

# C5720

# Biochemie

## 02-Peptidy a bílkoviny

# Obsah

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

# Vznik peptidů

- Peptidová vazba

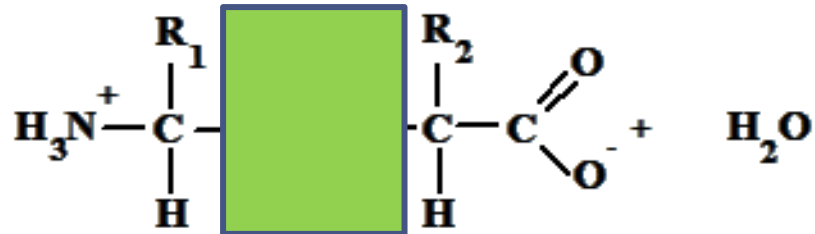
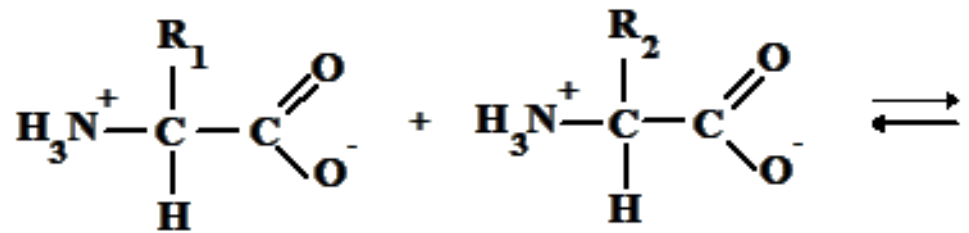
- Formální popis
- Skutečná reakce

- 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

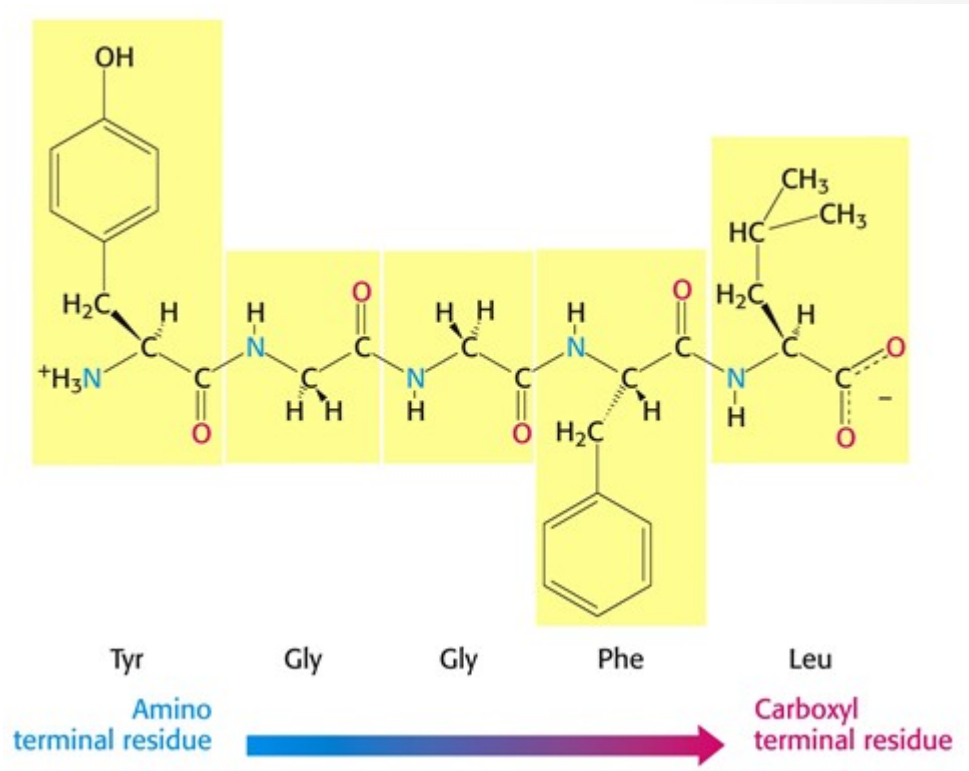
## Pořadí aminoacylů

sekvence, **primární struktura**  
determinuje finální vlastnosti

## Směr sekvence

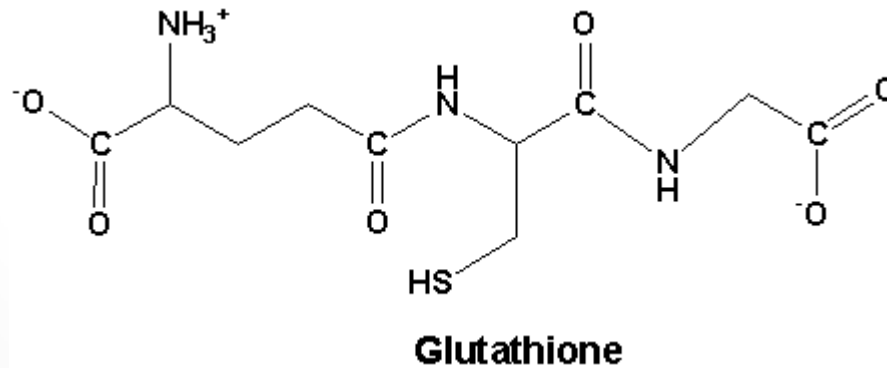
Od N k C konci

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



# Přírodní peptidy

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



# Významné peptidy

## Peptidové hormony

oxytocin, vasopresin

**inzulin**, glukagon

## Peptidové neuromodulátory

enkefaliny, endorfiny

## Peptidová antibiotika

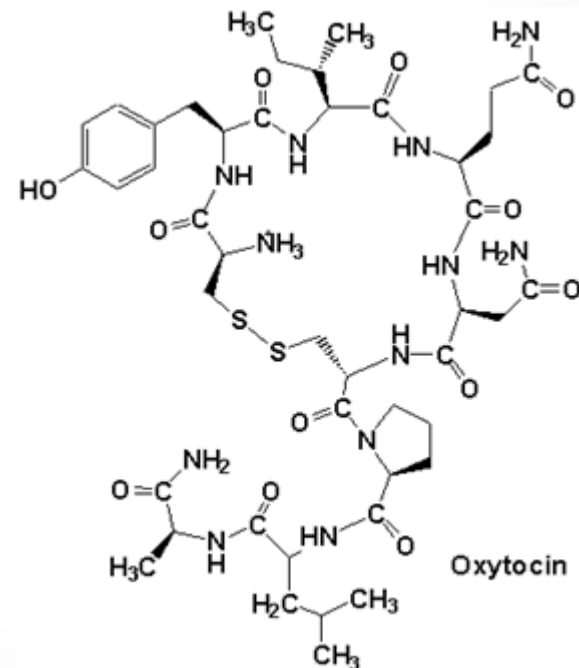
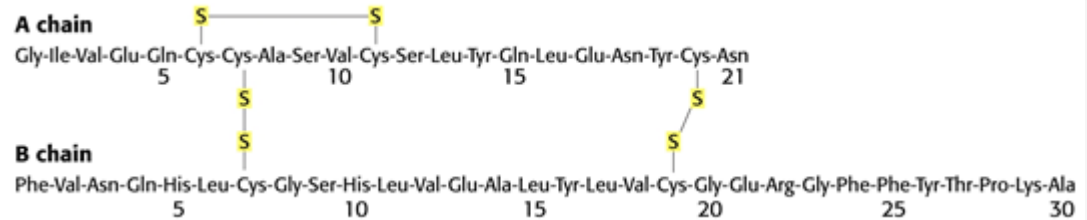
penicilin, **gramicidin**, **valinomycin**, aktinomycin

## 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

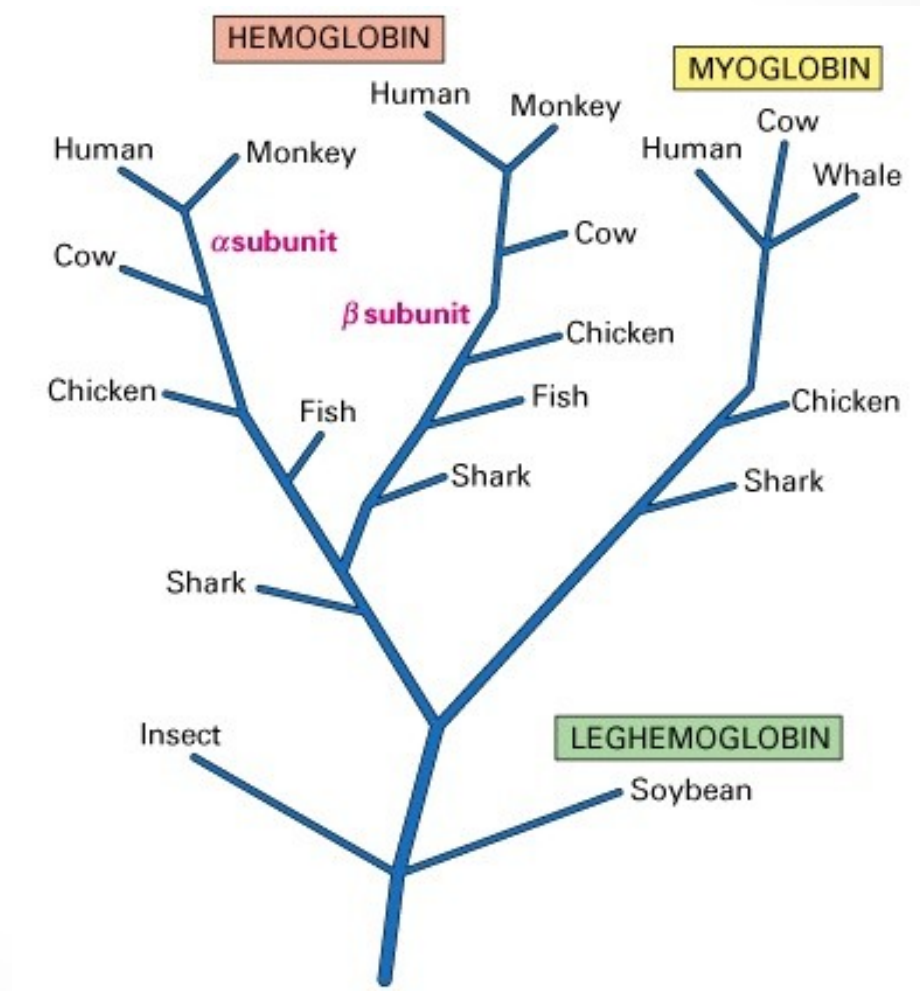
# Hierarchie struktur

- 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



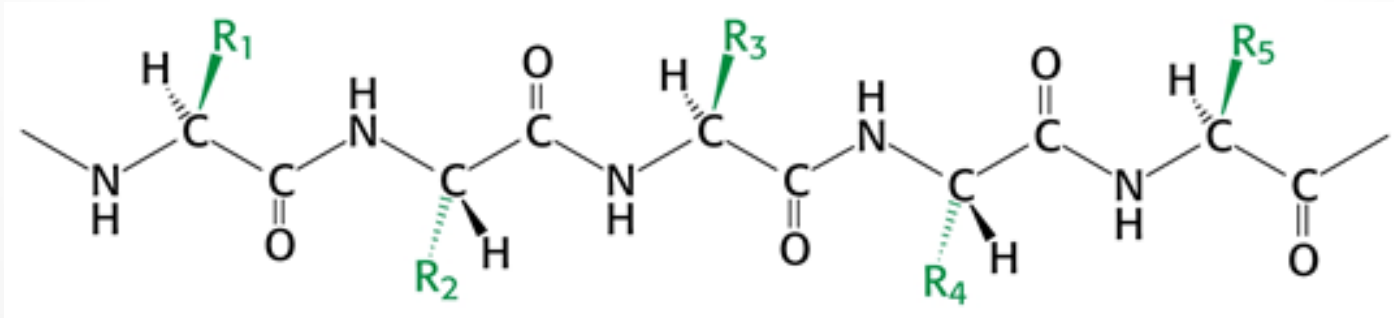
# Sekvenční homologie

- Evoluční strom
  - Hb
  - MyoG



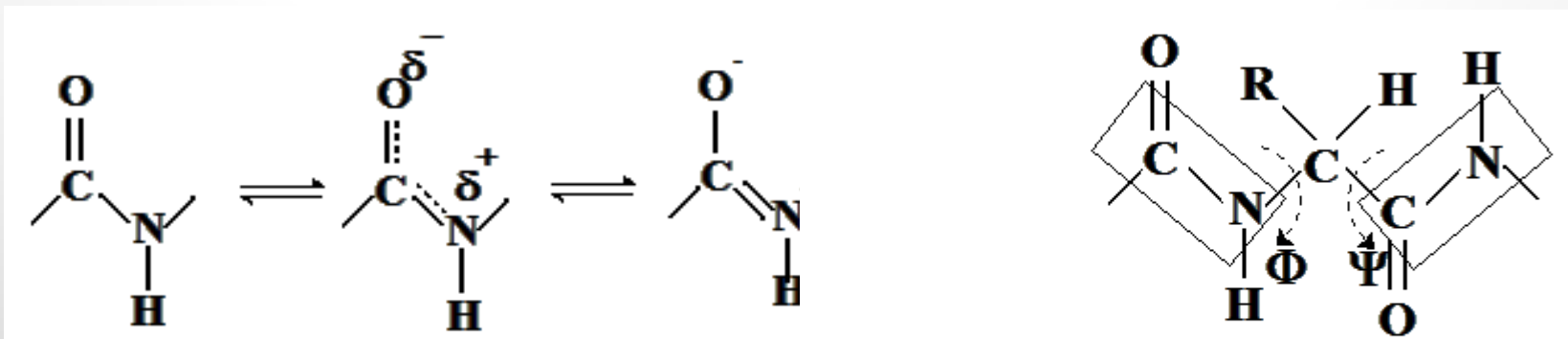
# Sekundární struktura

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



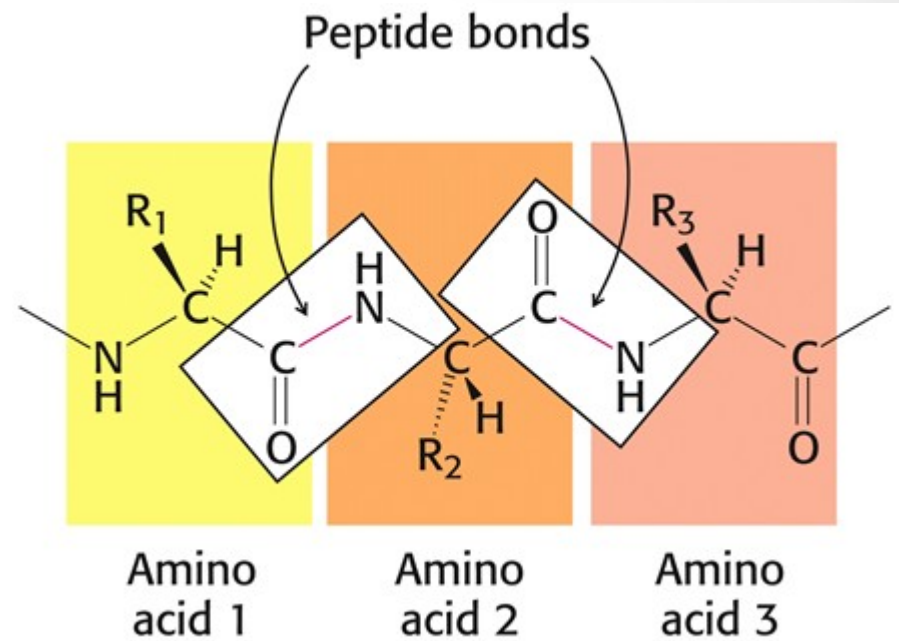
# Sekundární struktura

- 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 $\alpha$  sousedících aminoacylů v poloze trans
  - Roviny vazeb vedoucích k sousedním aminoacylům otočné v osách C $\alpha$ -N a C $\alpha$ -C
  - Dihedrální úhly  $\Phi$  a  $\Psi$  - otočení v osách C $\alpha$ -N a C $\alpha$ -C – konvenční stupnice hodnot

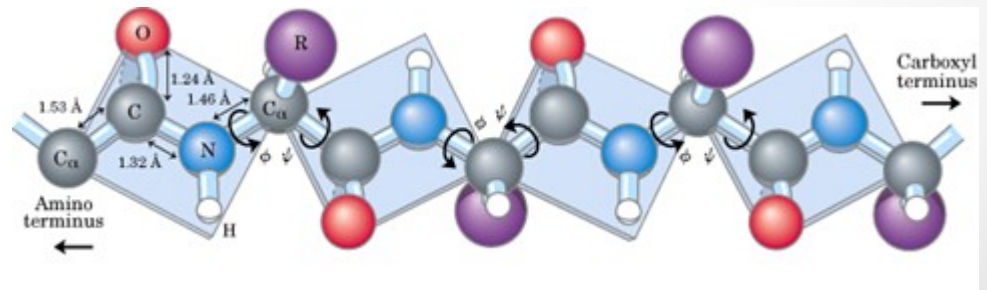


# Sekundární struktura

Znázornění vzájemného vztahu rovin dvou sousedních peptidických vazeb v tripeptidu

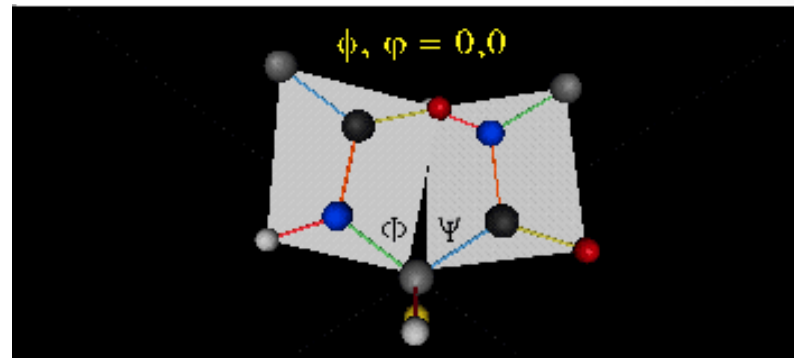
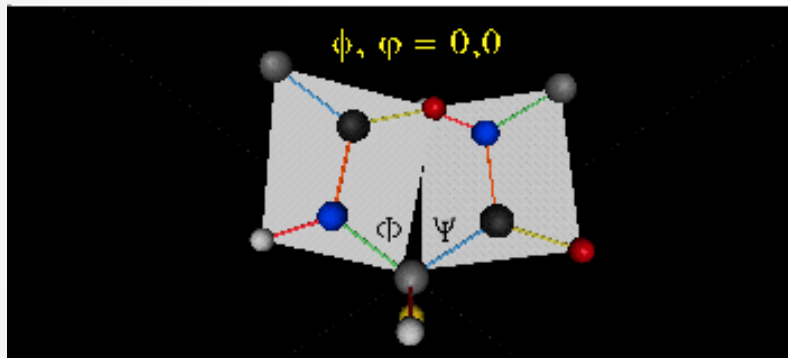


Roviny peptidových vazeb otočné kolem vazeb  $C_{\alpha}-NH$  a  $C_{\alpha}-CO$



# Sekundární struktura

- Torzní úhly

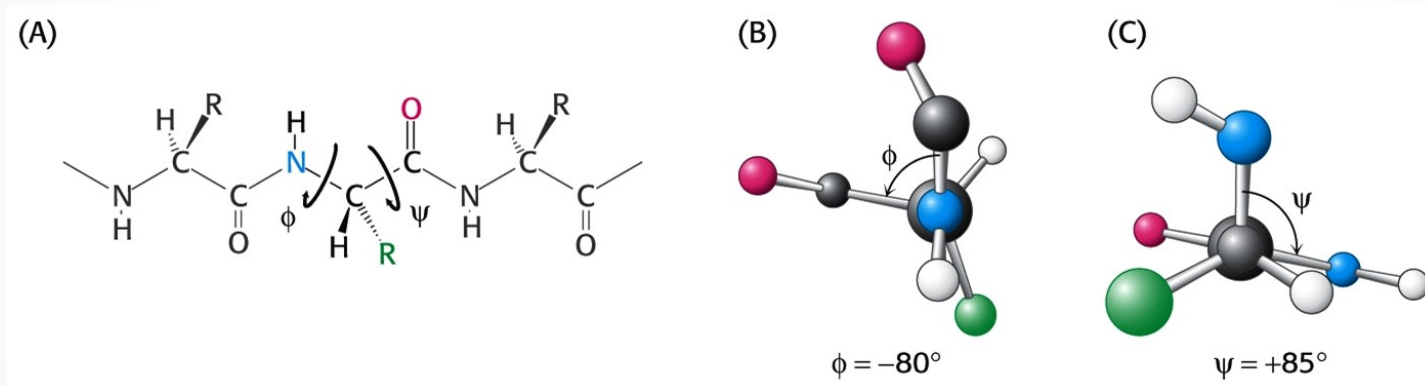


- 0 – 180

- 180 – 0

# Sekundární struktura

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



- Hodnoty dihedrálních úhlů jsou omezeny sterickými poměry v okolí.

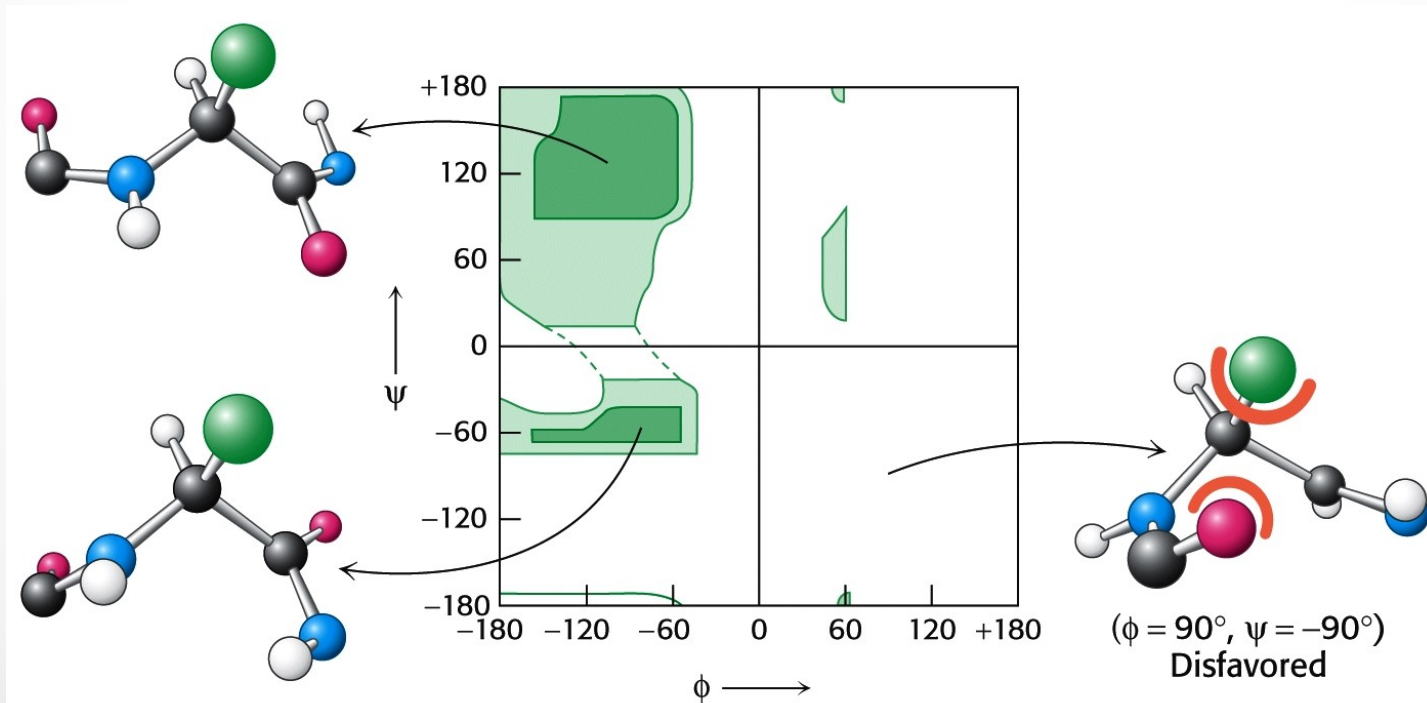
Animace znázorňuje vztah van der Waalsových poloměrů kyslíku a vodíku na sousedících  $-\text{CO}$  a  $-\text{NH}$  skupinách při otáčení rovin peptidové vazby.



Rotate.mov

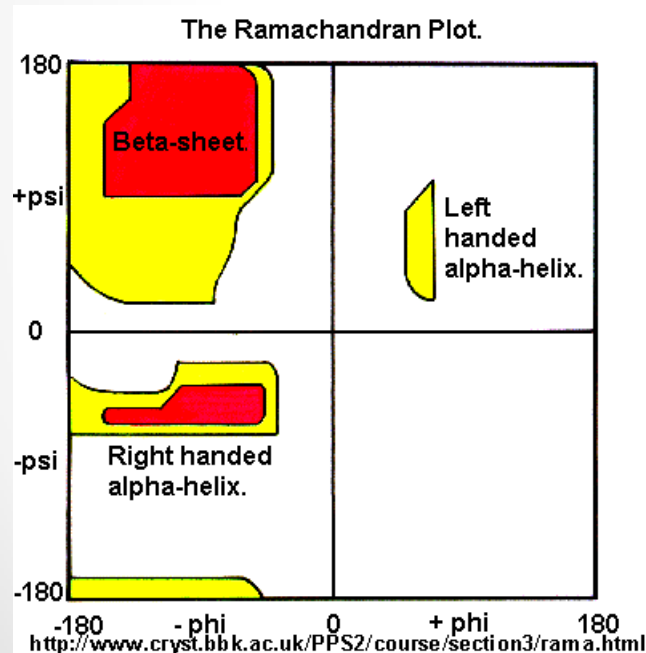
# Sekundární struktura

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



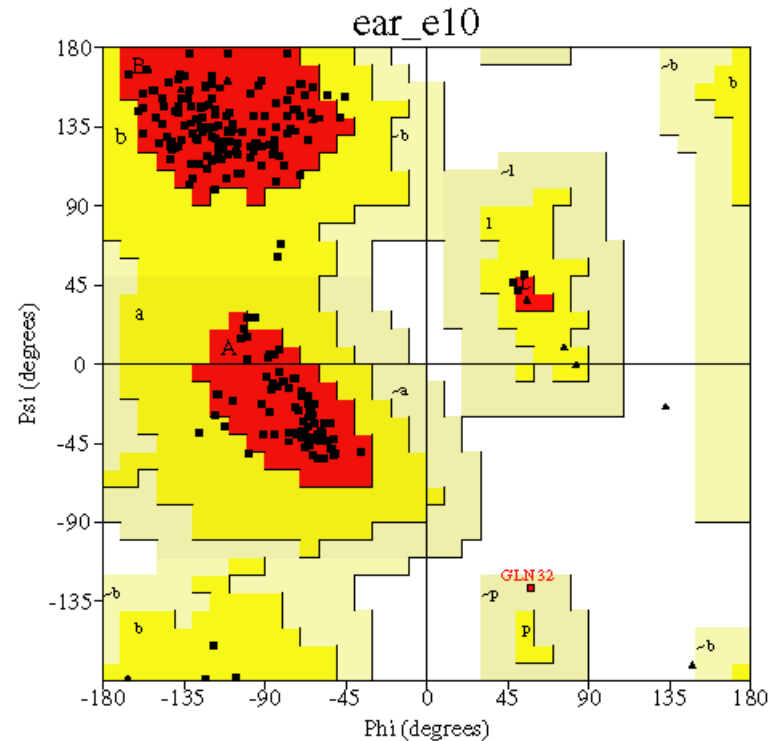
# Ramachandranovy diagramy

- A-A-A



PROCHECK

## Ramachandran Plot



Plot statistics

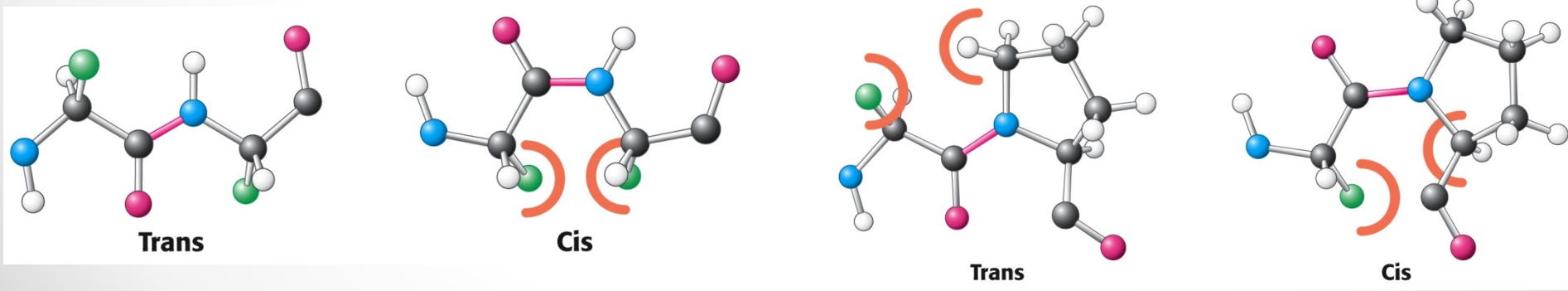
Residues in most favored regions [A, B, L]	196	92.9%
Residues in additional allowed regions [a, b, l, p]	14	6.6%
Residues in generally allowed regions [-a, -b, -l, -p]	1	0.5%
Residues in disallowed regions	0	0.0%
Number of non-glycine and non-proline residues	211	100.0%
Number of end-residues (excl. Gly and Pro)	304	
Number of glycine residues (shown as triangles)	13	
Number of proline residues	11	
Total number of residues	539	

Based on an analysis of 118 structures of resolution of at least 2.0 Angstroms and R-fact of no greater than 20%, a good quality model would be expected to have over 90% in the most favored regions.



# Sekundární struktura

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

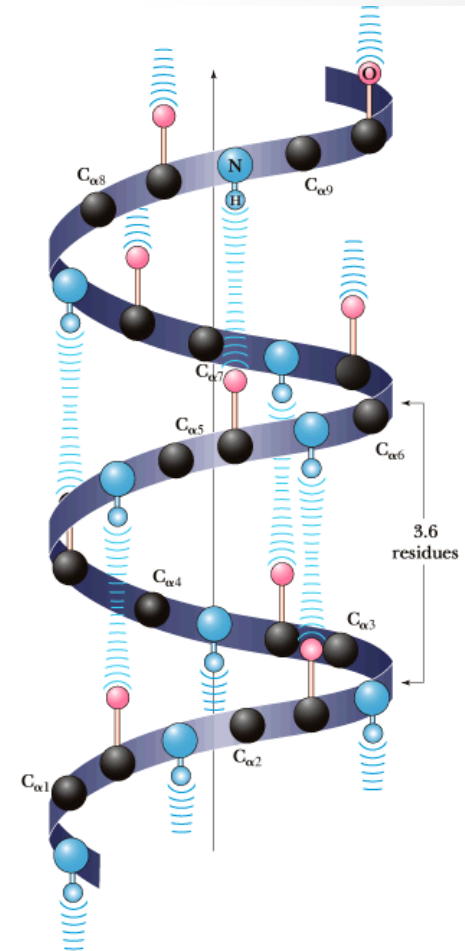


# Typy sekundárních struktur

- Pravidelné (typické hodnoty  $\Phi$  a  $\Psi$ )
  - helikální struktury – pravotočivá  $\alpha$ -šroubovice – helix (-56, -47)
  - $\beta$ -skládaný list – paralelní (-139, +135)
    - antiparalelní (-119, +113)
- Ohybové
  - $\beta$ -ohyb
- Nepravidelné

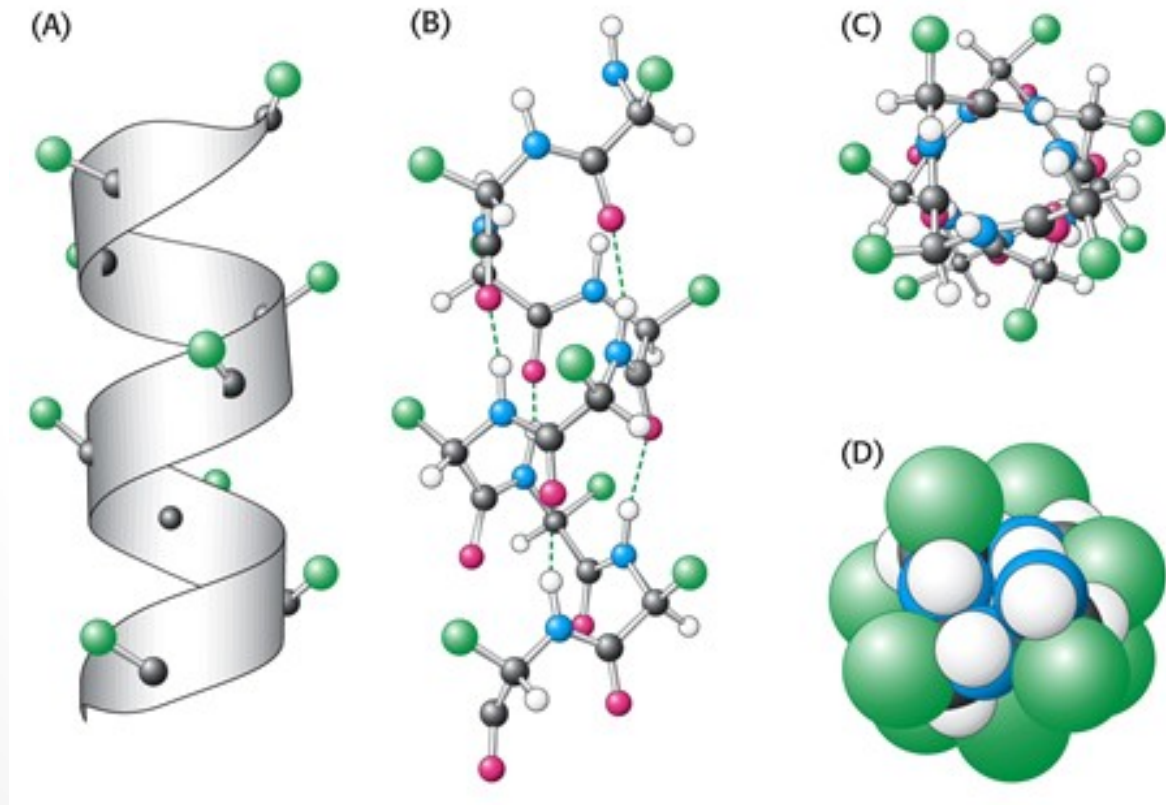
# $\alpha$ -helix

- Popsána nejdříve, proto  $\alpha$
- Kompaktnější než  $\beta$ -skládaný list
  - $C_{\alpha}$ - $C_{\alpha}$  je 1,5 Å, u  $\beta$ -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
  - $\alpha$ -helix 3,6<sub>13</sub>
  - Jiné helixy



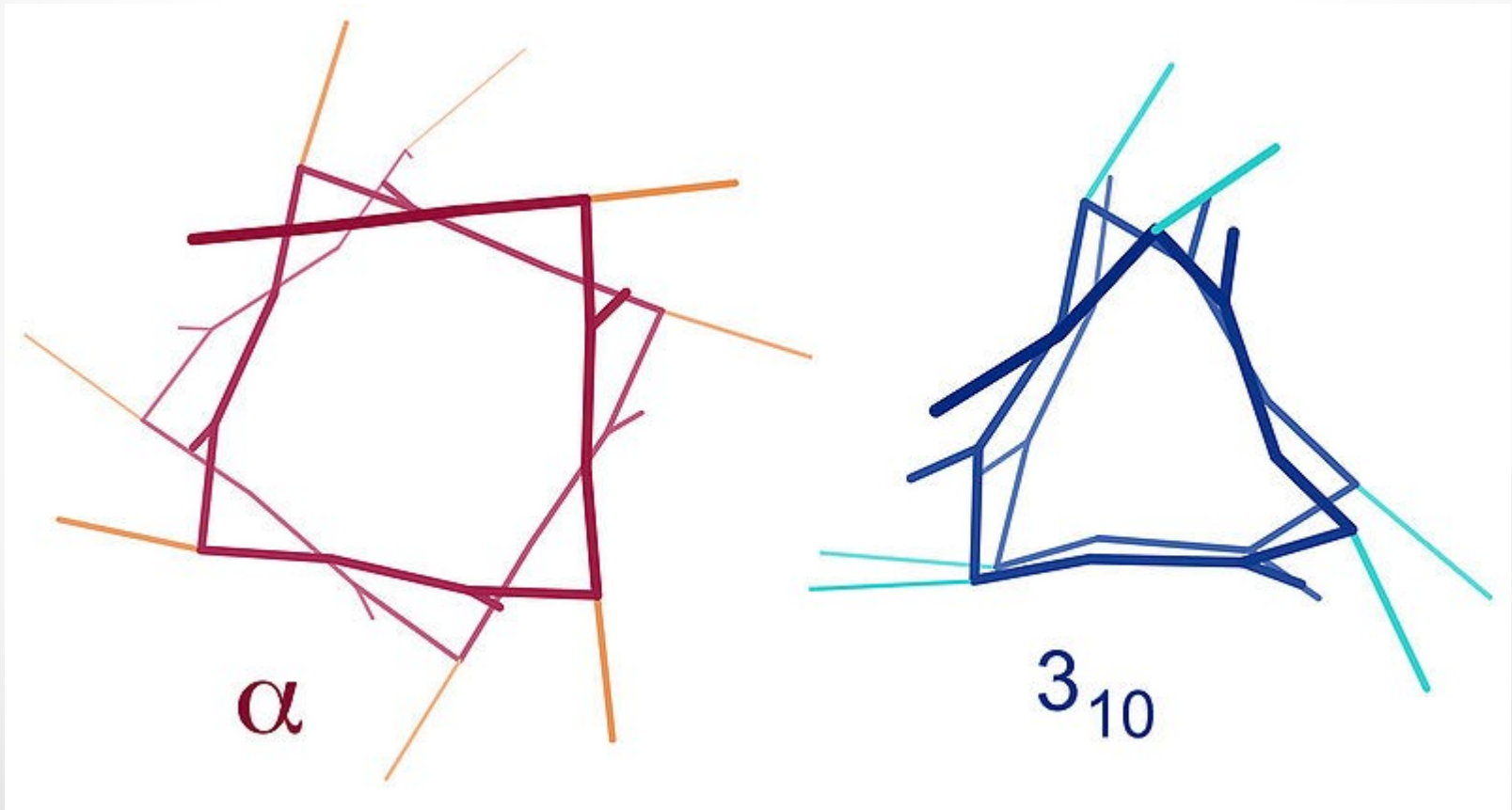
# $\alpha$ -helix

- Modely  $\alpha$ -helix



# Jiné helikální struktury

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

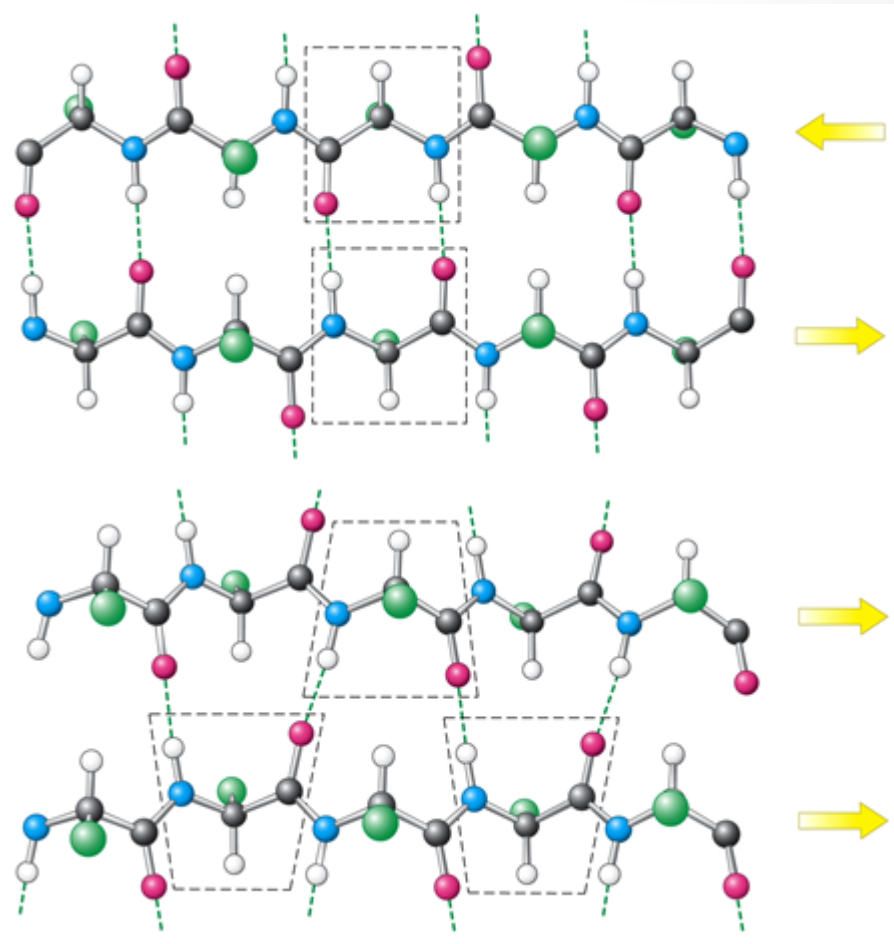


# Sekundární struktura

- $\beta$ -skládání list

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

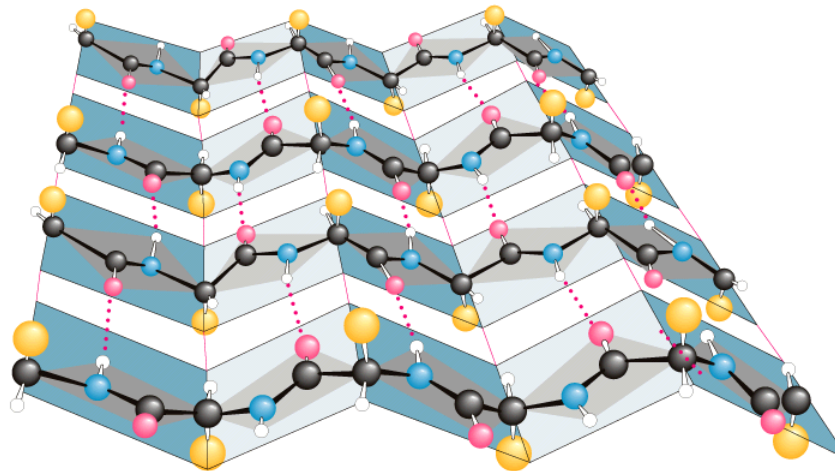
- Paralelní
- Odlišné uspořádání H-můstků



# $\beta$ -skládaný list

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

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e  
Figure 6.10

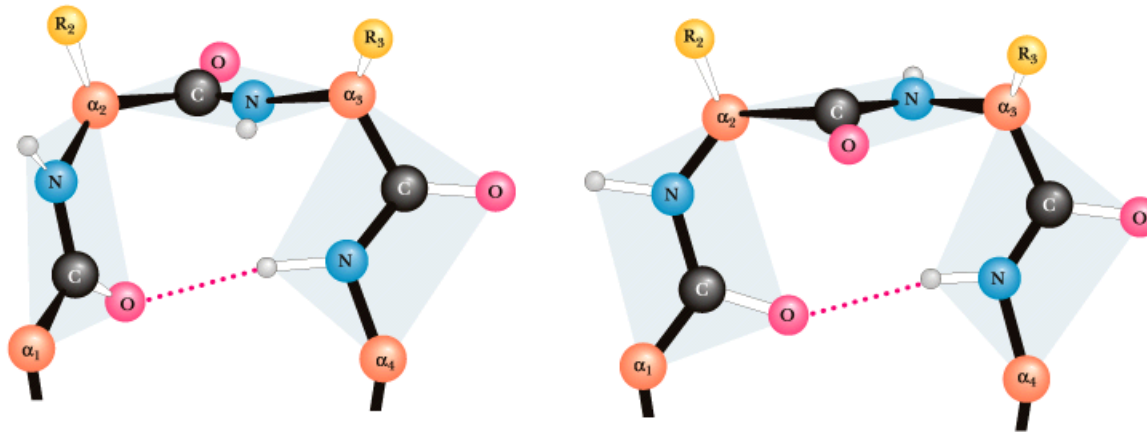


Saunders College Publishing

# $\beta$ -ohyb, vlásenka

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

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e  
Figure 6.12

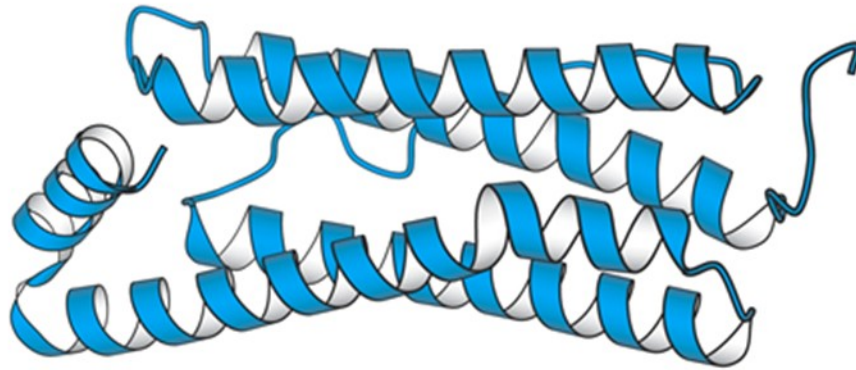


Saunders College Publishing

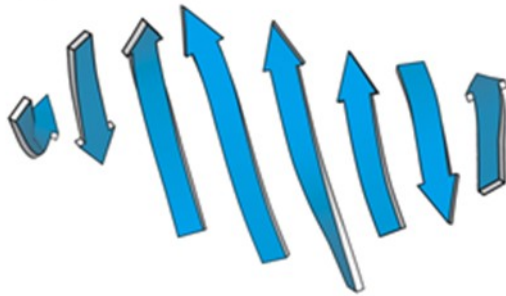


# Sekundární struktura

- Znáznornění  $\alpha$ -helix a  $\beta$ -listu



(B)

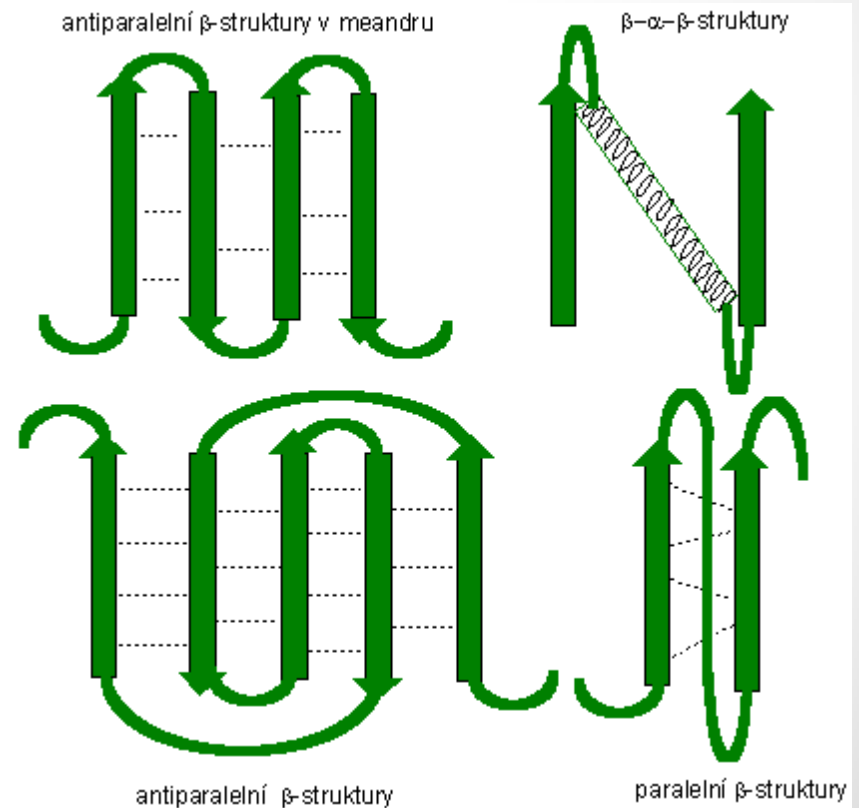
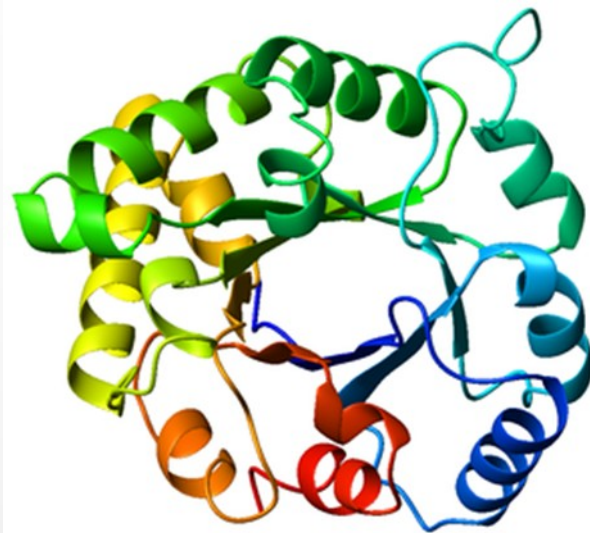


(C)



# Supersekundární struktura

- Uspořádání úseků sekundárních struktur
- Strukturní motivy
  - $\beta$ - $\alpha$ - $\beta$  motiv (TIM – 8x)
  - Řecký klíč
  - $\beta$ -meandr
  - Další struktury
  - Domény – funkční jednotky

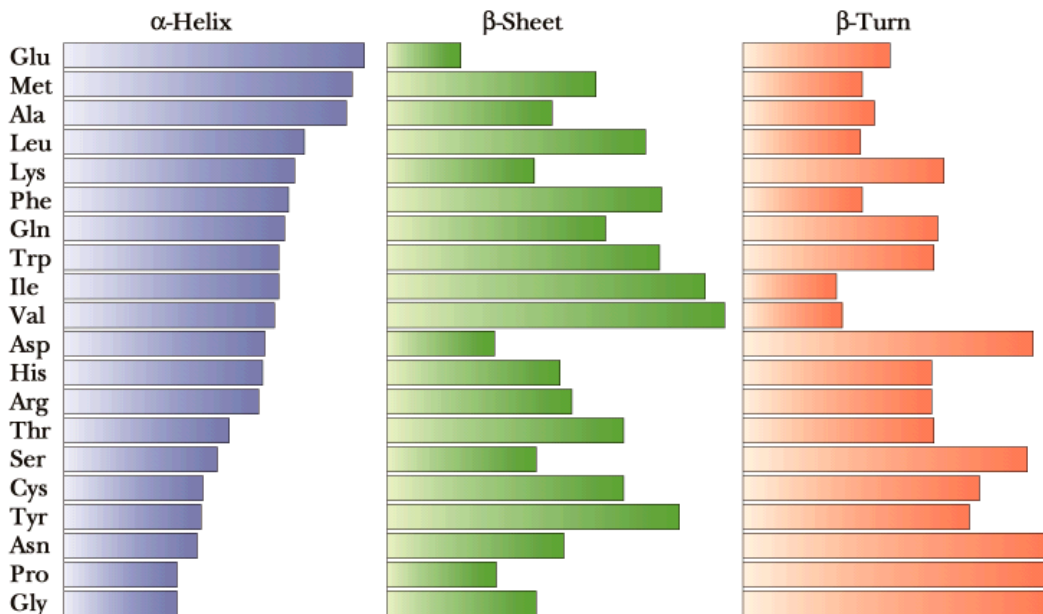


# Predikce sekundární struktury

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

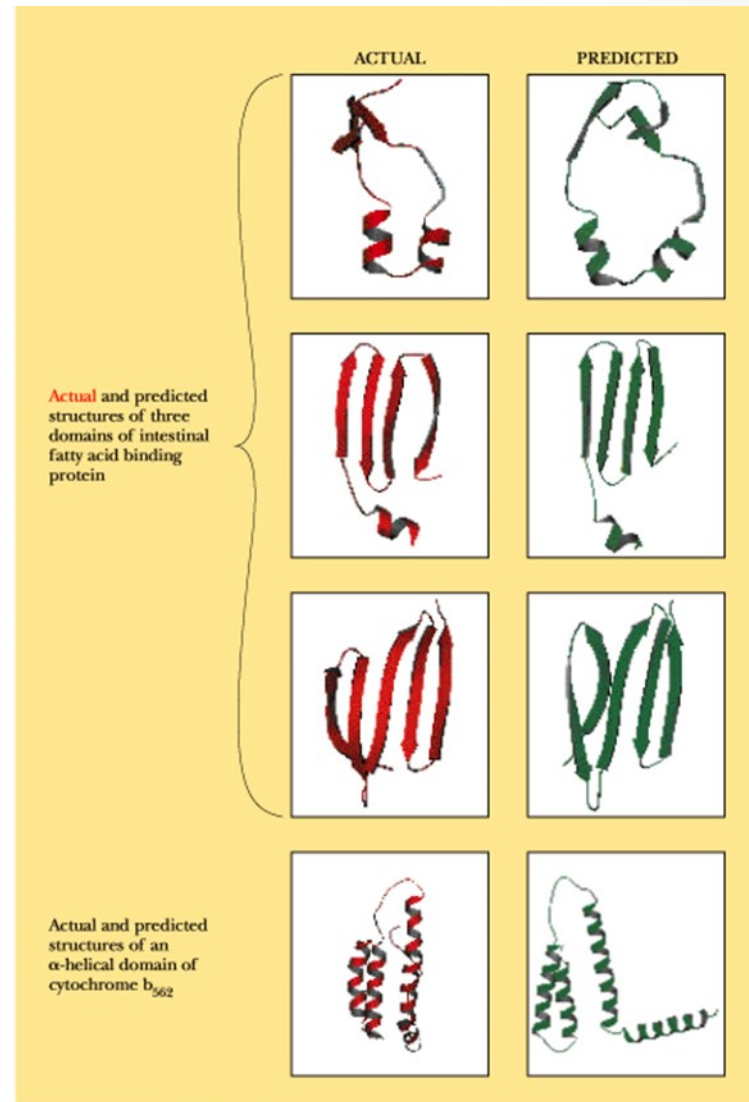
Amino acid	$\alpha$ helix	$\beta$ sheet	Turn
Ala	1.29	0.90	0.78
Cys	1.11	0.74	0.80
Leu	1.30	1.02	0.59
Met	1.47	0.97	0.39
Glu	1.44	0.75	1.00
Gln	1.27	0.80	0.97
His	1.22	1.08	0.69
Lys	1.23	0.77	0.96
Val	0.91	1.49	0.47
Ile	0.97	1.45	0.51
Phe	1.07	1.32	0.58
Tyr	0.72	1.25	1.05
Trp	0.99	1.14	0.75
Thr	0.82	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  $\alpha$  helices (top group),  $\beta$  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

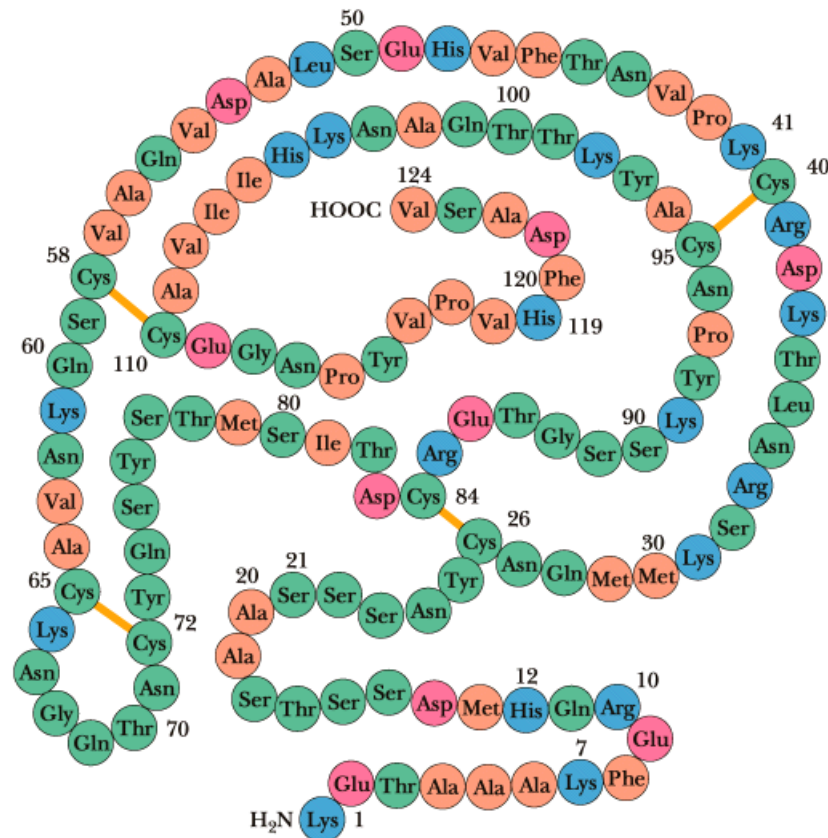
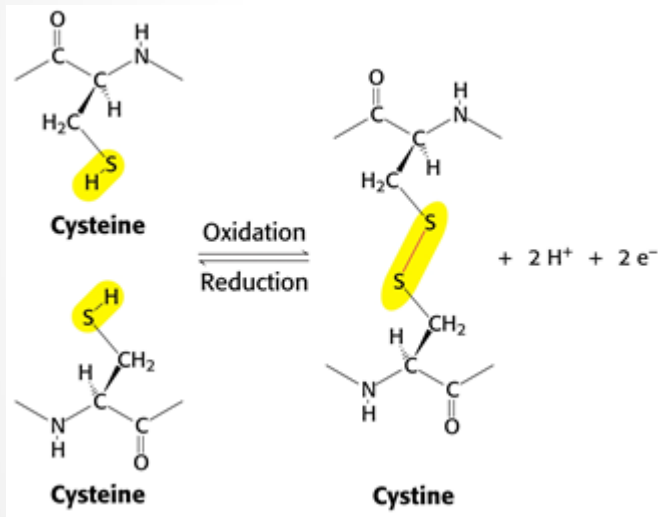


# Terciární struktura

- 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

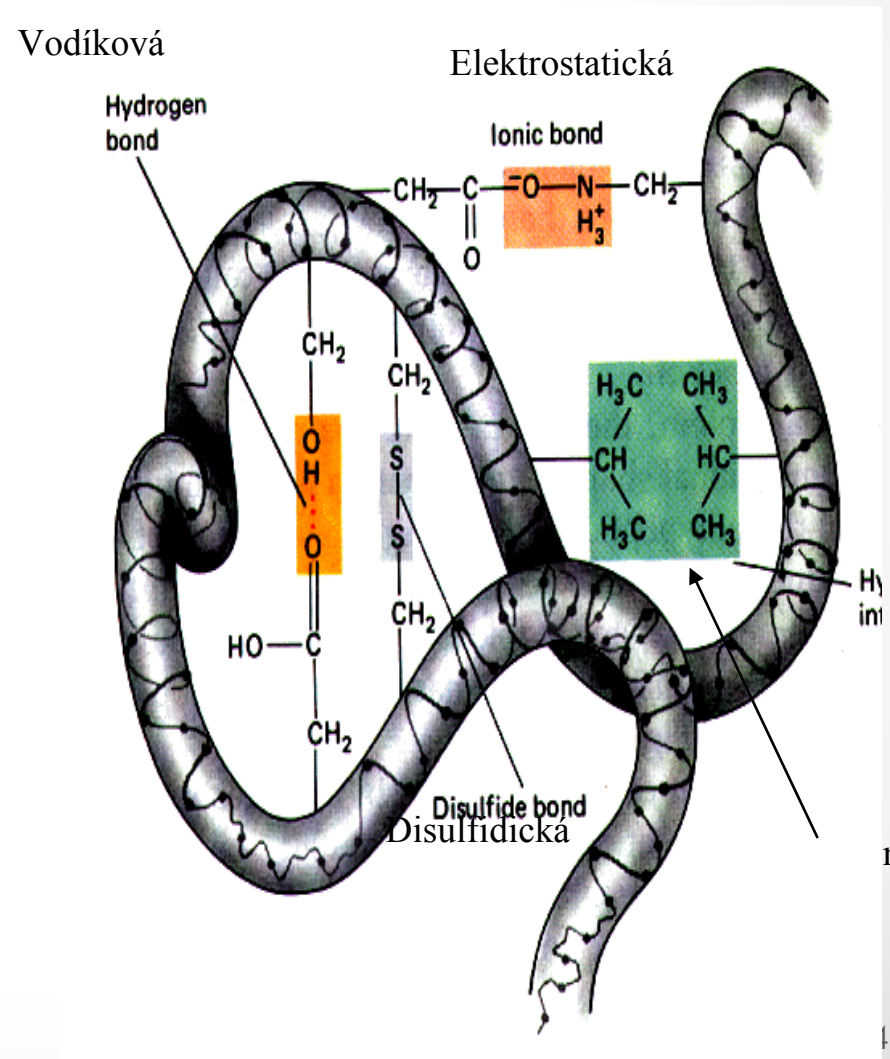
# Terciární struktura

- Účast kovalentních bisulfidových vazeb na formování terciární struktury - RNasa



# Stabilizace terciární struktury

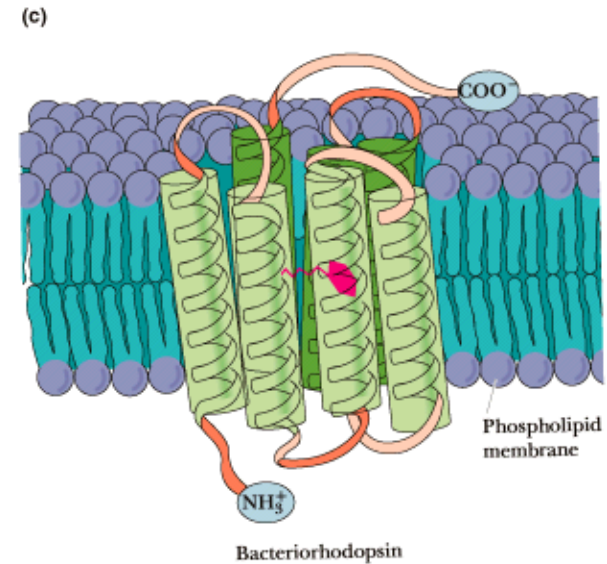
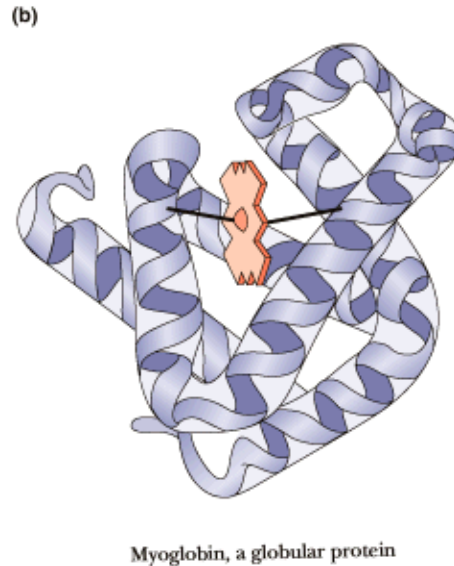
- Typy interakcí
  - Navíc dipól-dipól
- Různě významné interakce pro různé typy proteinů
- Vykompenzování sil
  - Vliv prostředí
  - Ligandů
- Dynamická struktura
- Orientace zbytků
  - Polární ven – vodné prostředí
  - Hydrofobní dovnitř
  - Membránové naopak





# Terciární struktura

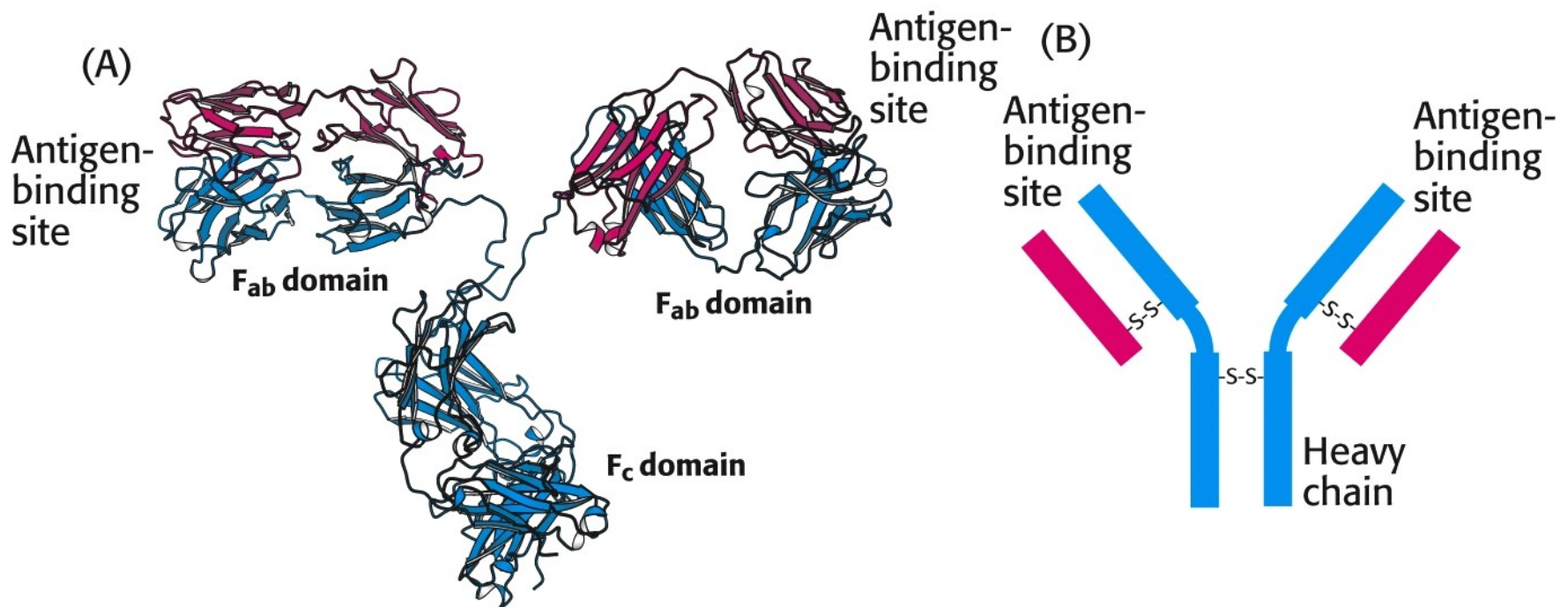
- Typy terciární struktury
  - Fibrilární
  - Globulární
  - Membránové



# 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

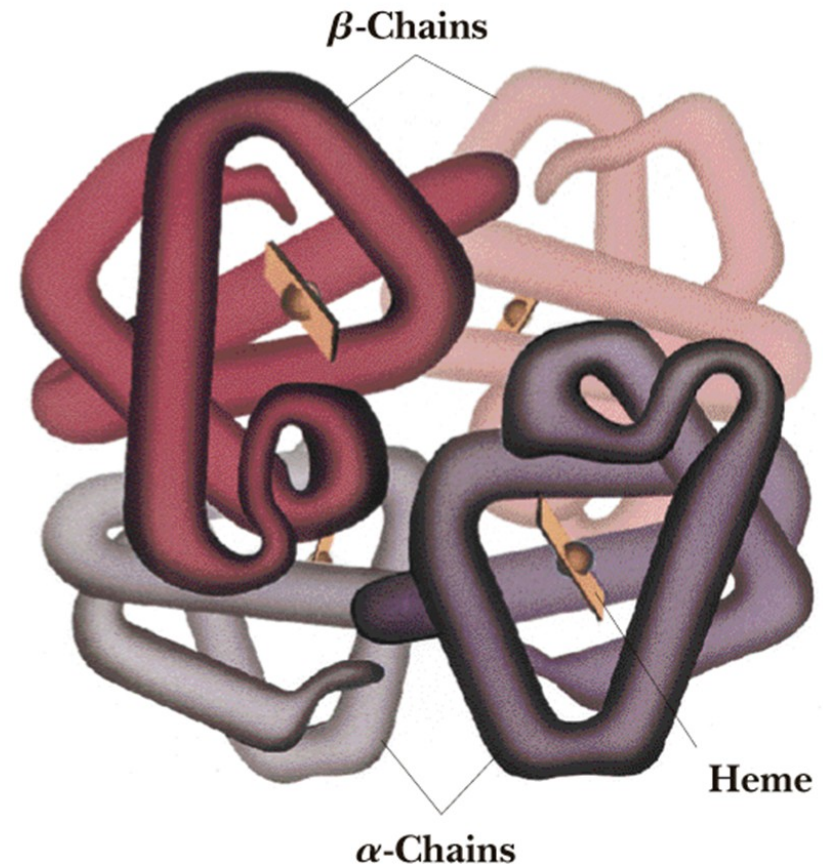
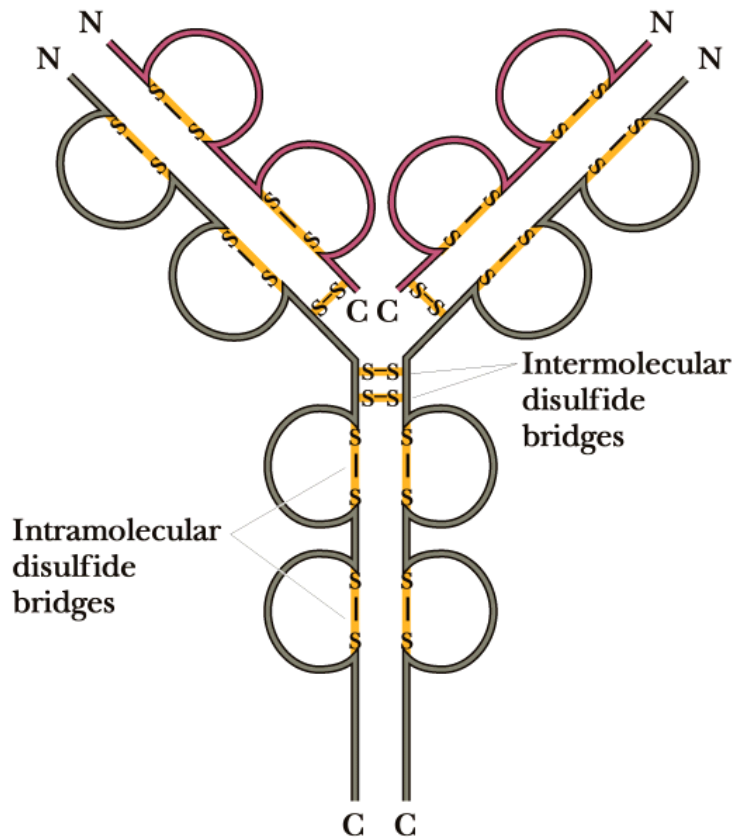


# Kvarterní struktura

- Agregáčn stav funkční bílkoviny
  - Nekovalentn – iontov – soln můstky (ionty)
  - Kovalentn – ne peptidickou vazbou (-S-S-)
- Agregt z více samostatných řetězců
  - Podjednotky stejn – homo
  - Rzn – hetero
- Popis stupně agregace
- Smysl agregace
  - Organizační – multienzymov systémy
  - Regulační - kooperativita
  - Stabilizační

# Kvarterní struktura

- Podjednotky vázány
  - kovalentně – Ig
  - nekovalentně – Hb

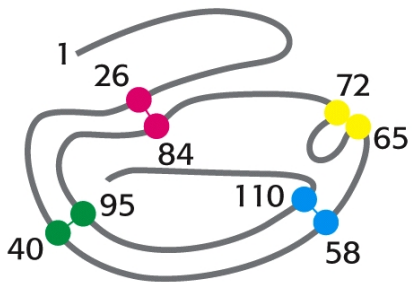


# Chování bílkovin *in situ*

- 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

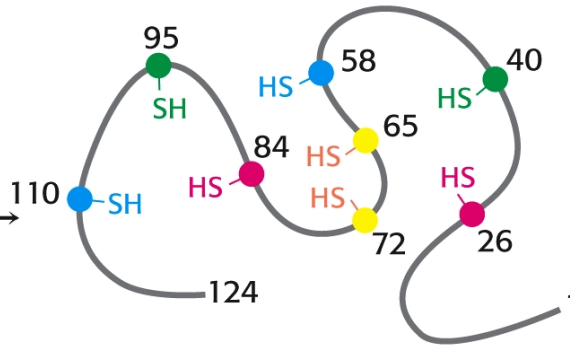
# Chování bílkovin *in situ*

- 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,

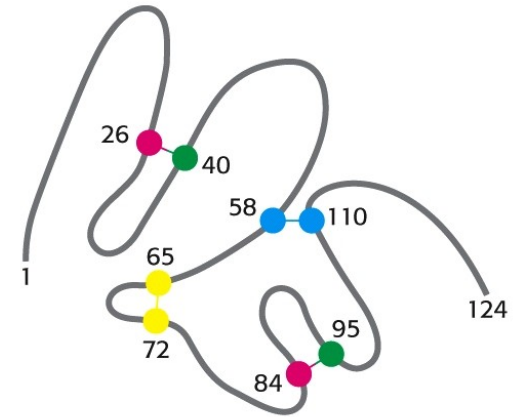


**Native ribonuclease**

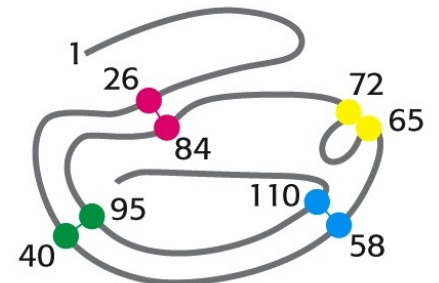
8 M urea and  $\beta$ -mercaptoethanol



**Denatured reduced ribonuclease**



Trace of  $\beta$ -mercaptoethanol



**Native ribonuclease**

Reverzibilní děj  
 Ireverzibilní – drastičtější působení (T, kyseliny apod.)

# 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