

C3181

Biochemie I

02-Peptidy a bílkoviny

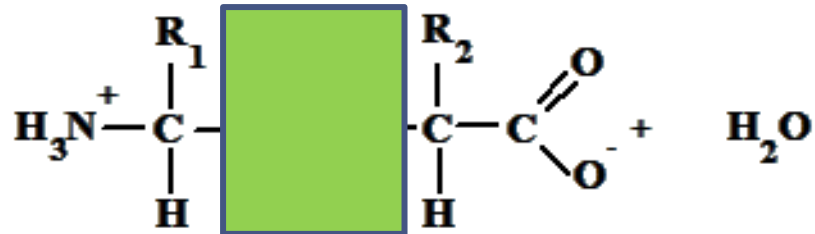
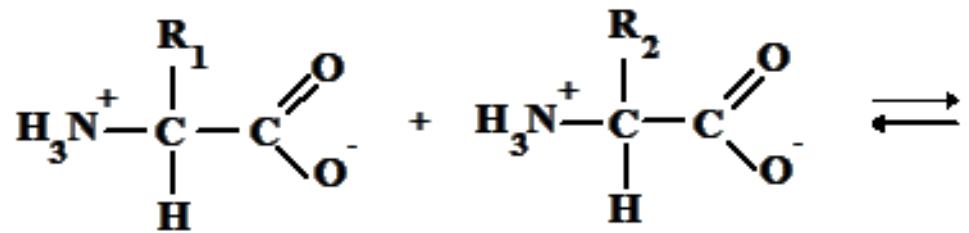
FRVŠ **1647/2012**

Obsah

- Vznik peptidů a bílkovin, strukturní úrovně.
- Vlastnosti a funkce.

Vznik peptidů

- Peptidová vazba
 - Formální popis
 - Skutečná reakce
- Charakteristika
 - Počet monomerů
 - Pořadí aminoacylů
- Velikost peptidu
 - Di-, tri-, atd -peptidy
 - Oligopeptidy – do 10
 - Polypeptidy – do 100
 - Bílkoviny
 - Relativita rozdělení



Charakteristika peptidů

Počet a druh AK

určuje základní vlastnosti
velikost, polarita, náboje - pl

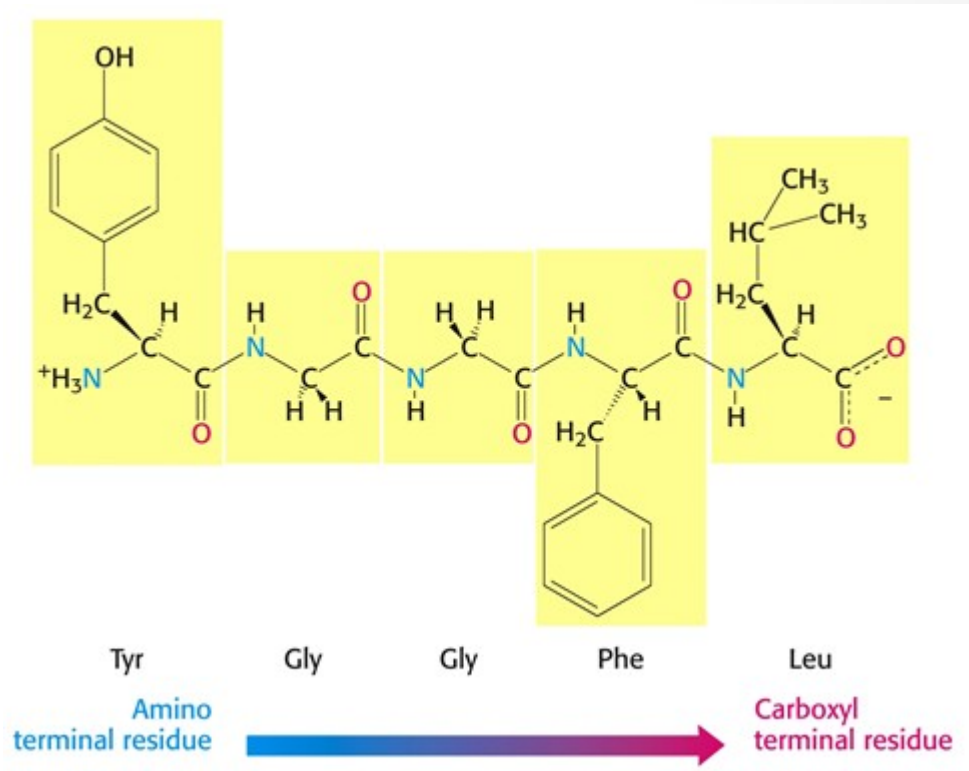
Pořadí aminoacylů

sekvence, **primární struktura**
determinuje finální vlastnosti

Směr sekvence

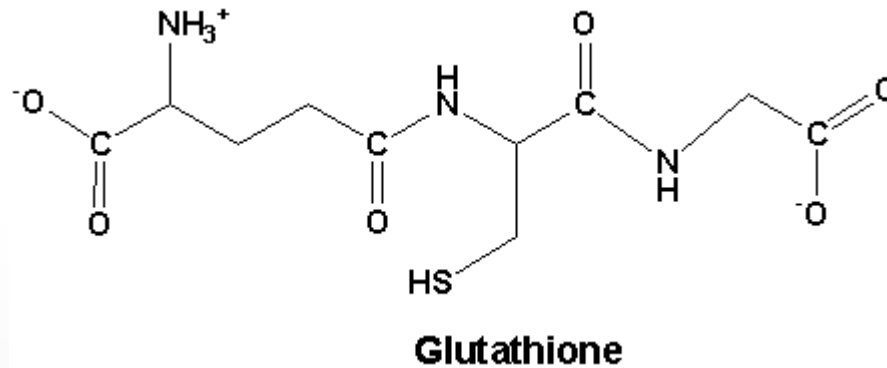
Od N k C konci

Koncová skupina může
být derivatizována (N-acyl,
amid, ester)



Přírodní peptidy

- Di - karnosin – β -Ala-His – sval (antioxidant?)
anserin – N-metylkarnosin
- Tri - glutathion – GSH – γ -Glu-Cys-Gly
 - Kofaktor oxidoreduktas a transferas



Významné peptidy

Peptidové hormony

oxytocin, vasopresin

inzulin, glukagon

Peptidové neuromodulátory

enkefaliny, endorfiny

Peptidová antibiotika

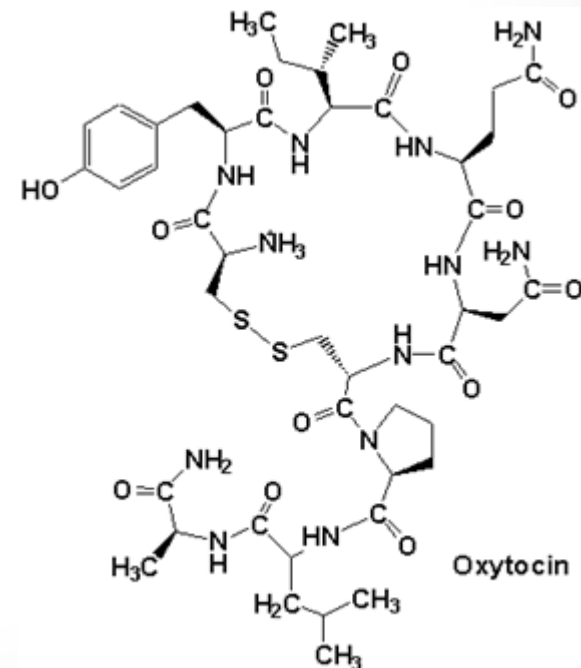
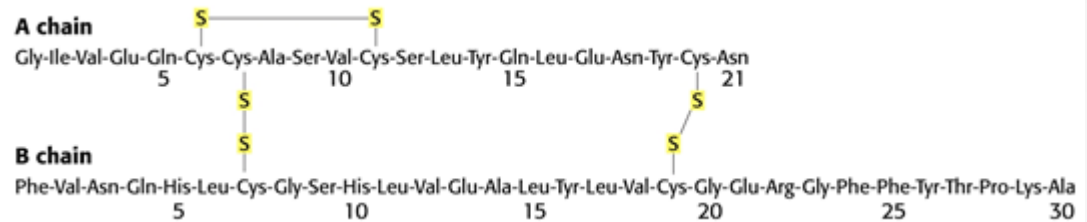
penicilin, **gramicidin**, **valinomycin**, aktinomycin

Peptidové fyto a zootoxiny

amanitin, falloidin

mikrocystiny

neurotoxiny hadů, štírů a včel



Struktura peptidů

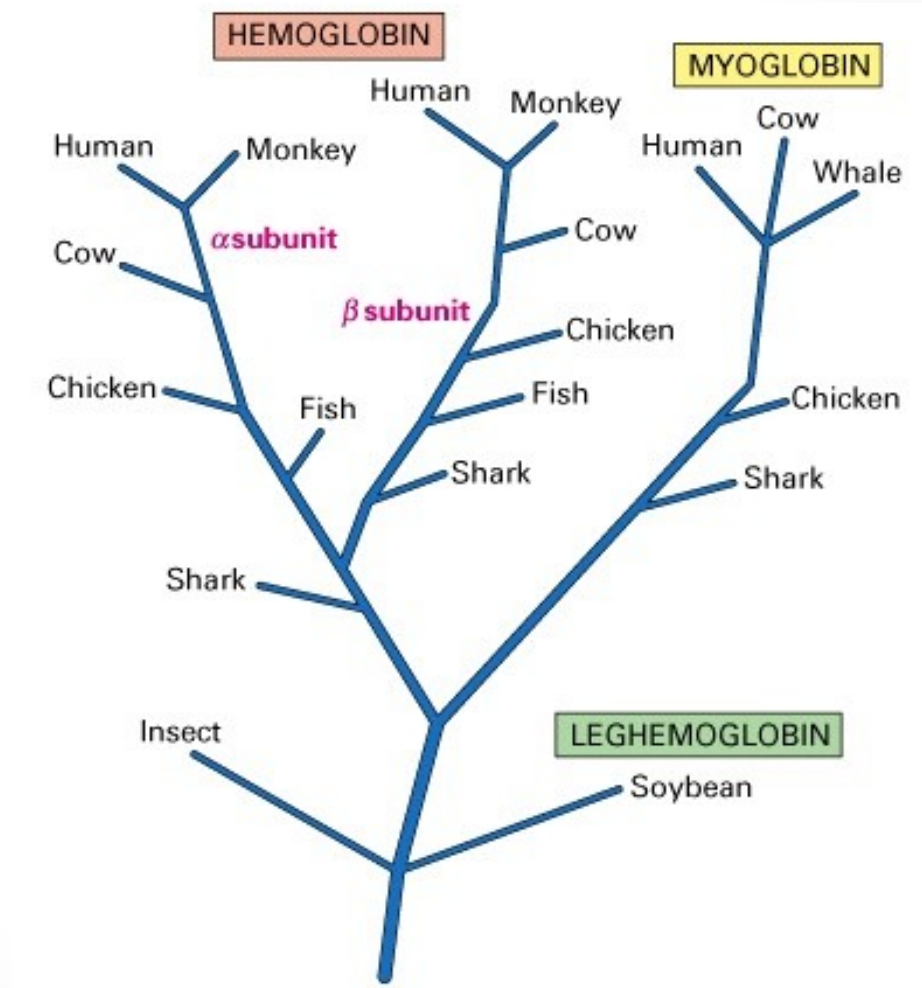
- Formální popis struktury – sekvence
- Tvar molekuly v reálném prostředí
 - Vlastnosti peptidové vazby
 - Vliv struktury monomerů (AK) – druh zbytků R
- Síly a interakce uvnitř molekuly a navenek
 - Vliv složení polymeru
 - Vliv okolního prostředí – polarita, pH, I apod.
- Výsledný tvar a jeho změny
 - Zásadní pro funkci
- Struktura  vlastnosti  funkce

Hierarchie struktur

- Základní popis
 - Nadstavba – strukturní biochemie
- Primární
 - Sekvence aminoacylů – kolik a jak seřazeny
 - Homologie bílkovin
- Sekundární
 - Uspořádání – vztah sousedních monomerů
- Terciární
 - Tvar molekuly v prostoru, uspořádání řetězce jako tělesa
- Kvarterní
 - Agregační stav funkční jednotky, nadmolekulární úroveň

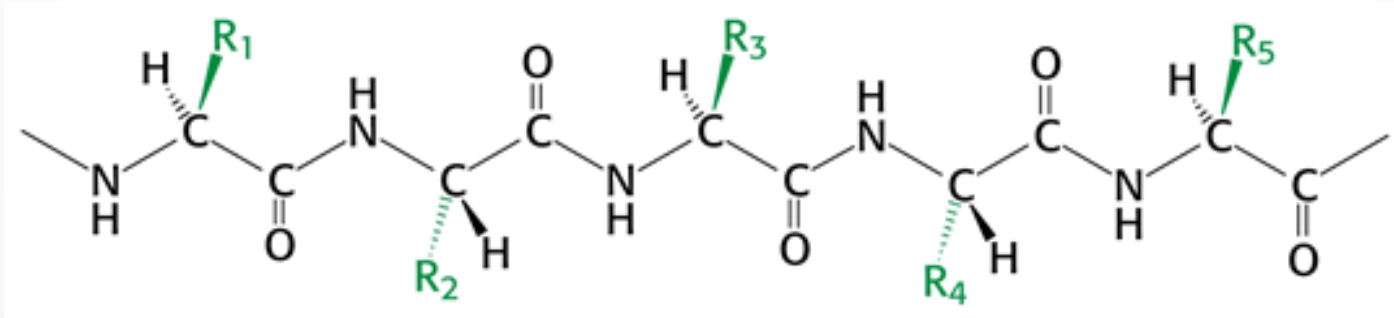
Sekvenční homologie

- Evoluční strom
 - Hb
 - MyoG



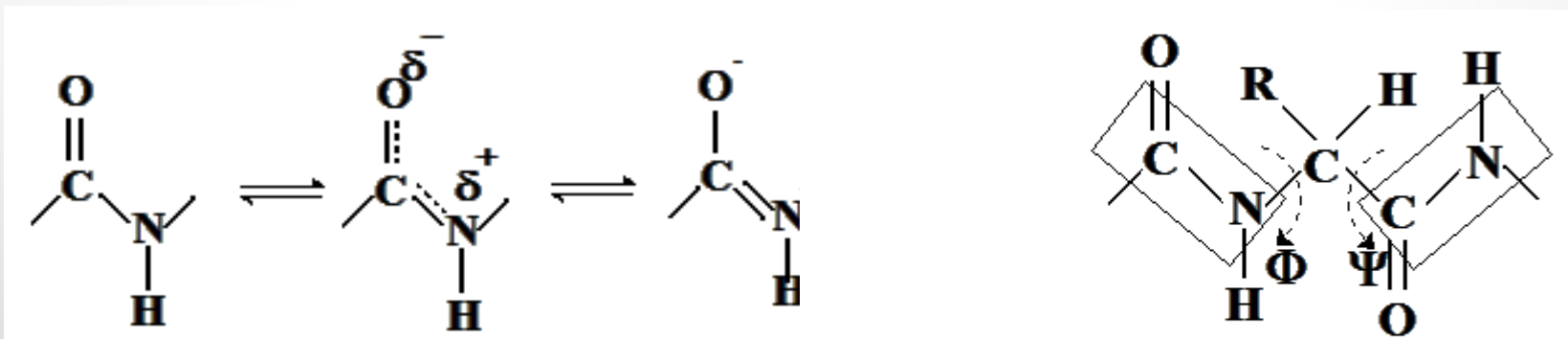
Sekundární struktura

- Řetězec není lineární
 - Atomy C a N peptidové vazby – sp^2 – planární
 - C2 ($C\alpha$) – sp^3 - tetraedr



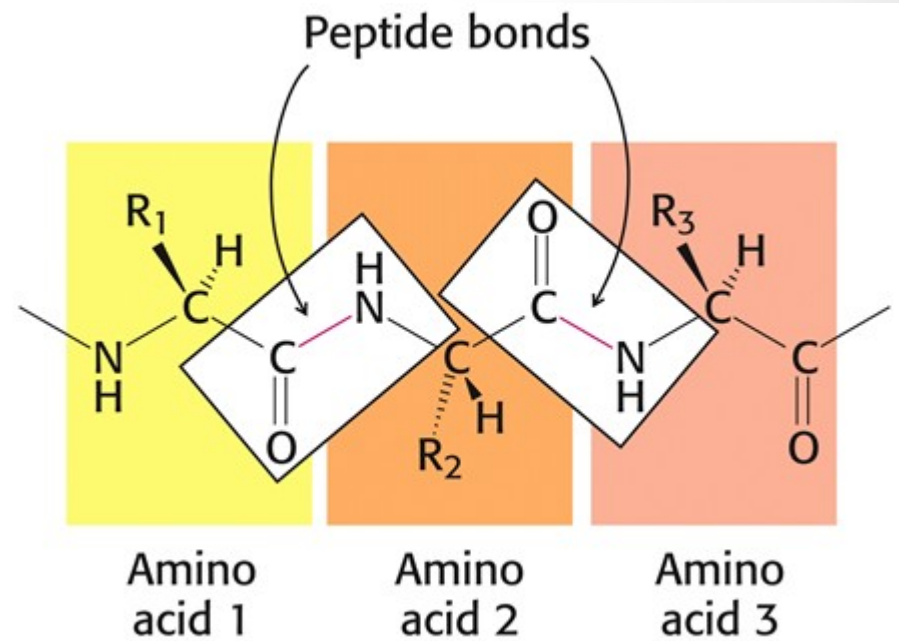
Sekundární struktura

- Peptidová vazba
 - má charakter částečné dvojné vazby, řád vazby ca 1,5
 - 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
 - Rovina zahrnuje 6 atomů
 - C α sousedících aminoacylů v poloze trans
 - Roviny vazeb vedoucích k sousedním aminoacylům otočné v osách C α -N a C α -C
 - Dihedrální úhly Φ a Ψ - otočení v osách C α -N a C α -C – konvenční stupnice hodnot

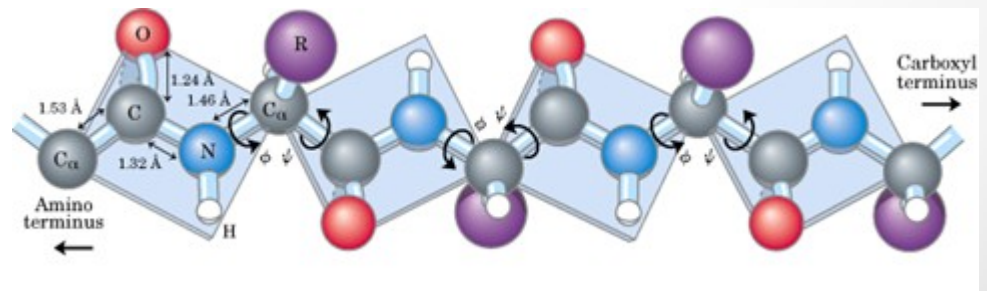


Sekundární struktura

Znázornění vzájemného vztahu rovin dvou sousedních peptidických vazeb v tripeptidu

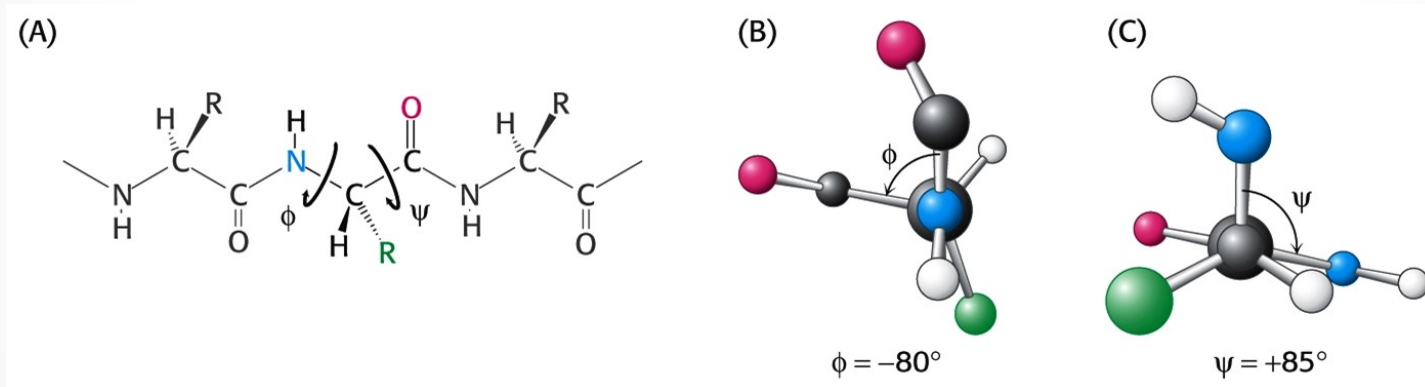


Roviny peptidových vazeb otočné kolem vazeb $C_{\alpha}-NH$ a $C_{\alpha}-CO$



Sekundární struktura

- Konvenční vyjadřování Φ a Ψ
 - $-180 - +180^\circ$
 - natažený řetězec $\Phi = 180^\circ$ $\Psi = 180^\circ$



- Hodnoty dihedrálních úhlů jsou omezeny sterickými poměry v okolí.

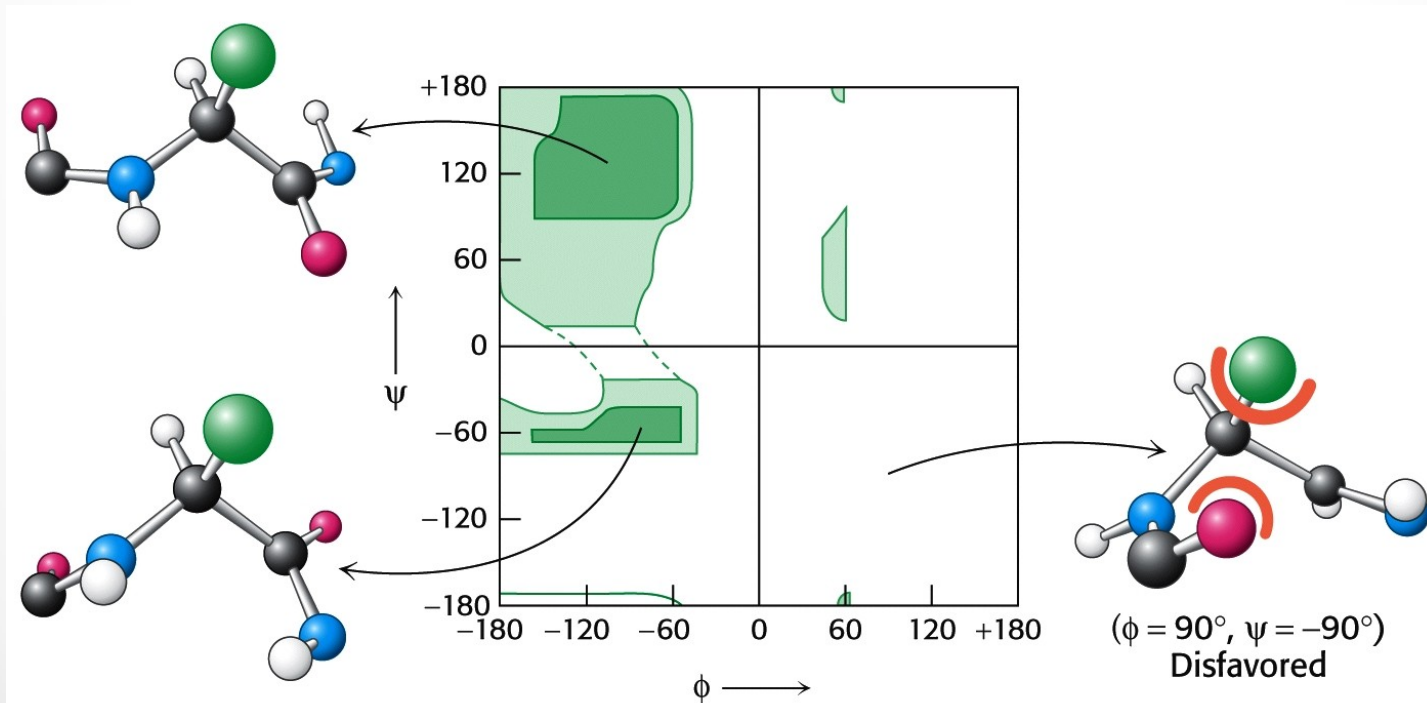
Animace znázorňuje vztah van der Waalsových poloměrů kyslíku a vodíku na sousedících -CO a -NH skupinách při otáčení rovin peptidové vazby.



Rotate.mov

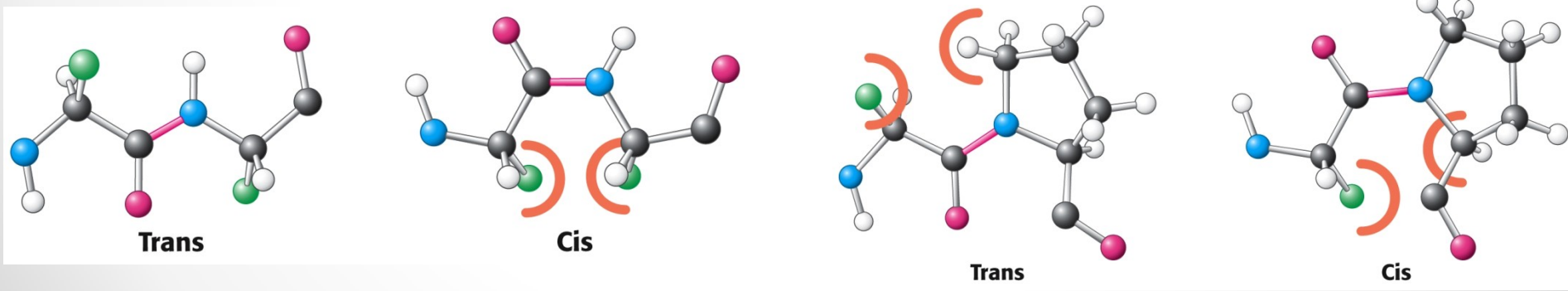
Sekundární struktura

- Dihedrální úhly mohou nabývat omezené množiny hodnot
 - **Ramachandranovy diagramy**, pro různé tripeptidy
 - Tmavé pravděpodobné, světlé méně, bílé nepřipustné
 - LH – β -list, LD – α -šroubovice pravotočivá, PH – α -šroubovice levotočivá



Sekundární struktura

- Stabilní struktura – maximální počet vodíkových vazeb mezi CO a NH – stabilizace sekundární struktury
- Výhodná trans-poloha $C\alpha$, u Pro cis-!

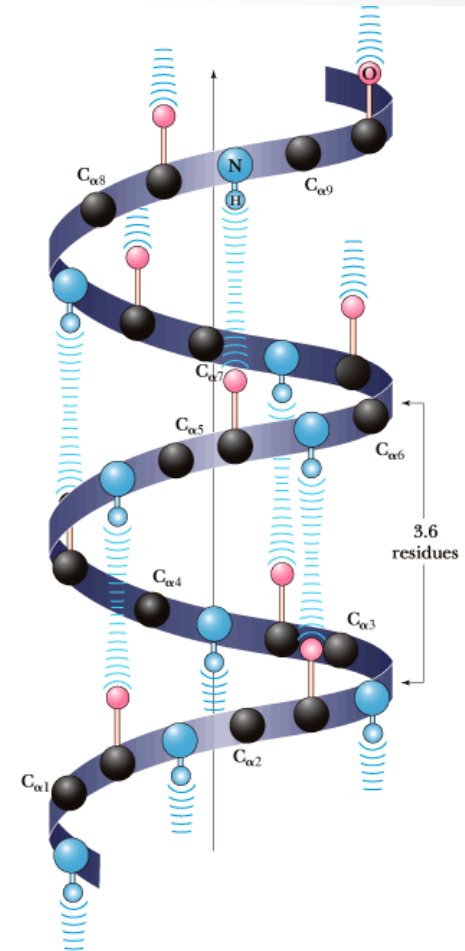


Typy sekundárních struktur

- Pravidelné (typické hodnoty Φ a Ψ)
 - helikální struktury – pravotočivá α -šroubovice – helix (-56, -47)
 - β -skládaný list – paralelní (-139, +135)
 - antiparalelní (-119, +113)
- Ohybové
 - β -ohyb
- Nepravidelné

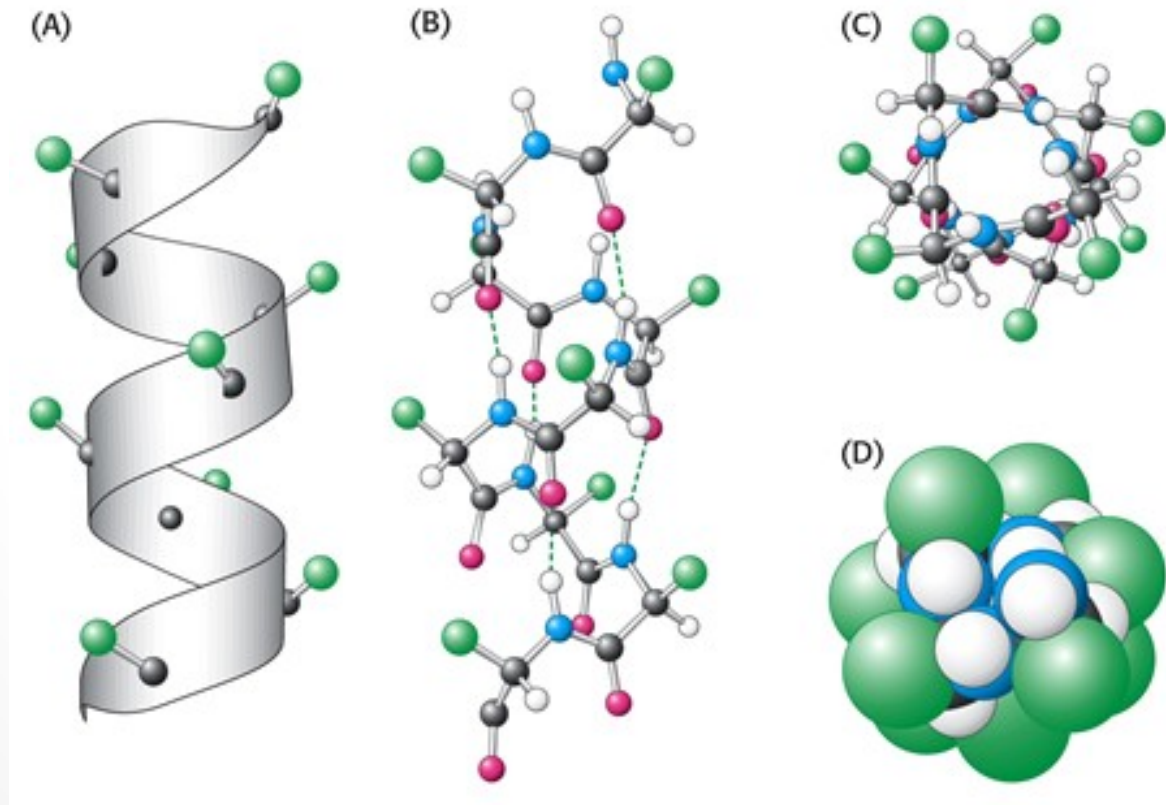
α -helix

- Popsána nejdříve, proto α
- Kompaktnější než β -skládaný list
 - C_{α} - C_{α} je 1,5 Å, u β -listu je 3,5Å
 - 3,6 AK/závit, stoupání 0,54 nm
 - Zbytky R vně helixu
- Vodíkové vazby
 - Mezi C=O a NH o 4 AK vzdálené
 - Souběžné s osou helixu, ne rovnoběžné
 - 13 atomů v heterocyklu tvořeném H-vazbou
 - α -helix 3,6₁₃
 - Jiné helixy



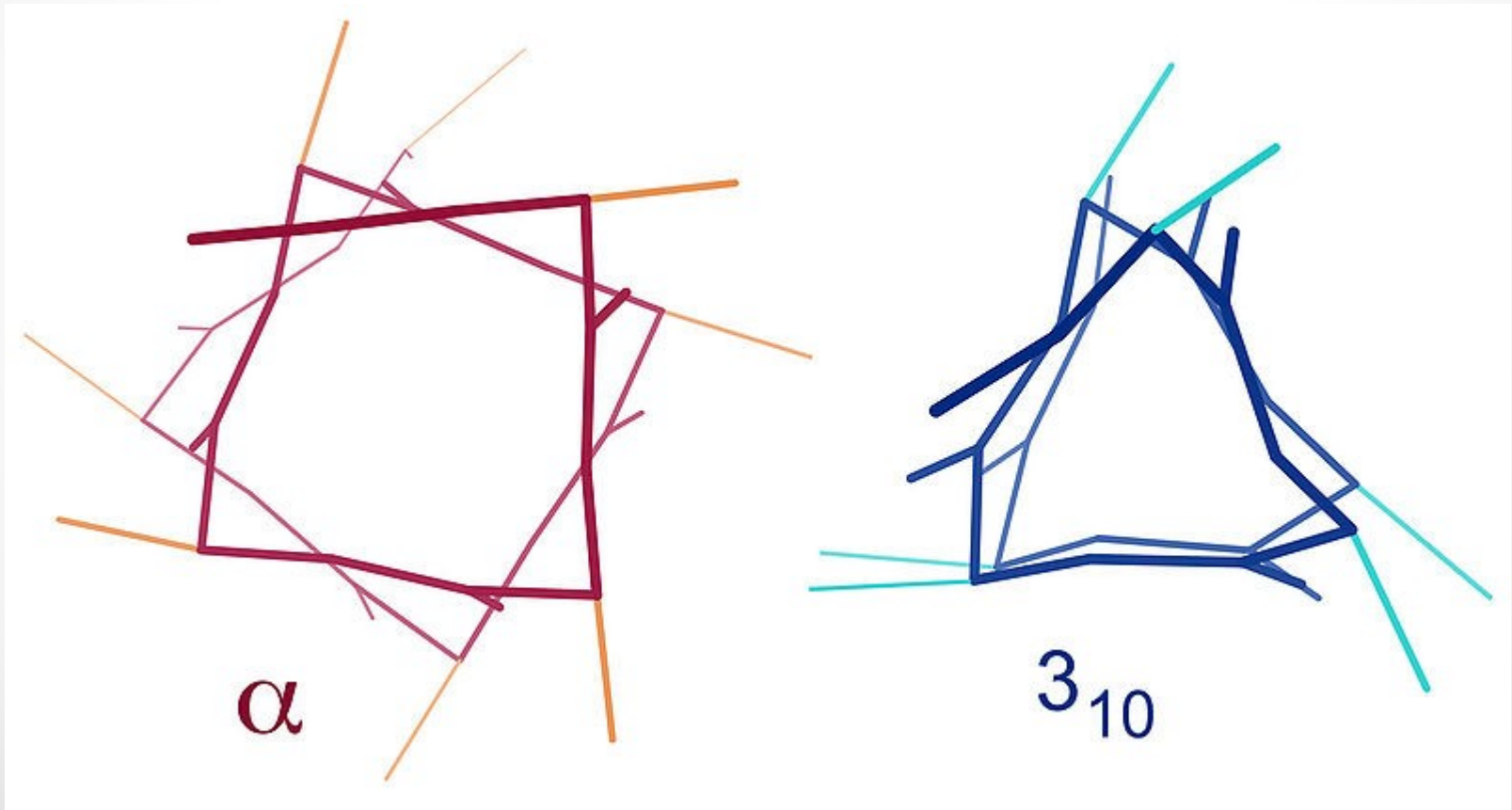
α -helix

- Modely α -helix



Jiné helikální struktury

- α -helix ($3,6_{13}$) a 3_{10} helix

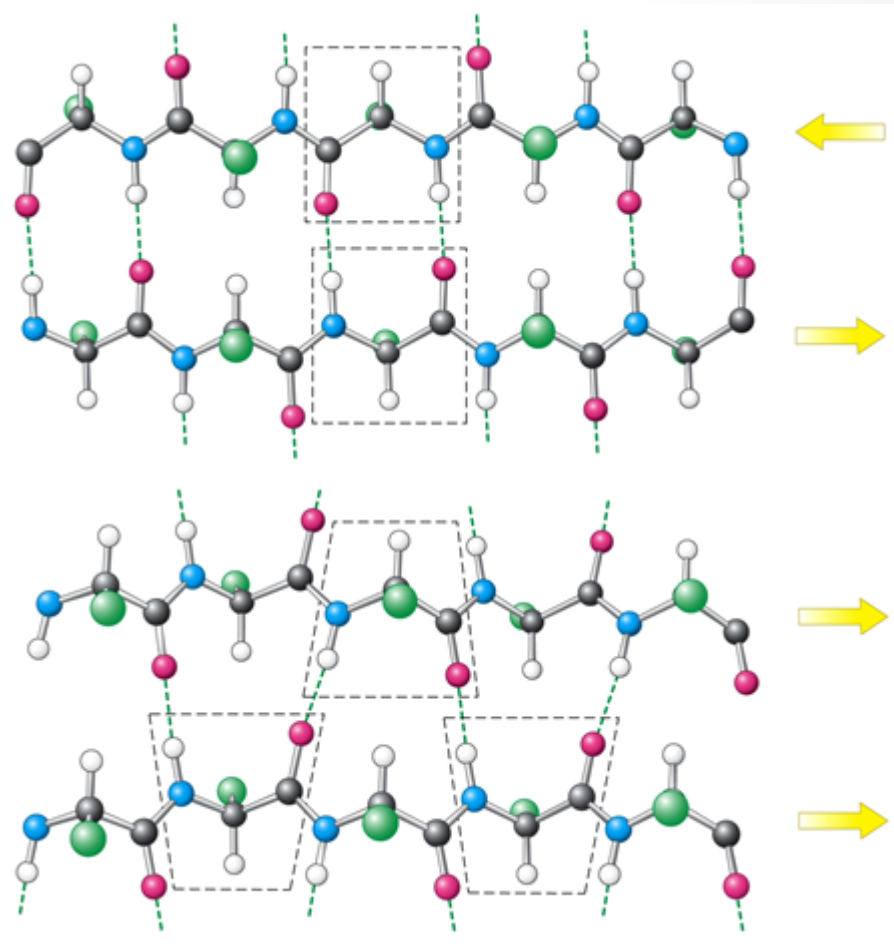


Sekundární struktura

- β -skládání list

- antiparalelní
- H-můstky mezi CO a NH protilehlých zbytků

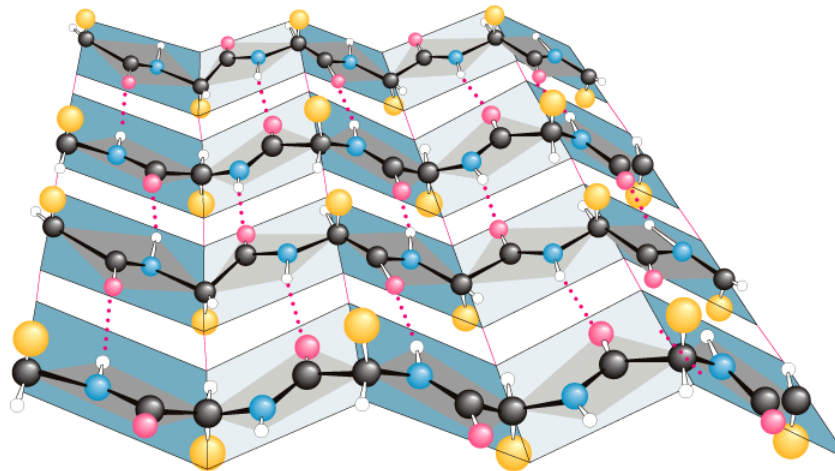
- Paralelní
- Odlišné uspořádání H-můstků



β -skládaný list

- Vodíkové vazby mezi (anti)paralelními úseky nebo sousedními peptidy
- Volnější struktura než α -helix
- Zbytky R- orientovány střídavě

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 6.10

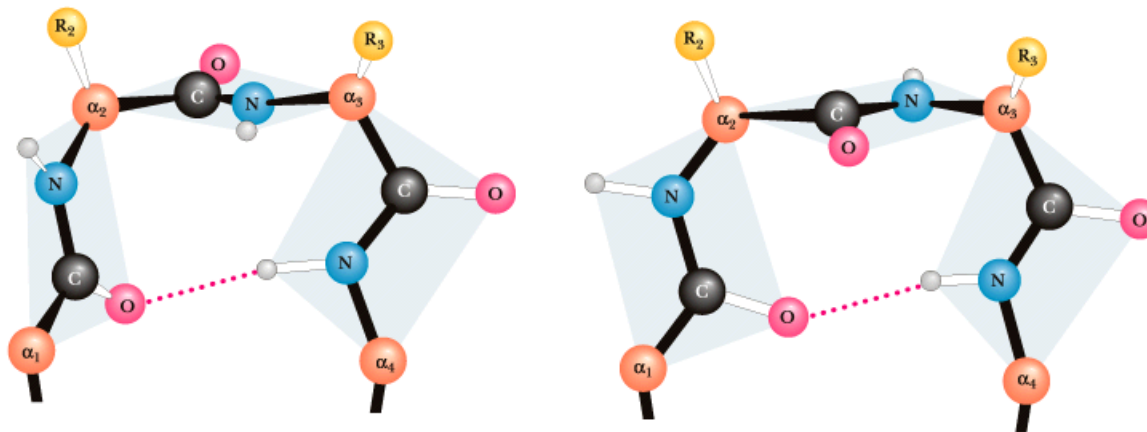


Saunders College Publishing

β -ohyb, vlásenka

můstek z CO na NH - 3 zbytky
dopředu
výhodný u glycinu a prolinu

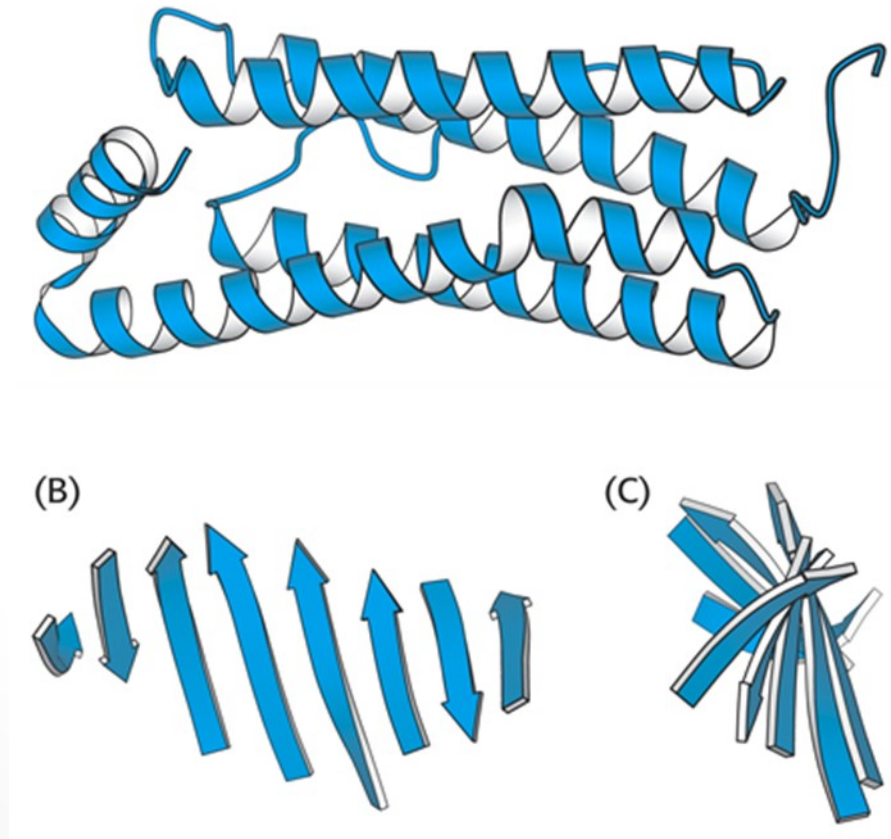
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 6.12



Saunders College Publishing

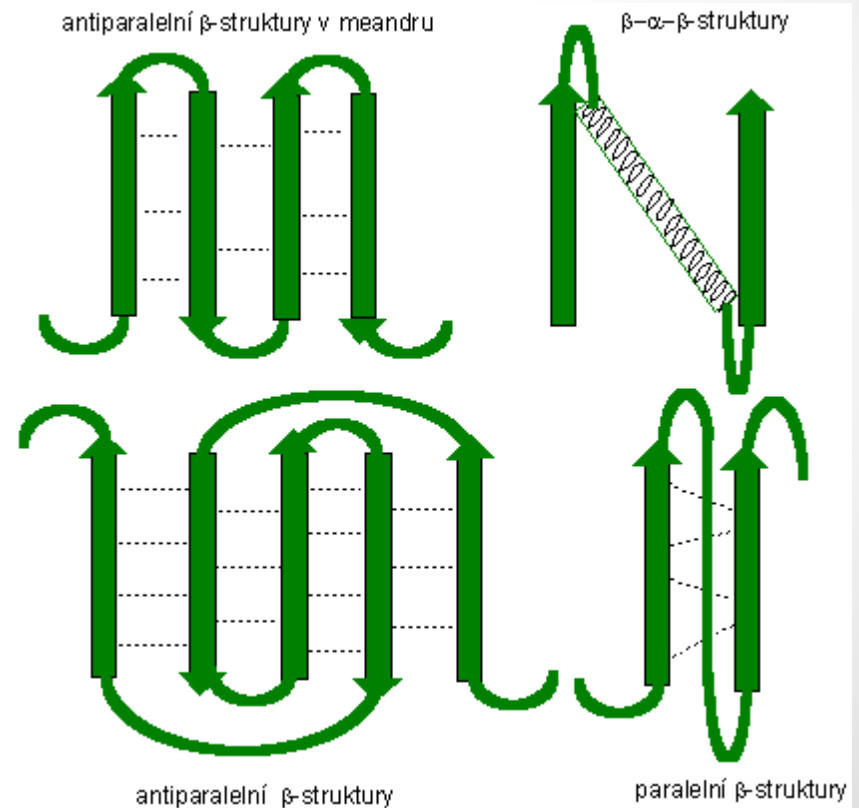
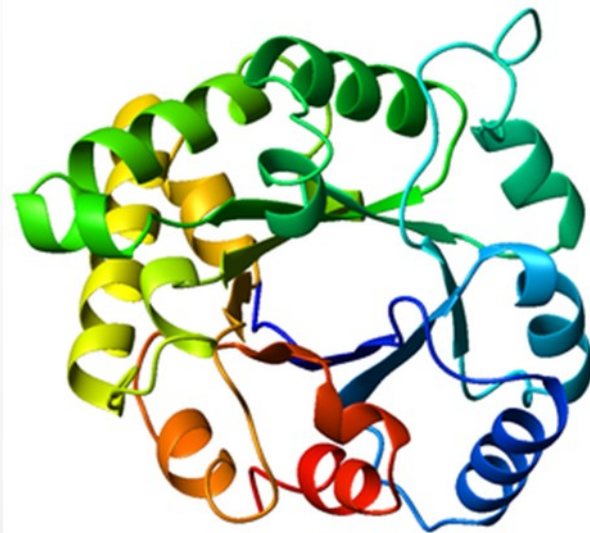
Sekundární struktura

- Znáznornění α -helix a β -listu



Supersekundární struktura

- Uspořádání úseků sekundárních struktur
- Strukturní motivy
 - β - α - β motiv (TIM – 8x)
 - Řecký klíč
 - β -meandr
 - Další struktury
 - Domény – funkční jednotky

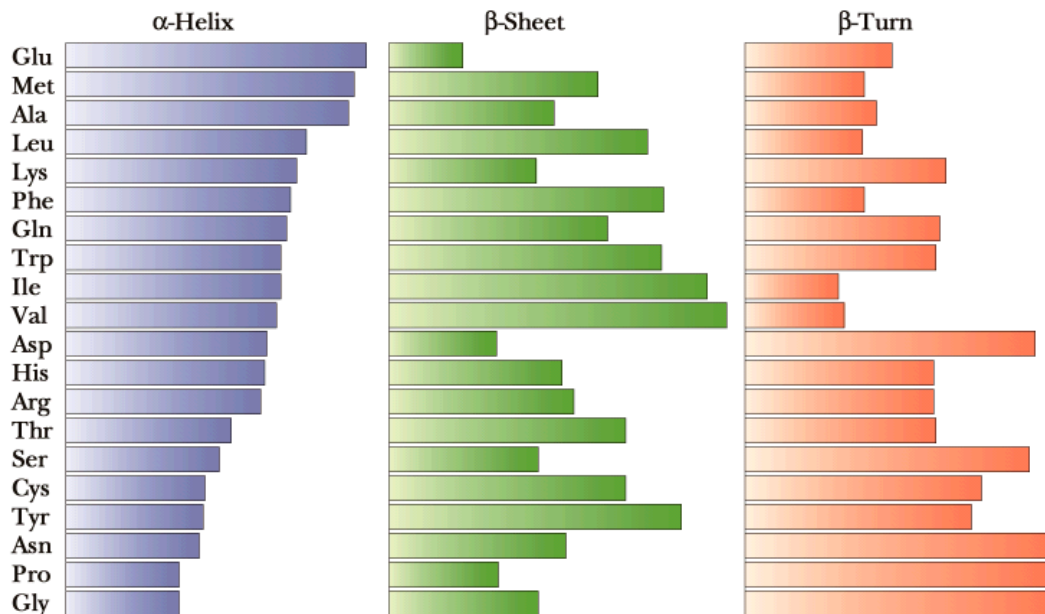


Predikce sekundární struktury

Primární struktura ovlivňuje sekundární

Preference struktur v úsecích s převahou aminoacylů

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 6.39



Predikce sekundární struktury

TABLE 3.3 Relative frequencies of amino acid residues in secondary structures

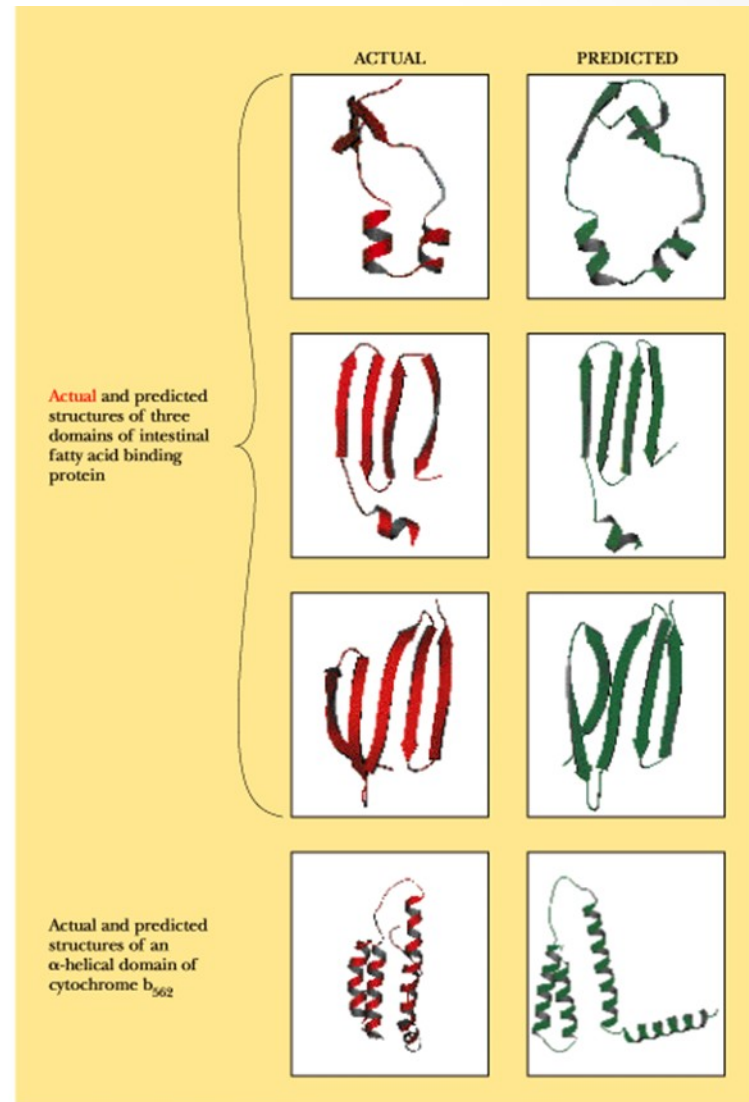
Amino acid	α helix	β sheet	Turn
Ala	1.29	0.90	0.78
Cys	1.11	0.74	0.80
Leu	1.30	1.02	0.59
Met	1.47	0.97	0.39
Glu	1.44	0.75	1.00
Gln	1.27	0.80	0.97
His	1.22	1.08	0.69
Lys	1.23	0.77	0.96
Val	0.91	1.49	0.47
Ile	0.97	1.45	0.51
Phe	1.07	1.32	0.58
Tyr	0.72	1.25	1.05
Trp	0.99	1.14	0.75
Thr	0.82	1.21	1.03
Gly	0.56	0.92	1.64
Ser	0.82	0.95	1.33
Asp	1.04	0.72	1.41
Asn	0.90	0.76	1.28
Pro	0.52	0.64	1.91
Arg	0.96	0.99	0.88

Note: The amino acids are grouped according to their preference for α helices (top group), β sheets (second group), or turns (third group). Arginine shows no significant preference for any of the structures.

After T. E. Creighton, *Proteins: Structures and Molecular Properties*, 2d ed. (W. H. Freeman and Company, 1992), p. 256.

Predikce sekundární struktury

Srovnání zjištěných
struktur
s předpovězenými

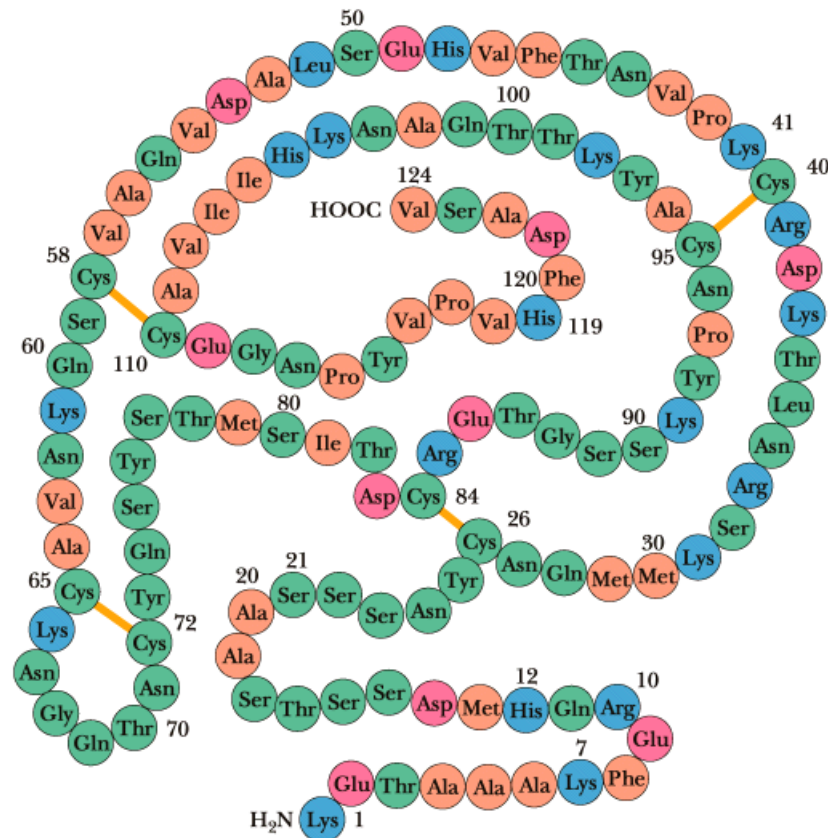
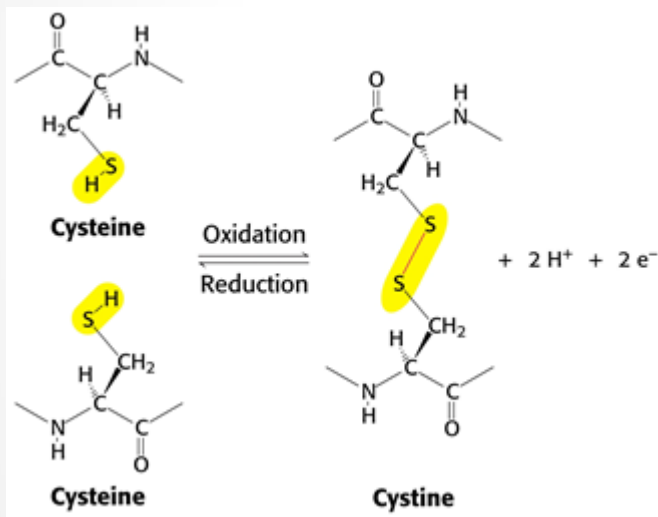


Terciární struktura

- Popis tvaru řetězce v prostotu (jako tělesa)
- Formující (stabilizující) síly
 - Kovalentní vazby (Bisulfidické můstky)
 - Iontové interakce
 - Dipolové interakce
 - Vodíkové můstky
 - Hydrofobní interakce
- Strukturní motivy – domény – moduly
- Flexibilita struktury – vývojově preferovaná

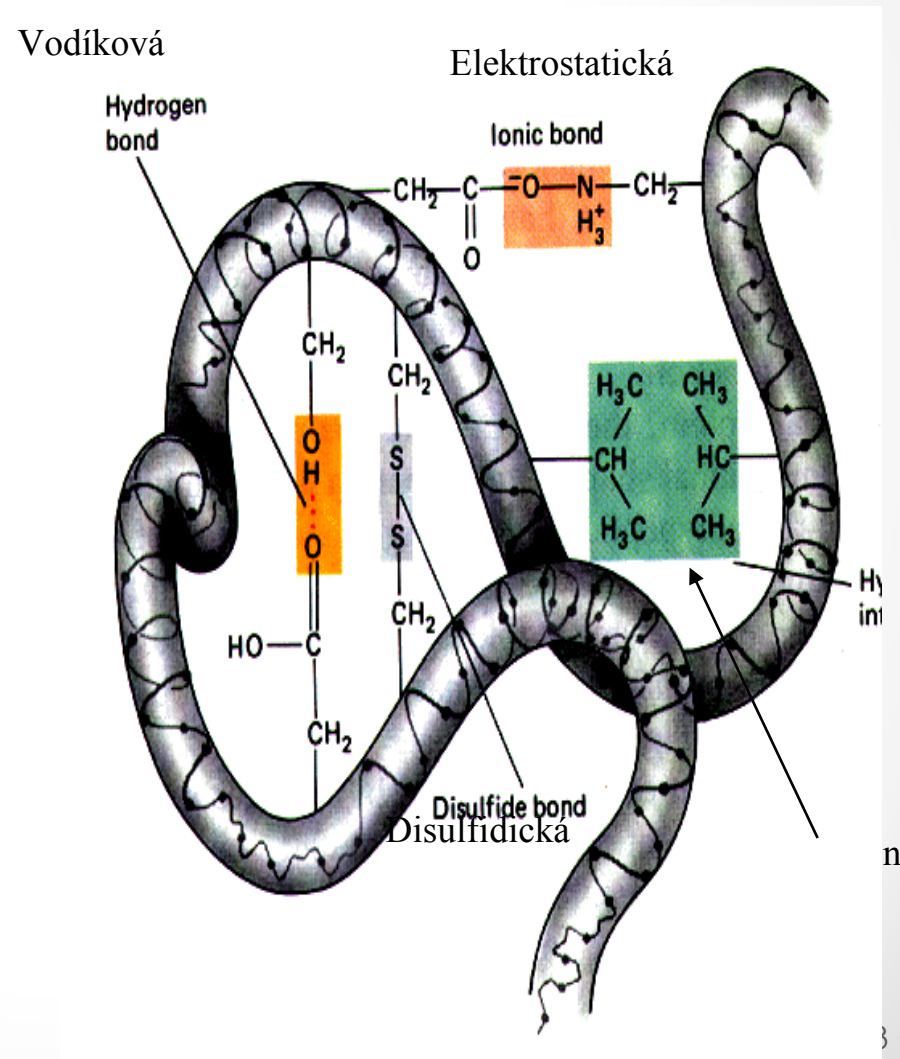
Terciární struktura

- Účast kovalentních bisulfidových vazeb na formování terciární struktury - RNasa



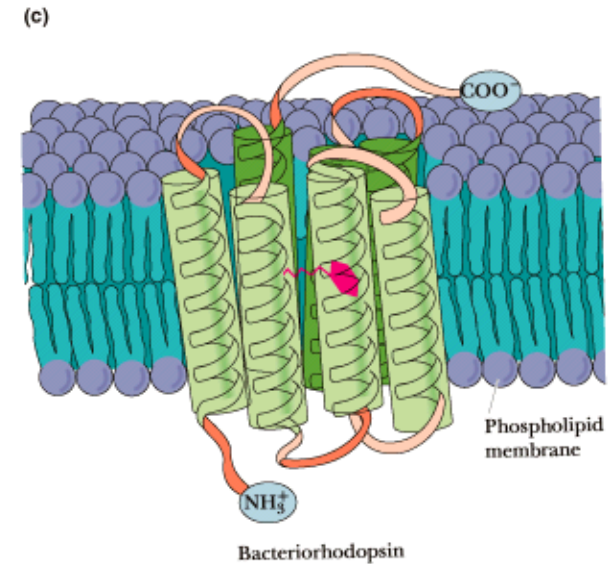
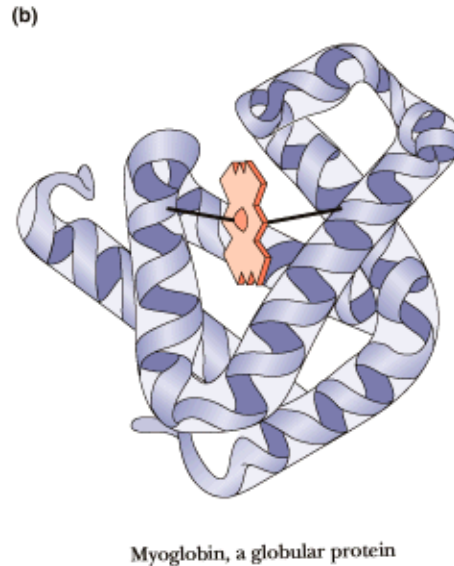
Stabilizace terciární struktury

- Typy interakcí
 - Navíc dipól-dipól
- Různě významné interakce pro různé typy proteinů
- Vykompenzování sil
 - Vliv prostředí
 - Ligandů
- Dynamická struktura
- Orientace zbytků
 - Polární ven – vodné prostředí
 - Hydrofobní dovnitř
 - Membránové naopak



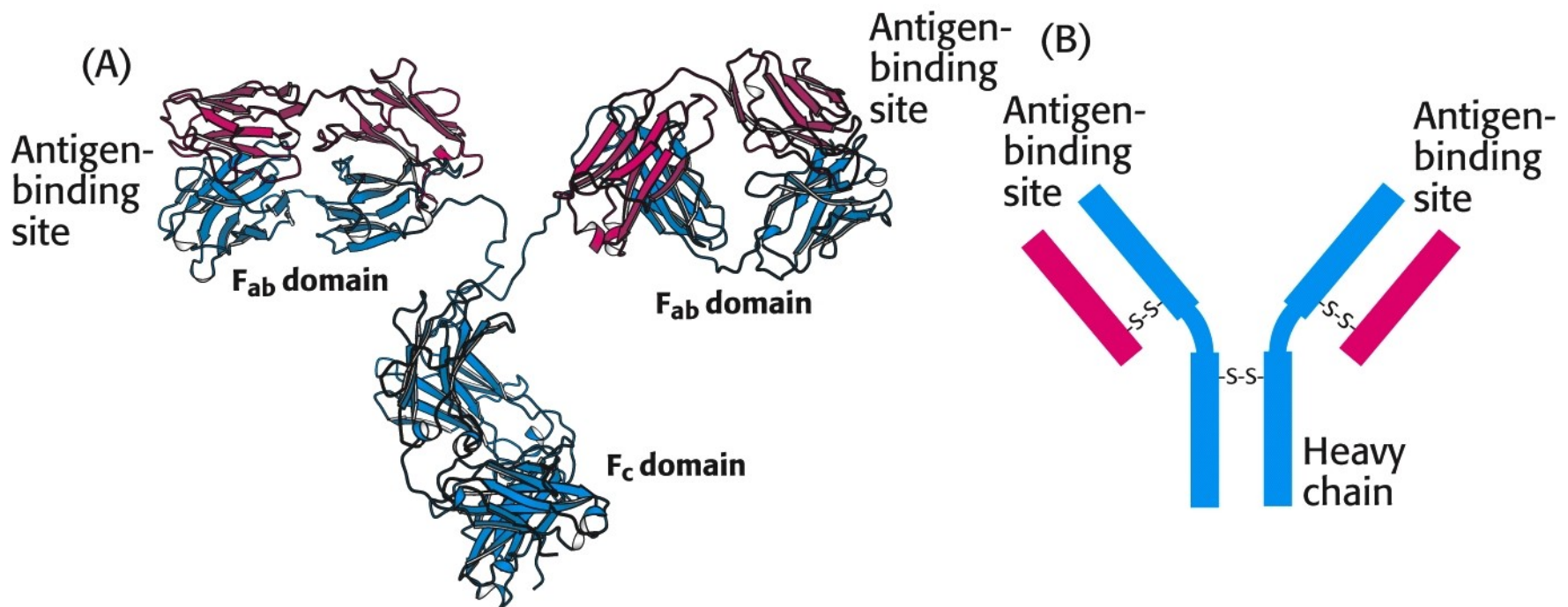
Terciární struktura

- Typy terciární struktury
 - Fibrilární
 - Globulární
 - Membránové



Terciární struktura

- Strukturní domény
 - Relativně samostatné kompaktní globulární oblasti
 - Odděleny obvykle neuspořádaným úsekem
 - Flexibilita struktury
 - Často charakteristické supersekundární struktury
 - Často nositeli specifických vlastností – funkcí v rámci proteinu
 - domény lehkých a těžkých řetězců imunoglobulinů

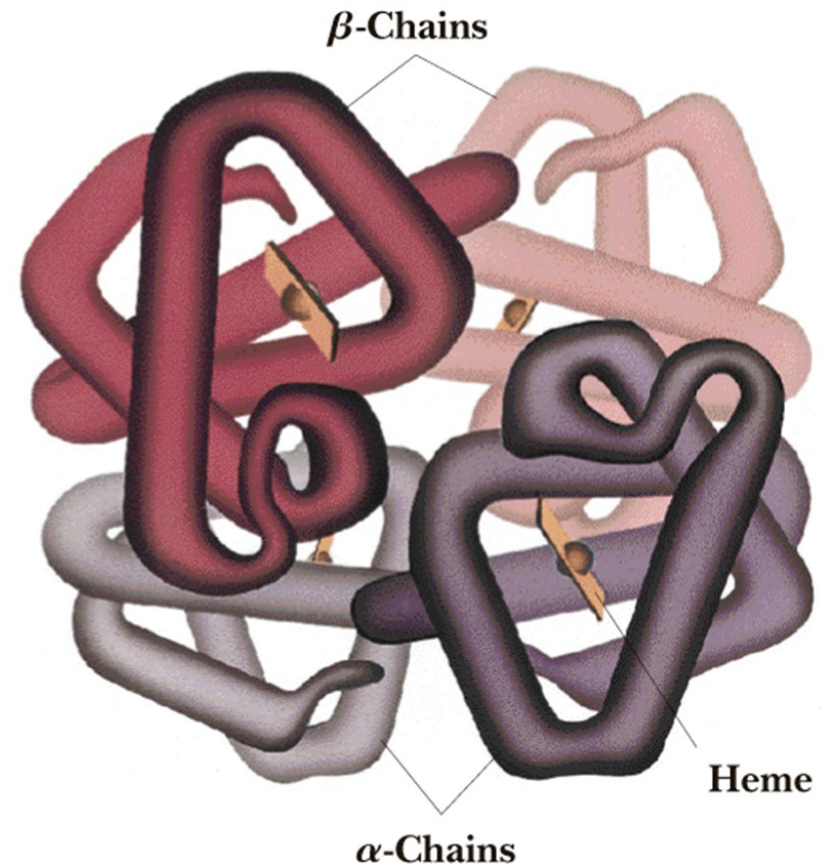
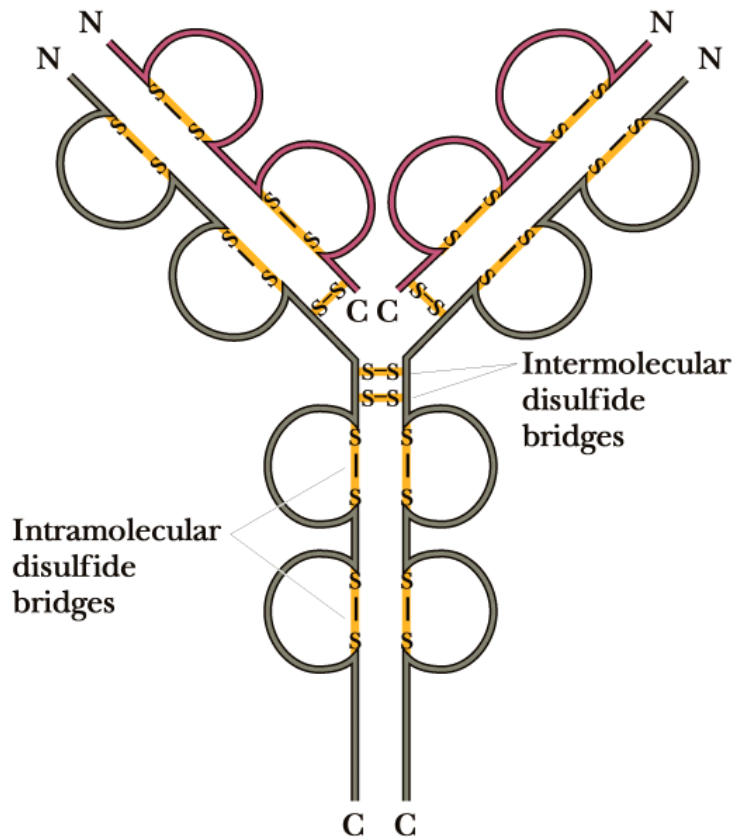


Kvarterní struktura

- AgregáčnÍ stav funkční bílkoviny
 - Nekovalentní – iontové – solné můstky (ionty)
 - Kovalentní – ne peptidickou vazbou (-S-S-)
- Agregát z více samostatných řetězců
 - Podjednotky stejné – homo
 - Různé – hetero
- Popis stupně agregace
- Smysl agregace
 - Organizační – multienzymové systémy
 - Regulační - kooperativita
 - Stabilizační

Kvarterní struktura

- Podjednotky vázány
 - kovalentně – Ig
 - nekovalentně – Hb

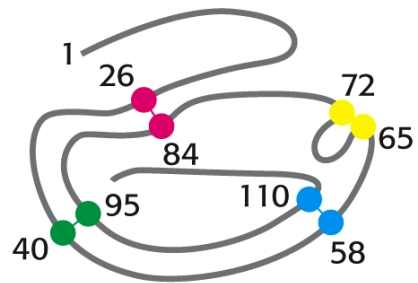


Chování bílkovin *in situ*

- Interakce bílkovinné molekuly s prostředím – tvar a vlastnosti
- Orientace R- podle polarity
- Polární (vodné) prostředí – cytoplasma, matrix, krev apod.
 - Vliv pH (náboje!), I, ligandů apod.
- Nepochární prostředí (membrány)
- Konformace – popis tvaru, vztahu částí molekuly apod.
 - Zastřešující pojem
 - Především terciární struktura
 - Změny konformace – interakce s prostředím – změna rozložení sil
 - Konformační změny – základ většiny funkcí bílkovin

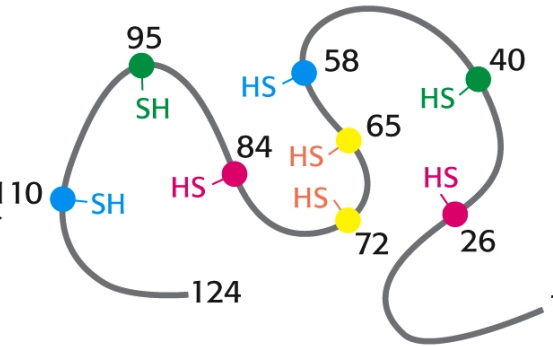
Chování bílkovin *in situ*

- Bílkovina v roztoku
 - Solvatační obal, interakce s prostředím (voda, ionty - pH)
 - Ovlivnění rozpustnosti – srážecí metody
- Denaturace
 - Změna (terciární) struktury, rušení nativních interakcí
 - Reverzibilní – denaturace není vhodné označení
 - Ireverzibilní – denaturace v pravém slova smyslu
 - fyzikální faktory - T, záření, tlak – mechanické vlivy
 - chemické faktory - pH, organická rozpouštědla, detergenty, těžké kovy, močovina,



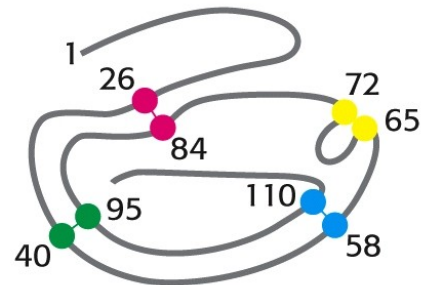
Native ribonuclease

8 M urea and β -mercaptoethanol



Denatured reduced ribonuclease

Trace of β -mercaptoethanol



Native ribonuclease

Složené bílkoviny

- Složená bílkovina
 - Apoprotein - bílkovinná součást – základ
 - Prostetická skupina – nebílkovinná součást – pevně (většinou kovalentně) vázaná
- Typy prostetických skupin
 - 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 (podskupina hemoproteinů), molybdo-, kupro- atd.
 - fosfoproteiny
 - lipoproteiny – agregáty bílkovin s lipidy a dalšími hydrofobními molekulami
 - chromoproteiny – strukturně nejednotná skupina charakterisovaná barevností (výraznou absorbcí světla)

Funkce bílkovin

- Katalytická
 - Enzymy
- Strukturní
 - Zejména fibrilární, ale i globulární
 - Kontraktilní
- Transportní
 - Polární prostředí – přenos nepolárních látek – Hb
 - Nepolární prostředí – membrány – přenos polárních látek
- Obranné
- Signální
- Regulační
- Speciální
- Více funkcí – komplikovaná klasifikace