



Aminokwasy
Peptydy
Białka

Podręczniki

Minakowski – Biochemia kręgowców

Bańkowski – Biochemia zwierząt

Malinowska – Biochemia zwierząt

Filipowicz, Więckowski – Biochemia t.I

Biochemia Harpera

Stryer – Biochemia

Lehninger – Biochemia

I inne.....

Cele kształcenia

- zapoznanie z charakterystyką biochemiczną i znaczeniem metabolicznym aminokwasów, peptydów, białek
- zapoznanie z biologicznie ważnymi przedstawicielami aminokwasów, peptydów i białek

Efekty kształcenia

- umiejętność połączenia właściwości chemicznych aminokwasów, peptydów i białek z ich funkcją w organizmie i udziałem w przemianach metabolicznych
- zrozumienie znaczenia aminokwasów, peptydów i białek dla prawidłowej struktury i funkcjonowania komórek

Osocze

Płyn surowiczy po odwirowaniu elementów komórkowych z krwi pełnej. Osocze w zależności od użytego antykoagulanta może być cytrynianowe, heparynowe lub wersenianowe. Może również być bogato- i ubogopłytkowe, wówczas różnicuje się szybkością wirowania pełnej krwi.

Stężenie białka całkowitego w **osoczu**

66 – 87 g/dm³

Stężenie białka całkowitego w **surowicy**

65 – 82 g/dm³

Rola białek osocza

- dystrybucja płynów krew/przestrzeń pozakomórkowa
- funkcje transportowe (nośniki hormonów, metabolitów, metali, leków i in)
- enzymy, regulatory
- białka układu odpornościowego i krzepnięcia krwi
- składniki układu buforowego
- hormony i receptory
- składniki układu tkanki łącznej (adhezyjne)
- materiał odżywczy

Białka osocza

Albuminy osocza stanowią rezerwę białka w organizmie, wykorzystywaną podczas głodu i przy utracie białek w przebiegu różnych chorób. Mają małą zawartość tryptofanu.

Utrzymują stałą objętość krwi i ciśnienie onkotyczne. Transportują kwasy tłuszczowe, bilirubinę, cholesterol oraz jony.

Białka osocza

Globuliny o masie cząsteczkowej większej od masy albumin. Wyróżniamy frakcje:

α_1 1-4% - α_1 antytrypsyna,

α_2 4-13% - α_2 makroglobulina, haptoglobina,
ceruloplazmina

β 7-13% - β_2 mikroglobulina, transferryna,
plazminogen

γ 8-19% immunoglobuliny

Białka osocza

■ **białka ostrej fazy** – markery zapalenia. Mają właściwości inhibitorów proteaz (ochrona ustroju przed uwalnianymi enzymami lizosomalnymi) lub są nośnikami różnych substancji (haptoglobina). Zaliczamy tu: **białko C-reaktywne (CRP)**, α_1 antytrypsynę, α_1 kwaśną glikoproteinę (transportuje progesteron), haptoglobinę (wiąże i transportuje hemoglobinę pozakrwinkową), ceruloplazminę (białko wiążące miedź).

Białka osocza

- białka układu dopełniacza
- transferyna
- fibrynogen
- białka transportujące hormony
- **enzymy**
- **hormony**

Białka osocza

- **immunoglobuliny** – zbudowane z 2 łańcuchów lekkich i 2 ciężkich połączonych mostkami disiarczkowymi

Klasy: **IgG** – stanowią komponentę nabytej odpowiedzi humoralnej (75%)

IgA – stanowią immunologiczną ochronę błon śluzowych, są też w ślinie, łzach, mleku (15%)

IgM – stanowią komponentę pierwotnej odpowiedzi immunologicznej (5-10%)

IgD – funkcja biologiczna mało poznana

IgE – mają znaczenie w chorobach alergicznych

Surowica

Powstaje po odwirowaniu krwi pobranej na tzw „skrzep”. Krew pobraną do suchej probówki po wykrzepieniu odwirowuje się oraz oddziela surowicę od skrzepu. Surowica różni się od osocza brakiem włóknika.

Hipoproteinemia

Obniżenie stężenia białek jest wynikiem utraty białek, zahamowaniem ich syntezy lub rozcieńczenia krwi. Główną przyczyną hipoproteinemii jest zmniejszenie stężenia albumin w łożysku naczyniowym a rzadko niedobór immunoglobulin. Krytyczny poziom białka całkowitego – 45g/dm^3 (albuminy poniżej 20g/dm^3) – wtedy na skutek obniżenia ciśnienia onkotycznego dochodzi do ucieczki wody i powstawania obrzęków, przesięków i hipowolemii. Często hipoproteinemii towarzyszy dysproteinemia czyli zaburzenie stosunku stężeń poszczególnych białek a zwłaszcza albumin do globulin.

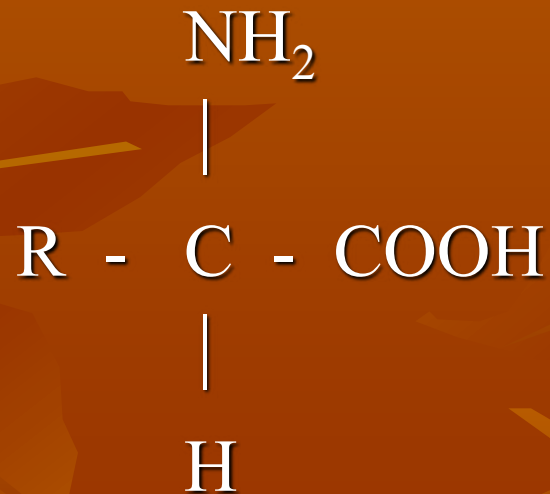
Hiperproteinemia

Jest wynikiem zwiększonej produkcji jednej lub wielu klas immunoglobulin. Połączona z hiperalbuminemią pojawia się podczas odwodnienia.

Definicja

Aminokwasy (glicyna 1820)

Związki organiczne pochodne kwasów karboksylowych zawierające grupę aminową



Podziały

- **Wg konfiguracji:**

1. Białkowe

2. Rzadko występujące w białkach

3. Niebiałkowe

Aminokwasy białkowe

20 aminokwasów które wchodzą w skład białek i peptydów:

- konfiguracja α i L,
- Biosynteza białek (kodony)
- można z nich pozyskać glukozę w procesie glukoneogenezy

Konfiguracje

Obrazek V-1 str 100

Aminokwasy niebiałkowe

β Alanina – składnik dipeptydów karnozyny i anseryny oraz kwasu pantotenowego budującego koenzym A

Ornityna, cytrulina – metabolity pośrednie cyklu mocznikowego

Kwas γ aminomasłowy – ważny dla układu nerwowego

Aminokwasy rzadko występujące

- 5-hydroksylizyna
- 4-hydroksyprolina
- allizyna

Są wynikiem modyfikacji potranslacyjnych:

- Dodanie grupy **OH** do niektórych reszt proliny i lizyny w kolagenie i żelatynie
- Dodanie grupy **metylowej** do niektórych reszt lizyny i histydyny w miozynie mięśni
- Dodanie grupy **karboksylowej** do reszt glutaminowych w białkach krzepliwości krwi oraz białkach krwi i kości
- Dodanie grupy **fosforanowej** do reszt seryny, treoniny, tyrozyny

Aminokwasy „nowe”

Selenocysteina – składnik niektórych białek enzymatycznych. Posiada budowę przypominającą cysteinę ale zamiast siarki ma wbudowany selen. Nie ma swojego kodonu

Pirolizyna – pochodna lizyny

Formylometionina – pochodna metioniny

Podziały

■ Wg możliwości syntetyzowania

1. Egzogenne:
 - rozgałęzione – izoleucyna, leucyna, walina
 - aromatyczne – fenyloalanina, tryptofan
 - siarkowe – metionina
 - zasadowe – lizyna,
 - z grupą OH – treonina
 - histydyna, arginina

2. Endogenne: pozostałe

Konsekwencje: dieta; transaminacja

Podziały

■ Wg Karlsona

1. Z apolarnym łańcuchem bocznym

alanina, walina, leucyna, izoleucyna, prolina, fenyloalanina, tryptofan, metionina

2. Z polarnym łańcuchem bocznym, nie wykazującym ładunku

glicyna, seryna, treonina, cysteina, tyrozyna, asparagina, glutamina

3. Monoaminodikarboksyłowe (naładowane ujemnie)

kw. asparaginowy, kw. glutaminowy

4. Diaminomonokarboksyłowe (naładowane dodatnio)

lizyna, arginina, histydyna

Podziały

■ Wg udziału w przemianach

1. glukogenne:

szlak kwasu pirogronowego (i acetylo CoA): glicyna, seryna, cystyna, cysteina, alanina

szlak kwasu glutaminowego (i α -ketoglutaranu): arginina, prolina, histydyna, glutamina

szlak kwasu bursztynowego: metionina, walina

szlak kwasu szczawiooctowego: asparagina, kwas asparaginowy

2. ketogenne:

szlak acetoacetyloCoA: leucyna, lizyna

3. mieszane: izoleucyna, fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan, treonina

Podziały

■ Wg udziału w strukturach wtórnych białka

1. **Stabilizujące α helisę:** alanina, leucyna, fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan, cysteina, metionina, histydyna, asparagina, glutamina, walina

2. **Destabilizujące α helisę:** seryna, izoleucyna, treonina, kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, lizyna, arginina, glicyna

3. **Przerywające α helisę:** prolina, hydroksyprolina

Reakcje grupy aminowej

- z kwasem azotawym –powstaje azot i następuje zamiana grupy aminowej na hydroksylową (pomiar wydzielonego azotu jest podstawą do ilościowego oznaczania aminokwasów metodą van Slyke`a)
- N-acylowanie halogenkami lub bezwodnikami kwasowymi – powstają N-acyloaminokwasy, służy również do ochrony grup aminowych w syntezie peptydów
- N-alkilowanie, metylowanie – powstają betainy odpowiednich aminokwasów, donorem jest adenozyłometionina
- Reakcja ninhydrynowa – służy do ilościowego oznaczania aminokwasów

Reakcje grupy aminowej

- Reakcja Sangera z fluorodinitrobenzenem – służy do znakowania i ilościowego oznaczania grup aminowych w aminokwasach i peptydach
- Reakcja Edmana z fenyloizotiocjaniem – powstają pochodne fenylotiokarbamoilowe, które po potraktowaniu kwasem ulegają cyklizacji z utworzeniem fenylotiohydantoin. Reakcja służy do identyfikacji NH_2 -końcowych aminokwasów w łańcuchach polipeptydowych i oznaczania sekwencji aminokwasów
- Reakcja z chlorkiem dansylu

Reakcje grupy aminowej

- deaminacja – powstają ketokwasy
- transaminacja

Reakcje grupy karboksylowej

- Redukcja – powstaje aminoalkohol
- Estryfikacja – służy również do ochrony grup karboksylowych w syntezie peptydów
- Dekarboksylacja – powstają aminy (biogenne), reakcja przebiega z udziałem fosforanu pirydoksalu

Aminy biogenne

Histydyna – **histamina** – hormon tkankowy regulujący ciśnienie krwi, odpowiedzialny za reakcje alergiczne

Kwas asparaginowy - **β alanina** – element CoA

Kwas glutaminowy – **kwas γ aminomasłowy**

Seryna – **kolamina** – element tłuszczu złożonych

Treonina - **propanolamina** – element witaminy B12

Cysteina – **cysteamina** – element CoA

Tyrozyna – **tyramina** – hormon tkankowy

- **dopamina** – substrat do syntezy adrenaliny

Tryptofan – **tryptamina** – hormon tkankowy

- **serotonina** – hormon tkankowy

Reakcje grup R

- grupa tiolowa cysteiny
 - Uczestniczy w reakcjach redox
 - Uczestniczy w tworzeniu wiązań disiarczkowych
 - z jonami metali ciężkich powstają pochodne merkaptydowe (inaktywacja centrów aktywnych enzymów)
 - Utlenienie –powstaje cystyna

Reakcje grup R

- grupa hydroksylowa seryny i treoniny
 - Stabilizuje struktury białkowe poprzez tworzenie wiązań wodorowych

Reakcje grup R

- grupa imidazolowa (cykliczna) histydyny

- Służy jako ligand dla jonów metali

Hemoglobina zawiera 4 atomy żelaza związane z białkami poprzez reszty histydyny

Właściwości fizyczno-chemiczne

Właściwości kwasowo-zasadowe – zależą od pH środowiska

- w środowisku kwaśnym aminokwas przyłącza proton, zachowuje się jak kation i wg Bronsteda jest protonodawcą



- w środowisku zasadowym aminokwas oddaje proton, staje się anionem i jest protonobiorcą



- w punkcie izoelektrycznym



Właściwości fizyczno-chemiczne

Punkt izoelektryczny – takie pH w którym aminokwas posiada równowagę ładunków dodatnich i ujemnych, występuje jako jon obojnaczy. W tym pH aminokwas ma najmniejszą rozpuszczalność i nie porusza się w polu elektrycznym.

Konsekwencje – aktywność enzymów

- bufory
- izolacja

Właściwości fizykochemiczne aminokwasów

Obrazek V-4 str 104

Właściwości fizykochemiczne aminokwasów

Zapach – kwas glutaminowy – przyprawa

- produkty reakcji proliny z glukozą – świeży chleb

Smak – kwas glutaminowy – „umami” (5-ty smak)

Toksyczność – pelagra – nadmiar Leu, niedobór Trp

- neurotoksyczność – nadmiar Tyr

Oznaczanie aminokwasów

- metoda ninhydrynowa –powstaje barwny niebieski produkt (wyjątek prolina i hydroksyprolina - żółty)
- metoda cysteinowa –powstaje czarny osad PbS
- metoda Millona –powstaje czerwone zabarwienie
- metoda Adamkiewicza-Hopkinsa –powstaje purpurowa obrączka na granicy dwóch cieczy
- metoda ksantoproteinowa –powstają żółte nitropochodne aminokwasów aromatycznych
- miareczkowanie formolowe wg Sorensena

Rozdział aminokwasów

- elektroforeza
- chromatografia

Otrzymywanie laboratoryjne aminokwasów

- hydroliza kwaśna
- hydroliza zasadowa
- hydroliza enzymatyczna
- metody mikrobiologiczne
- metody syntetyczne
- metody prebiotyczne

Transport aminokwasów przez błony

- układ A – transportuje większość obojętnych aminokwasów
 - ma cechy wtórnego transportu aktywnego
 - zależy od wewnątrzkomórkowego stężenia aminokwasów
 - podlega regulacji hormonalnej
- układ ASC – transportuje alaninę, serynę i cysteinę
- układ Gly- transportuje glicynę
- układ N – transportuje histydynę, glutaminę i asparaginę
- układ L – transportuje leucynę, izoleucynę, walinę i fenyloalaninę
 - działa na zasadzie dyfuzji ułatwionej

Peptydy

Definicja

Cząsteczki łańcuchowe zbudowane z 2 do 100 aminokwasów, w których pojedyncze człony połączone są wiązaniem amidowym zwanym też peptydowym.

- przechodzą przez błony dializacyjne
- ciężar cząsteczkowy do 10 000 D
- nie ulegają denaturacji ze względu na brak struktury wtórnej.

Podziały

- 2 do 10 aminokwasów – OLIGOPEPTYDY
- powyżej 10 aminokwasów – POLIPEPTYDY
- homeomeryczne – złożone wyłącznie z aminokwasów
- heteromeryczne (peptolidy) – zawierają dodatkowe elementy strukturalne
- homodetyczne – zawierają wyłącznie wiązania peptydowe
- heterodetyczne – występują też inne wiązania jak: estrowe, disulfidowe, tioestrowe

Znaczenie peptydów

- biologicznie czynne hormony
- antybiotyki
- toksyny
- w przemyśle spożywczym

Wiązanie peptydowe

Wiązanie amidowe podstawione łączące grupę aminową jednego aminokwasu z grupą karboksylową drugiego aminokwasu (z wydzieleniem cząsteczki wody). Ma charakter wiązania kowalencyjnego i wykazuje następujące cechy:

- **seminienasycone** – pojedyncze wiązanie C-N ma w około 40% charakter wiązania podwójnego, a podwójne C=O ma w podobnym stopniu charakter wiązania pojedynczego
- **planarne** – atomy C i N, a także C sąsiadujące z nimi leżą w jednej płaszczyźnie
- **trans-podstawione** – atomy C znajdują się zawsze w pozycji trans w stosunku do siebie i do wiązania peptydowego
- **polarne**

Synteza łańcuchów peptydowych

Cele:

1. Potwierdzenie proponowanych struktur pierwszorzędowych za pomocą syntezy chemicznej
2. Badania zależności między strukturą a aktywnością za pomocą analogów syntetycznych
3. Zmiany chemiczne biologicznie czynnych peptydów w celu modyfikacji efektów farmakologicznych
4. Wymagania ekonomiczne
5. Otrzymywanie peptydów modelowych

Etapy oznaczania sekwencji aminokwasów

1. Identyfikacja reszt aminokwasu NH_2 i COOH końcowego
2. Hydroliza łańcucha polipeptydowego pod działaniem trypsyny
3. Rozdział elektroforetyczny lub chromatograficzny uzyskanych fragmentów oraz identyfikacja NH_2 i COOH końcowych aminokwasów
4. Stopniowa degradacja Edmana
5. Hydroliza wyjściowego materiału pod działaniem innej peptydazy

Biologicznie ważne oligopeptydy

- dipeptydy - karnozyna i anseryna, aspartam (słodszy od sacharozy)
- tripeptydy - glutation
- tetrapeptydy - endomorfina
- pentapeptydy - enkefaliny
- heksapeptydy – angiotensyna IV
- heptapeptydy – angiotensyna III
- oktapeptydy - angiotensyna II
- nonapeptydy – bradykinina, wazopresyna, oksytocyna
- dekapeptydy – kinina, angiotensyna I

Biologicznie ważne polipeptydy

- 16-27 – endorfiny α i γ
- 27 - sekretyna
- 29 – Glukagon
- 32 - Kalcytonina
- 39 - ACTH
- 51 – Insulina (86 – proinsulina)
- 84 - Parathormon

Glicyna (1820r.)

- występuje szczególnie w tkance łącznej
- ma możliwość neutralizowania substancji toksycznych poprzez łączenie się z ich grupami COOH np.:
 kwask benzoesowy + glicyna → kwas hipurowy
- bierze udział w syntezie zasad purynowych
- brak asymetrycznego węgla
- łączy się z kwasami żółciowymi

Alanina (1888 r.)

- występuje praktycznie w każdym białku
- po deaminacji powstaje pirogronian – substrat glukoneogenezy

Seryna (1865)

- po dekarboksylacji daje kolaminę – składnik tłuszczów złożonych
- łatwo ulega estryfikacji z kwasem fosforowym

Treonina (1935)

- łatwo ulega estryfikacji z kwasem fosforowym

Fenyloalanina (1879) i Tyrozyna (1846)

- prekursor hormonów tarczycy, adrenaliny i melanin
- bloki metaboliczne w przemianach:
 - Alkaptonuria – brak oksygenazy homogentyzynianowej
 - Fenyloketonuria – brak hydrolazy fenyloalaninowej
 - Albinizm – brak oksygenazy o-difenolowej

Tryptofan (1901)

- prekursor w syntezie witamin z grupy B – kwasu nikotynowego
- po dekarboksylacji daje serotoninę
- dzięki obecności pierścieni aromatycznych pochłania światło nadfioletowe o dł 280 nm – daje to możliwość oznaczeń spektrofotometrycznych
- tworzy żółte nitro pochodne z kwasem azotowym (ozn ilościowe)
- bloki metaboliczne w przemianach:
 - Choroba Hartnupa – brak oksigenazy tryptofanowej

Histydyna (1896)

- po dekarboksylacji daje histaminę

Cysteina (1884)

- składnik glutationu
- pochodna cysteiny – tauryna- tworzy kompleksy z kwasami żółciowymi
- pochodna – cystyna (1810)
- utlenienie prowadzi do powstania kwasu cysteinowego
- ogrzewanie w zasadowych roztworach powoduje uwolnienie siarki, amoniaku i wytworzenie pirogronianu

Metionina (1922)

- dawca fragmentów jednowęglowych do syntez (jako S-adenozylometionina)
- nie daje reakcji cysteinowej

Walina (1901), Leucyna (1819), Izoleucyna (1904)

- egzogenne – ze względu na rozgałęziony łańcuch

Lizyna (1889), Arginina (1895)



Prolina (1901)

- charakterystyczny składnik kolagenu – białka tkanki łącznej
- pochodna - hydroksypolina

Kwas asparaginowy (1868) i Asparagina

- zdolność wiązania amoniaku

Kwas glutaminowy (1866) i Glutamina

- związki transportujące jony amonowe