

# C5720

# Biochemie

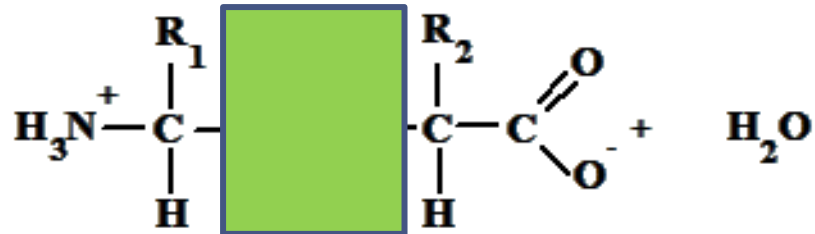
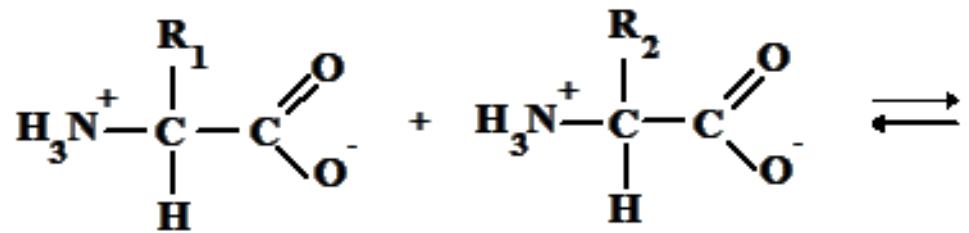
## 02-Peptidy a bílkoviny

# 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

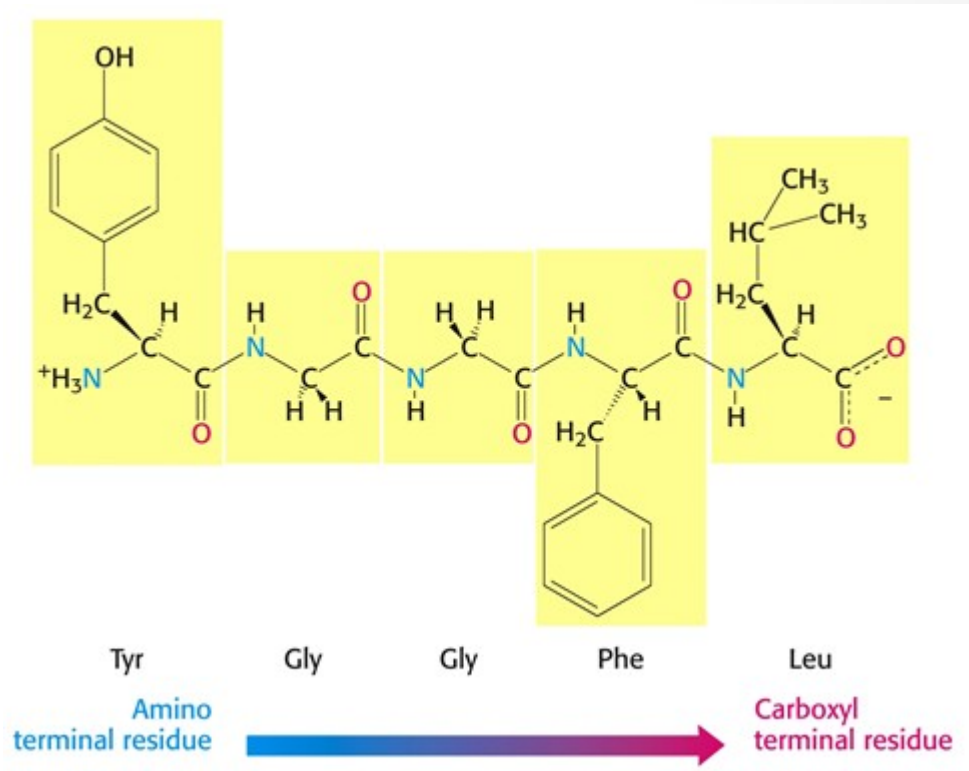
## Pořadí aminoacylů

sekvence, **primární struktura**  
determinuje finální vlastnosti

## Směr sekvence

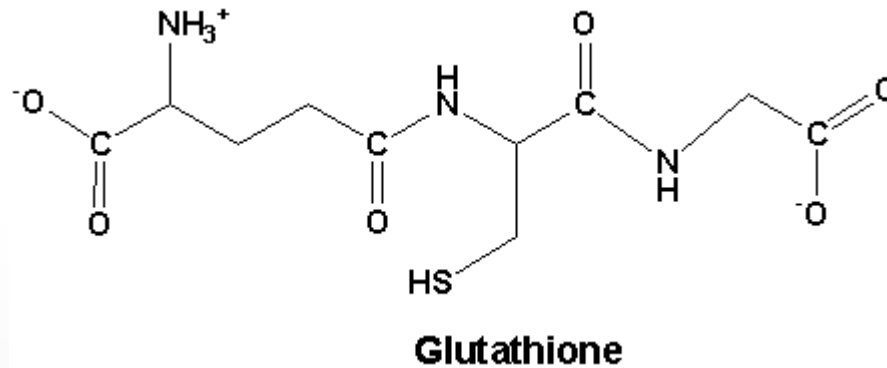
Od N k C konci

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

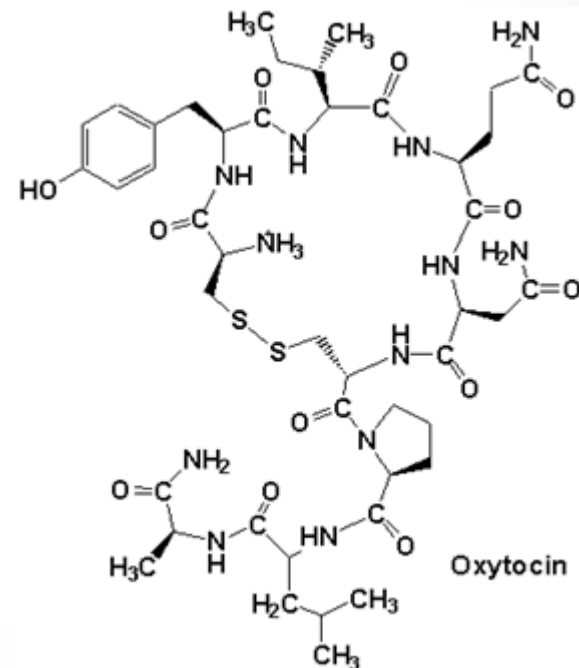
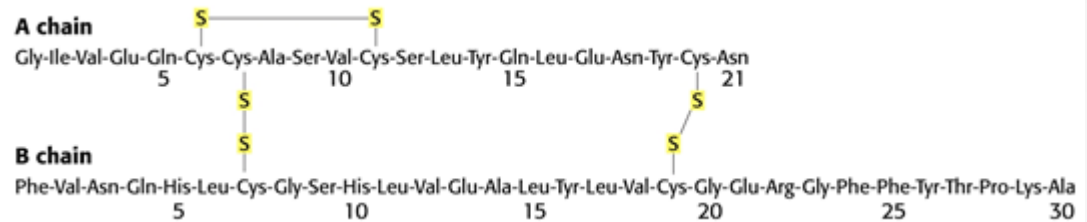
penicilin, **gramicidin**, **valinomycin**, aktinomycin

## 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

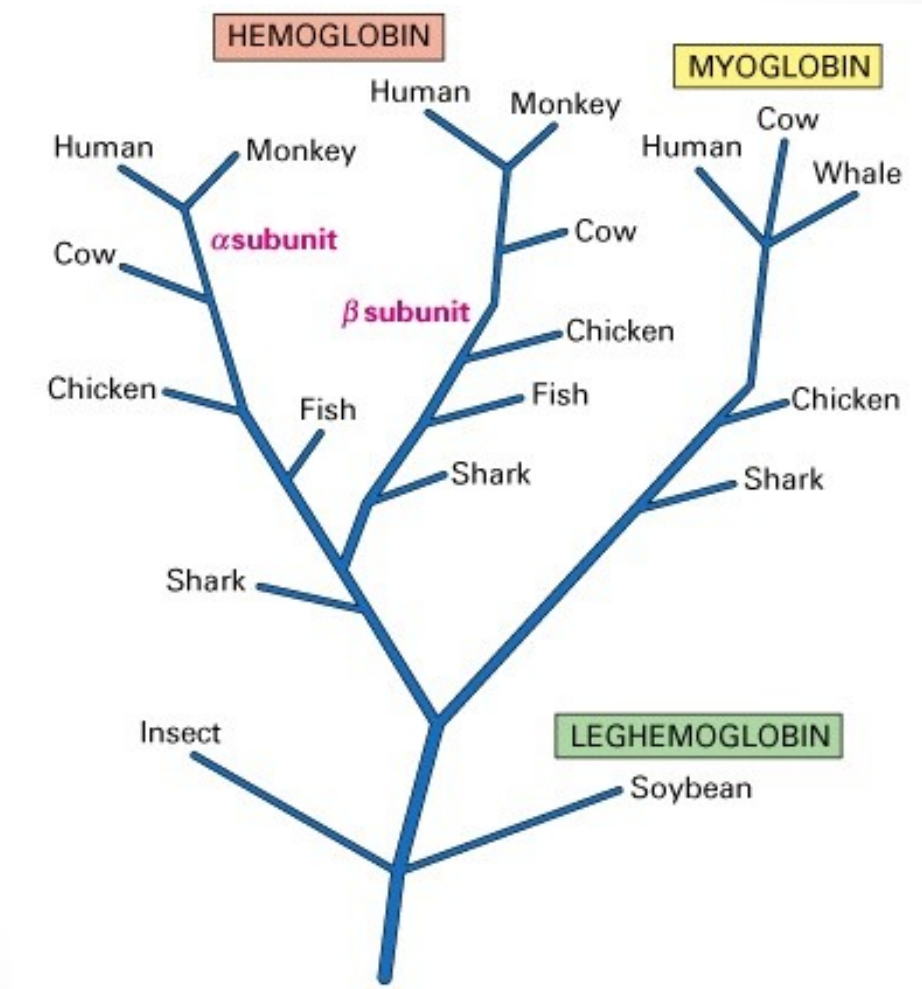
# Hierarchie struktur

- 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



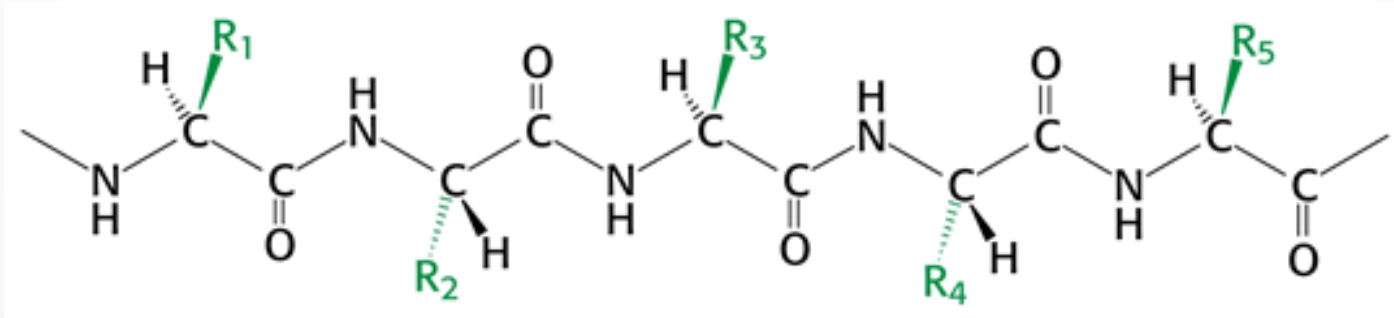
# Sekvenční homologie

- Evoluční strom
  - Hb
  - MyoG



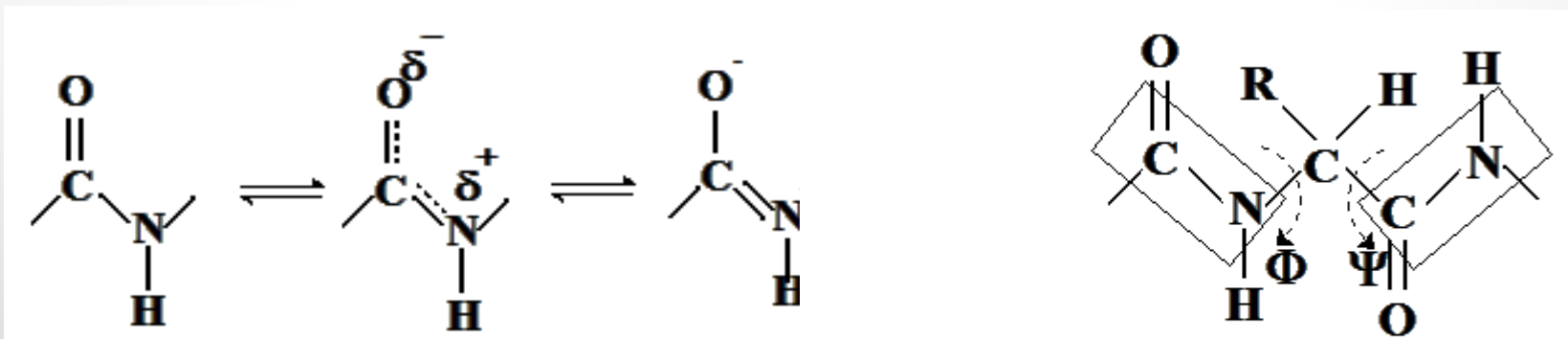
# Sekundární struktura

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



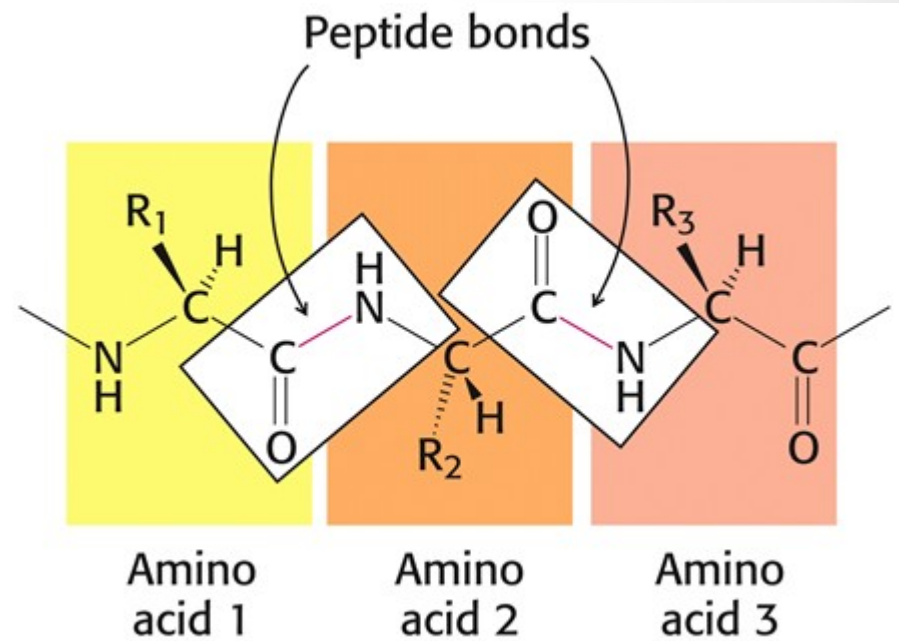
# Sekundární struktura

- 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

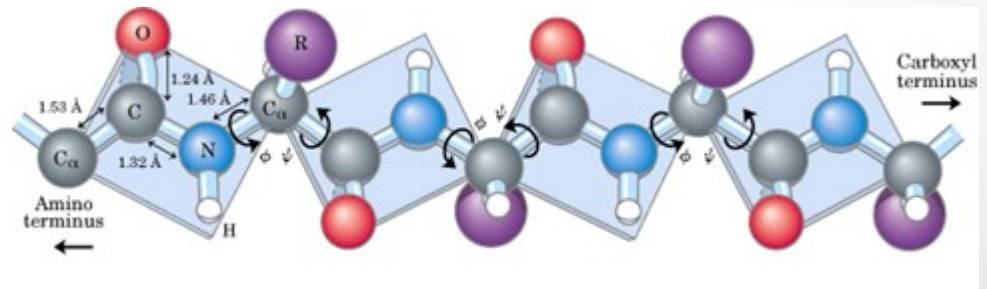


# Sekundární struktura

Znázornění vzájemného vztahu rovin dvou sousedních peptidických vazeb v tripeptidu

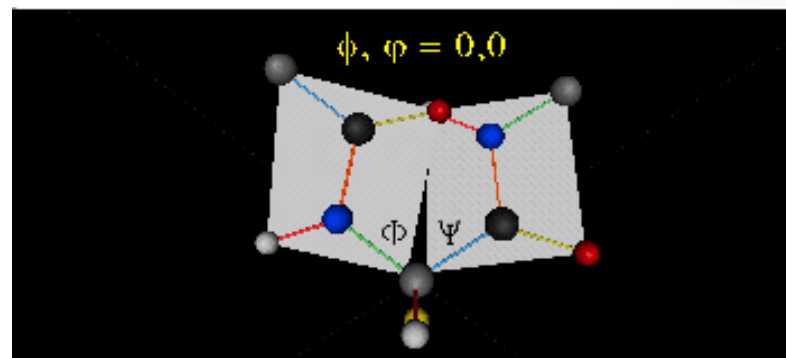
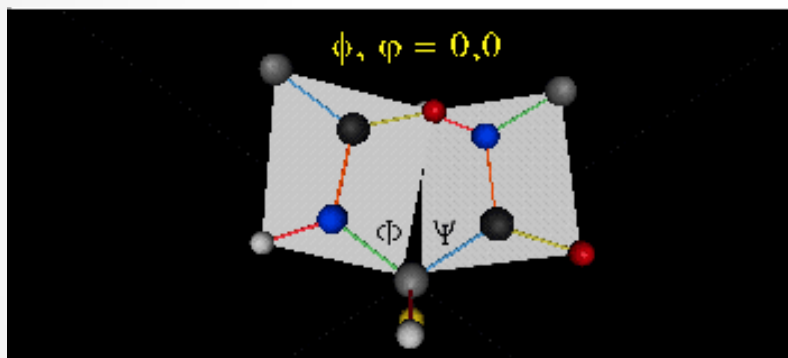


Roviny peptidových vazeb otočné kolem vazeb  $C_{\alpha}-NH$  a  $C_{\alpha}-CO$



# Sekundární struktura

- Torzní úhly

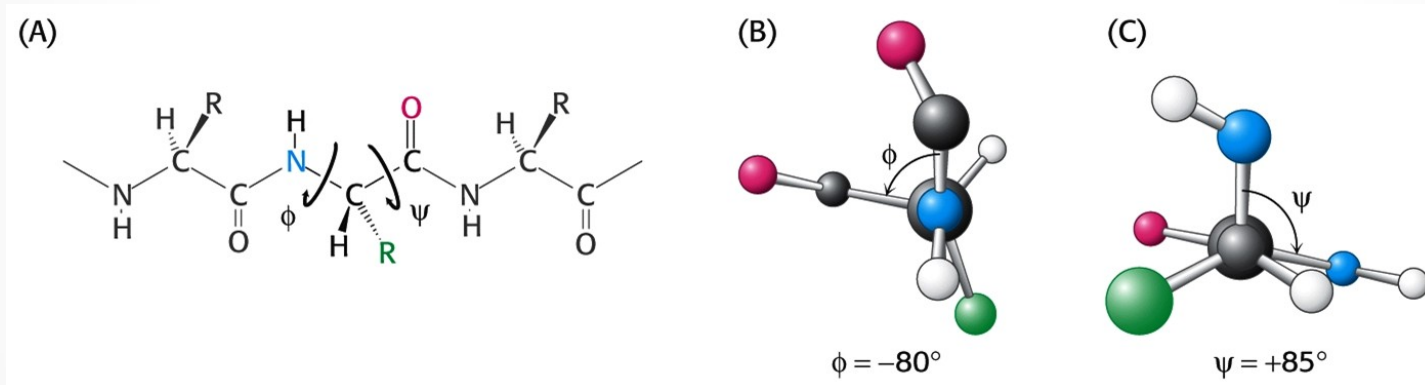


- 0 – 180

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

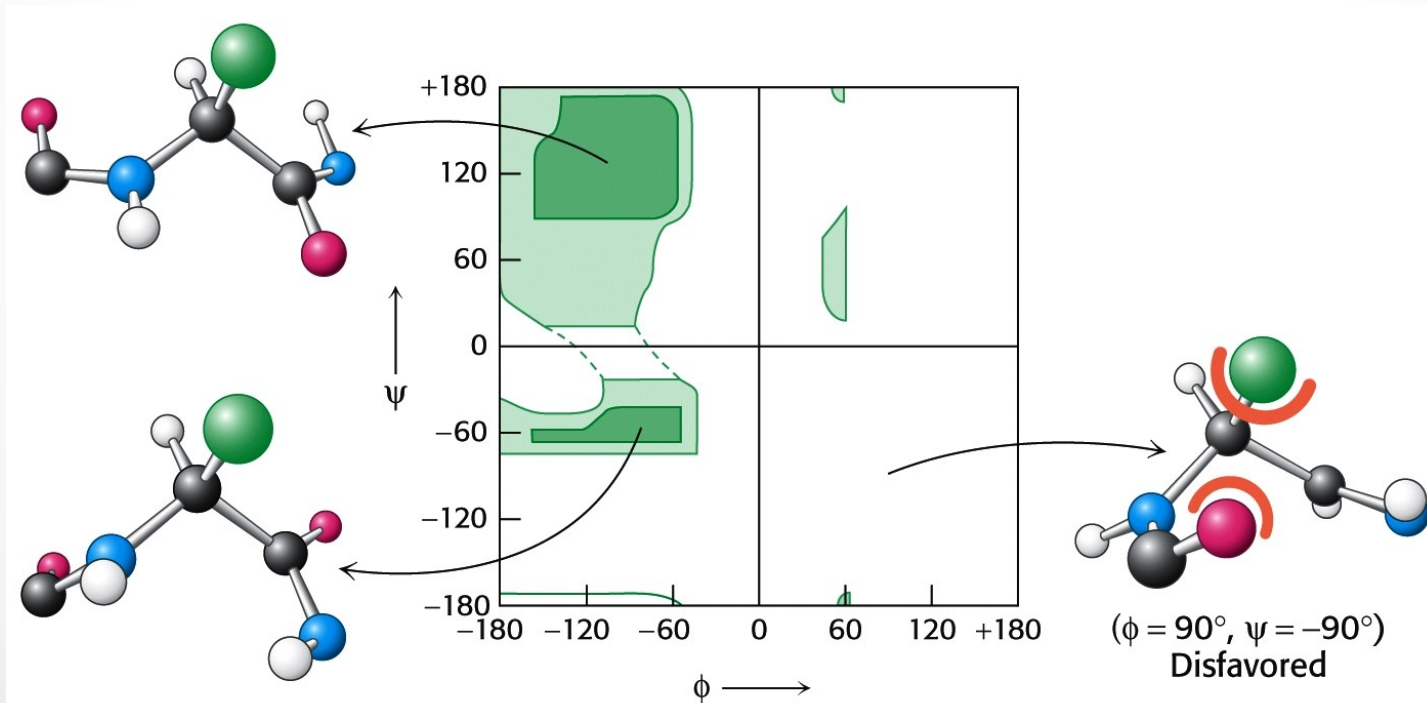
-CO a -NH skupinách při otáčení rovin peptidové vazby.



Rotate.mov

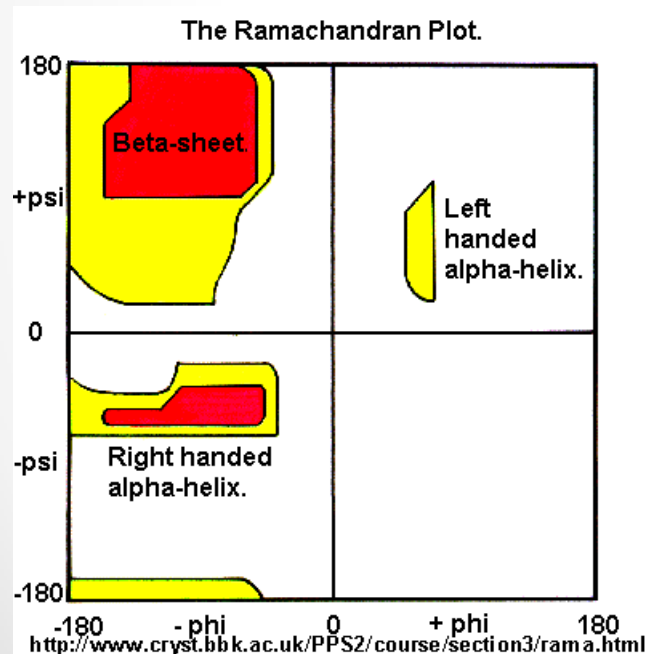
# Sekundární struktura

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



# Ramachandranovy diagramy

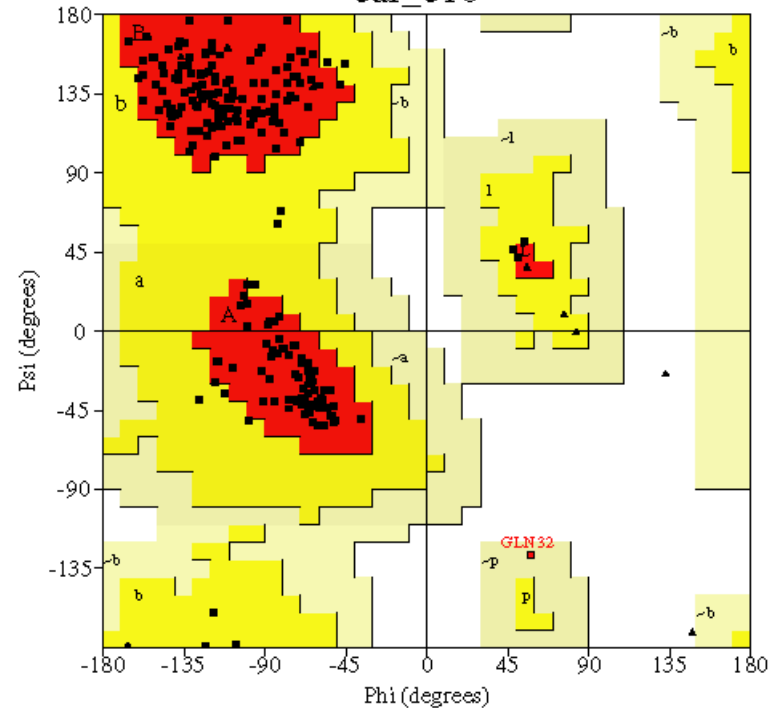
- Tripeptid A-A-A



PROCHECK

## Ramachandran Plot

ear\_e10



Plot statistics

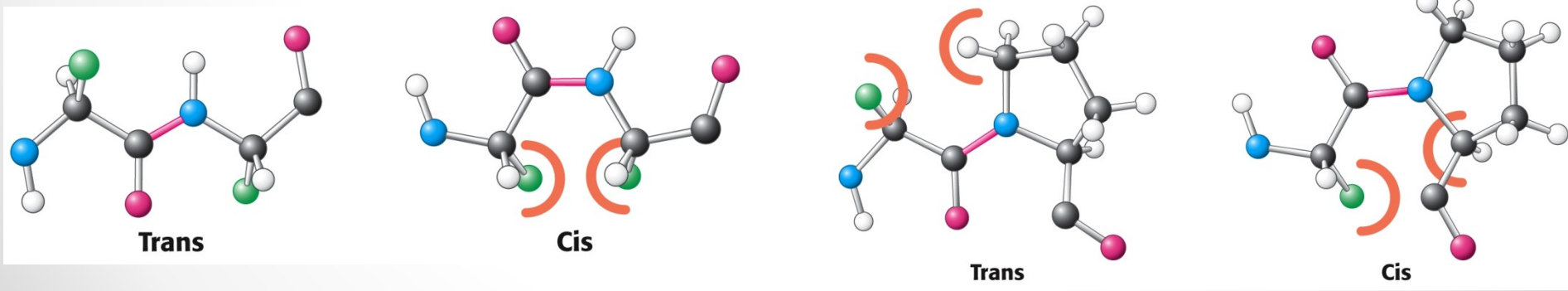
|                                                         |     |        |
|---------------------------------------------------------|-----|--------|
| Residues in most favored regions [A, B, L]              | 196 | 92.9%  |
| Residues in additionally allowed regions [a, b, l, p]   | 14  | 6.6%   |
| Residues in generously 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<sub>free</sub> 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-!

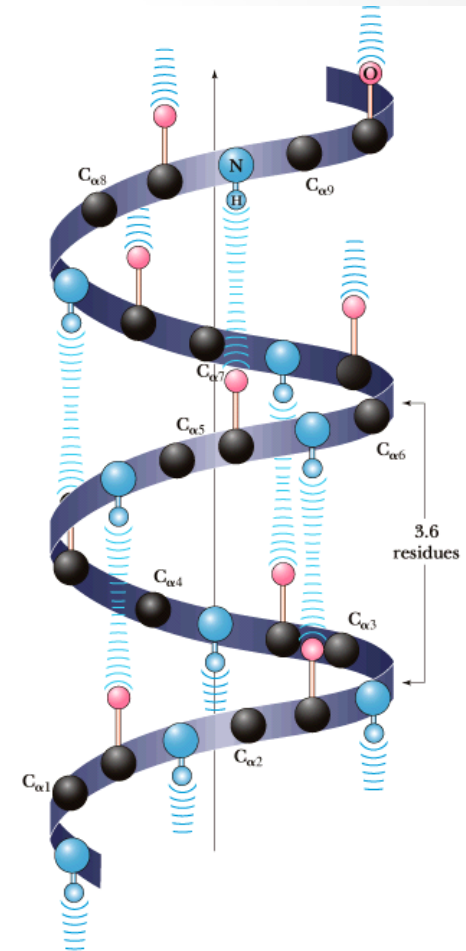


# Typy sekundárních struktur

- 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

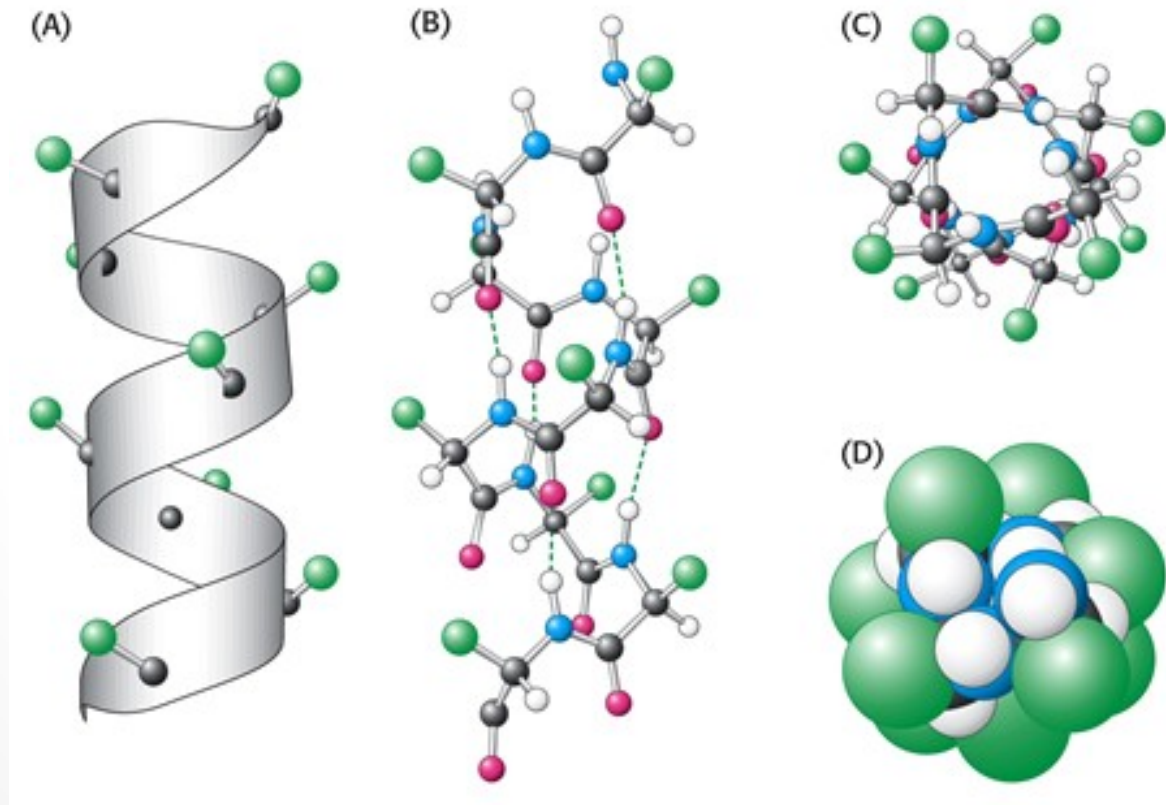
# $\alpha$ -helix

- 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



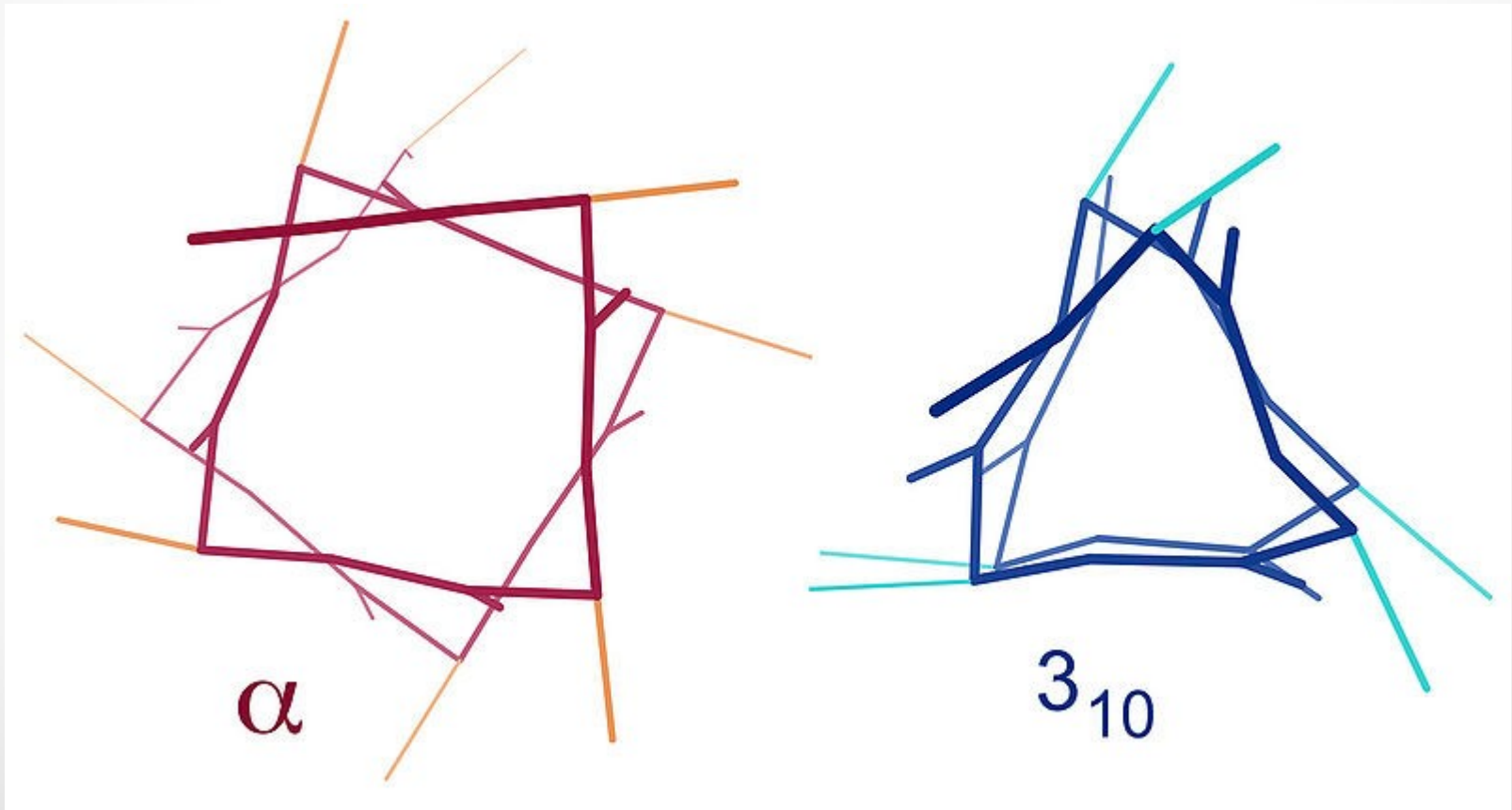
# $\alpha$ -helix

- Modely  $\alpha$ -helix



# Jiné helikální struktury

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

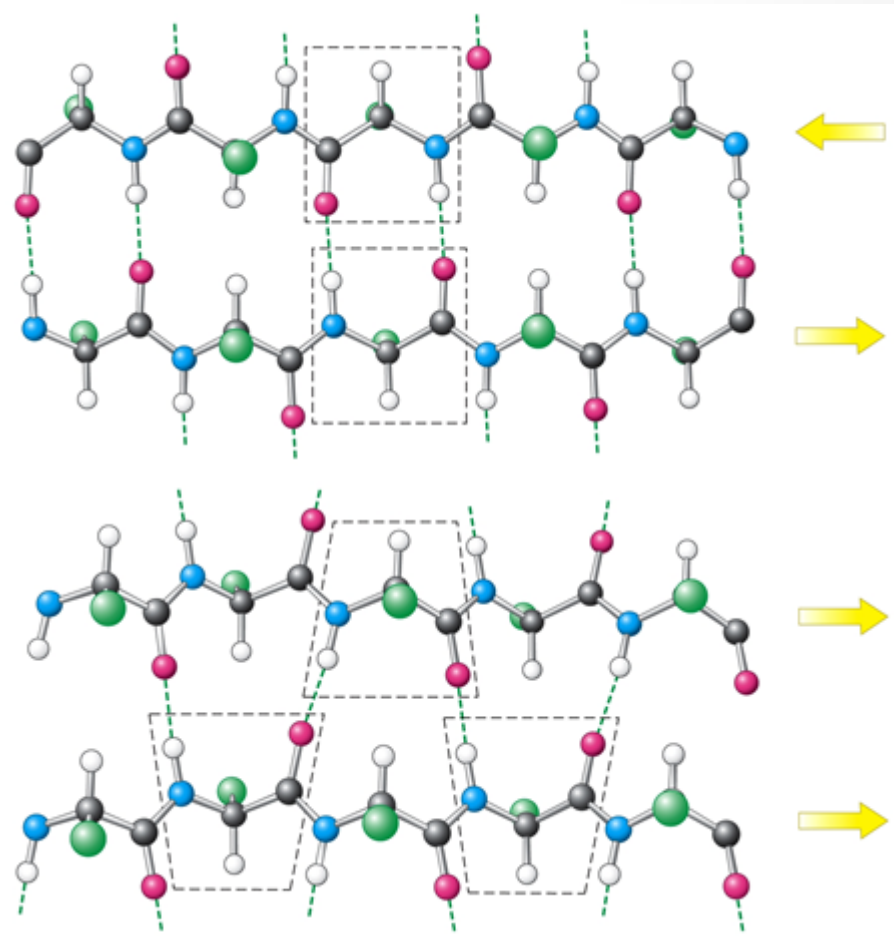


# Sekundární struktura

- $\beta$ -skládání list

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

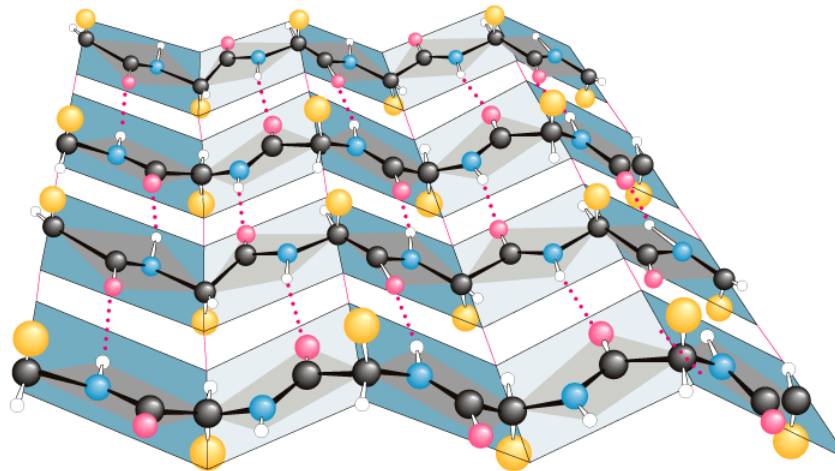
- Paralelní
- Odlišné uspořádání H-můstků



# $\beta$ -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

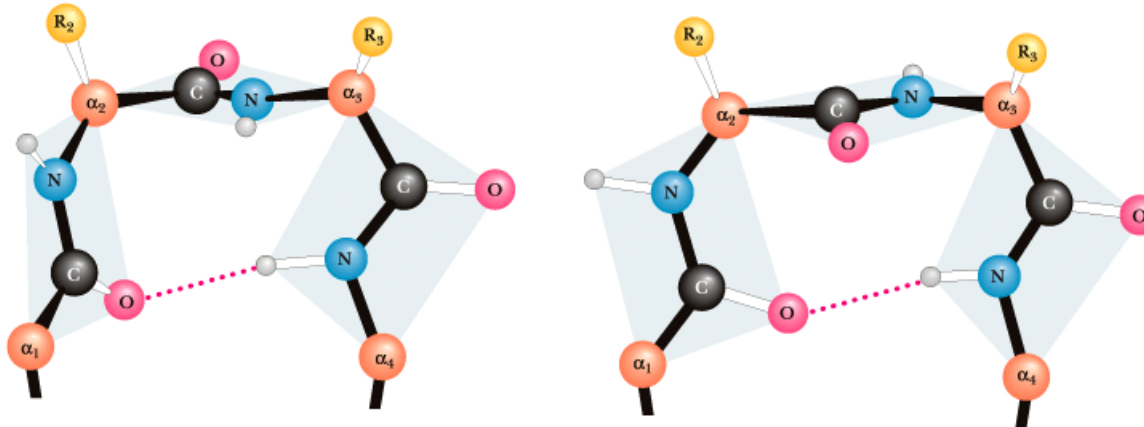


Saunders College Publishing

# $\beta$ -ohyb, vlásenka

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

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e  
Figure 6.12

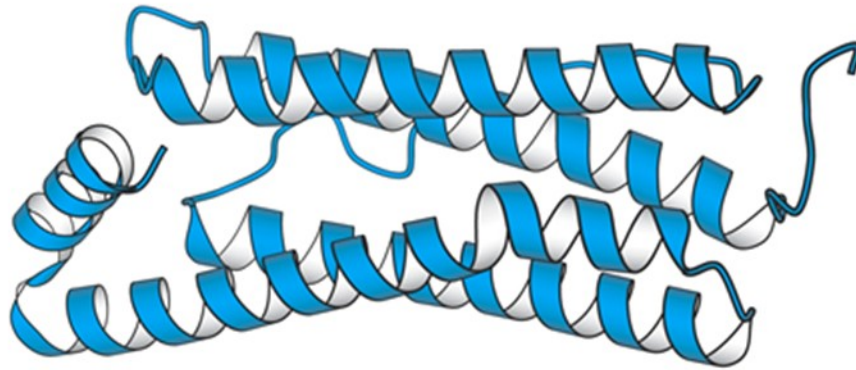


Saunders College Publishing

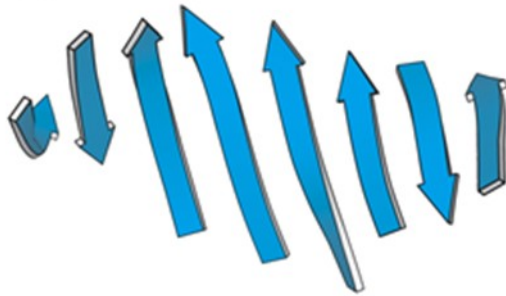


# Sekundární struktura

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



(B)

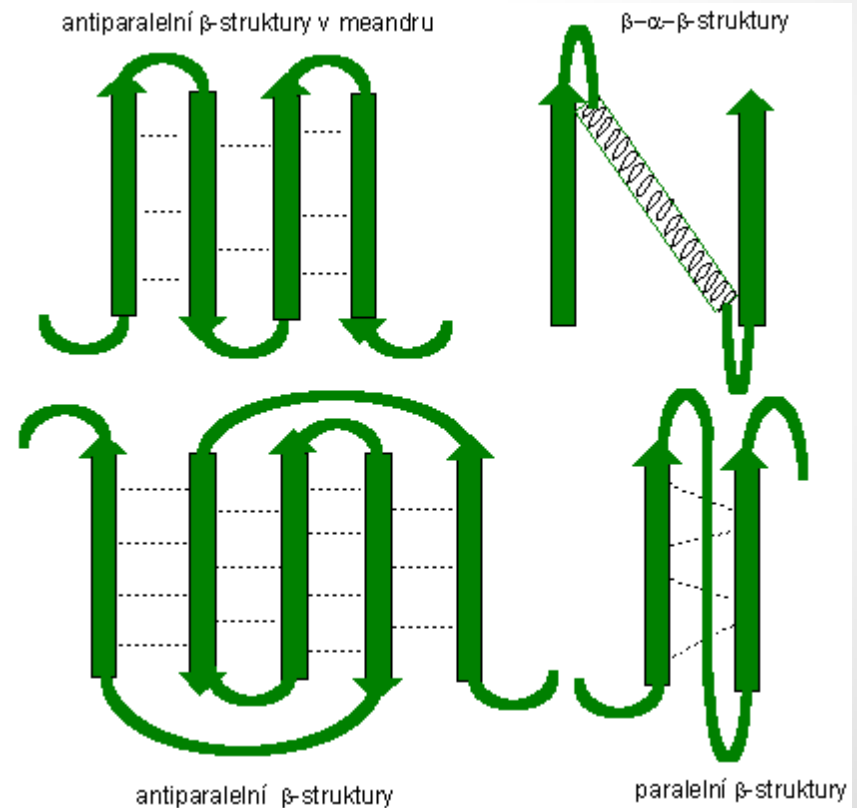
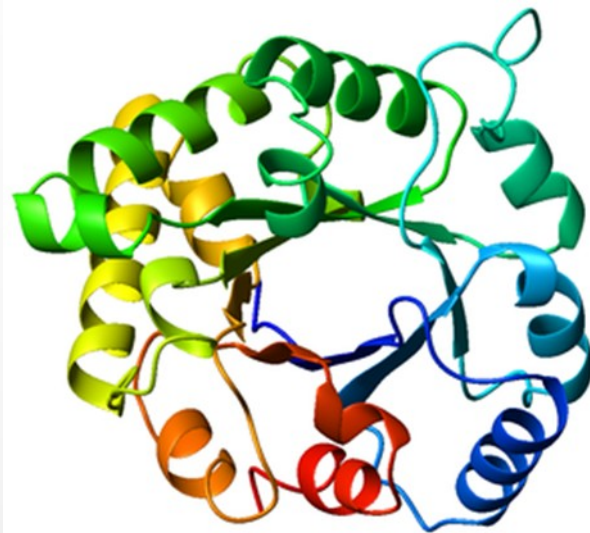


(C)



# Supersekundární struktura

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

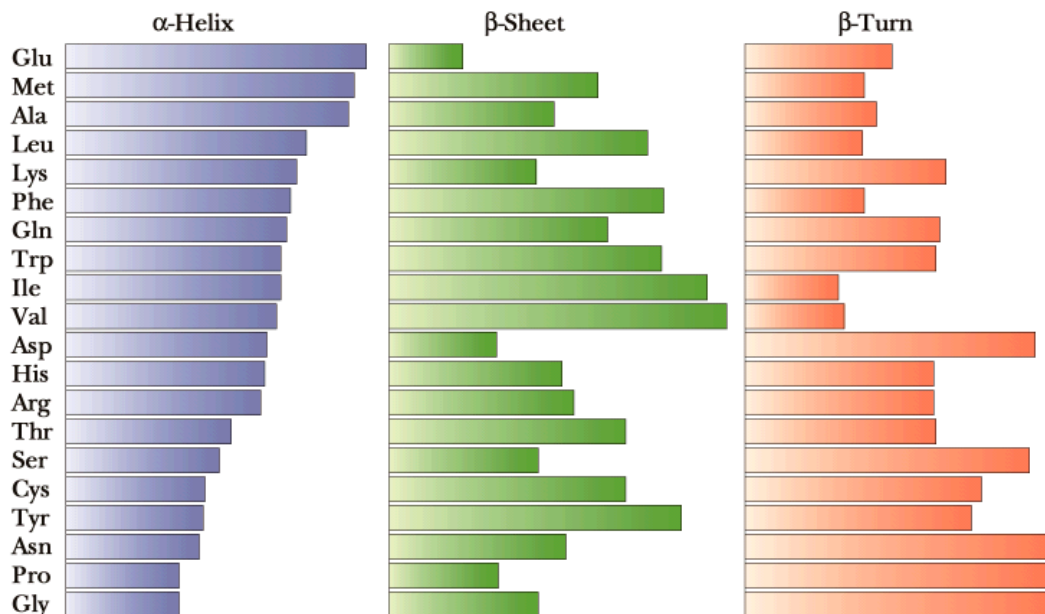


# Predikce sekundární struktury

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

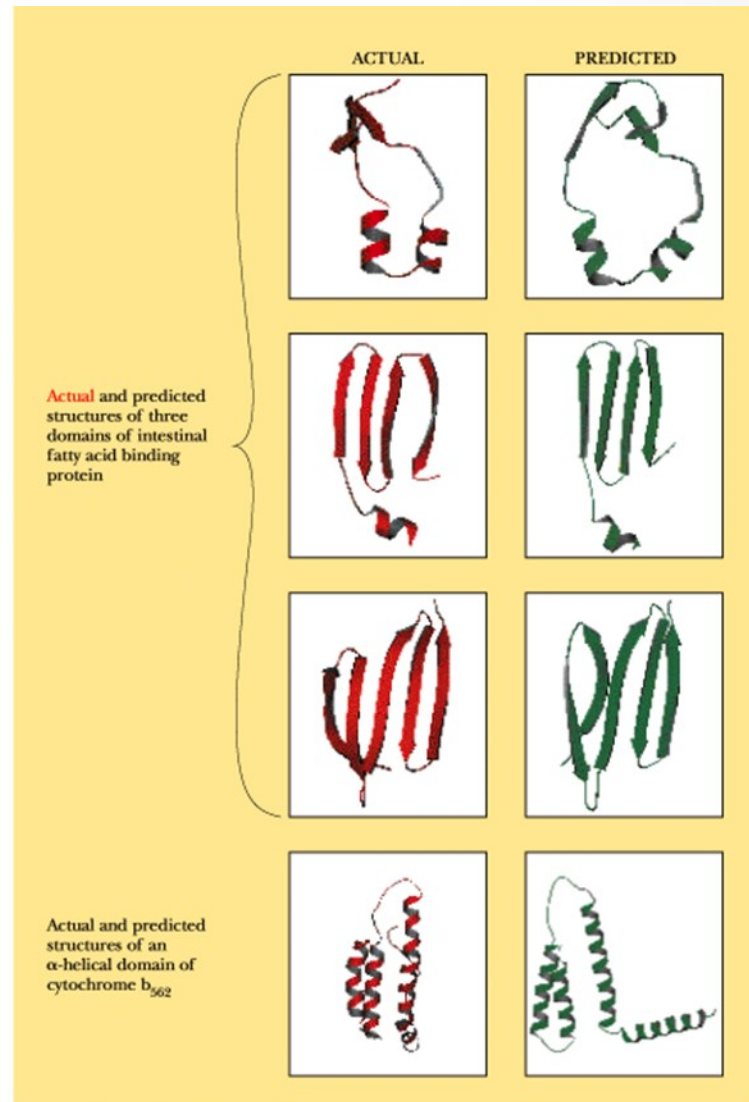
| Amino acid | $\alpha$ helix | $\beta$ sheet | Turn |
|------------|----------------|---------------|------|
| Ala        | 1.29           | 0.90          | 0.78 |
| Cys        | 1.11           | 0.74          | 0.80 |
| Leu        | 1.30           | 1.02          | 0.59 |
| Met        | 1.47           | 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

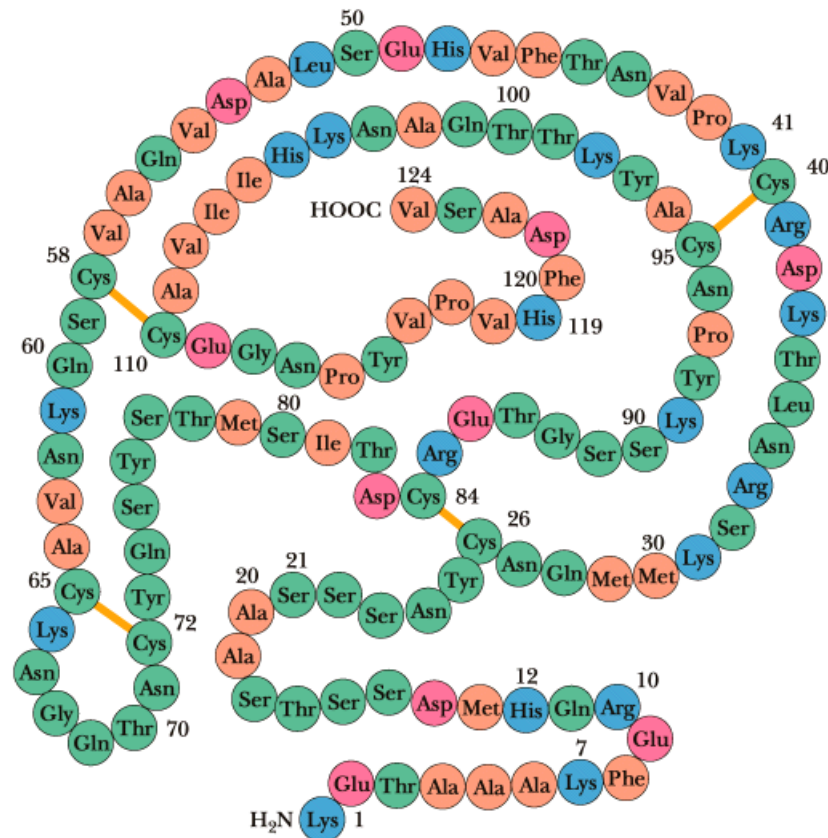
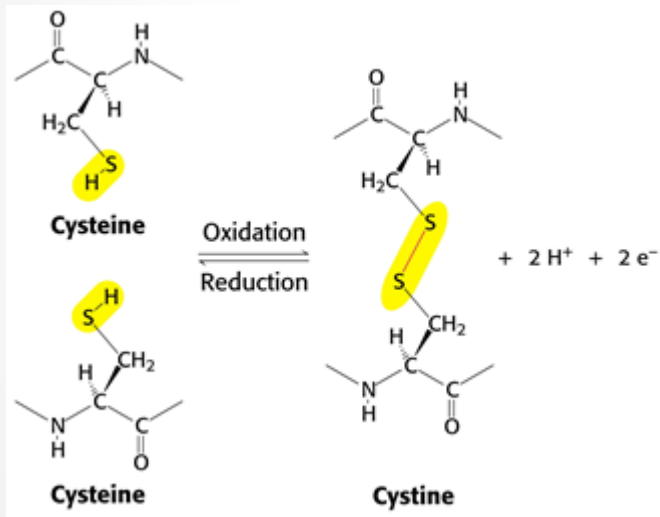


# Terciární struktura

- 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

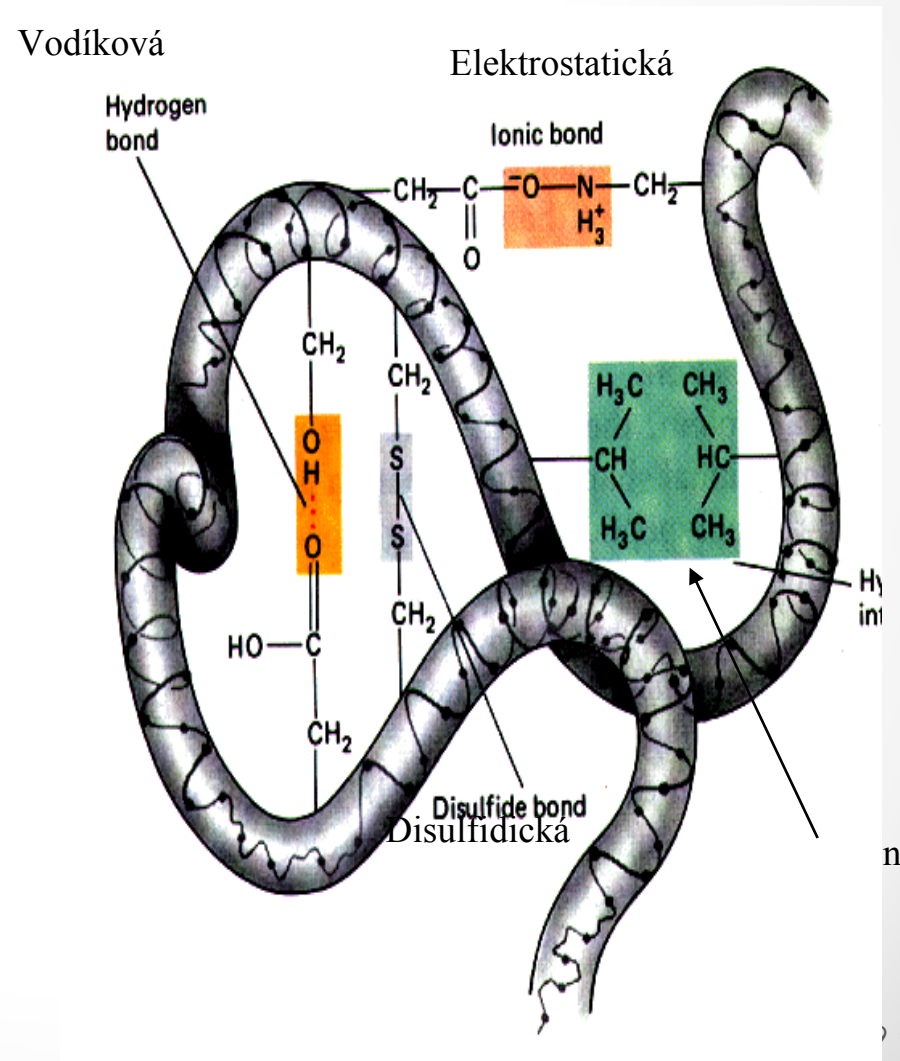
# Terciární struktura

- 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

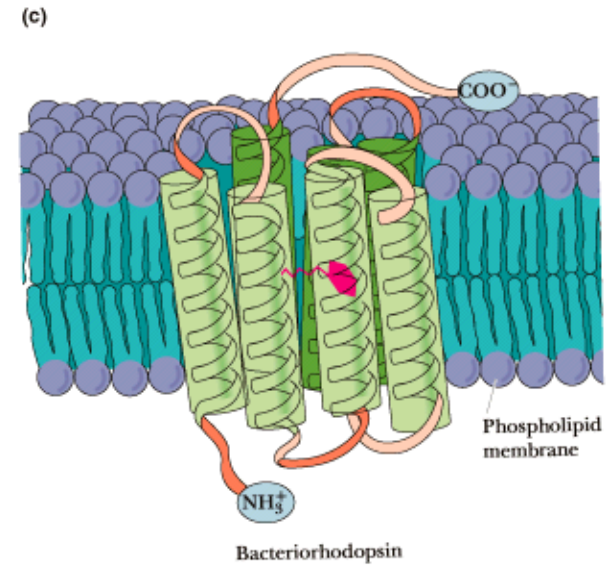
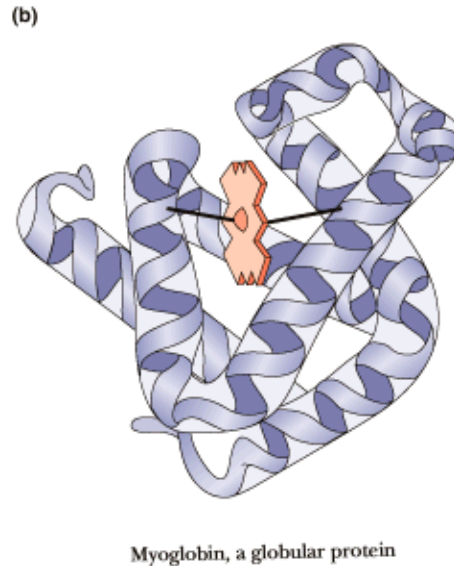




# Terciární struktura

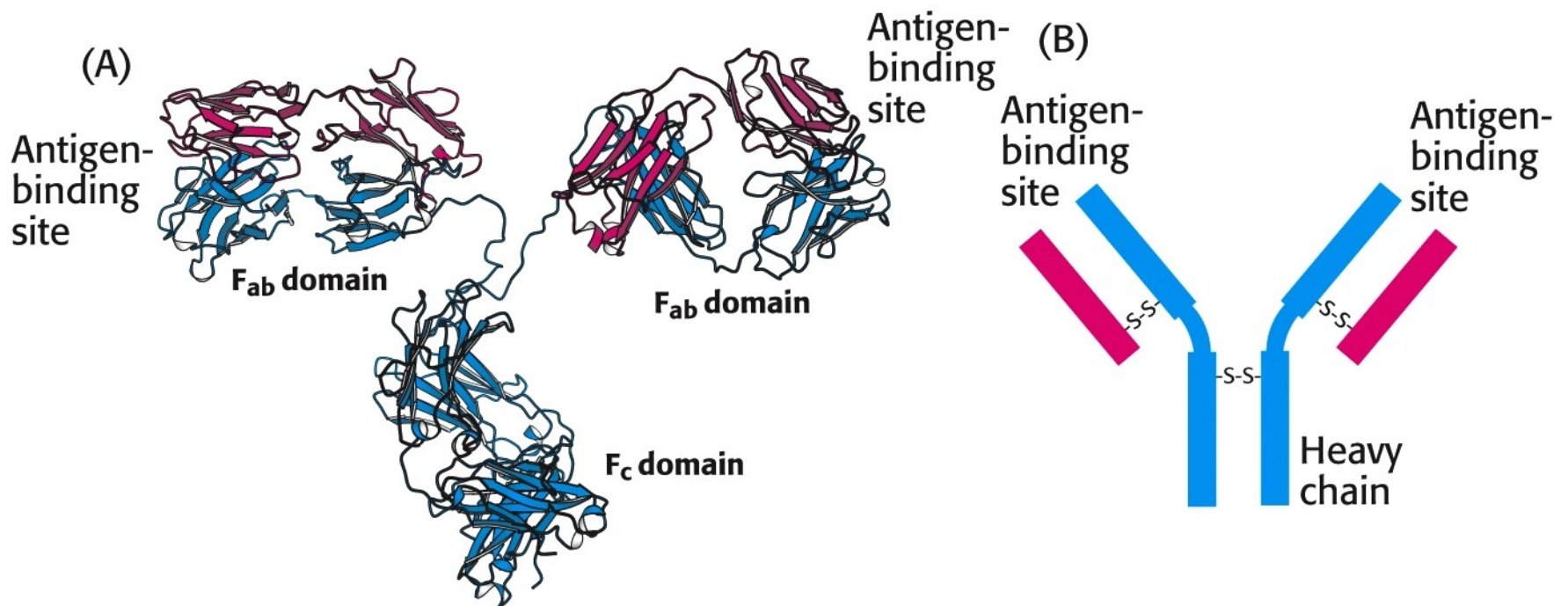
- Typy terciární struktury

- Fibrilární
  - skleroproteiny
- Globulární
  - sféroproteiny
- 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

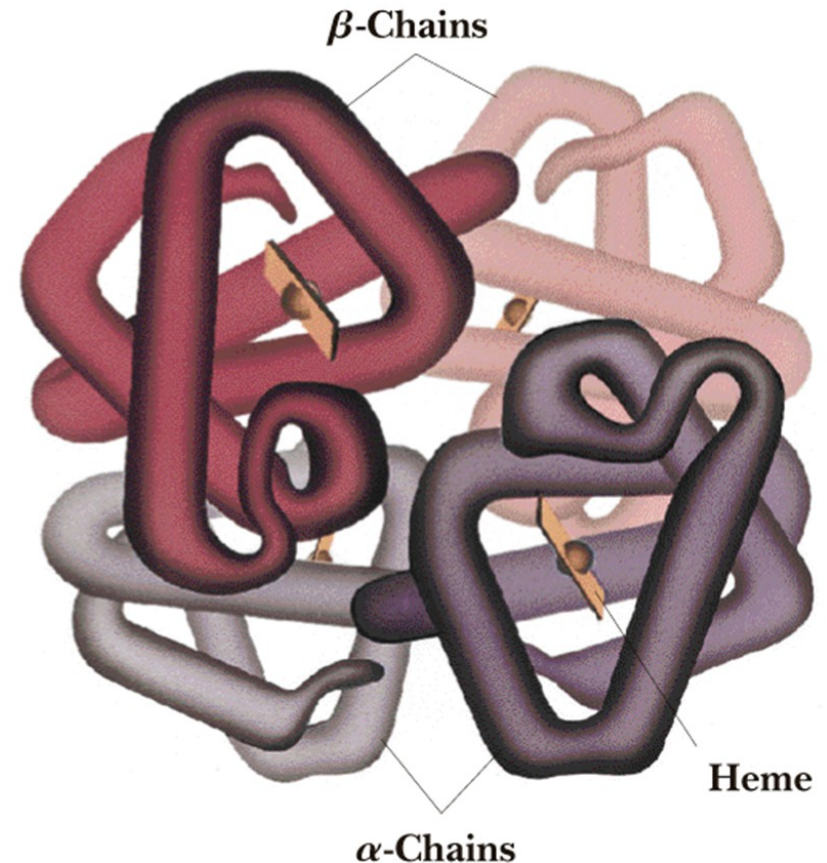
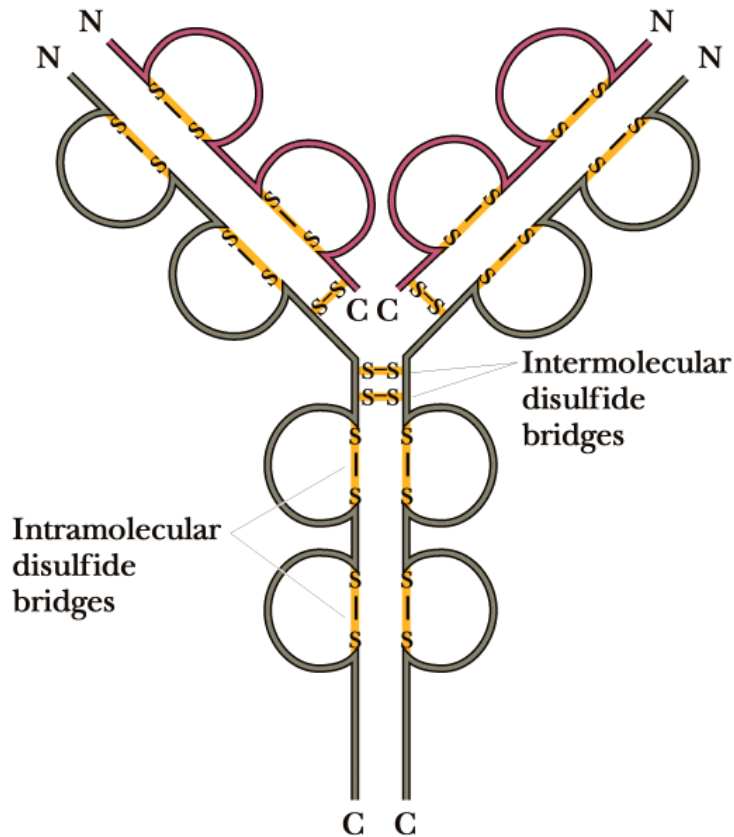


# Kvarterní struktura

- 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

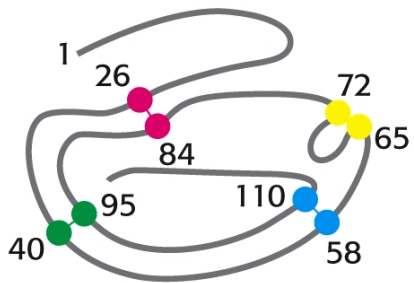


# Chování bílkovin *in situ*

- 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

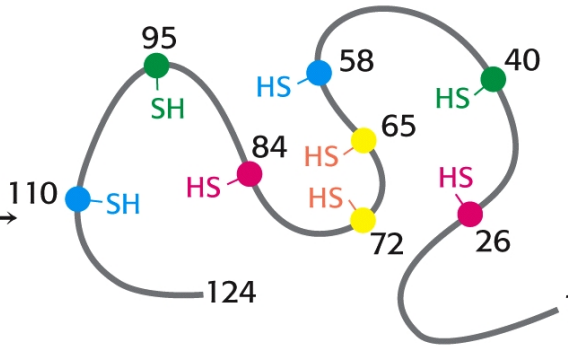
# Chování bílkovin *in situ*

- 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,

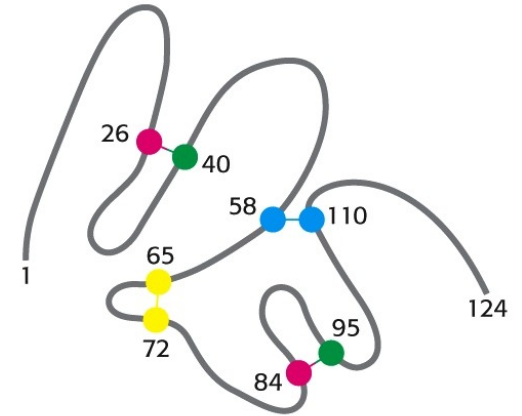


**Native ribonuclease**

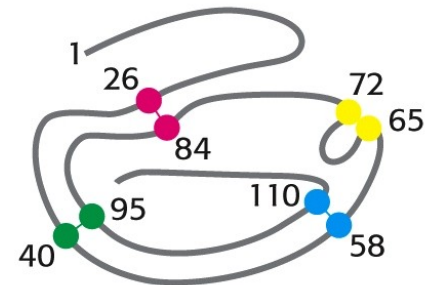
8 M urea and  $\beta$ -mercaptoethanol



**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