

SEC XI.	Biochémia, látky v živých organizmoch
SEC XI. 3	Bielkoviny (Proteíny)

Cieľové požiadavky

Obsahový štandard: *Bielkoviny (proteíny), biologická funkcia. Aminokyselina, glycin, alanin. Esenciálne aminokyseliny. Peptidová väzba. Primárna, sekundárna, terciárna a kvartérna štruktúra bielkovín. Fibrilárne, globulárne bielkoviny. Denaturácia. Lipoproteíny, glykoproteíny, fosfoproteíny, hemoproteíny, hemoglobín. Amfión. Izoelektrický bod. Peptidy. Biuretová reakcia. Močovina.*

Výkonový štandard:

- Klasifikovať bielkoviny z hľadiska zloženia, štruktúry, výskytu a významu pre živé organizmy.
 - Zapísať všeobecný konštitučný vzorec α -aminokyselín.
 - Uviesť názvy, písmenové skratky a rozlíšiť vzorce glycinu, alanínu, valínu, leucínu, fenylalanínu.
 - Klasifikovať aminokyseliny z hľadiska ich vlastností a výživy.
 - Rozhodnúť na základe štruktúrnych vzorcov, či uvedené aminokyseliny majú kyslý, zásaditý alebo neutrálny charakter.
 - Vymenovať aspoň štyri esenciálne aminokyseliny a ich potravinové zdroje.
 - Napísať rovnicu reakcie vzniku dipeptidu alebo tripeptidu z daných vzorcov aminokyselín.
 - Napísať štruktúru peptidovej väzby a charakterizovať ju.
 - Opísať primárnu, sekundárnu, terciárnu a kvartérnu štruktúru bielkovín a ich význam.
 - Vysvetliť princíp denaturácie bielkovín vo vzťahu k ich priestorovej štruktúre a vymenovať možné príčiny denaturácie.
 - Navrhnuť a zrealizovať denaturáciu bielkovín teplom a ťažkými kovmi.
 - Rozhodnúť, či uvedené aminokyseliny sú chirálne zlúčeniny.
 - Vysvetliť správanie sa aminokyselín v roztokoch s rozdielnou hodnotou pH.
 - Vymenovať typy väzieb, ktoré umožňujú vznik sekundárnej a terciárnej štruktúry bielkovín.
 - Klasifikovať bielkoviny podľa tvaru molekuly (fibrilárne a globulárne bielkoviny) a uviesť príklady bielkovín.
 - Odôvodniť, prečo sú teploty nad 40 °C nebezpečné pre život človeka a prečo sa varom nestráca výživná hodnota bielkovín.
 - Prakticky zistiť teplotu koagulácie vajcového bielka.
 - Dokázať prítomnosť peptidovej väzby v bielkovinách v predložených vzorkách biuretovou reakciou.
 - Napísať rovnicu reakcie vzniku biuretu zahrievaním močoviny.
 - Klasifikovať zložené bielkoviny a uviesť ich význam pre živé organizmy
- biomakromolekulové viacprvkové zlúčeniny (C, H, N, O, S...)
 - základné stavebné zložky živých organizmov (80% látok v tele, asi 50tisíc druhov)
 - nenahraditeľné
 - zložené z **aminokyselín** spojených **peptidovou väzbou**

Formy získavania bielkovín

- **Rastliny**- tvorba z dusičnanov
- **Živočích**y- príjem v potrave (*lepšie živočíšneho pôvodu- mäso, vajička, mlieko*), rozklad na AMK, tvorba vlastných špecifických bielkovín **proteosyntézou**

Význam

Transportný	hemoglobín, myoglobín
Štruktúrny (stavebný)	kolagén, keratín, glykoproteíny
Obranný	imunoglobulíny
Zásobný-	ovalbumín v bielku
Pohybový	aktín a myozín vo svaloch

Katalytický	enzýmy
Regulačný	hormóny

Rozdelenie bielkovín

I. Podľa prostetickej skupiny

A. Jednoduché	B. Zložené						
zložené iba z aminokyselín(AMK) bez nebielkovinovej zložky	Zložené z AMK aj z nebielkovinovej zložky(prostetická skupina)						
	1.glykoproteíny	2.lipoproteíny	3.fosfoproteíny	4.hemoproteíny	5.metaloproteíny	6.nukleoproteíny	7.flavoproteíny

II. podľa tvaru molekuly

A. Fibrilárne (skleroproteíny)	B. globulárne (sferoproteíny)-
vláknité	klbkové

III. podľa rozpustnosti

A. albumíny	B. globulíny
rozpustné	nerozpustné

Aminokyseliny

- základné stavebné jednotky bielkovín
- v prírode 300 druhov AMK (z toho 20 proteinogénnych)
- **Proteinogénne aminokyseliny**- aminokyseliny tvoriace bielkoviny (ďalej PAMK)

Rozdelenie PAMK podľa významu:

A. neesenciálne (10)	B. esenciálne (10)
<ul style="list-style-type: none"> • Nahraditeľné • organizmus ich dokáže syntetizovať (<i>transamináciou z oxokyselín</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Nenahraditeľné • organizmus ich nedokáže syntetizovať, potrebný príjem v potrave
•	Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr, Trp, Val, His, Arg*

Transaminácia:

Názvoslovie

1.systémové	2.triviálne	2. skratkami (trihláskové)

Vzorce:**Glycín(Gly)****Alanín(Ala)****Serín(Ser)****Valín (Val)****Leucín(Leu)****Fenylalanín(Phe)****Chemické zloženie PAMK**

- substitučné deriváty karboxylových kyselín s dvoma charakteristickými skupinami

1. **karboxylová skupina** - COOHkyslá
2. **aminoskupina** -NH₂zásaditá

- vznikajú nahradeným atómu vodíka aminoskupinou na uhľovodíkovom reťazci (*karboxylová funkčná skupina nezmenená*)
- **α- aminokyseliny** (-NH₂ skupina naviazaná stále na α- uhlíku)
- všetky chirálne (*okrem glycínu*) s chirálnym α- uhlíkom, s **L- konfiguráciou**

Rozdelenie PAMK**1.podľa pomeru –COOH/-NH₂**

kyslé	neutrálne	zásadité
Pri fyziologickom pH výskyt ako anióny, viažu sa s kationmi		Pri fyziologickom pH výskyt ako kationy a môžu viazať anióny

II. podľa polarity

polárne	nepolárne
<ul style="list-style-type: none"> • Postranný reťazec uhľovodíkový zvyšok • ľahko tvoria vodíkové mostíky s vodou • Zvyšujú rozpustnosť bielkovín vo vode 	<ul style="list-style-type: none"> • Postranný reťazec polárne funkčné skupiny • Dodávajú schopnosť viazať nepolárne nízkomolekulové látky (lipidy) • Dodávajú bielkovinám hydrofóbnosť

Optická izoméria PAMK

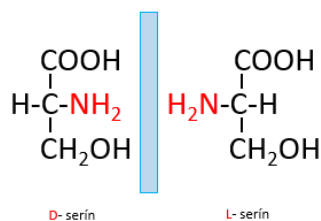
- Typ priestorovej konfiguračnej izomérie

Priestorová- izoméry majú rovnaký sumárny aj konštitučný vzorec, líšia sa priestorových usporiadaním atómov

Konfiguračná- rôzne priestorové usporiadanie nesúvisí s rotáciou okolo jednoduchej väzby

Enantioméry (antipódy)

- dvojica optických aktívnych izomérov, predmet a zrkadlový obraz
- Rovnaké vlastnosti (T_v , T_t , *rozpustnosť*, K_A), líšia sa schopnosťou otáčať rovinu polarizovaného svetla o rovnaký uhol, ale opačným smerom (*všetky PAMK okrem glycínu*)- **opticky aktívne**
- **Racemická zmes**- zmes dvoch enantiomérov v pomere 1:1, opticky neaktívna
- D a L enantioméry - podľa štruktúry serínu
 - ľavotočivé/ + pravotočivé enantioméry
- Počet enantiomérov $2^n - n =$ počet chirálnych uhlíkov



Vlastnosti PAMK

- Pevné, bezfarebné, vysoká teplota topenia
- Opticky aktívne, iónové zlúčeniny, viac alebo menej rozpustné vo vode (v pH=7)
- **Amfolyty**- môžu uvoľňovať aj prijímať protón vodíka (*schopné tvoriť kation, anión, amfión*)

Izoelektrický bod

- Určité pH, pri ktorom má AMK dokonale iónovú štruktúru -je v stave amfiónu
- Má nulový náboj a je najmenej rozpustná vo vode
- neprebíha elektrolýza (*neputujú k elektródam*)
- V alkalickom a kyslom prostredí tvoria + a - štruktúry
- Vplyvom elektrického prúdu sa v rôznom pH môžu pohybovať k elektródami
 1. v kyslom ku katóde (*tvoria katióny*)
 2. v zásaditom k anóde (*tvoria anióny*)

Peptidová väzba

- Vzniká kondenzáciou α - aminoskupiny jednej AMK s α -karboxylovou skupinou inej AMK (*uvoľnenie H_2O*)
- Väzba môže nastať medzi rovnakými alebo odlišnými AMK
- Všetky atómy sú v jednej rovine, možná rotácia (v bielkovinách trans rotácia bočných reťazcov)
- Ľahko podlieha hydrolýze, stála voči oxidácii
- V živých organizmoch vzniká pri proteosyntéze

Biuretová reakcia

- Dôkaz prítomnosti peptidovej väzby v zlúčenine
- Činidlo $CuSO_4$ s NaOH
- Vznik ružového až modrofialového zafarbenia (komplex medi)
- Pozitívna reakcia minimálne tripeptid (*2peptidové väzby*)
- Praktické využitie- dôkaz **bielkovín v moči** (*zápal v tele*)
- *Názov odvodený od biuretu (vznik zahrievaním 2 molekúl močoviny)*

Peptidy

- vznikajú spojením aminokyselinových zvyškov peptidovou väzbou

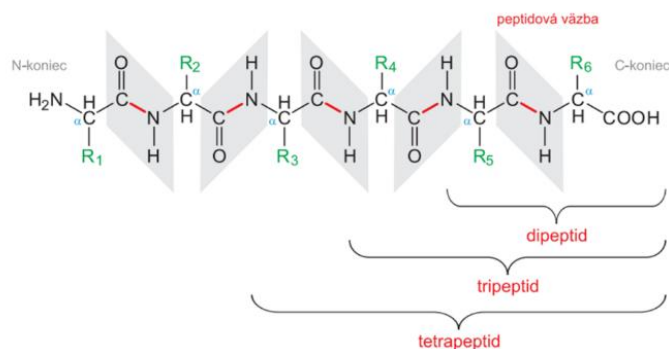
A. oligopeptidy	B. Polypeptidy	C. Makropeptidy- Bielkoviny
2-10 zvyškov AMK	11-100 zvyškov AMK	viac ako 100 zvyškov AMK

Niektoré prírodné peptidy

Hormóny- Oxytocín,
vazopresín,
glukagón, inzulín
ATB- penicilín
Toxíny- amanitín

Polypeptidová kostra

- vzniká striedaním atómov α -uhlíka a peptidových väzieb v polypeptidovom reťazci



Štruktúra bielkovín

- Závisí od nej špecifická funkcia bielkovín
- presné poradie aminokyselín a priestorové rozloženie atómov v polypeptidovom reťazci

1. Primárna štruktúra

- **Pomerné zastúpenie jednotlivých druhov a poradie (sekvencia) AMK v polypeptidovom reťazci**
 - ✓ Podmieňuje vlastnosti a biologickú funkciu bielkovín (špecifická pre každú AMK)
 - ✓ Vzniká kovalentnými väzbami medzi jednotlivými atómami v AMK
 - ✓ Určuje vyšší stupeň štruktúry bielkovín- sek., terc., kvart.
 - ✓ Pri zámene AMK v reťazci, môže dôjsť k vzniku ochorenia
 - ✓ Zakódovaná v dedičnej informácii



Kosáčiková anémia
Genetické ochorenie spôsobené zámennou aminokyselinou Glu za Val v reťazci, tvorba patologického hemoglobínu S a zmena tvaru erytrocytov, ktoré upchávajú cievy

2. Sekundárna štruktúra

- **geometrické usporiadanie (konformácia) polypeptidového reťazca v priestore**
 - ✓ umožňujú vodíkové mostíky medzi polárnymi skupinami C=O.....H-N (zvyšky AMK sa orientujú do priestoru- nad a pod rovinu listu, mimo závitnice)

Typy sekundárnej štruktúry

β - štruktúra	α - helix
skladaný list	pravotočivá závitnica
Postranné reťazce nad a pod rovinu	Postranné reťazce von zo závitnice
	jeden závit 3,6-3,7 AMK, do závitú každá 19.AMK, stabilizovaná vodíkovými väzbami medzi kyslíkom -COOH jednej AMK a vodíkom -NH ₂ skupiny druhej AMK

3. Terciárna štruktúra

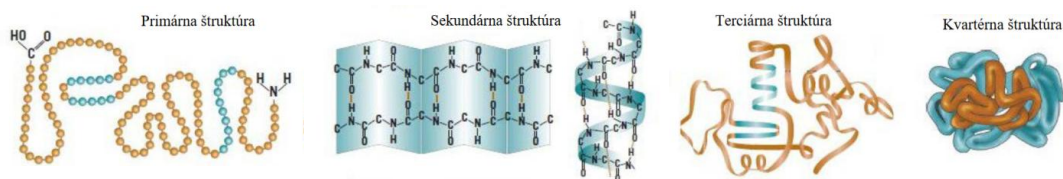
- **definitívny priestorový tvar skladaného listu alebo α - helixu v priestore**
 - ✓ vzájomné usporiadanie všetkých atómov molekuly v priestore
 - ✓ Na tvorbe sa podieľajú vodíkové mostíky, iónová väzba, disulfidové väzby, van der Waalové sily
 - ✓ Určuje stavbu aktívneho centra, ktoré zodpovedá za špecifickú biologickú funkciu bielkoviny, napr. enzýmov (*pri porušení centra sa poruší funkcia*)

Typy terciárnej štruktúry

Fibrilárny (vláknitý)	Globulárny(guľovitý)
vodíkové mostíky medzi rôznymi reťazcami	vodíkové mostíky v rámci toho istého reťazca

4. Kvantárna štruktúra

- **vzájomné usporiadanie viacerých polypeptidových reťazcov** (bielkovinových podjednotiek) **v bielkovine do makromolekuly**
 - ✓ Vzniká nekovalentnými medzimolekulovými silami a hydrofóbnou interakciou
 - ✓ Napr. štruktúra hemoglobínu, enzýmov



Natívny stav bielkovín

- bielkovina s určitou konkrétnou priestorovou štruktúrou (*sekundárna a terciárna*), v ktorej môže vykonávať svoju biochemickú funkciu

Denaturácia

- **zmena natívnej štruktúry pričom dochádza k strate biologickej funkcie**
- vplyvom vonkajších podmienok (*teplota, ťažké kovy, kyseliny, hydroxidy, zmena pH, silné trepanie roztokov, žiarenie, vysoký tlak*)
- Mení sa sekundárna, terciárna štruktúra (*primárna ostáva nezmenená*)- dochádza k porušeniu slabých interakcií
- **Zachováva sa biologická hodnota**

Faktory spôsobujúce denaturáciu

1.	Fyzikálne	teplo, extrémne pH, žiarenie, vysoký tlak
2.	Chemické	kyseliny, hydroxidy, soli ťažkých kovov, močovina, organické rozpúšťadlá, tenzidy
3.	Mechanické	silné trepanie

Typy denaturácie

1.	vratná (reverzibilná)	-možnosť obnovy natívnej štruktúry bielkoviny- renaturácia -zmena globulárnej na fibrilárnu, AMK zvyšky sa dostanú vonku, zníži sa rozpustnosť -vysolovanie bielkovín pri rôznych koncentráciách solí- delenie bielkovín <i>Napr. soli</i>
2.	Nevratná (ireverzibilná)	-nenávratne poškodená natívna štruktúra bielkoviny -obnažené AMK zvyšky tvoria stabilné agregáty a zníženie rozpustnosti bielkoviny <i>Napr. H⁺, OH⁻, teplota, vysoký tlak, žiarenie,</i>

Využitie denaturácie v praxi

- Rozložené bielkoviny sú ľahšie stráviteľné (prístupnejšie pre hydrolázy), no zachovávajú sa výživné hodnoty

- sterilizácia- zničenie choroboplodných zárodkov(spracovanie a uskladnenie potravín, chirurgické nástroje)
- potravinárstvo- výroba piva
- deproteinizácia vzoriek pre klinickú a biochemickú prax (analýza)
- prvá pomoc pri otrave Hg a Pb- podanie mlieka alebo vajcového bielka(ťažké kovy vytvoria s bielkovinou nerozpustnú látku vo vode)
- dôkaz bielkovín v moči pri ochoreniach vylučovacej sústavy (zrážanie bielkovín kyselinou sulfosalicylovou)

Vplyv telesnej horúčky

- 35°C- 37°C- najideálnejšia pre účinok enzýmov v ľudskom tele
- nad 40°C bielkoviny v tele denaturujú a strácajú biologickú aktivitu
- pri infekcii sa ňou telo chráni (*denaturuje bielkoviny mikroorganizmov*)

Nedostatok bielkovín- únava, slabosť, nadmerný hlad, zmena nálad, nesústredenosť, stres, nespavosť, podvýživa, znižovanie pohyblivosti a svalovej sily (strata a ochabnutie svalstva), znížená odolnosť voči infekciám, spomalenie rastu, spomalenie hojenia rán, problémy s vlasmi, nechtami, pokožkou (nekvalita, suchosť, praskanie), málokrvnosť

- Zvýšené množstvo bielkovín- potrebné v tehotenstve, počas choroby, kojenja
- Potrebné množstvo- dospelý 1g/1kg-denne, dieťa 2-3g/kg-denne

Prehľad proteínov

		názov	výskyt	význam	poznámka	
Jednoduché Zložené iba z AMK	Fibrilárne Skleroproteíny <i>(nerozpustné vo vode)</i> <ul style="list-style-type: none"> Vláknitá štruktúra stavebná funkcia bunky 	kolagén	Spojivové tkanivá (kosti, zuby, chrupavky, šľachy, steny ciev, bunkové pletivá, plutvy rýb)	tvorba želatíny(<i>varením tkanív</i>)	potrebný príjem vit. C usporiadanie polypeptidových vlákien do tvaru lana dodáva pevnosť	
		keratín	Kožné deriváty(vlasy, chlpy, perie, šupiny...)	Ochrana tela	Trvalá ondulácia Pevnosť dodávajú disulfidové väzby medzi zvyškami cysteínu	
		fibroín	Vlána produkované hmyzom a pavúkmi (hodvábne vlákno, zámotky, obaly vajíčok, hniezda, siete)			
		elastín	Elastické spojivové tkanivo (pľúca, steny tepien, väzy v krku, pokožka)	Elastickosť organových tkanív		
	Globulárne Sféroproteíny <i>(rozpustné vo vode a roztokoch solí)</i> <ul style="list-style-type: none"> guľovitý zložitý tvar 	Albumíny <i>Rozpustné vo vode</i>		mlieko, krvné sérum, vaječné bielko, pšenica, svaly, hrach	zdroj AMK	
			Globulíny <i>Málo rozpustné vo vode, dobre v roztokoch solí</i>	γ-globulín	mlieko, krvné sérum, vaječné bielko, svalové tkanivo, pečeň	protilátky v imunite
		fibrinogén		zrážanie krvi		tvorí vláknitý fibrín
		trombín		iniciuje premenu fibrinogénu na fibrín		
		glutén(lepok)		zmes prolaminov a glutelínov, obilných bielkovín,	príprava jedla	neschopnosť spracovať lepok- celiakia

	názov	výskyt	význam	poznámka	
Zložené Zložené z AMK a prostetickej skupiny	Lipoproteíny (cholesterol a jeho estery, fosfolipidy, acylglyceroly)		stavba bunkovej membrány, transport lipidov		
	Glykoproteíny (oligo/polysacharidy)	mucín	žalúdok, sliny	ochrana stien žalúdka pred účinkami HCl zvýšenie viskozity sliznicových sekrétov	Aj v hormónoch, antigénoch erytrocytoch
	Fosfoproteíny (estericky viazaná H_3PO_4)	kazeín	mlieko, bielko	Zdroj vápnika pre kosti, zdroj fosforu pre syntézu nukleových kyselín	
	Hemoproteíny (hém)	hemoglobín	krv	Prenášanie kyslíka krvou	
		myoglobín	svaly	Prenášanie kyslíka svalmi	
		cytochrómy		katalýza oxidačných procesov - dýchací reťazec, fotosyntéza	
	Metaloproteíny (kovový prvok)	feritín	pečeň, slezina	Zásoba alebo transport kovu v organizme	Patrí tu aj myoglobín a hemoglobín
		transferín			
metaloenzýmy					
Nukleoproteíny (nukleové kyseliny)	históny	Bunkové jadrá	prenos genetických informácií, syntéza bielkovín	Obsahujú zásadité aminokyseliny	
Flavoproteíny (deriváty vitamínu B2-riboflavínu)		strukoviny, obilniny, oriešky, zeleniny, semená, mäso, hydina, ryby, vajcia, syr, jogurty	Metabolizmus, oxidačné procesy v dýchacom reťazci a fotosyntéze		