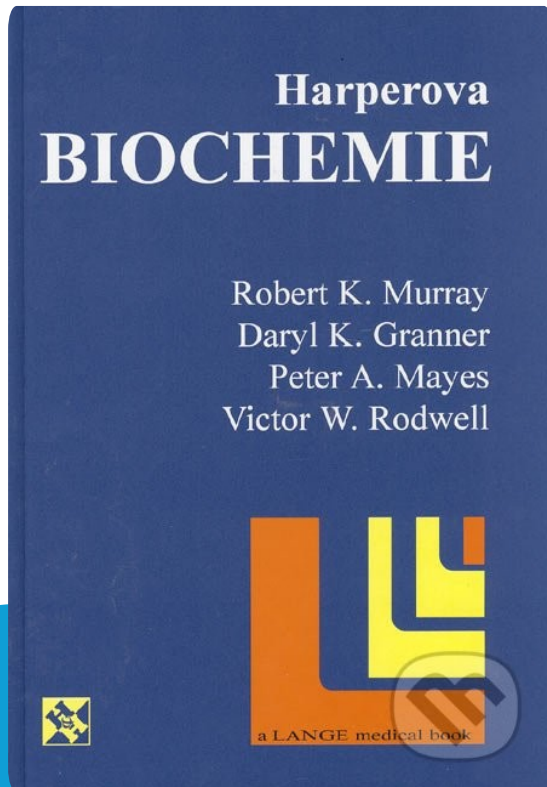




Biochemie

AK + Prot.

Prof. Mgr. Tomáš Kašparovský, Ph.D.



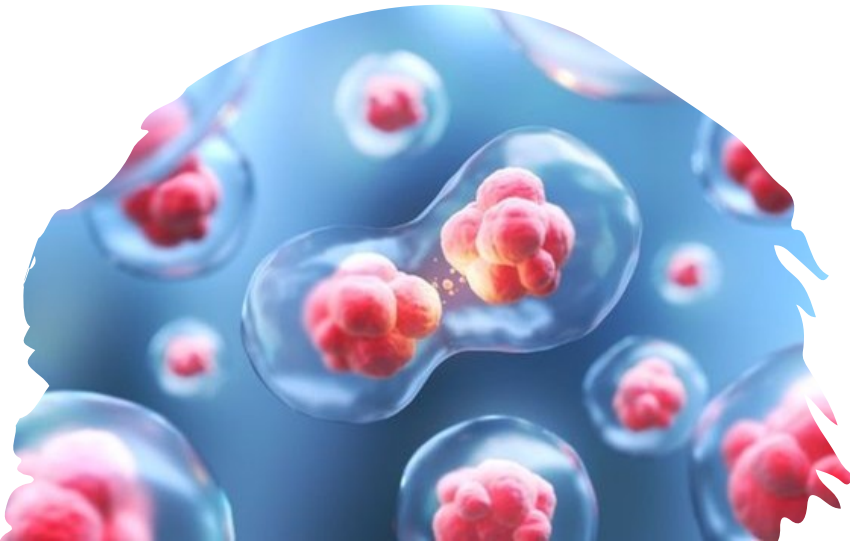
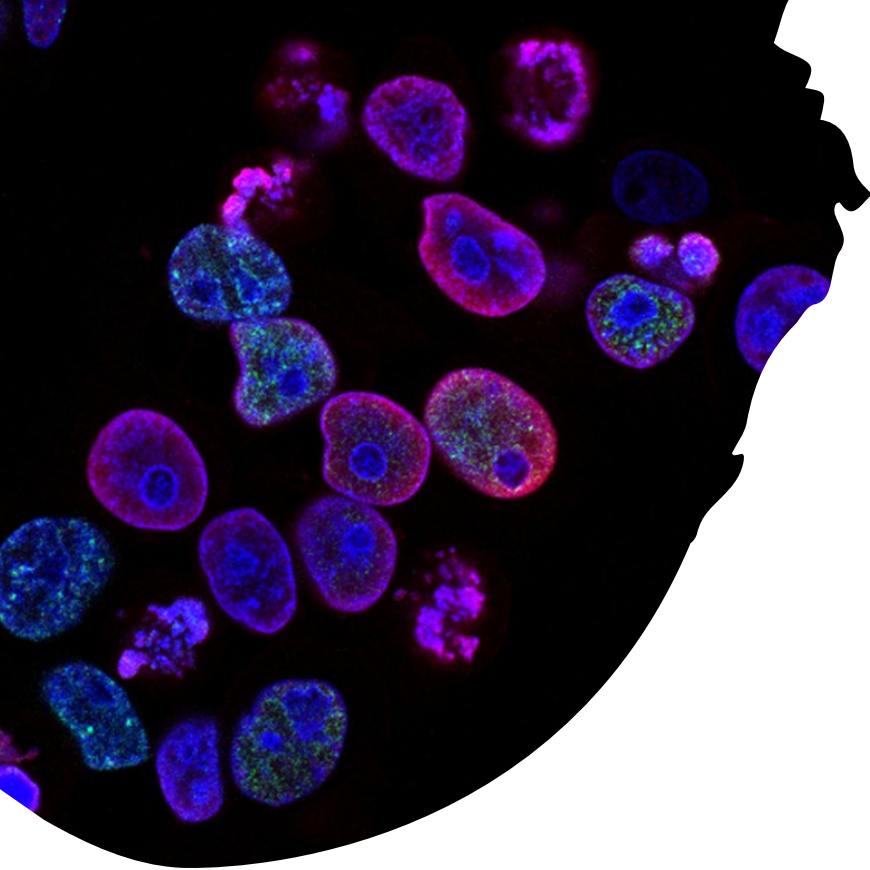
Literatura

- I J., Paulova H., Slanina J., borska E., Biochemie pro posluchače □ských oborů, LF MU Brno 2012.
- Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Peter A. Mayes, Victor W. Rodwell, Harperova Biochemie, H&H 2002.

Hlavní oblasti biochemie



- látkové složení organismů
- vzájemná přeměna látek (metabolismus) zahrnující především chemické, ale také další pochody
- přeměna energie a její tok v rámci organismu i v rámci celé biosféry (souboru všech živých organismů)
- vzájemné vztahy dílčích pochodů v organismu, jejich organizace a regulace
- tok informace, její projevy, autoreprodukce



Složení živé hmoty



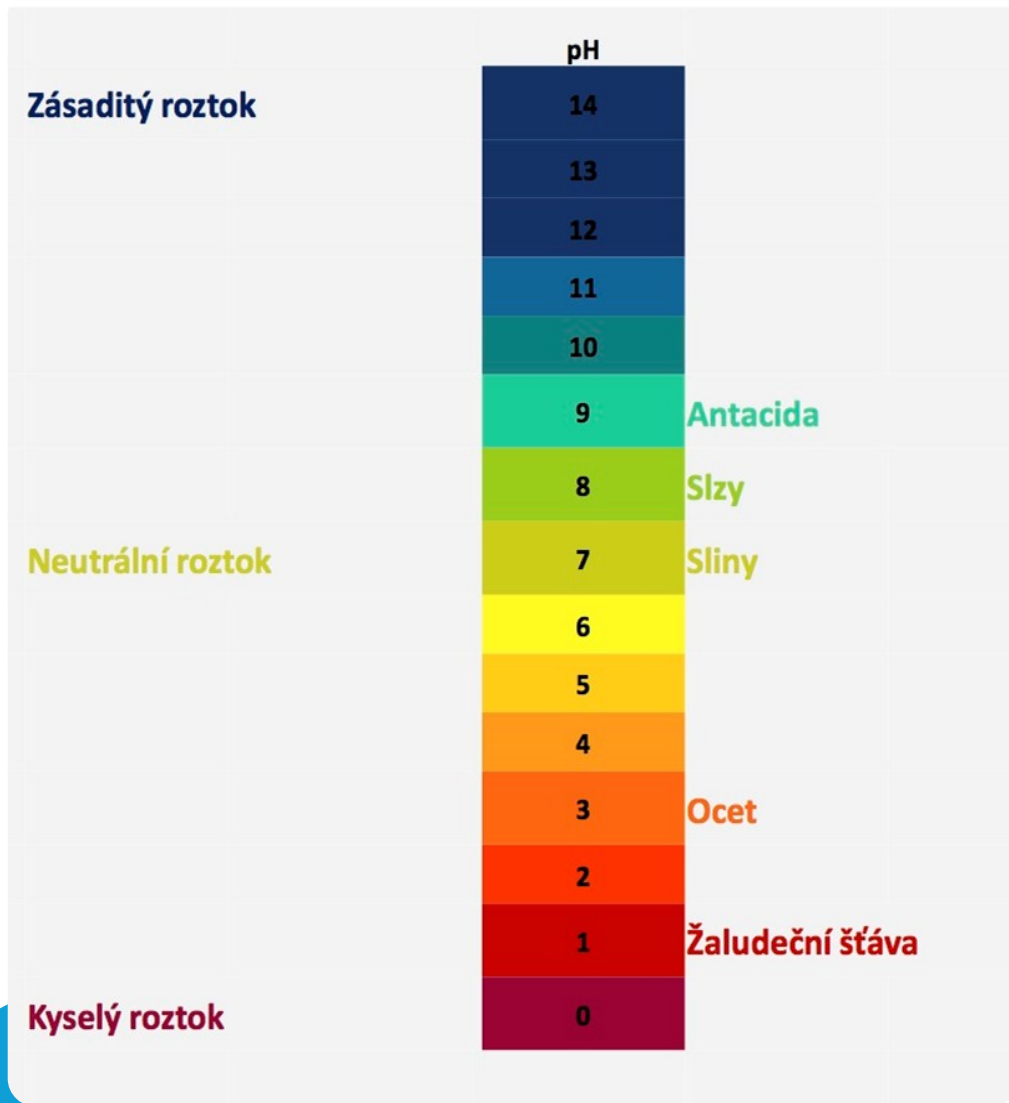
- Biogenní prvky – kvantitativní zastoupení
 - První úroveň: C, H, O, N
 - Druhá úroveň: Na, K, Mg, Ca, Cl, S, P
 - Třetí úroveň: Co, Cu, Fe, Mn, Zn
 - Čtvrtá úroveň: Al, As, B, Br, Cr, F, Ga, I, Mo, Se, Si, V.
- Anorganické látky – i prvky
 - voda
 - Na^+ , K^+ , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , HPO_4^{2-} , Ca, Mg, Fe, Zn, Va, Cu, Mo, Ni, Mn, Se
 - plyny - O_2 , N_2 , CO_2 , NO
- Organické látky
 - nízkomolekulární
 - vysokomolekulární - biopolymery
- Hlavní typy - skupiny
 - bílkoviny
 - nukleové kyseliny
 - sacharidy
 - lipid



Složení organismů

Látka	člověk	rostliny	bakterie
voda	60	75	70
bílkoviny	18	4	15
nukleové k.	1.5	1	7
sacharidy	0.5	16	3
lipidy	16	1	2
org. látky	1	1	2
anorg. látky	3	2	1





pH

- pH extracelulárního prostoru (resp. krevní plasmy) je 7,4
- pH intracelulárního prostoru je nižší, asi 6,8
- žaludeční šťáva pH 1,5
- tenké střevo pH 8
- moc pH 5

Pufrační systémy lidského organismu

- **Pufrační systém krve**

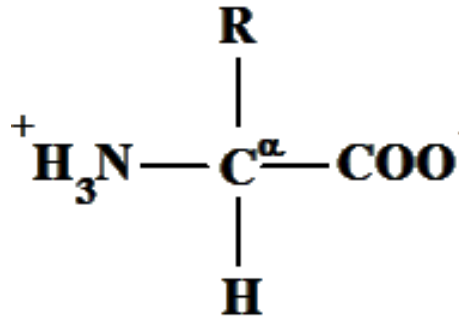
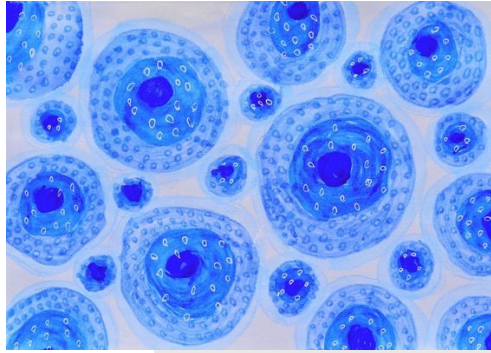
- hydrogenuhlíčitánový (bikarbonátový) pufr –
- hlavní pufr extracelulárních tekutin
- tvořen párem $\text{H}_2\text{CO}_3 / \text{HCO}_3^-$
- kyselina uhličitá je v rovnováze s rozpuštěným CO_2



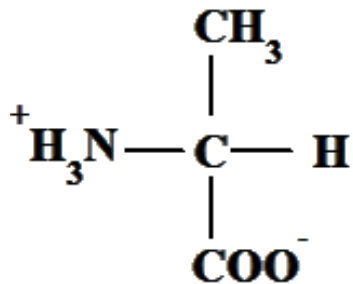
- **Pufrační systémy lidského organismu**

- pufr
 - tvořen párem $\text{H}_2\text{PO}_4^- / \text{HPO}_4^{2-}$
 - udržuje pH v intracelulárním prostoru.
- skupiny postranních řetězců □ aminokyselinových
- hemoglobin/oxyhemoglobin (Hb/HbO_2)
Hb s navázaným kyslíkem (oxyhemoglobin),
je silnější kyselina

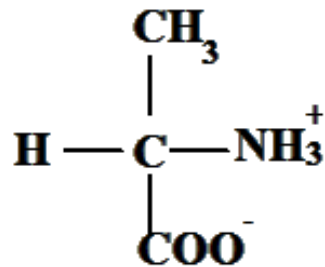
Obecná struktura aminokyseliny



- α -aminokyseliny (2-aminokyseliny)
 - R – specifický zbytek jednotlivých AK
- L-aminokyseliny
 - typické pro většinu biomolekul (D-vzácně)



L -alanin



D-alanin

Acidobazické vlastnosti

TABLE 3.1 Typical pK_a values of ionizable groups in proteins

Group	Acid	\rightleftharpoons	Base	Typical pK_a^*
Terminal α -carboxyl group	<chem>CC(=O)O</chem>	\rightleftharpoons	<chem>CC(=O)[O-]</chem>	3.1
Aspartic acid Glutamic acid	<chem>CC(=O)O</chem>	\rightleftharpoons	<chem>CC(=O)[O-]</chem>	4.1
Histidine	<chem>C1=CN=C[NH+]1</chem>	\rightleftharpoons	<chem>C1=CN=C[N-]1</chem>	6.0
Terminal α -amino group	<chem>[NH3+]C</chem>	\rightleftharpoons	<chem>NC</chem>	8.0
Cysteine	<chem>SC</chem>	\rightleftharpoons	<chem>[S-]C</chem>	8.3
Tyrosine	<chem>Oc1ccc(O)cc1</chem>	\rightleftharpoons	<chem>[O-]c1ccc(O)cc1</chem>	10.9
Lysine	<chem>[NH3+]C</chem>	\rightleftharpoons	<chem>NC</chem>	10.8
Arginine	<chem>C1=NC(=[NH2+])N=C1</chem>	\rightleftharpoons	<chem>C1=NC(=[N-])N=C1</chem>	12.5

* pK_a values depend on temperature, ionic strength, and the microenvironment of the ionizable group.

Více disociabilních skupin

$$pI = (pK_m + pK_n)/2$$

kde pK_m a pK_n ohraničují neutrální formu

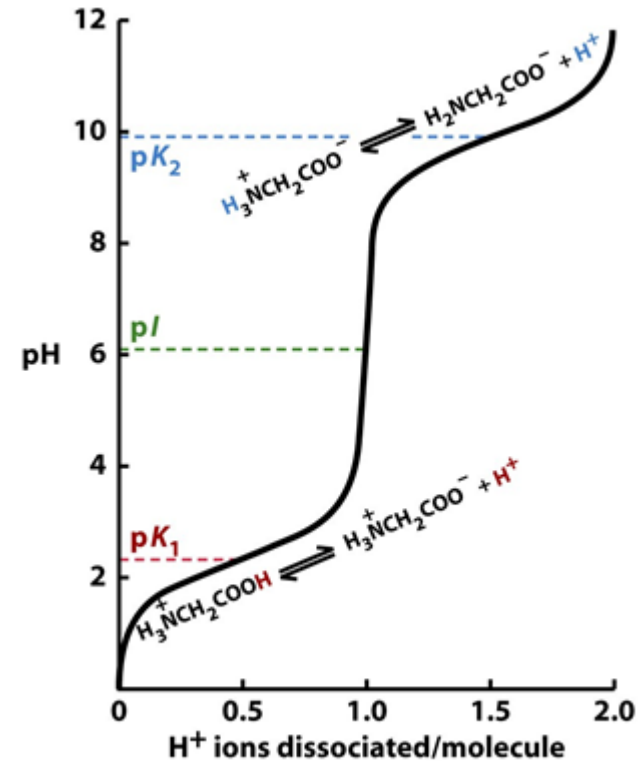


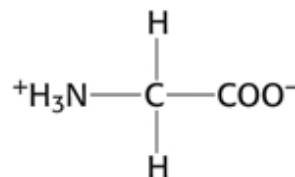
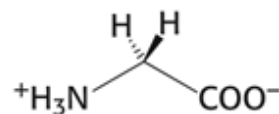
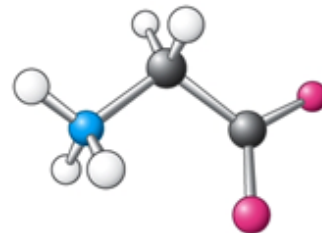
Figure 4-8 Fundamentals of Biochemistry, 2/e © 2006 John Wiley & Sons

Skupina	pK	Skupina	pK	Skupina	pK
α COOH	1.8 - 2.5	β COOH	3.9	γ COOH	4.1
α NH ₂	9 - 10	ϵ NH ₂	10.8	guanidin	12.5
imidazol	6.0	SH	8.3	OH	10.1

Nepolární

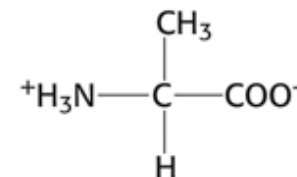
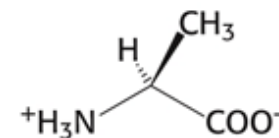
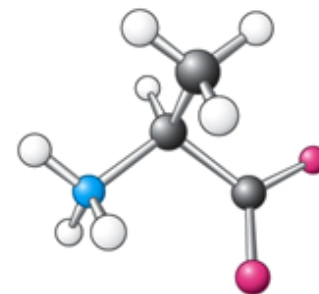
Alifatické

**Glycine
(Gly, G)**



**Glycine
(Gly, G)**

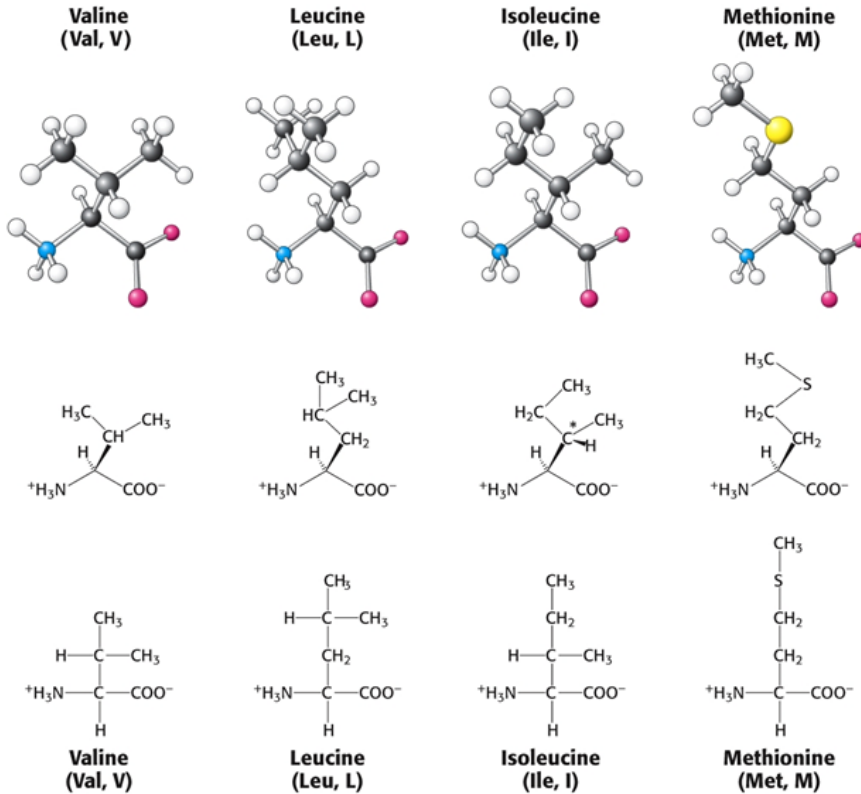
**Alanine
(Ala, A)**



**Alanine
(Ala, A)**

Nepolární

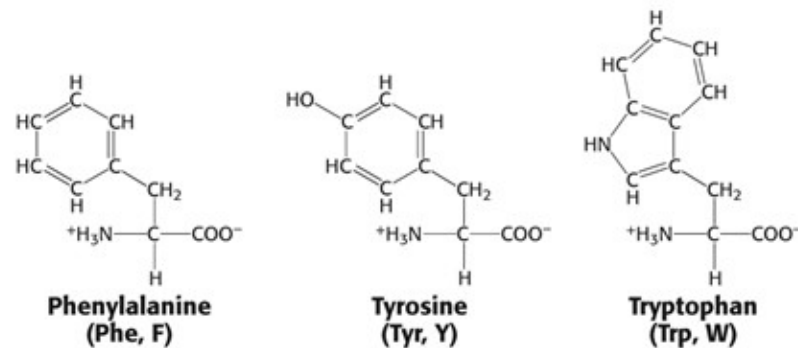
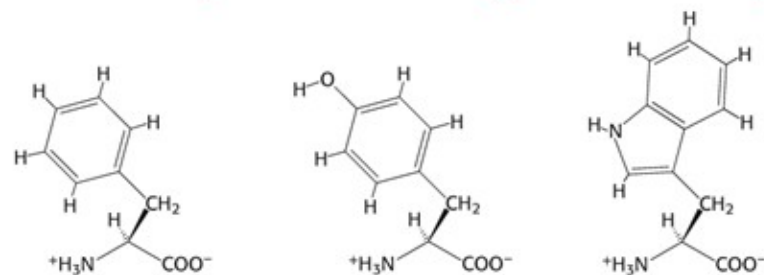
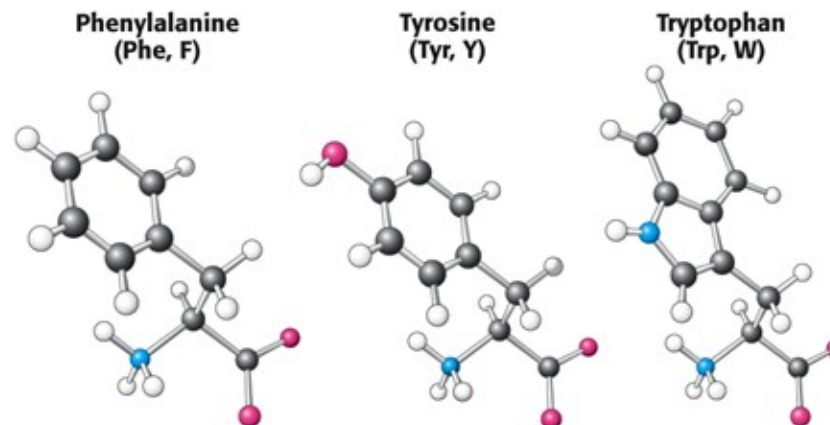
Alifatické



- Větvené
- Met sirná

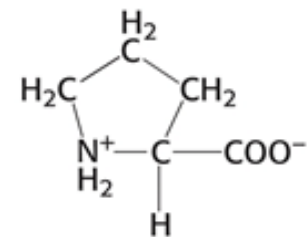
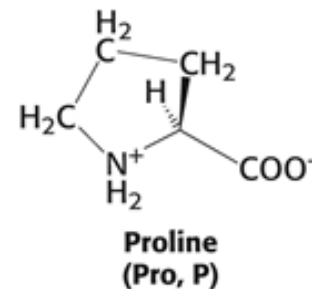
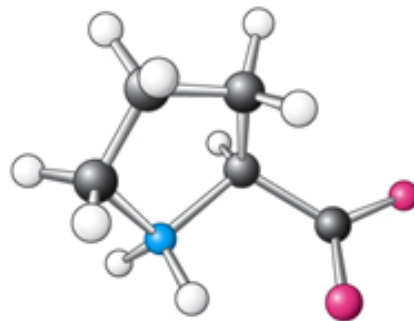
Nepolární

Aromatické



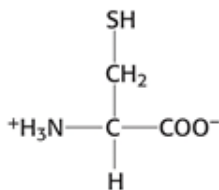
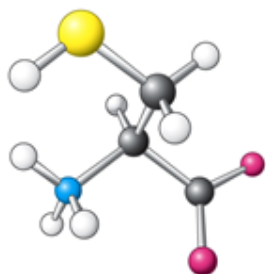
Nepolární

- Výjimečná struktura
 - Zvláštní dopad na strukturu polymeru – bílkoviny
- Heterocyklická

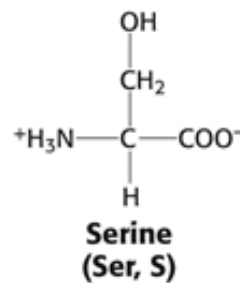
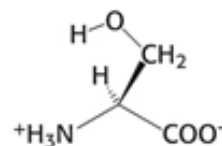
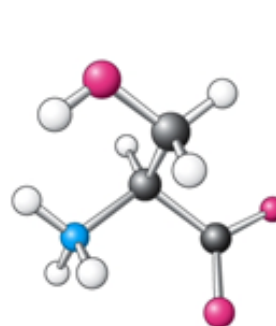


Polární

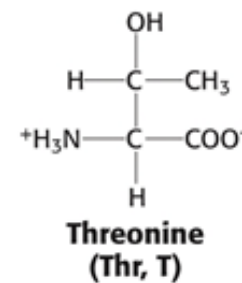
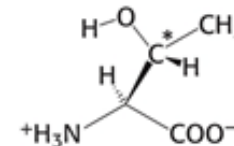
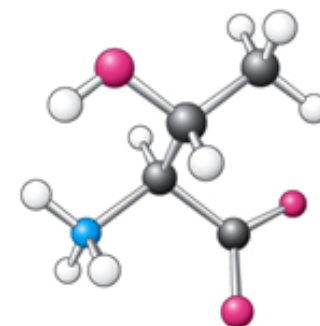
- Hydroxy AK
- Cys –disociovaný (sl. kyselá)



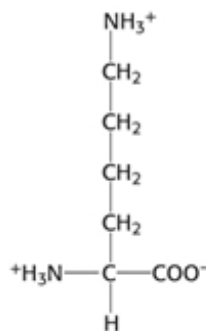
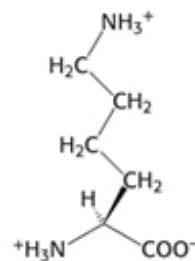
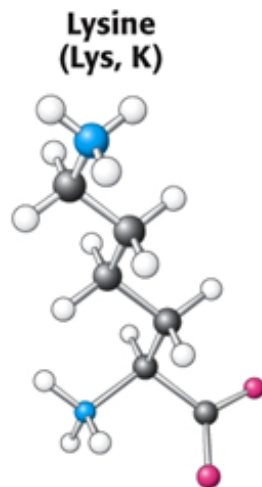
**Serine
(Ser, S)**



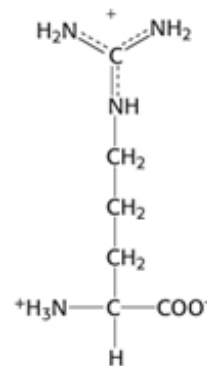
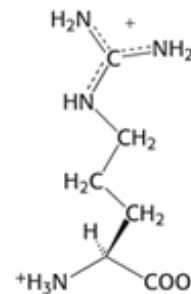
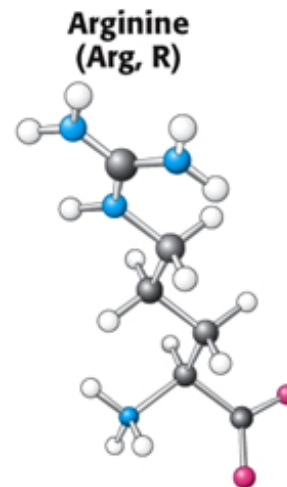
**Threonine
(Thr, T)**



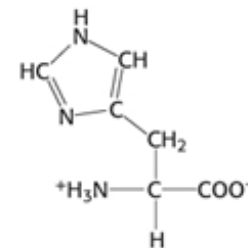
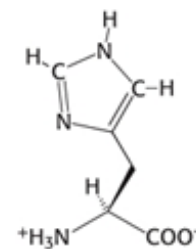
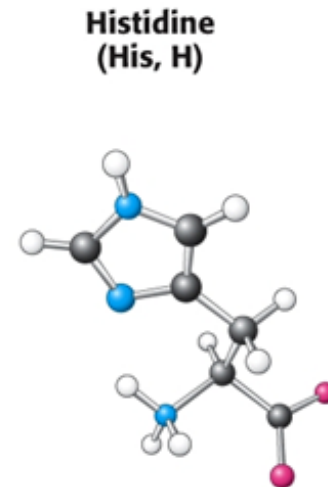
Polární disociova né (bazické)



**Lysine
(Lys, K)**



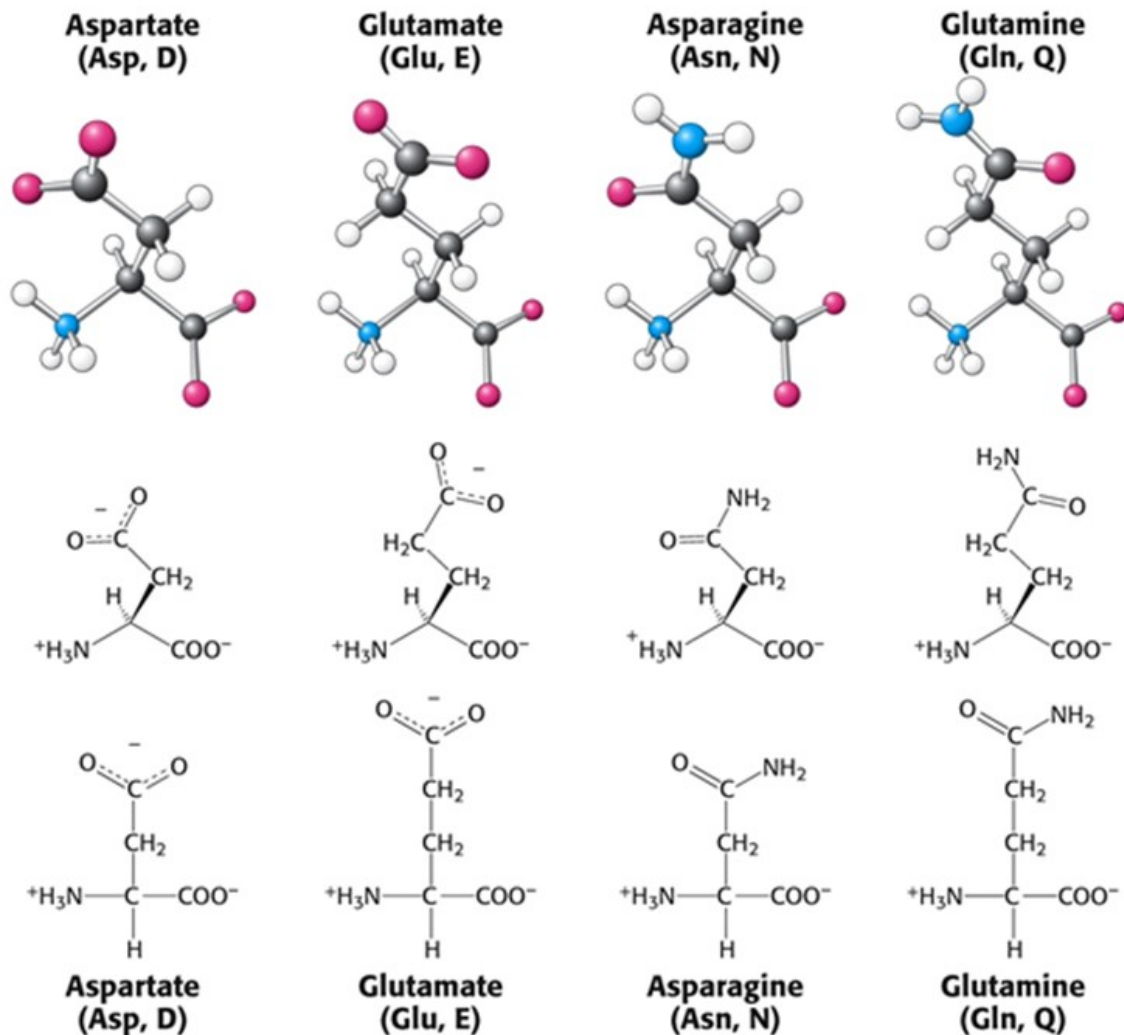
**Arginine
(Arg, R)**



**Histidine
(His, H)**

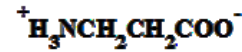
Polární (kyselé)

- Asp a Glu
 - disociované
- Asn a Gln
 - nedisociované
 - nejsou aminy!

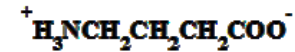


Volné aminokyseliny a deriváty

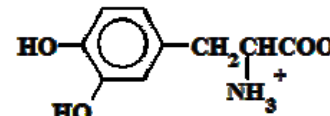
- Součásti jiných biomolekul – □ - alanin
- Funkce v metabolismu
 - výše uvedené + další
 - ornitin a citrulin + Asp a Arg
- Nervové mediátory a hormony
 - γ aminomáselná
 - DOPA, dopamin, adrenalin
 - thyroxin, trijodthyronin
- Antibiotika
 - azaserin, cykloserin, chloramfenikol



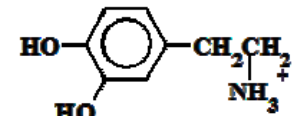
β alanin



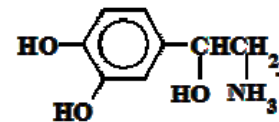
γ aminomáselná kyselina



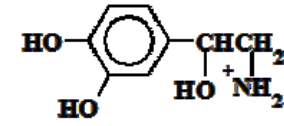
DOPA



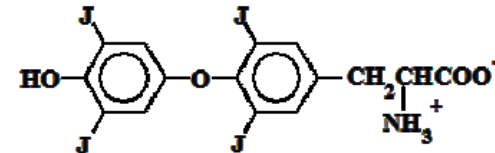
dopamin



noradrenalin

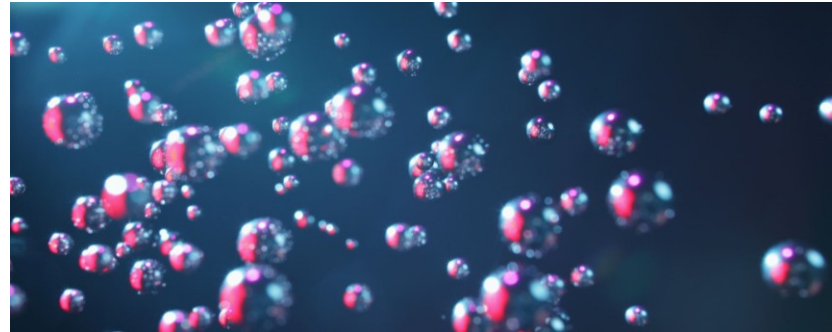


adrenalin

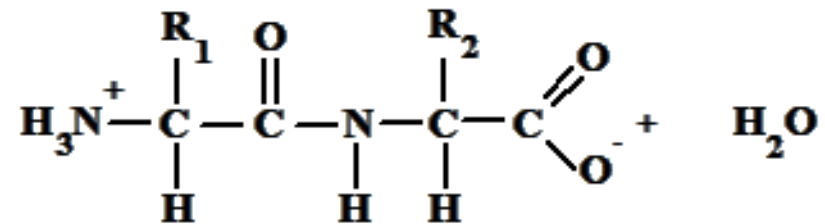
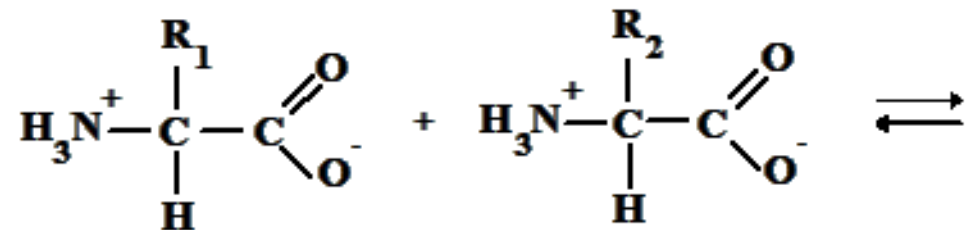


tyroxin
(3,5,3',5'-tetrjodthyronin)

Vznik peptidů

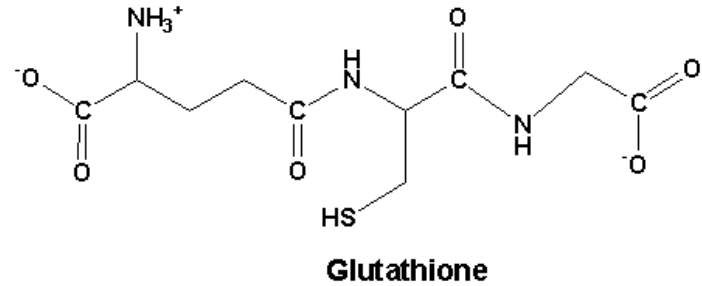


- Peptidová vazba
- Charakteristika
- Velikost peptidu
 - Di-, tri-, atd –peptidy
 - Oligopeptidy – do 10
 - Polypeptidy – do 100
 - Bílkoviny



Přírodní peptidy

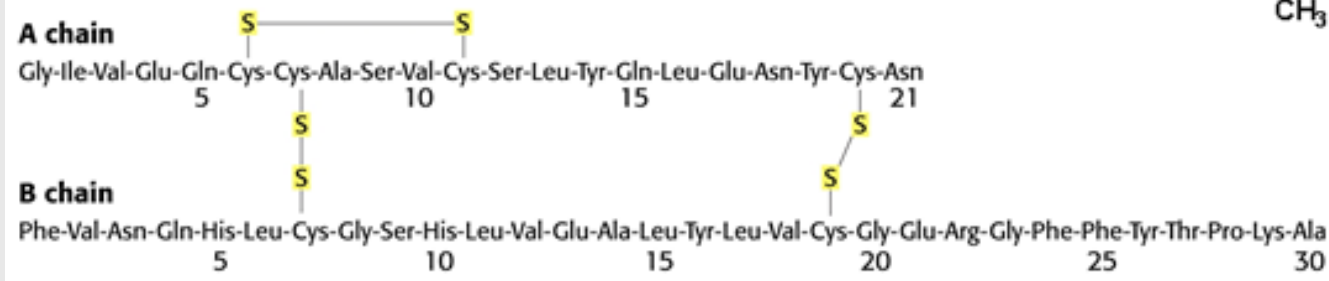
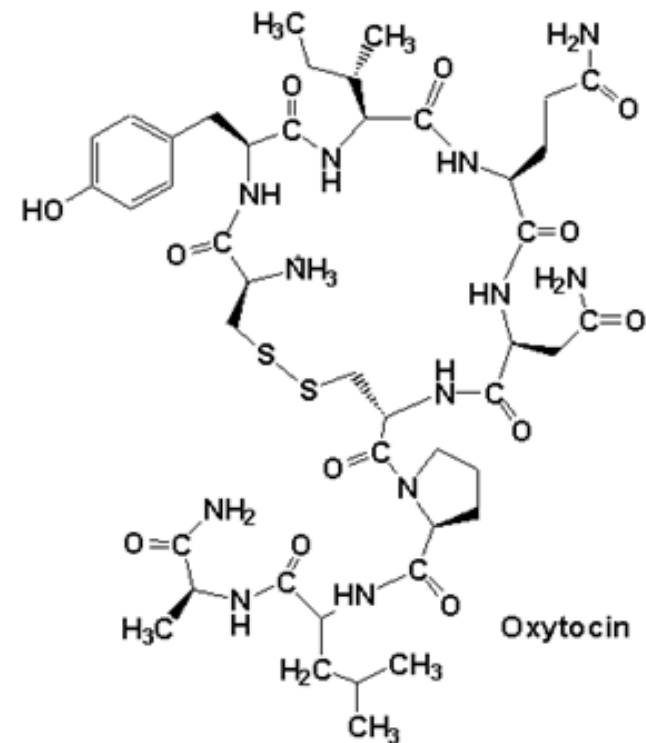
- Di - karnosin – β -Ala-His – sval (antioxidant?)
 - anserin – N metylkarnosin
- Tri - glutathion – GSH – γ -Glu-Cys-Gly
 - Kofaktor oxidoreduktas a transferas



Významné peptidy

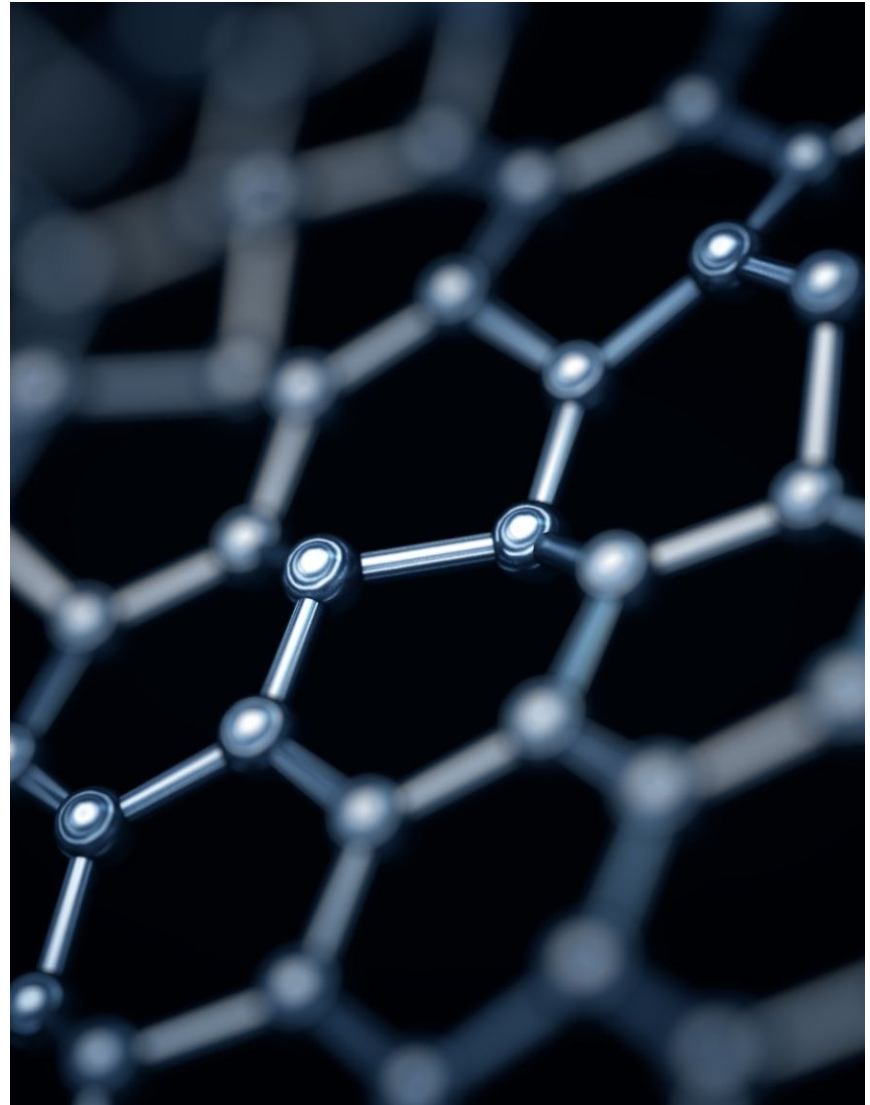


- Peptidové hormony
 - oxytocin, vasopresin
 - **inzulin**, glukagon
- Peptidové neuromodulátory
 - enkefaliny, endorfiny
- Peptidová antibiotika
 - penicilin, **gramicidin**, **valinomycin**, aktinomvcin
- Peptidové fyto a zootoxiny
 - amanitin, falloidin
 - mikrocyistiny
 - neurotoxiny hadů, štírů a včel



Hierarchie struktur

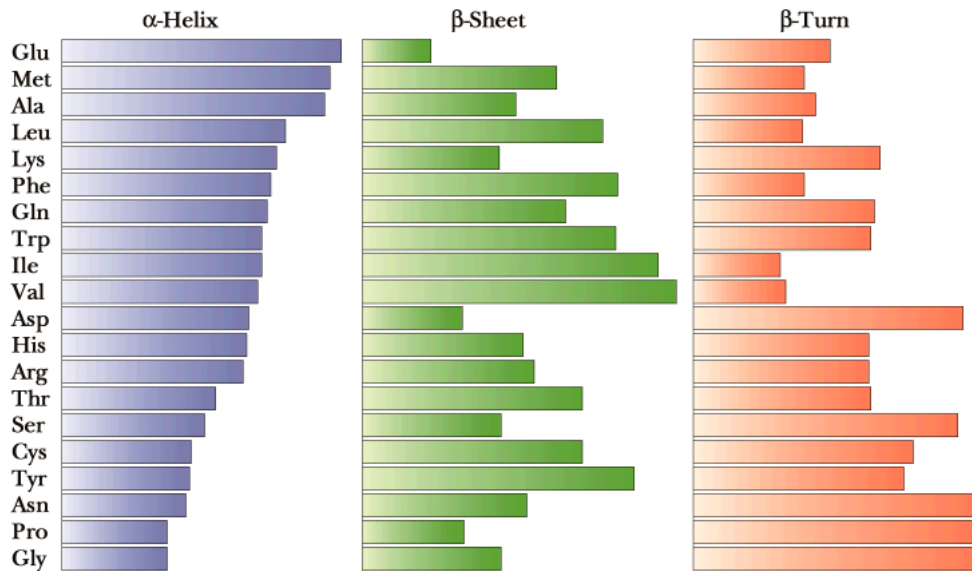
- Primární
 - Sekvence aminoacylů – kolik a jak seřazeny
 - Homologie bílkovin
- Sekundární
 - Uspořádání – vztah sousedních monomerů
- Terciární
 - Tvar molekuly v prostoru, uspořádání řetězce jako tělesa
- Kvarterní
 - Agregační stav funkční jednotky, nadmolekulární úroveň



Predikce sekundární struktury

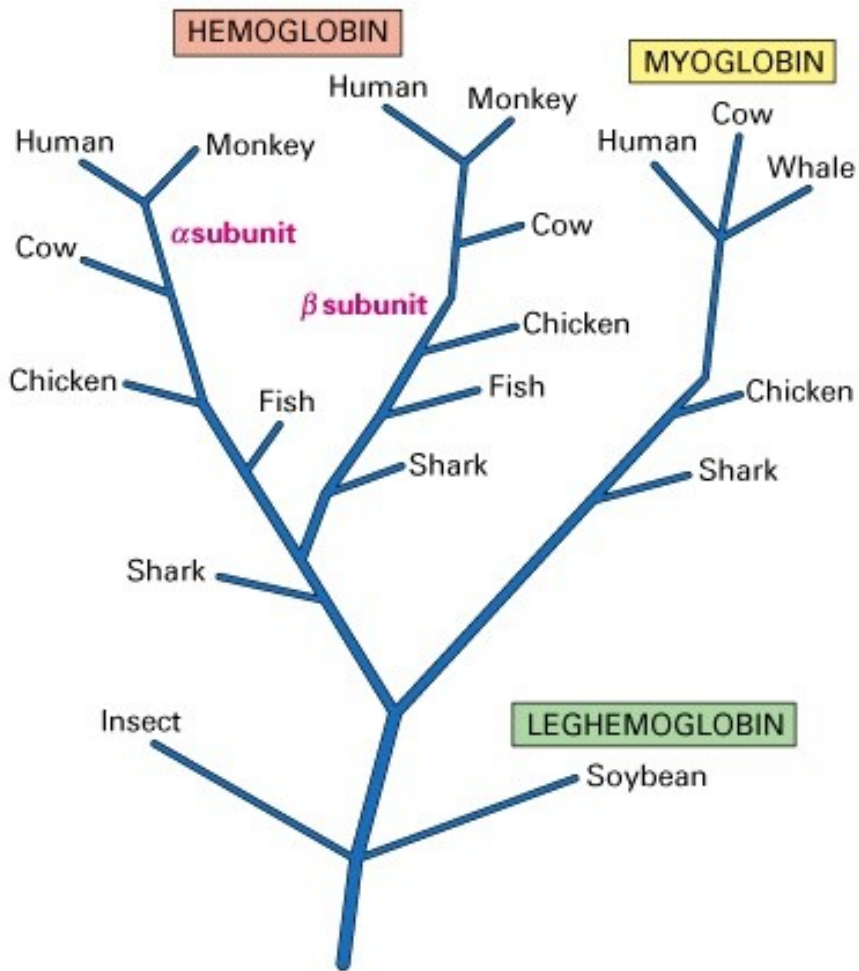
- Primární struktura ovlivňuje sekundární
- Preference struktur v úsecích s převahou aminoacylů

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 6.39



Saunders College Publishing

Sekvenční homologie

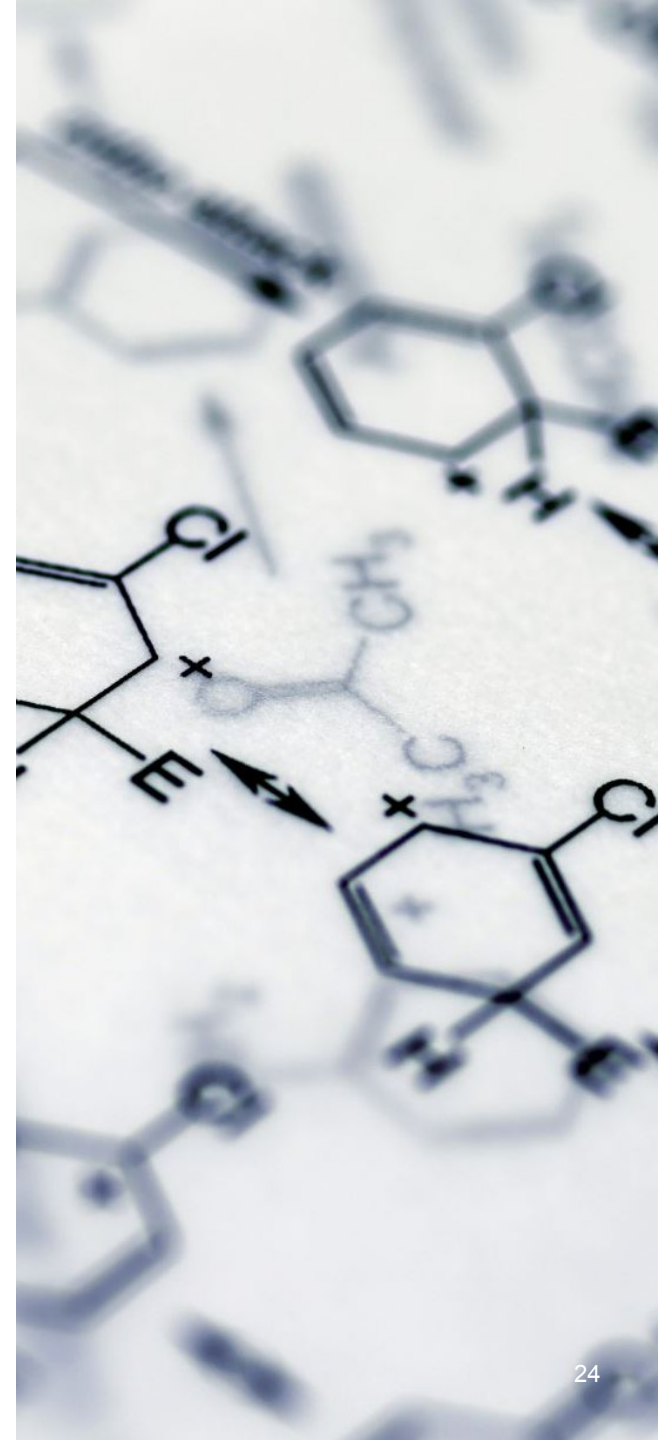


- Evoluční strom
 - Hb
 - MyoG



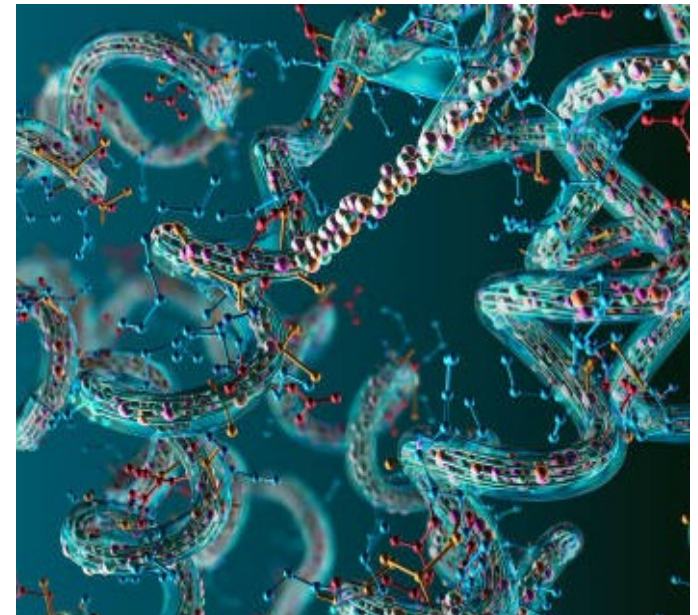
Chování bílkovin *in situ*

- Interakce bílkovinné molekuly s prostředím – tvar a vlastnosti
- Orientace zbytku -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,



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)

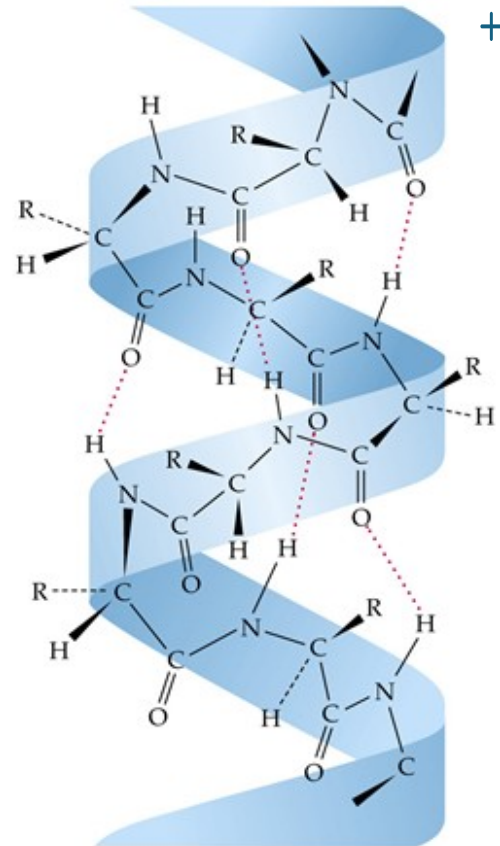
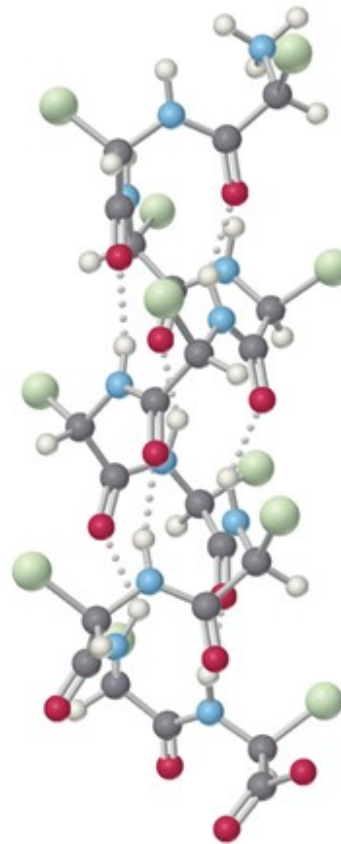
Základní funkce bílkovin

- 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



α -keratin

- základní jednotka pravotočivé α -šroubovice
- Lidské vlasy, kůže a nehty, ovčí vlna, žíně apod.
- Vlasy se ve vlhkém stavu dají natáhnout až dvojnásobně, přitom přechází struktura šroubovice na skládaný list. Jev je využíván ve vlasových vlhkoměrech (a kadeřnictví).

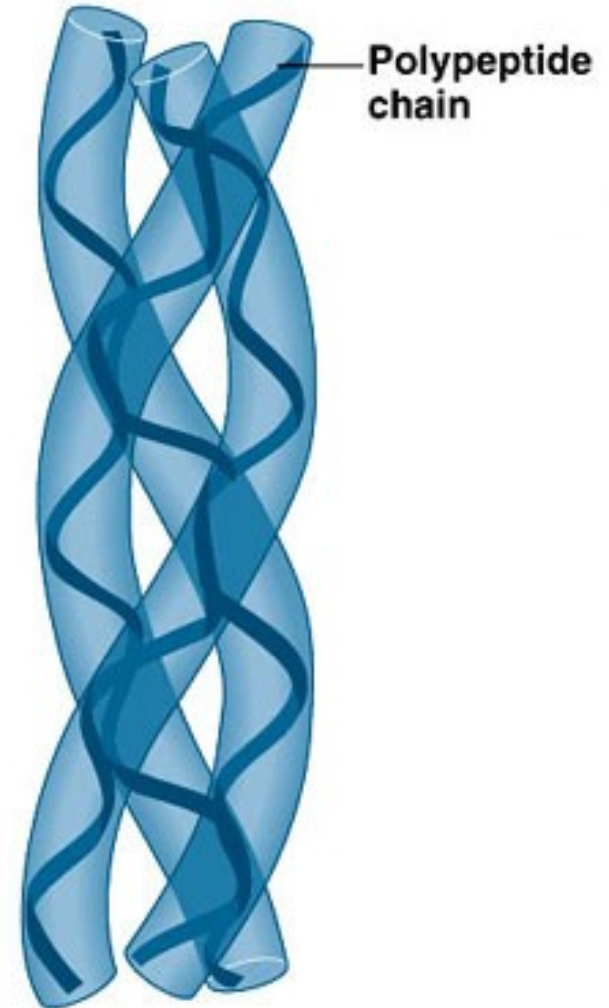
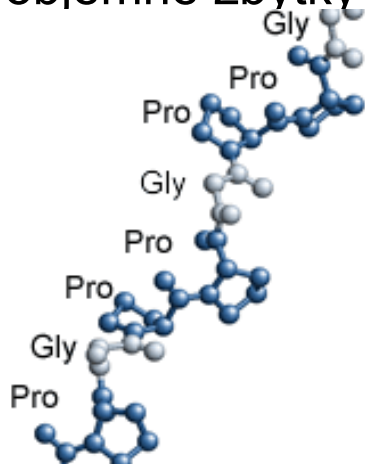


Struktura α -keratinu – lidský vlas



Kolagen

- Základní stavební jednotkou je levotočivá šroubovice - **prokolagen**
 - Zbytky R jednotlivých aminokyselin směřují dovnitř řetězce.
 - Je tvořena z 2/3 glycinem a prolinem, jejichž málo objemné zbytky lze směstnat do takové s

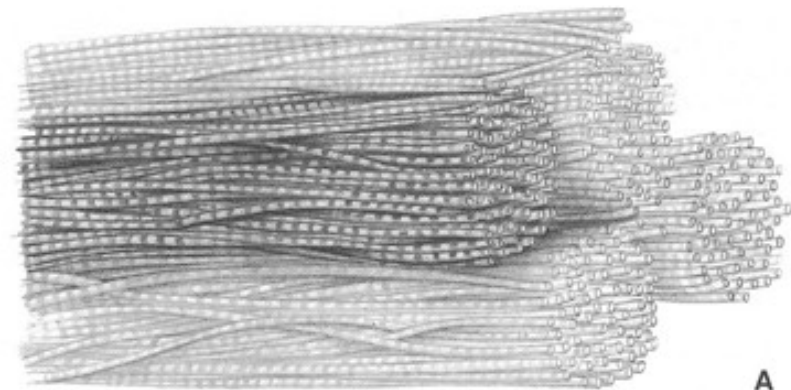


(a) Collagen

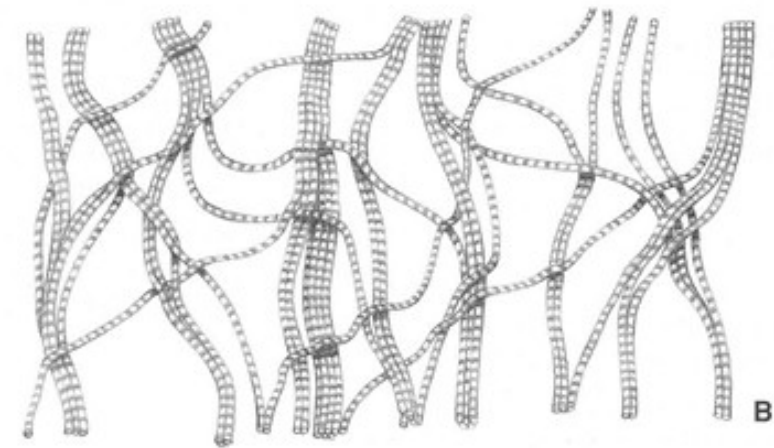
Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin

- Prokolagen a trimer tropokolagen

Struktura kolagenu



A



B

Vlákna kolagenu



Typy kolagenu

Ca 27 typů

Typ I ca 90%

Variace struktury,
výskyt



Strukturní materiál

25–30 % všech
bílkovin

Mezibuněčný
materiál, vazivo

Šlachy, kosti

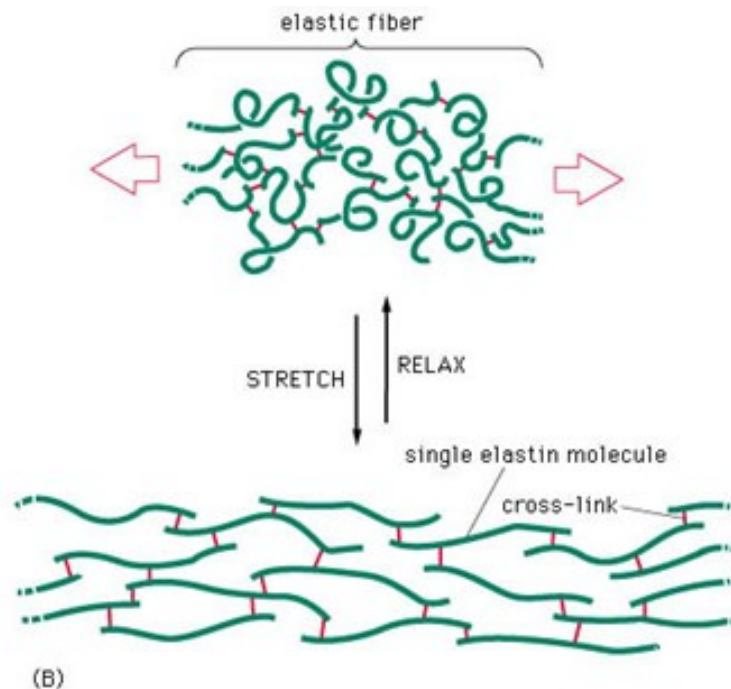
Kůže (hojení ran)

Elastin

- Vlákna bohatá na alifatické AK, Pro a Lys
- Výrazné síťování
 - Šroubovice méně uspořádána než u kolagenu
 - volně zahýbané úseky spojeny příčnými vazbami
 - výsledné mechanické vlastnosti připomínají pryž
 - Tvoří podstatnou část materiálu kůže, cév, plicních sklípků apod. tkání
 - Hydrolýzou peptidových vazeb získáváme směs aminokyselin, obsahující neobvyklé deriváty vzniklé síťovacími reakcemi, např **desmosin**.

Elastin

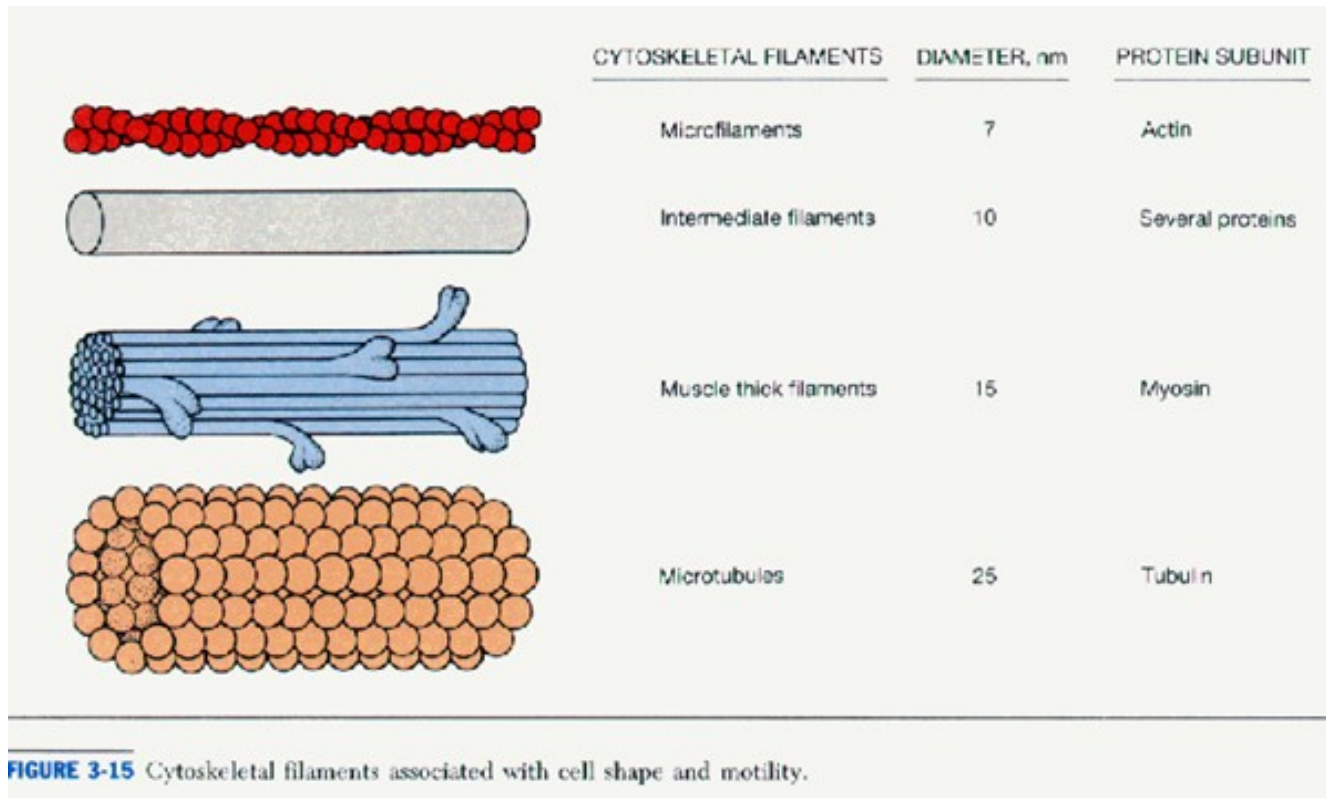
- Schema struktury pojivové tkáně obsahující elastin



- Stárnutím – oxidací
 - více příčných vazeb
 - Ztráta pružnosti

Strukturní bílkoviny cytoskeletu

- Příklady – fibrilární i globulární (agregace do vláken)



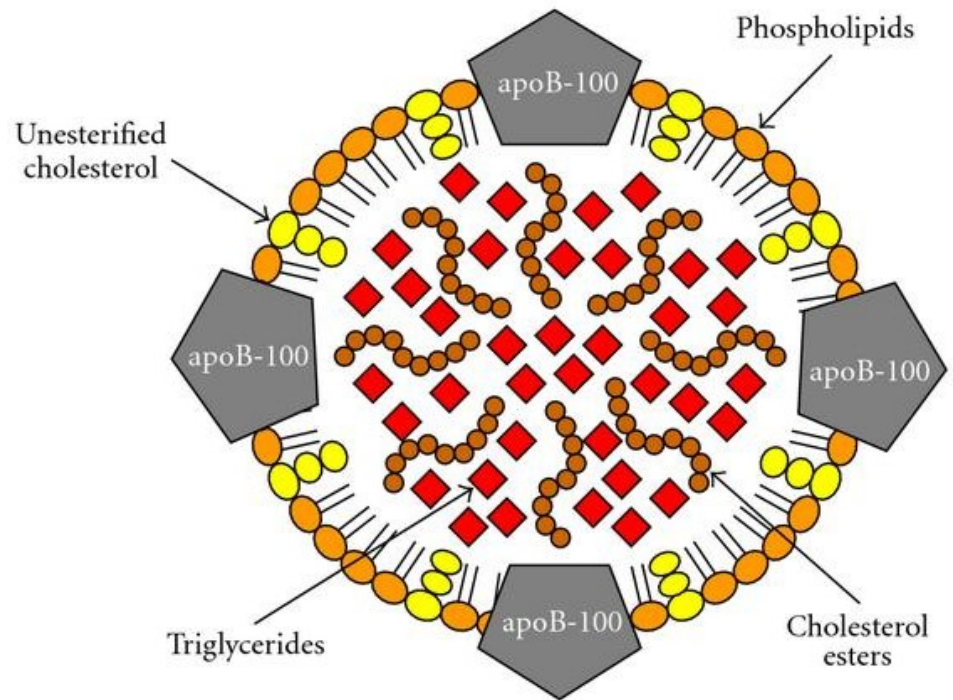
Transportní bílkoviny

- Nepochární látky v polárním prostředí
- Sérový albumin
- Transport MK
 - 7 na molekulu
 - Acyl obalen polárními úseky
 - Přenos dalších látek – léčiva
- Lipoproteiny
 - Komplexní útvary, agregáty mnoha molekul
 - Různá struktura, složení, velikost apod.
- Transport lipidů
 - Cholesterol
 - Tuky aj. lipidy
 - Karotenoidy apod.
 - Nepochární komponenty obaleny fosfolipidy a apoproteiny – orientce



Lipoprotein

y Schéma lipoproteinu



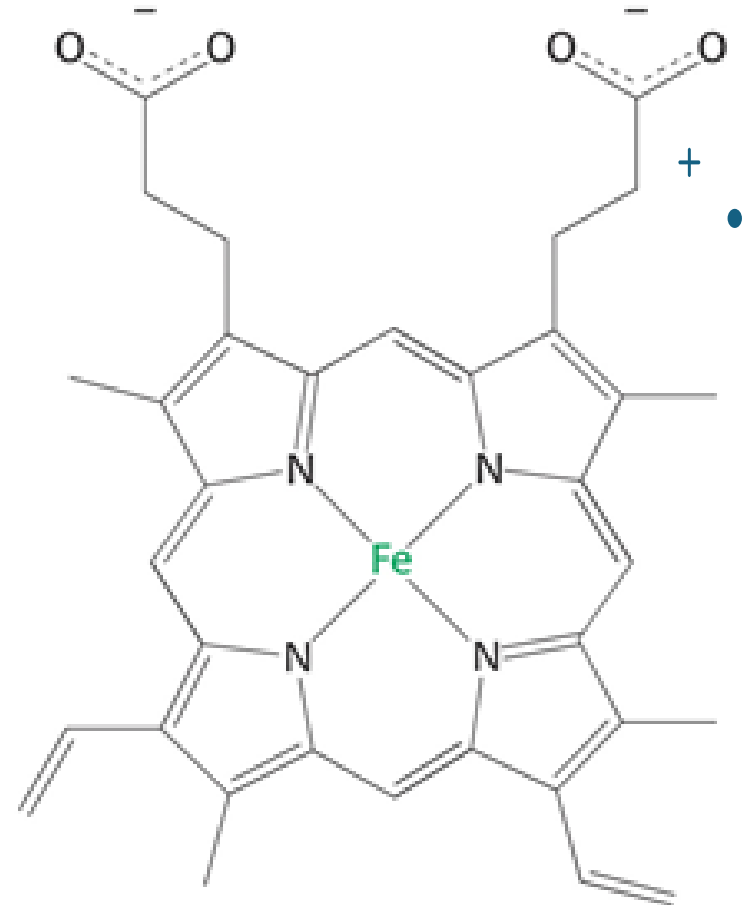
Struktura hemoglobinu (Hb)



- Funkční hemoglobin je tetramer složený ze
 - - 2 podjednotek α (lehké řetězce, 141 aminokyselin) a
 - - 2 podjednotek β (těžké řetězce, 146 aminokyselin)
 - - symbolicky označujeme tento tetramer jako $\alpha_2 \beta_2$
- Označuje se HbA (adult)
 - ev. HbA1 chceme-li odlišit od minoritního (2,5%) HbA2 o složení $\alpha_2 \delta_2$ 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)

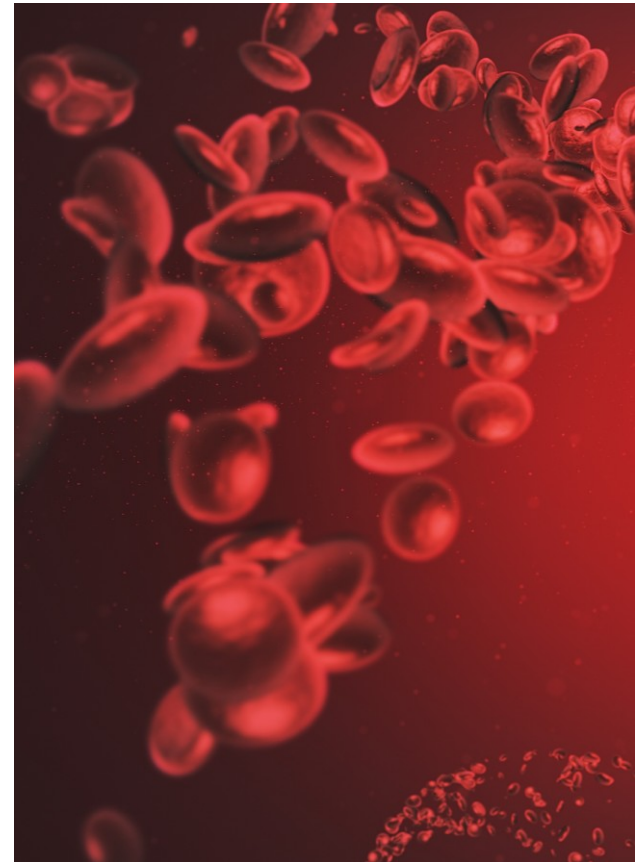
- Prostetická skupina Hb
 - Hem má Fe^{2+}
 - Oxidací na Fe^{2+} vzniká hemin, hemoglobin se mění na methemoglobin



Heme
(Fe-protoporphyrin IX)

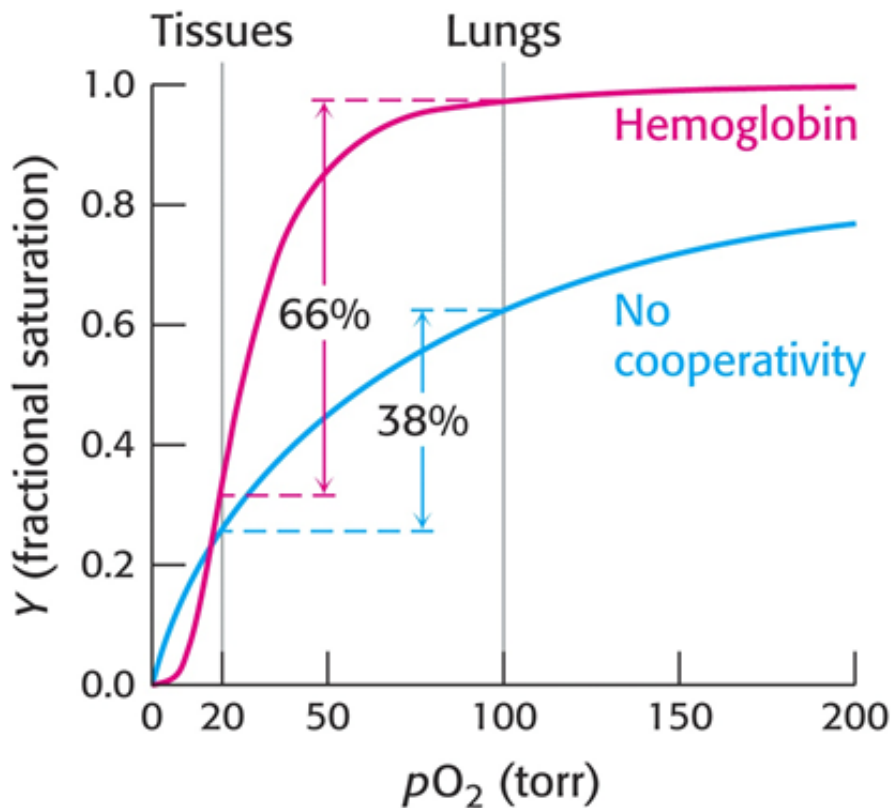
Funkce hemoglobinu

- 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
$$\text{Hb} + \text{O}_2 = \text{Hb} \cdot \text{O}_2 \quad \text{ev.} \quad \text{Hb} + \text{CO} = \text{Hb} \cdot \text{CO}$$
- Hb nazýváme dexoyHb, $\text{Hb} \cdot \text{O}_2$ – oxyHb, $\text{Hb} \cdot \text{CO}$ – karbonylHb



Funkce hemoglobinu

- Fysiologickou funkcí Hb je přenos kyslíku v krvi (z plic ev. žaber do tkání)
- Stupeň nasycení Hb kyslíkem (tj. $\text{HbO}_2 / (\text{HbO}_2 + \text{Hb})$) závisí na jeho parciálním tlaku $p\text{O}_2$ v okolním prostředí – červená křivka (torr = 133 Pa)

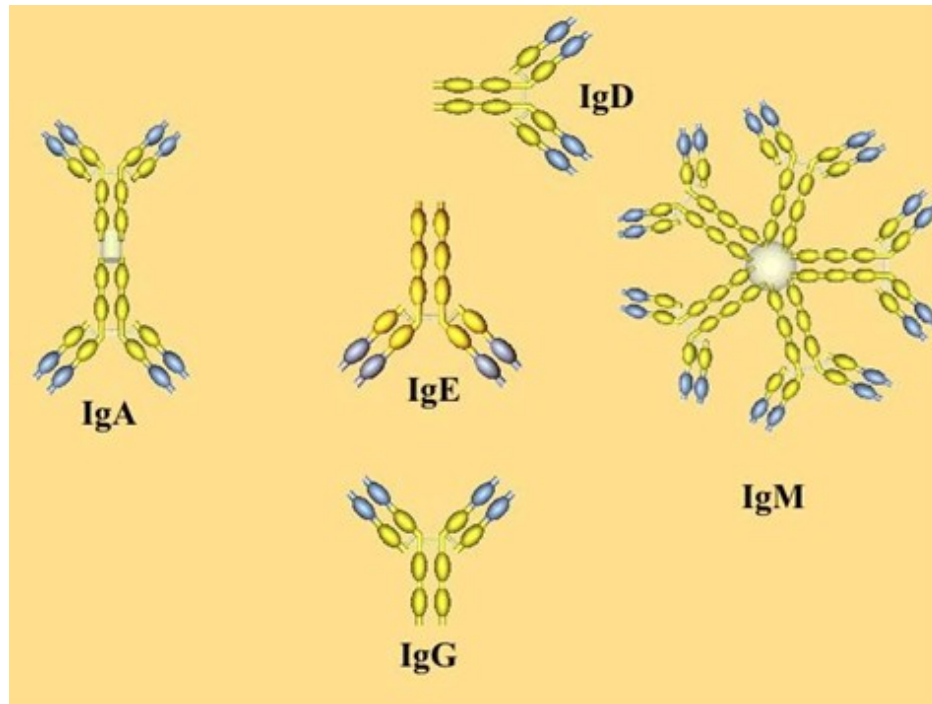


Odbourání hemoglobinu a hemu

- Vyřazené erytrocyty
 - Rovnováha ve fyziologickém stavu
 - Patologické stavy
- Štěpení na apoproteinu
 - Verdoglobulin
- Uvolnění z apoproteinu
 - Biliverdin
- Bilirubin
 - Redukcí biliverdinu
 - Konjugace s 2 glukuronáty – transport
 - Vylučování žlučí (žlučová barviva)
 - Zvýšení – marker patologických stavů
- Produkty střevní mikroflory a ledvin
 - Redukce – sterkobilin, urobilin



Bílkoviny imunitního systému



- ***Schematické znázornění struktur imunoglobulinů.***

Bílkoviny imunitního systému

- Funkce in vivo – přirozený systém
 - část složitého mechanismu, funkce spíše signální, aglutinace (erytrocyty)
 - indukovaná syntéza, energetická náročnost, regulace
 - rozpoznávací schopnost, specificita
 - kapacita
- Poruchy
 - Autoimunitní choroby
 - Nedostatečná produkce
- Immunologie, imunochemie

