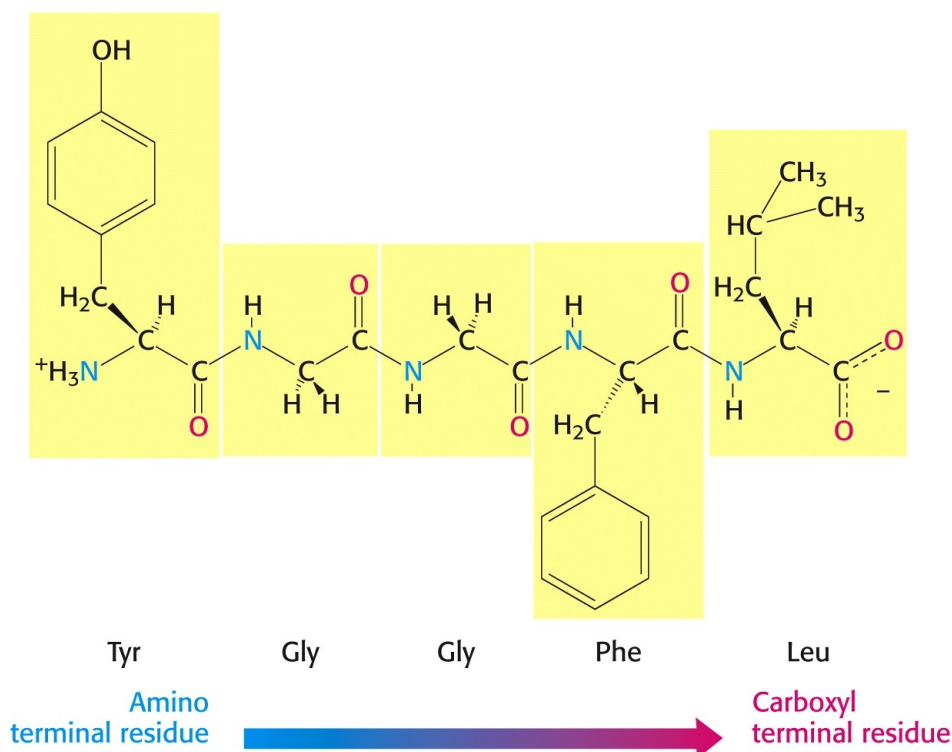
Reakce aminokyselin – typické reakce karboxylu (esterifikace, amidace) a aminoskupiny (acylace, diazotace)

Nejvýznamnější tvorba amidu mezi karboxylem jedné a aminoskupinou druhé aminokyseliny, vzniklá amidickou vazba se nazývá vazbou **peptidovou**:



Vzniklý produkt se pak nazývá **peptidem** a je dále charakterisován podle počtu aminokyselinových zbytků (aminoacylů). V nejjednodušším případě (viz horní rovnici) je tvořen dvěma zbytky a nazývá se **dipeptid**. Peptidy o 3, 4, 5 atd. aminoacylech jsou tri-, tetra-, pentapeptidy atd., peptidy obsahující přes 10 zbytků se obecně nazývají oligopeptidy, velké peptidy (ca od 100 zbytků) se nazývají bílkovinami (viz dále). Toto dělení však není vždy striktně dodržováno a setkáme se s názvy polypeptid i u větších molekul a naopak bílkovina u menších.

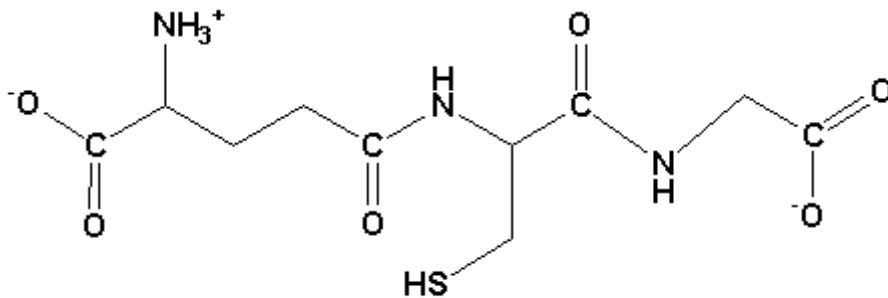
Význam pořadí aminoacylů



Přírodní peptidy

Di - karnosin
anserin

Tri - glutathion GSH



Glutathione

Peptidové hormóny - oxytocin
vasopresin
inzulin
glukagon

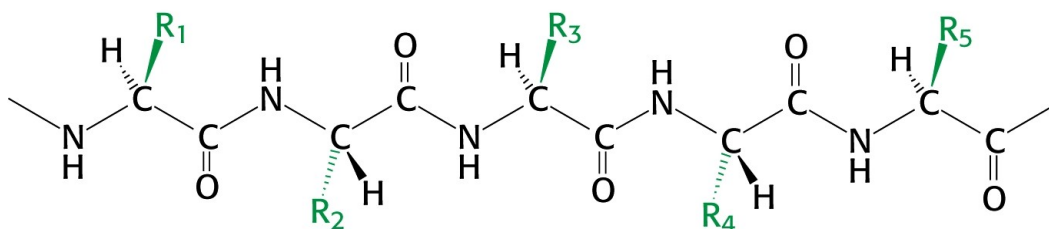
Peptidové neuromodulátory - enkefaliny
endorfiny

Peptidová antibiotika - penicilin
gramicidin
valinomycin
aktinomycin

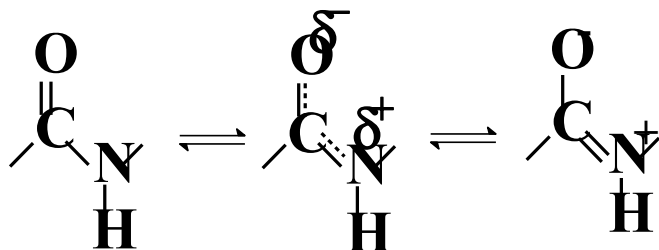
Peptidové fyto a zootoxiny - neurotoxiny hadů štírů a včel
mikrocystiny
falloidin
amanitin

Struktura peptidů

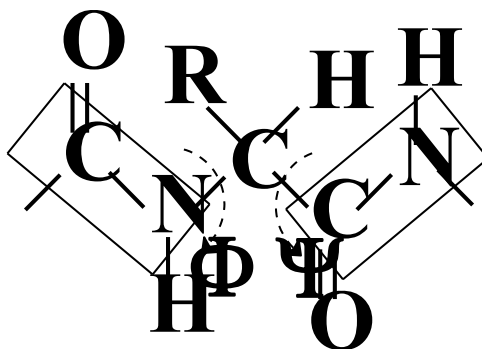
Tvar řetězce není lineární

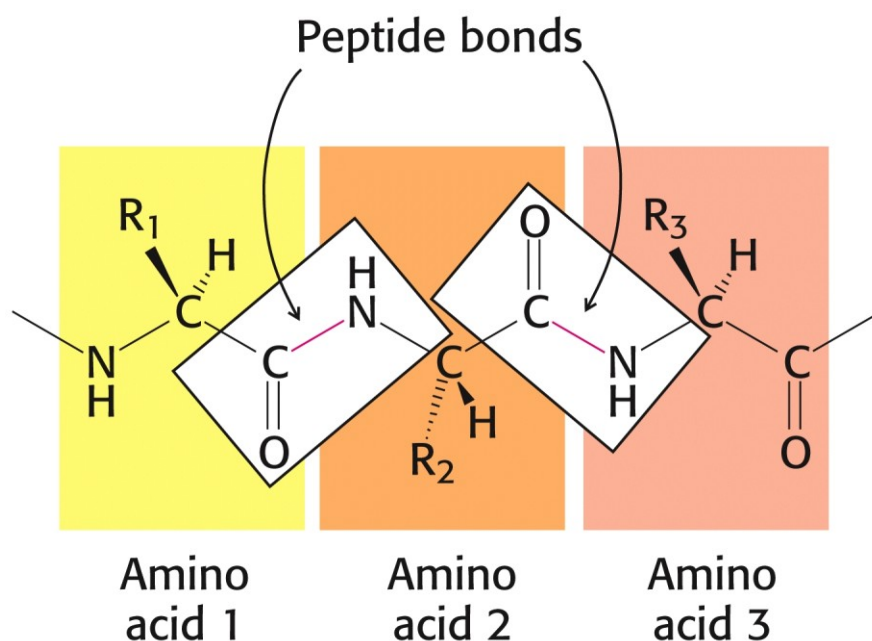


Peptidová vazba má částečně násobný charakter, délka C-N je 133 pm (oproti 145 u jednoduché), C=O zde je delší než normálně (123 pm). Vazba je rigidnější a to má vliv na další skládání řetězce.

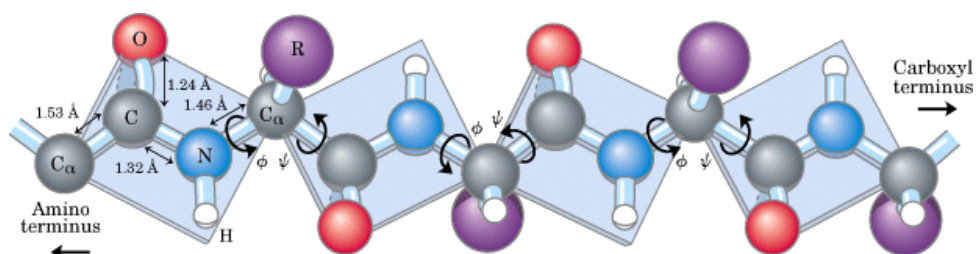


Peptidová vazba je planární, sousedící C α jsou v trans poloze a roviny vazeb se mohou otáčet podle osy C α - N a C α - C. Úhly otočení označujeme Φ a Ψ :





Znázornění vzájemného vztahu rovin dvou sousedních peptidických vazeb v tripeptidu

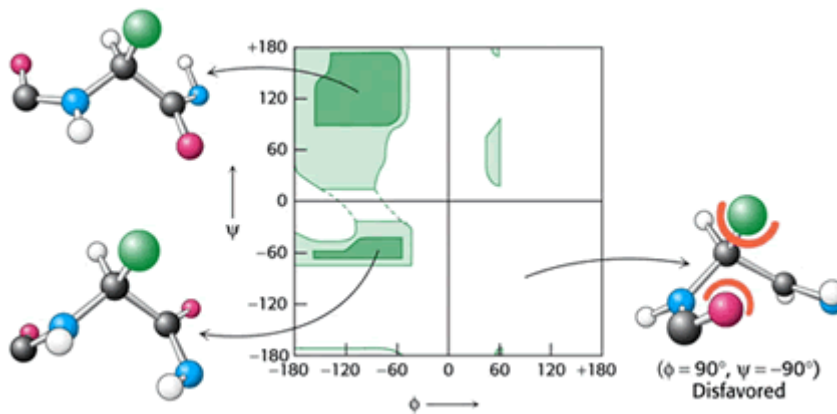


Roviny peptidových vazeb otočné kolem vazeb $C_{\alpha} - NH$ a $C_{\alpha} - CO$

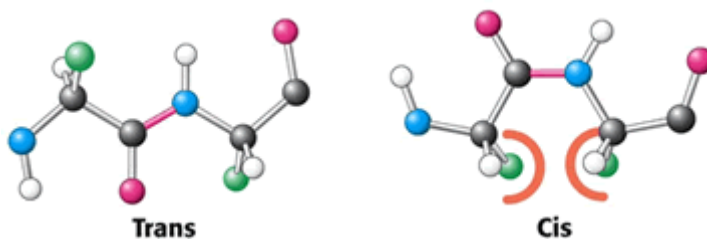
Hodnoty dihedrálních úhlů jsou omezeny sterickými poměry v okolí. Animace znázorňuje vztah van der Waalsových poloměrů kyslíku a vodíku na sousedících $-CO$ a $-NH$ skupinách při otáčení rovin peptidové vazby.

Dihedrání úhly mohou nabývat poměrně omezené množiny hodnot. Ty byly určeny s použitím hodnot van der Waalsových poloměrů pro všechny aminokyseliny v tripeptidu a vyneseny do diagramů nazvaných podle svého

tvůrce **Ramachandranovými**. Vysoce pravděpodobné hodnoty pokrývají tmavozelené oblasti, nahoře vlevo pak dihedrální úhly určují tzv. β -strukturu, dole α -šroubovici. Možnými, ale méně pravděpodobnými hodnotami jsou pak takové, kde pnutí molekuly je ještě dostatečně malé – světlezelené oblasti. Vpravo nahoře se objevuje málo se vyskytující struktura levotočivé α -šroubovice. Bílé oblasti označují oblasti nepřipustných hodnot dihedrálních úhlů.



Ramachandranův diagram stability sekundárních struktur bílkovin



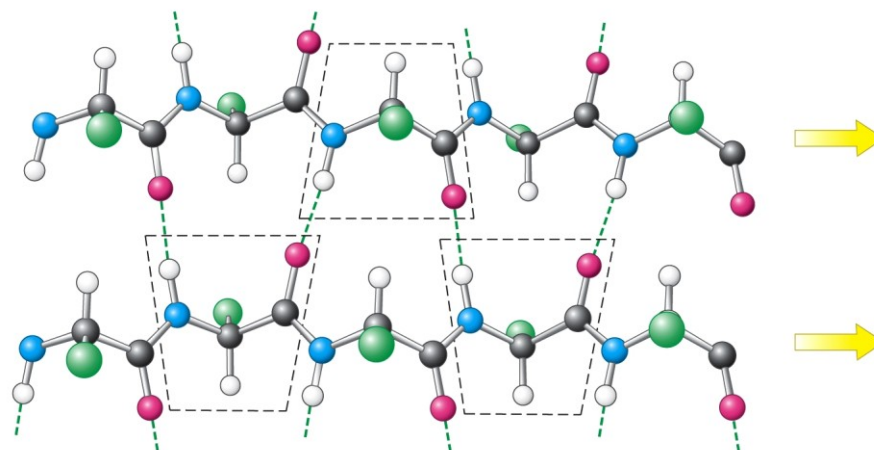
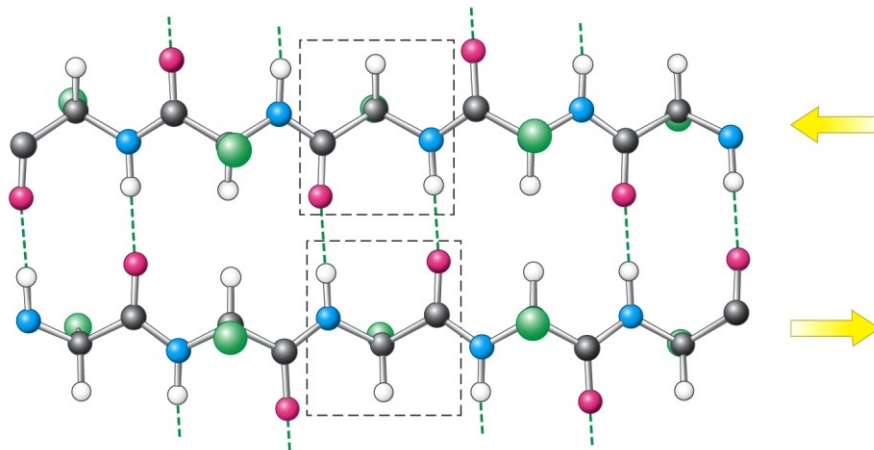
Řetězec musí umožňovat maximální počet vodíkových vazeb mezi peptidickými vazbami

Typy sekundárních struktur

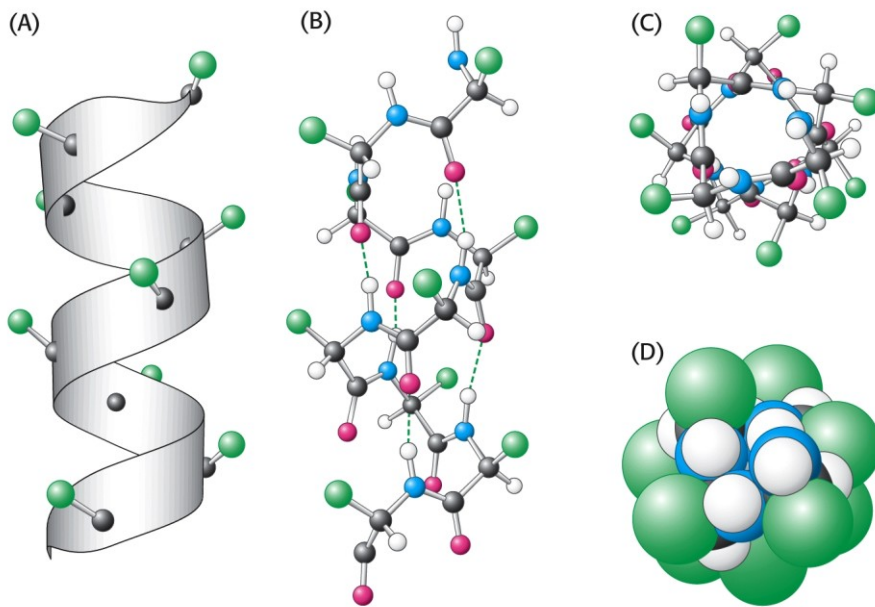
- A. Pravidelné** - helikální struktury - α helix (-56, -47)
- β struktury - skládaný list - paralelní (-139, +135) a
antiparalelní (-119, +113)

B. Ohybové - β ohyb

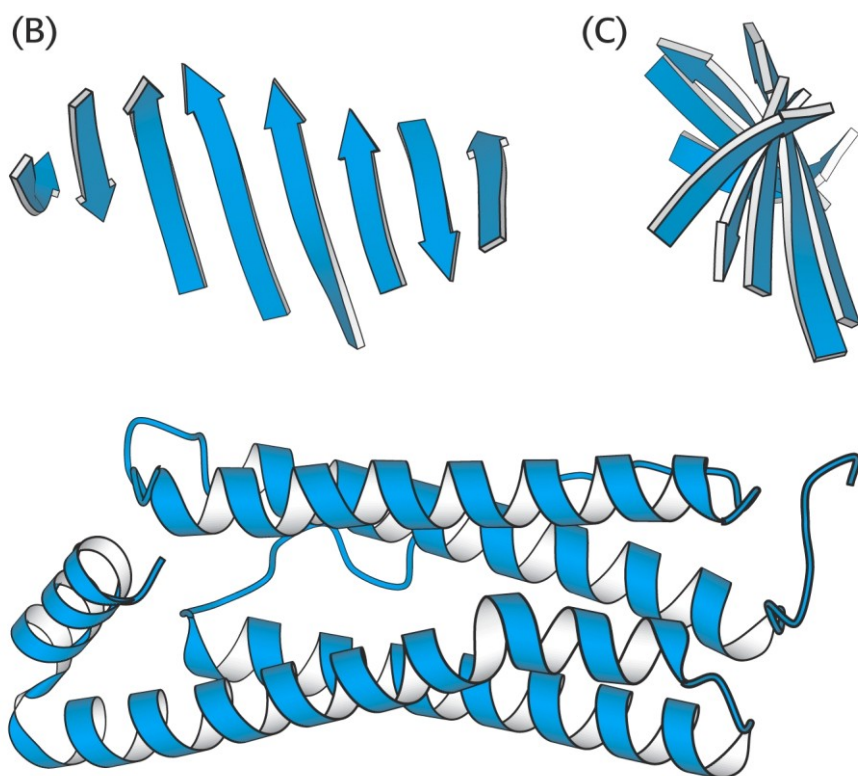
C. Nepravidelné



β -skládání list – antiparalelní a paralelní



Modely α -šroubovice

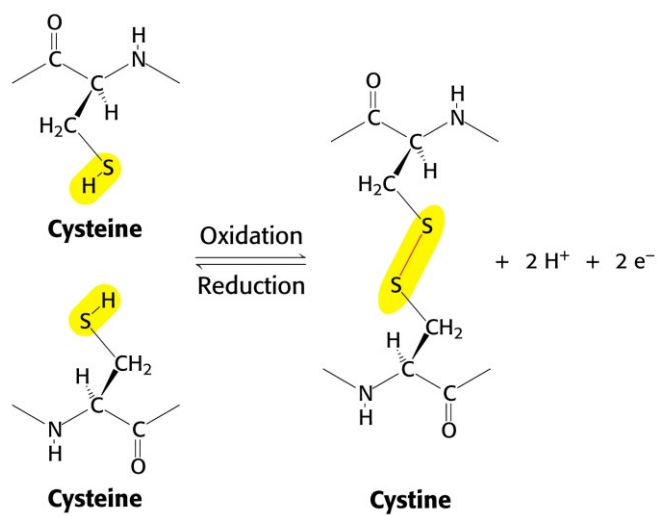


Schematická znázornění struktur skládaného listu a šroubovice

Terciární struktura

1. Iontové interakce
2. Dipolové interakce
3. Vodíkové můstky
4. Hydrofobní interakce
5. Bisulfidické můstky

Strukturní motivy - domény



Kvarterní struktura

Podjednotkové složení - nekovalentní spojení - vodíkové můstky
- kovalentní spojení - bisulfidické můstky

Nebílkovinné součásti bílkovin

Většina bílkovin obsahuje mimo samotný polypeptidický řetězec ještě další komponenty – mluvíme pak o **složených bílkovinách** (na rozdíl od jednoduchých, které jsou tvořeny pouze polypeptidovým řetězcem). Pevně, většinou kovalentně vázanou nebílkovinnou složku složených bílkovin nazýváme **prostetickou skupinou**. Podle jejího charakteru pak rozeznáváme několik skupin složených bílkovin:

- glykoproteiny obsahující sacharidovou komponentu. Její výskyt je však poměrně obecným jevem, takže bílkoviny s obsahem do 5% sacharidové složky takto často nenazveme.
- metaloproteiny obsahující kovy. Podle jeho charakteru specifikujeme jako např. feroproteiny, molybdo-, kupro- atd. Bílkoviny často váží kovy volně, pak je jako složené neuvažujeme.
- fosfoproteiny
- lipoproteiny – obrovské agregáty bílkovin s lipidy a dalšími hydrofobními molekulami
- chromoproteiny – difusní skupina, charakterisována barevností (výraznou absorbcí světla), méně podstatou ve struktuře

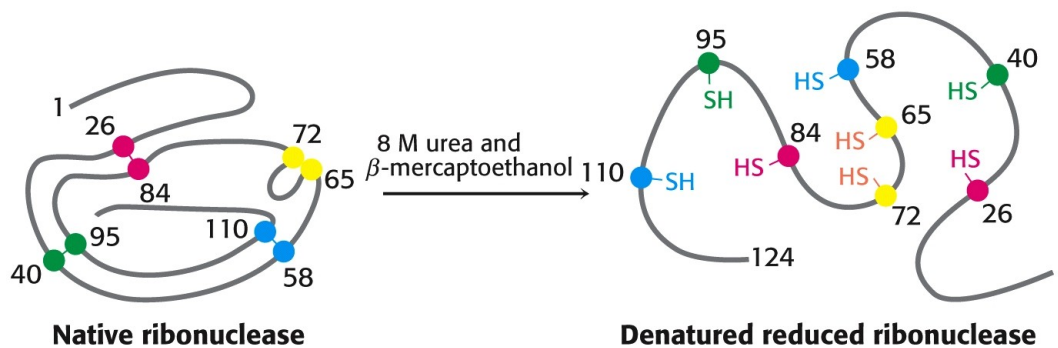
KONFORMACE

Skládání řetězce, principiální úloha primární struktury, vliv prostředí, změny konformace.

Bílkovina v roztoku, chování, denaturace.

Denaturace - fyzikální faktory - T, záření, tlak,
- chemické faktory - pH, organická rozpouštědla, detergenty, těžké kovy, močovina,

Denaturace $\left\{ \begin{array}{l} \text{reverzibilní - renaturace} \\ \text{ireverzibilní} \end{array} \right.$

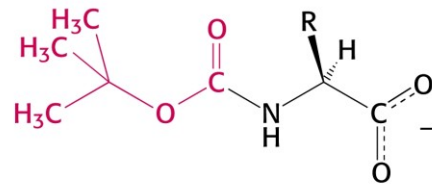


Metody studia bílkovin

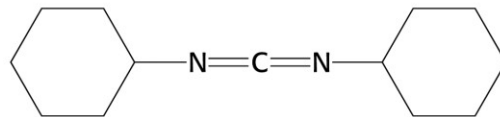
- Isolace – metody dle smyslu (čisté nativní bílkoviny pro studium vlastností event. farmakologii, hrubé izolace pro průmysl apod.)
- Analýza – elfo, spektrální, RTG, NMR, MS aj.

Syntéza polypeptidů

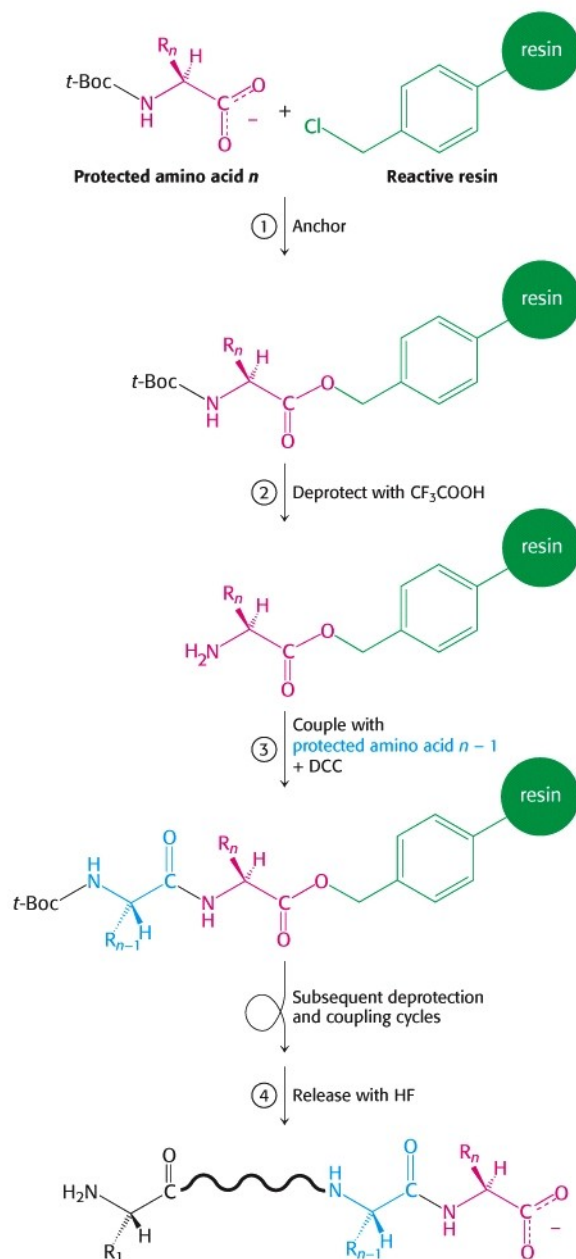
Ačkoli se postupně rozvinula řada efektivních molekulárně biologických metod přípravy bílkovin, z nichž mnohé jsou průmyslově využívány (insulin), příprava chemickou syntézou má stále opodstatnění. Vychází z obvyklých syntetických postupů, kdy reagují aminokyseliny s aktivovanými skupinami, které mají vytvořit peptidovou vazbu, naopak se chrání skupiny, které spolu reagovat nemají. Hlavním problémem bylo čištění meziproductů, které v roztoku vede ke značným ztrátám a tím znemožní syntézu delších řetězců.



**t-Butyloxycarbonyl amino acid
(t-Boc amino acid)**



**Dicyclohexylcarbodiimide
(DCC)**



Funkce bílkovin a příklady:

- strukturní
- katalytická
- transportní
- signální
- obranné

