

Ivana FELLNEROVÁ
Katedra zoologie PřF UP Olomouc

1. PROTEINY

přehled pro fyziologii

<http://www.zoologie.upol.cz/osoby/fellnerova.htm>

2010/9

Proteiny: obecná charakteristika

- Stojí na počátku vzniku života, jsou podstatou všech živých organismů; zastávají životně důležité funkce, bez kterých by život nemohl existovat
- Kvantitativně (50-80% sušiny) i kvalitativně nejvýznamnější složka živých organismů (strukturní i regulační molekuly)
- Vysokomolekulární přírodní látky (biopolymery), jejichž stavebními kameny jsou aminokyseliny
- V porovnání s ostatními sloučeninami, se proteiny se vyznačují největší variabilitou vůbec

Ivana FELLNEROVÁ, PřF UP Olomouc

Proteiny: trocha historie



Henri BRACCONNOT (1780-1855)

Francouzský chemik a farmaceut

Mimo jiné studoval základní povahu proteinů a dokázal, že aminokyseliny jsou základní štěpné produkty proteinů



Hermann Emil FISCHER (1852-1919)

Německý chemik,
nositel Nobelovy ceny za chemii (1902)



Vypracoval analytické metody separace a identifikace AMK
Syntetizoval v laboratoři přírodně se vyskytující AMK.
Objevil nové typy AMK (např. prolin)
Definoval peptidickou vazbu a uměle syntetizoval oligopeptidy

Ivana FELLNEROVÁ, PřF UP Olomouc

Proteiny: trocha historie



James B. SUMNER (1887-1955)

nositel Nobelovy ceny za chemii (1946)

http://nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1946/sumner-bio.html

americký chemik, enzymolog

Dokázal bílkovinnou povahu enzymů, pracoval na metodách izolace čistých bílkovin

Poprvé izoloval krystalizaci bílkovinu: enzym ureasu.



Linus Carl PAULING (1901-1994)

americký kvantový chemik a biochemik.

Podílel se na objevování prostorové stavby

bílkovin (odvození α -helixu),

patří k zakladatelům molekulární biologie

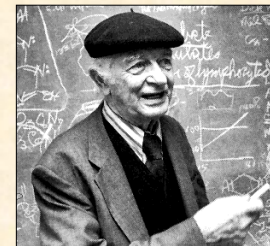
Významně přispěl i do řady dalších oborů,

včetně anorganické a organické chemie,

metalurgie, imunologie, anesteziologie a

psychologie.

(Za svou práci na podstatě chemické vazby pomocí kvantové mechaniky, mu byla v roce 1954 udělena Nobelova cena za chemii.)



Ivana FELLNEROVÁ, PřF UP Olomouc

Proteiny: terminologie

- Slovo „**protein**“ pochází z řeckého slova „**protos**“ = „**první**“
- Český název **bílkoviny** je odvozen od slova „**bílek**“.
- Vaječný bílek obsahuje asi 40 různých bílkovin, které plní řadu funkcí.
- V bílku jsou přítomny bílkoviny s vysokým zastoupením esenciálních aminokyselin.
- Vaječná bílkovina dokonce slouží jako referenční bílkovina při srovnání výživové hodnoty bílkovin v jiných potravinách.

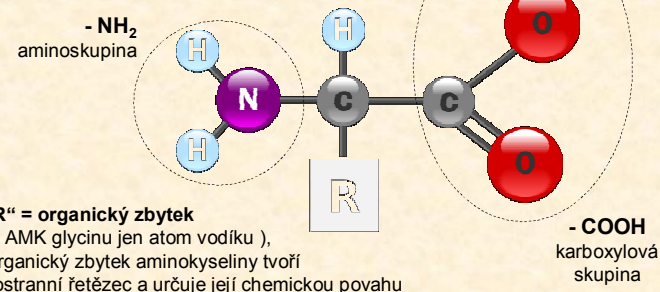


Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

AMINOKYSELINY - základní složky proteinů

Aminokyseliny (AMK) = organické kyseliny, které obsahují alespoň 1 skupinu $-NH_2$. Aminokyseliny představují základní stavební kameny všech proteinů. Je známo celkem 20 (resp. 21) druhů aminokyselin.

Obecný vzorec aminokyseliny



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

Klasifikace AMK: podle chemických vlastností

V závislosti na klasifikačním kritériu členíme AMK do různých skupin, které se mohou částečně překrývat. Vlastnosti AMK (a tím i jejich přiřazení do konkrétní skupiny) se mohou také měnit v závislosti na pH prostředí.

Podle POLARITY (afinitě k vodě):

- **Polární AMK** – nerovnoměrně rozdělený náboj v molekule (zpravidla mají „+“ a „-“ konec); jsou dobře rozpustné ve vodě (hydrofilní). Např. Asp, Glu, Arg, Lys, His, Ser, Tyr atd.
- **Nepolární AMK** – postrádají nesymetrickost nábojů; jsou zpravidla ve vodě nerozpustné. Např. Ala, Gly, Val, Leu, Met, Cys atd.

Podle typu POSTRANNÍHO ŘETĚZCE „**R**“

- **Alifatické:** R = alifatický (nasycený popř. nenasycený, nearomatický) uhlovodíkový řetězec (např. Gly, Ala, Val, Leu)
- **Kyselé:** R = kyselé „-“ nabitá skupina (karboxylová nebo amidová); např. Asp, Glu
- **Zásadité:** R = zásadité, „+“ nabitá skupina (např. Arg, His)
- **Aromatické:** R = aromatické jádro (např. Tyr, Arg)
- **Obsahující síru:** např. Met, Cys
- **Iminokyseliny:** jde o nestálé dikarboxylové kyseliny s $-NH$ skupinou; př. je prolin

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

AMK: podle významu pro výživu člověka

Esenciální AMK

- lidský organismus je nedokáže syntetizovat
- Jsou nezbytné pro normální růst a vývoj
- proto je nutný jejich přísun potravou

Esenciální AMK	zkratka
Valin	Val
Leucin	Leu
Isoleucin	Ile
Fenylalanin	Phe
Tryptofan	Trp
Threonin	Thr
Methionin	Met
Lysin	Lys

Neesenciální AMK

- Tělo si je dokáže samo syntetizovat

Neesenciální AMK	zkratka
Glycin	Gly
Alanin	Ala
Prolin	Pro
Tyrosin	Tyr
Histidin	His
Serin	Ser
Cystein	Cys
Arginin	Arg
Asparagová kyselina	Asp
Glutamová kyselina	Glu
Asparagin	Asn
Glutamin	Gln

PLNOHODNOTNÉ bílkoviny: obsahují všechny esenciální aminokyseliny (většina živočišných bílkovin)
NEPLNOHODNOTNÉ bílkoviny: některé aminokyseliny v nich chybějí (většina rostlinné bílkoviny)

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

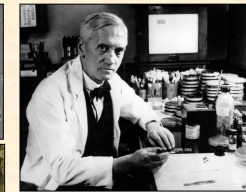
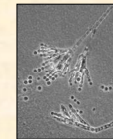
PEPTIDY: Přehled

- **Penicilin (2 AMK)** - antibiotikum
- **Trofni hormony hypotalamu** - (TRH-3AMK, GnRH-10AMK)
- **Glutathion (3 AMK)** - nacházející se v buňkách živočichů, rostlin i bakterií. Je přítomen v mase, zelenině i ovoci a chrání organismus před oxidačním stresem (podílí se na odstraňování peroxidu vodíku).
- **Endorfiny (16-31 AMK)** – hormony štěstí
- **Phalloidin (7 AMK)** – jedovatý alkaloid hub
- **Inzulín (51 AMK)** – hormon pankreatu

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

PENICILIN: dipeptid (2 AMK)

- Základem molekuly penicilinu jsou dvě aminokyseliny, cysteinu a valinu. Konkrétní struktura se však liší podle skupiny, jež je navěšena na některá místa penicilinové molekuly. Podle toho rozlišujeme například penicilin F, G, K, N, O, S, V či X
- Penicilin patří do skupiny beta-laktamových antibiotik, které působí baktericidně.
- Beta-laktamová antibiotika včetně penicilinu obecně brzdí syntézu bakteriálních buněčných stěn, protože se vážou na určité významné enzymy (transpeptidázy a karboxypeptidázy) účastnící se syntézy peptidoglykanu.



- Penicilin objevil v r. 1928 Alexander Fleming, skotský lékař (1881-1955)
- V r. 1945 mu byla dělena Nobelova cena za fyziologii a medicínu (spolu s angličany Howard Floreyem a Ernst Boris Chainem)

Produkt plísně:

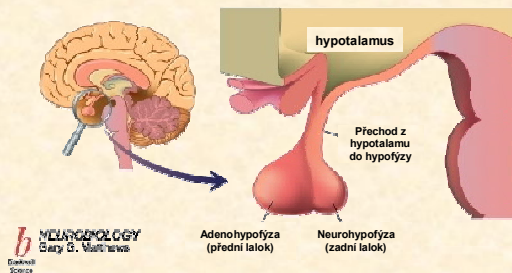
Penicillium chrysogenum
(též *Penicillium notatum*)



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

Hormony HYPOTALAMU (3-10 AMK)

- **TRH (thyrotropin uvolňující hormon) – 3 AMK** (tripeptid): je uvolňován buňkami hypotalamu, přes hypothalamohypofyzární portální systém je transportován do adenohipofýzy, kde stimuluje produkci thyrotropinu (TSH) a prolaktinu.
- **GnRH (gonadotropin uvolňující hormon = LHRH, luteinizační hormon uvolňující hormon)** – finální produkt má **10 AMK**. Je uvolňován buňkami hypotalamu, přes hypothalamohypofyzární portální systém je transportován do adenohipofýzy, kde stimuluje produkci FSH (folikulostimulační h.) a LH (luteinizační hormon)



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

FALLOIDIN (phalloidin) - 7 AMK

- Jedovatý peptidický alkaloid (**7 AMK**), produkovaný **muchomůrkou zelenou (hlízovitou)** - *Amanita phalloides*
- Biochemickou podstatou toxického účinku je inhibice depolymerizace aktinových filament. Poškozuje také strukturu buněčné stěny (váže se na membránové receptory), zejména u jaterních buněk, protože v játrech dochází k jeho koncentrování



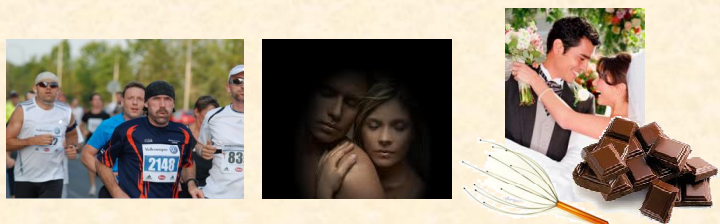
Muchomůrka zelená (hlízovitá)
Amanita phalloides



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

ENDORFINY (16-31 AMK)

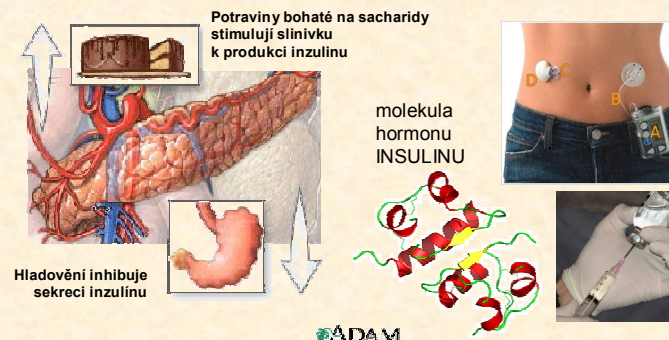
- Opioidní peptidy obsahující obvykle **16-31AMK**
- Vznikají štěpením prekurzorového proteinu v mozku, slinivce, placentě aj.
- Váží se na receptory v membráně cílových buněk – působí jako **neurotransmitery** a **neuromodulátory**
- Endorfin bývá nazýván jako **hormon štěstí**, protože se uvolňuje do mozku a způsobuje dobrou náladu, pocitu štěstí, tlumí bolest, ovlivňuje výdej některých hormonů, **vyplavuje se při stresu a svalové zátěži** (při porodu, sportování).
- Také hraje důležitou roli v některých tělesných funkcích (při regulaci teploty). Je obsažen v mnoha potravinách, jako třeba v **čokoládě**, ale například i v určitých drogách.



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

INZULIN (51 AMK)

- Hormon tvořený dvěma peptidovými řetězci (A-21, B-30 AMK), spojenými disulfidovými můstky (vazbami). Celkem má molekula inzulínu **51 AMK**
- Je produkován β buňkami slinivky břišní; snižuje hladinu krevní glukózy
- V roce 1923 byla objevitelským inzulínu, Bantingovi a Macleodovi (pod jehož záštitou prováděl Banting své pokusy) udělena Nobelova cena za fyziologii a lékařství



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

Od PEPTIDŮ k PROTEINŮM

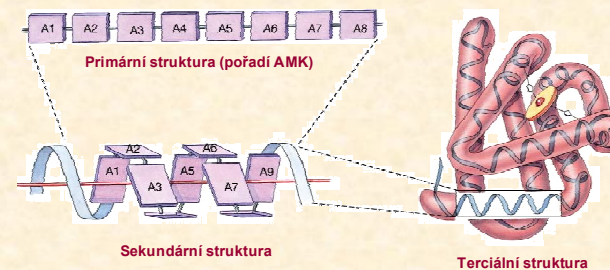
Peptidové řetězce AMK tvoří základ mnohem složitějších látek – **bílkovin (proteinů)**. Často velké a prostorově složité molekuly proteinů popisujeme ve čtyřech úrovních:

- **PRIMÁRNÍ STRUKTURA** proteinů: je dána typem a pořadím AMK v základním peptidovém řetězci
- **SEKUNDÁRNÍ STRUKTURA** proteinů: je dána prostorovým uspořádáním primárního poplypeptidového řetězce v prostoru. Uspořádání může mít následující tvary:
 - α helix (šroubovice)
 - β skládaný list
- **TERCIÁLNÍ STRUKTURA** proteinů: představuje prostorové konformační uspořádání α helix nebo β skládaného listu (resp. obojí) v prostoru
- **KVARTÉRNÍ STRUKTURA** proteinů: udává počet, prostorové uspořádání a typ bílkovinných podjednotek (kompletně „sbalených“ terciálních proteinových struktur)

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

1. PRIMÁRNÍ struktura proteinů

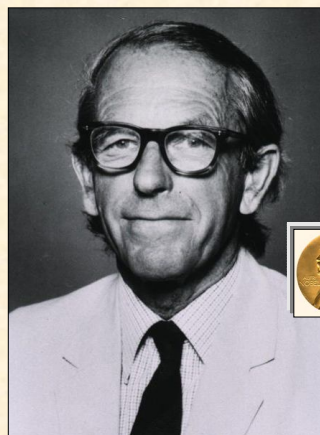
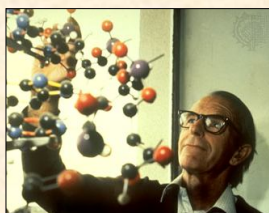
Základní informace o prostorové struktuře a tím o vlastnostech proteinu je uložena v primární struktuře (pořadí AMK). Při proteosynté tedy buňka přímo řídí vznik primární chemické struktury proteinů. Následné budování prostorové struktury proteinu (svinutí, folding) je postupný proces determinovaný primárním pořadím AMK v peptidovém řetězci (struktura primární $\rightarrow$ sekundární $\rightarrow$ terciární $\rightarrow$ kvartérní)



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

Struktura proteinů

- ♦ určení primární a následně kovalentní struktury bílkovin je velmi náročný úkol
- ♦ za jeho vyřešení byla britskému biochemikovi **F. Sangerovi** udělena v roce 1980 Nobelova cena
- ♦ mj. první Nobelovu cenu dostal za určení struktury insulinu



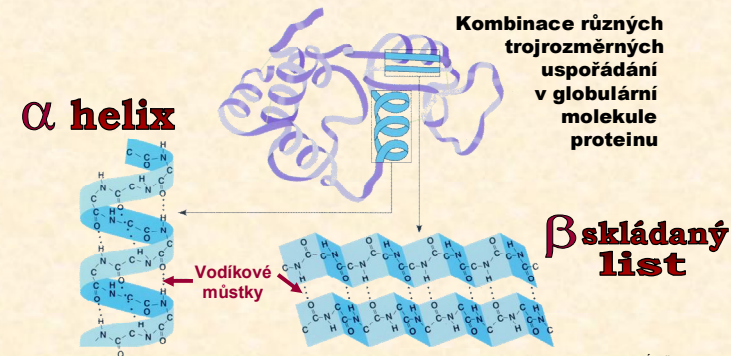
Frederic Sanger (*1918)



Ivana FELLNEROVÁ, PfF UP Olomouc

2. SEKUNDÁRNÍ struktura proteinů

Primární řetězec polypeptidového řetězce AMK je v prostoru stabilizován díky ne vazebným vodíkovým můstkům mezi skupinami $-\text{CO}$ a $-\text{NH}$ do trojrozměrných tvarů: **α helix šroubovici** (vodíkové můstky mezi AMK téhož řetězce)
 β skládaný list (vodíkové můstky mezi AMK dvou sousedních řetězců)
 β otočka a neuspořádané náhodné zakřivení



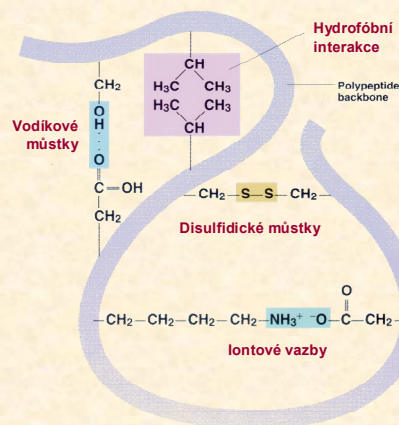
Ivana FELLNEROVÁ, PfF UP Olomouc

3. TERCIÁLNÍ struktura proteinů

Postranní řetězce AMK předurčují další, pokročilejší uspořádání helixu resp. skládaného listu v prostoru. Tím se podílí na tzv. **terciální struktuře proteinů**.

Uplatňují se zde vazby:

- Vodíkové můstky
- Hydrofóbní interakce
- Iontové vazby
- Disulfidické můstky



Ivana FELLNEROVÁ, PfF UP Olomouc

4. KVARTÉRNÍ struktura proteinů

Pokud se molekula proteinu skládá z více polypeptidových řetězců (podjednotek, protomer), mluvíme o tzv. **kvartérní struktuře proteinů**. Molekula proteinu může obsahovat dvě a více stejných nebo různých podjednotek.



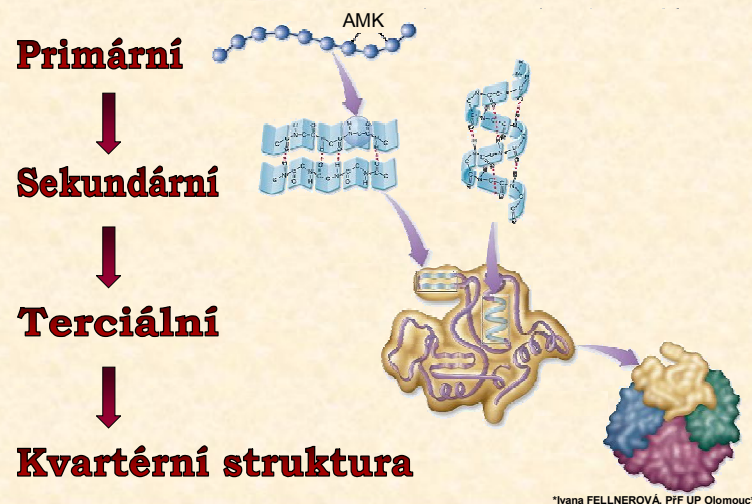
hemoglobin

Typický př. etrameru, tj. bílkovinné molekuly obsahující 4 podjednotky (lidský hemoglobin dospělého čl. obsahuje 2 řetězce α a dva řetězce β)

protein	počet podjednotek	funkce
hemoglobin	4	přenos O_2 z plic do tkání
amyláza	2	enzym štěpící škrob
ferritin	24	protein skladující Fe
virus tabákové mozaiky	2130	proteinový obal virové RNA

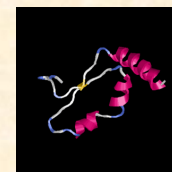
Ivana FELLNEROVÁ, PfF UP Olomouc

Prostorová struktura proteinů - přehled



DYNAMIKA proteinů

- Struktura většiny bílkovin není zcela stálá, ale dynamicky se mění v závislosti na okolním prostředí, potřebách organismu atd.
- Konformační změny proteinu mohou být na úrovni kvartérní, terciální popř. i sekundární
- Základní rysy proteinu se nemění, části makromolekuly však mají možnost pohybu resp. drobných strukturálních změn, které však mohou být pro funkci proteinu zcela zásadní
- Konformační změny dovolují proniknout malým molekulám k reakčním centrům proteinu, umožňují regulaci aktivity mnoha enzymů, jsou podstatou dějů jako svalová kontrakce či přenos informace přes biomembrány



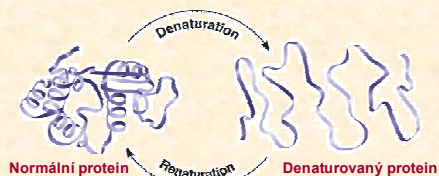
Animace:
Dynamika proměny tvaru proteinu

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

DENATURACE proteinů

Poškození struktury bílkoviny fyzikálními nebo chemickými vlivy označujeme jako **denaturaci bílkovin**.

- Denaturaci rozumíme poškození kvartérní, terciální popř. sekundární struktury proteinu (dochází postupně k rozvinutí molekuly proteinu)
- Denaturace je zpravidla nevratný děj – protein ztrácí svoji biologickou funkci
- Faktory způsobující denaturaci:
 - vysoká teplota (chlad bílkoviny zpravidla nepoškozuje)
 - působení kyseliny, zásady,
 - organického rozpouštědla,
 - iontový stres aj.



Video:
Denaturace proteinu



Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc

DERIVÁTY proteinů

K peptidovému řetězci jsou často připojovány zbytky malých i velkých molekul, které nemají povahu aminokyselin. Vznikají tak různé deriváty proteinů a složené bílkoviny.

- METALOPROTEINY:** součástí molekuly bílkoviny jsou kovové ionty
 - běžně se vyskytující kationty Ca^{2+} , Mg^{2+} stabilizují struktury bílkovin tvorbou iontových příčných vazeb
 - řada enzymů (tzv. metaloenzymy) obsahuje kationty kovů (Zn^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Se^{4+} , ...) jako součást svého katalytického centra
 - mezi metaloproteiny patří i skupina hemoproteinů (přítomností rozsáhlé aromatické skupiny zvané *hem*) – hemoglobin, myoglobin, cytochrom
- FOSFOPROTEINY:** bílkoviny často modifikovány vazbou H_3PO_4
- NUKLEOPROTEINY:** na bílkovinu je vázána DNA nebo RNA (histony)
- GLYKOPROTEINY:** komplex proteinu se sacharidem
- LIPOPROTEINY:** komplex proteinu s lipidy

Ivana FELLNEROVÁ, PFF UP Olomouc