

Метаболизам на протеини

Што ќе биде опфатено во предавањата?

- Предвидени 4 блок термини (15/5/2018, 15/6/2018 и два по договор)

Термин 1

Извори и претворби на аминокиселините во телото

Извор на аминокиселини

Разложување на протеини

Разложување на протеини внесени со храна

Разложување на клеточни протеини

Разложување на аминокиселини до нивни составни делови

Термин 3

Биосинтеза на аминокиселини

Фиксација на азот од атмосферата

Биосинтеза на поодлени аминокиселини (неесенцијални и есенцијални)

Аминокиселините како прекурсори за синтеза на мали молекули (невротрансмитери, биогени амини, креатин и фосфокреатин)

Термин 2

Циклус на уреа

Претворби на јаглородниот скелет на аминокиселините

Циклус на аланин

Врска со останатите метаболички циклуси

Метаболизам на пооделни аминокиселини

Клинички состојби поврзани со дефекти во метаболизмот на аминокиселини

Термин 4

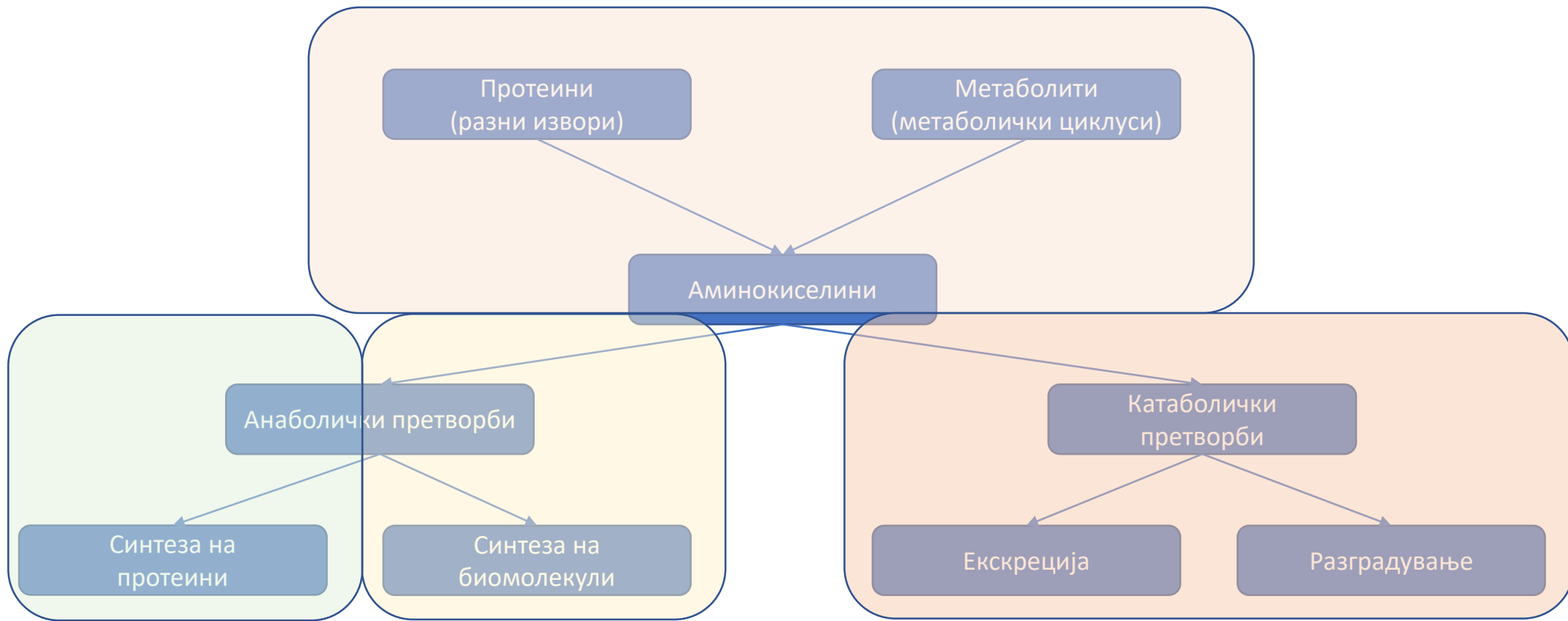
Биосинтеза на протеини

Врска меѓу DNA, RNA и протеини

Општ приказ на биосинтеза на протеини

- Материјали: Биохемија учебник Lehninger (превод на македонски, поглавје 18, 22(22.1, 22.2 и 22.3) и 27), презентации (во pdf формат), дополнителна литература е достапна на барање на студентите
- Конултации и прашања – e-mail: olja_trencevska@yahoo.com

Метаболизмот на протеини вклучува процеси на катаболизам и анаболизам



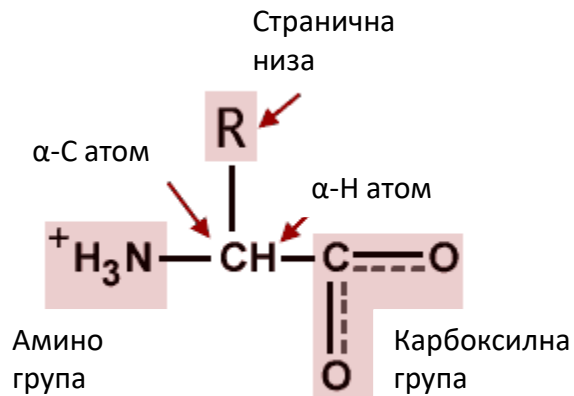
Извори и претворби на аминокиселините во организмот

Што ќе биде опфатено?

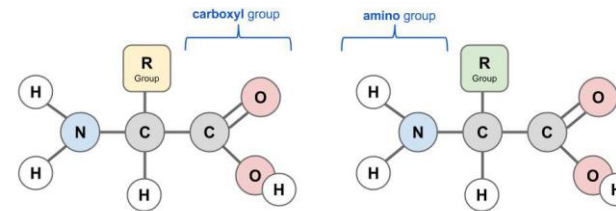
- Потсетување на структурата/функцијата на аминокиселините
- Потекло на аминокиселините во организмот
- Извори и претворби на аминокиселините
 - Извор на аминокиселини:
 - внесени со храна
 - разградување на клеточни протеини
 - биосинтеза во организмот
- Разложување на протеини
 - Разложување на протеини внесени со храна
 - Разложување на ниво на лизозоми
 - Ензимско разложување со протеази
 - Разложување на клеточни протеини
 - Разложување на аминокиселини до нивни составни делови
 - Разложување на алфа-аминокиселини
 - Трансаминација
 - Оксидативна деаминација

Аминокиселините се основни градбени единици на протеините

- Структура: Аmino група, карбоксилна група, јаглероден скелет (разградена/неразградена низа)



Condensation to form a peptide bond.

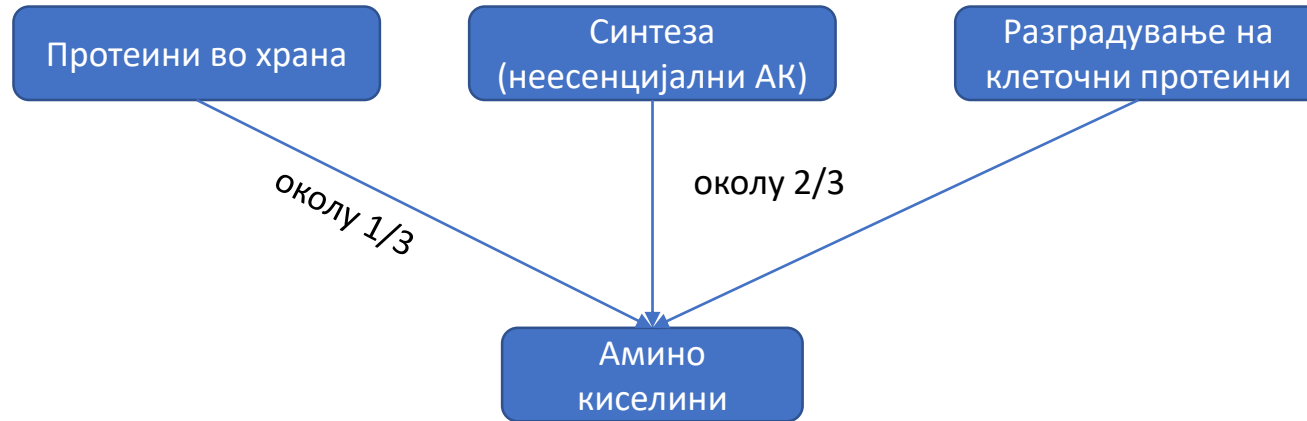


amino acid + amino acid $\rightarrow$ dipeptide + water

- Аминокиселините во протеините се поврзани со пептидни (амидни) врски.
- Карактеристиките на поодлените аминокиселини во протеините ја определуваат тридимензионалната структура.
- Постои голема поврзаност помеѓу структурата и својствата (функцијата) на протеините во организмот.
- Метаболизмот на аминокиселини опфаќа процеси на катаболизам и анаболизам
- Катаболички процеси: **разградување на протеини до аминокиселини** и **разградување на аминокиселини до нивните составни делови**
- Анаболички процеси: **синтеза на аминокиселини во организмот** и **синтеза на протеини од аминокиселини**

Од каде потекнуваат аминокиселините во организмот?

- Аминокиселините во организмот доаѓаат од три извори.



- Аминокиселините внесени преку протеините во храна или добиени со разложување на клеточни протеини претставуваат извор на енергија и тоа:
 - Животните и човекот можат да обезбедат дури до 90% од потребната енергија преку метаболизмот на аминокиселини (исклучок се вегетаријанците и тревопасните животни, кои обезбедуваат мал дел од енергијата од метаболизмот на аминокиселини)
 - Фотосинтетските растенија речиси и да не употребуваат аминокиселини како извор на енергија.
 - Микроорганизмите можат да користат аминокиселини како извор на енергија доколку се достапни.

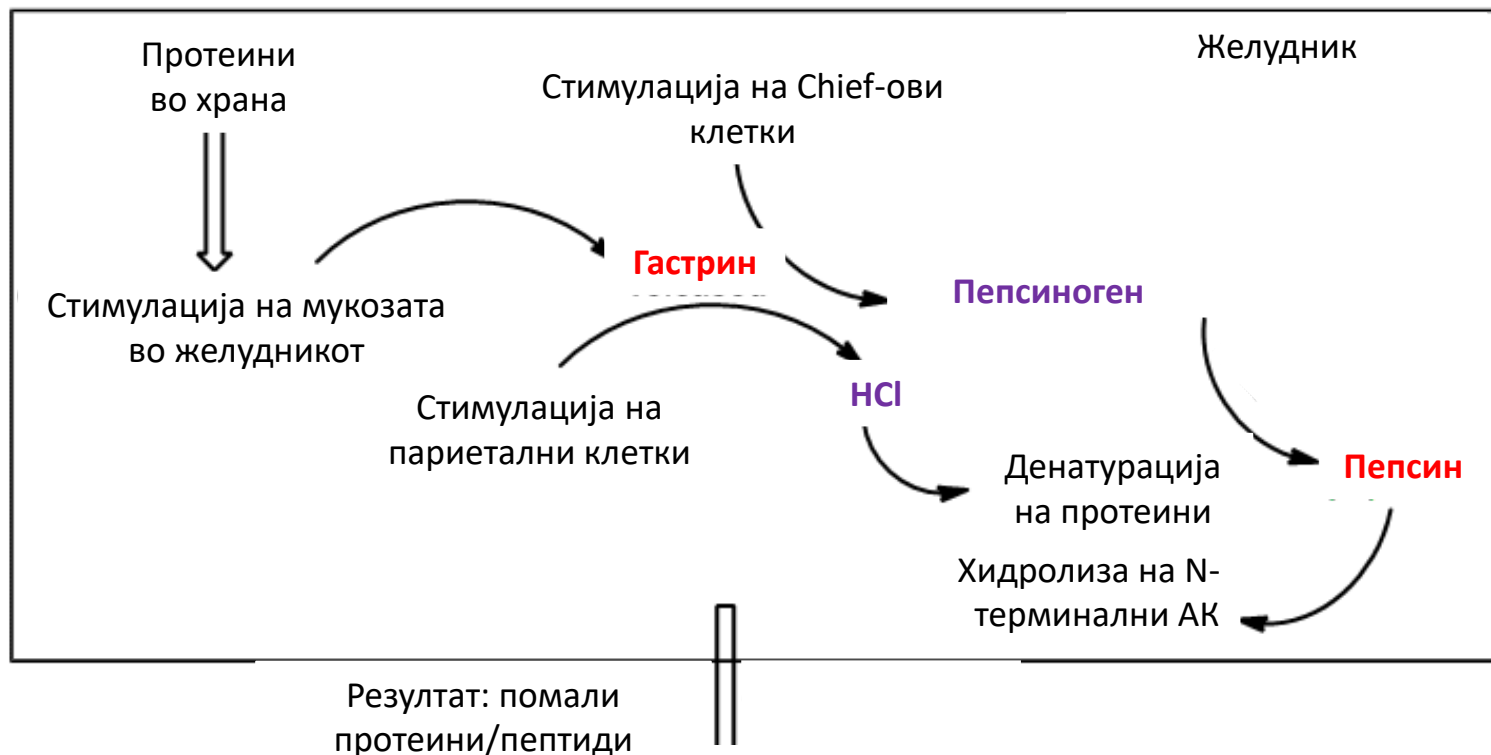
Колку протеини се потребни за нормална функција на организмот?

- Рамнотежа во организмот – разградување на протеини = синтеза на протеини
- При максимална искористеност – минималните потреби се околу 28g/ден (за човек од 70kg). Препорачана количина е околу 56g/ден.
- Деца во раст имаат поголеми потреби – 1,5 g/kg телесна маса.
- Биолошка вредност на протеините – мерка за искористување на протеини = маса на телесни протеини кои се синтетизираат од 100g внесени протеини (%).
 - Достапност на есенцијални аминокиселини
 - Брзина на дигестија на протеините

Протеините внесени преку храна се разложуваат во гастроинтестиналниот тракт

- Дневно се внесуваат меѓу 40-100g протеини со храна.
- Во желудникот и тенкото црево, **протеините се разградуваат до аминокиселини**
- Фази во разложување на протеините:

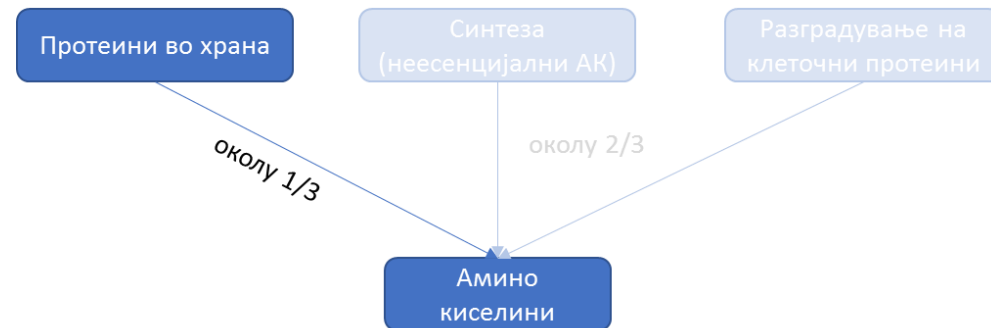
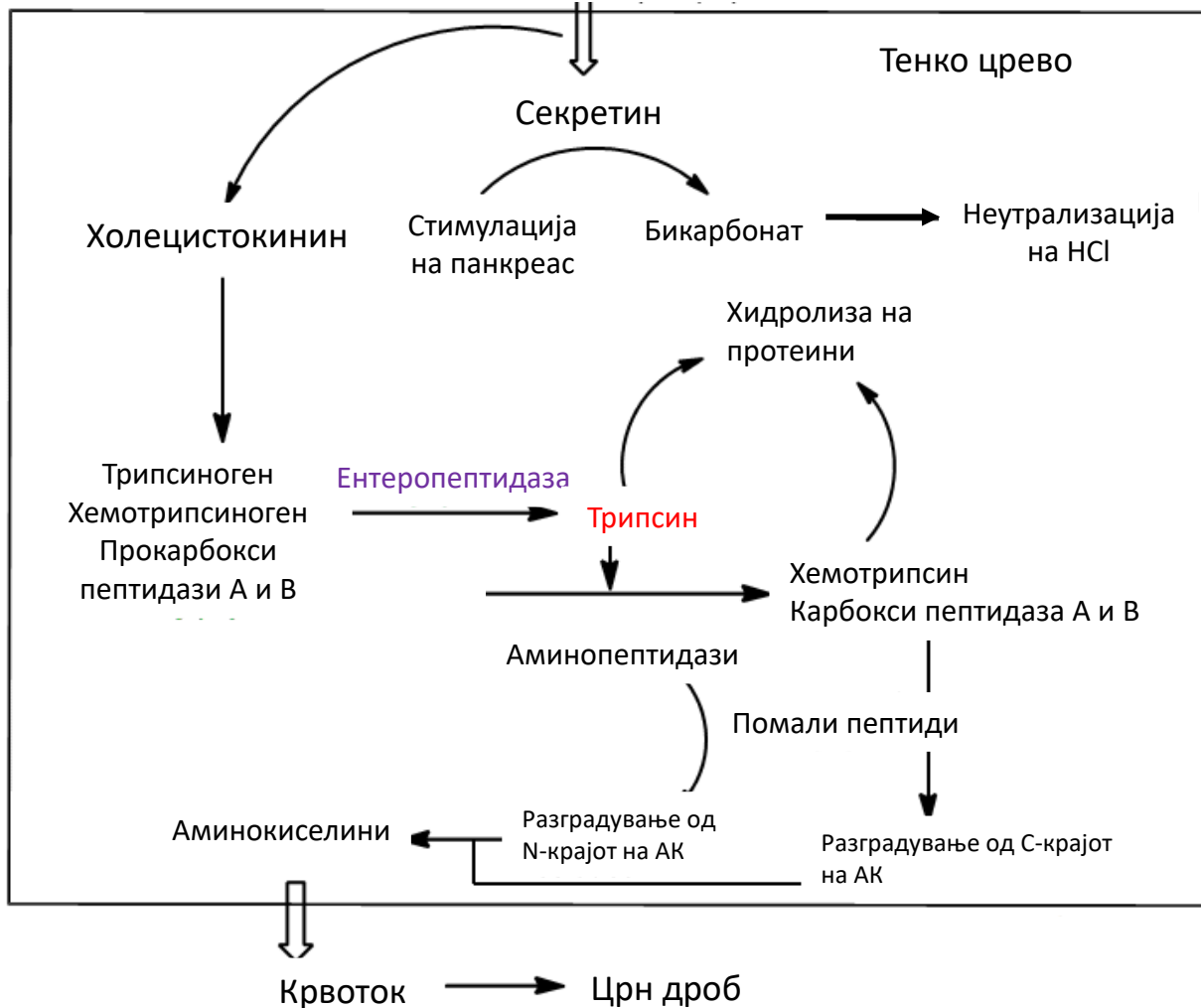
I фаза: процеси во желудникот



Протеините внесени преку храна се разложуваат во гастроинтестиналниот тракт

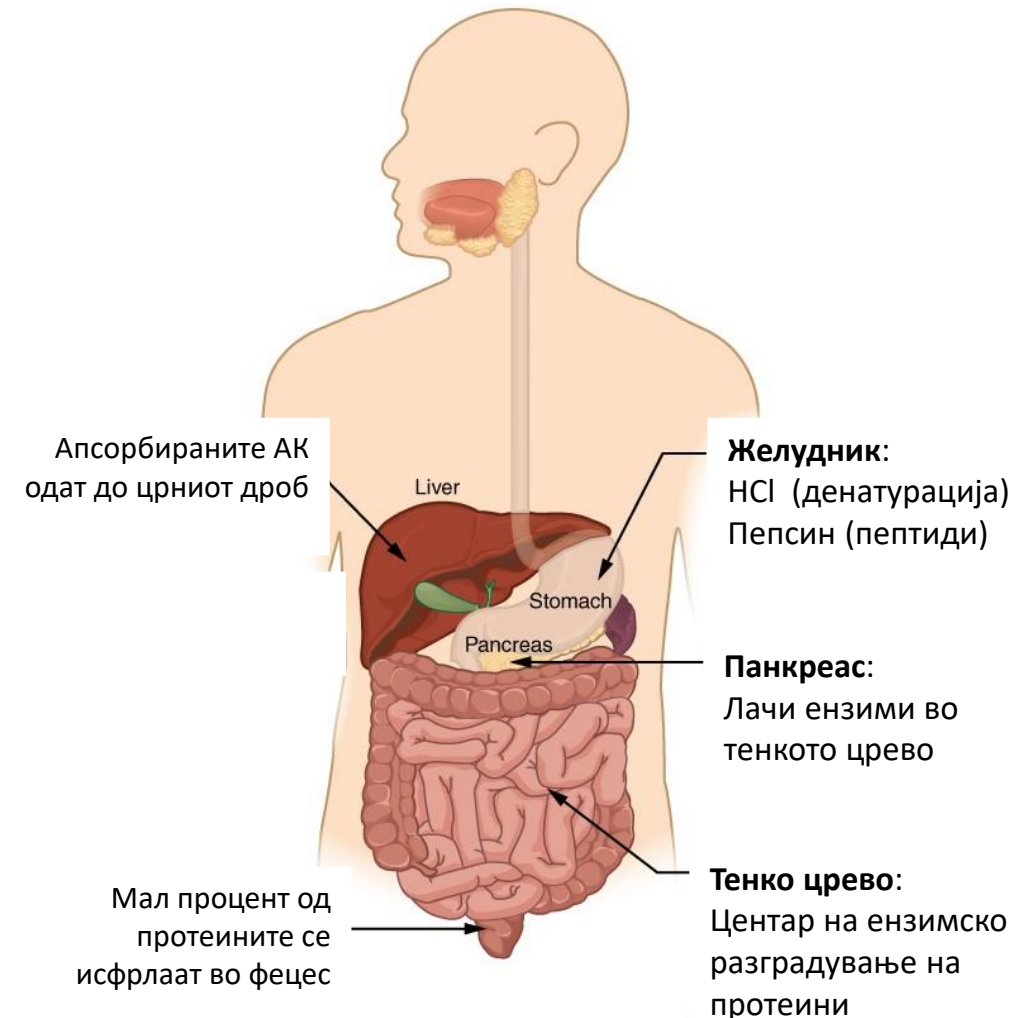
- Фази во разложување на протеините:

II фаза: процеси во тенкото црево – ензимска каскада



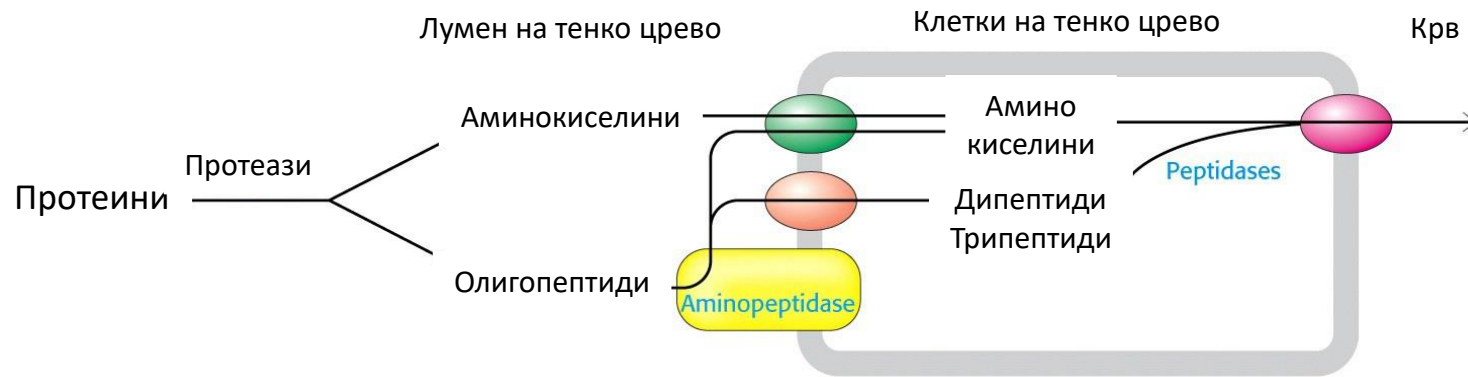
Резултат од ензимската каскада е разложување на протеините до аминокиселини кои можат да се пренесат преку крвотокот до црниот дроб.

Ензим	Наоѓање	Дејство
Гастрин	Желудник	Стимулира лачење на HCl и делува на пепсиноген
Пепсин	Желудник	Хидролиза на протеини на N-крајот на Phe, Trp и Tyr, потоа Asp и Glu
Секретин	Тенко црево	Стимулира лачење на бикарбонат (неутрализација на pH)
Холецистокинин	Тенко црево	Стимулира лачење на протеази
Трипсин	Тенко црево	Хидролиза на протеини на C-крајот на Lys, Arg
Аминопептидаза	Тенко црево	Отстранување на терминални АК од N-крајот
Карбоксипептидаза А	Тенко црево	Отстранување на терминални АК од C-крајот (сите освен Arg, Lys)
Карбоксипептидаза В	Тенко црево	Отстранување на терминални АК од C-крајот (само Arg, Lys)
Дипептидаза	Тенко црево	Хидролиза на дипептиди
Хемотрипсин	Тенко црево	Хидролиза на протеини на C-крајот на Phe, Trp, Leu и Tyr, како и Asp и Glu



Добиените аминокиселини се апсорбираат преку активен транспорт

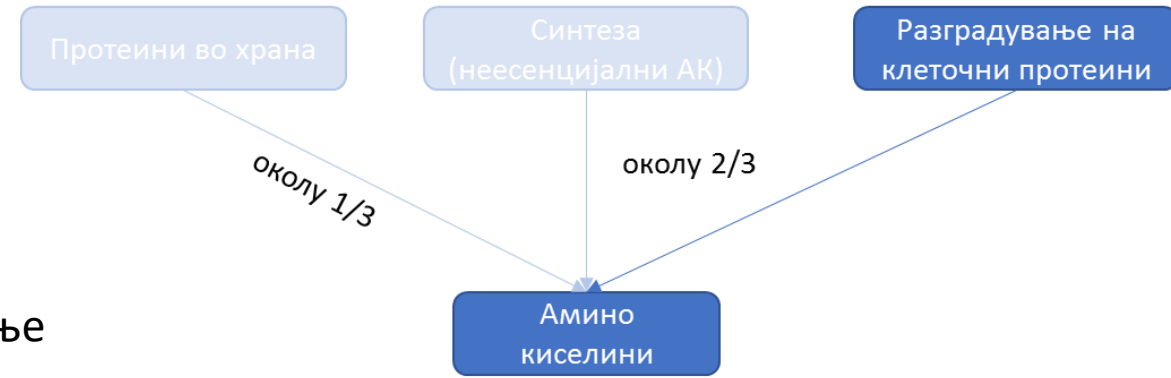
- Аминокиселините се апсорбираат во клетките на тенкото црево од каде се пренесуваат во крвотококот
- Апсорпцијата се одвива преку активен транспорт, и зависи од присуството на Na^+ .
- Na^+K^+ -АТРаза учествува во одржување на градиентот на Na^+ од двете страни на клеточната мемембрана.



- На ниво на мембраните на клетките постојат неколку различни транспортни протеини за аминокиселини, но и специјализирани транспортери за дипептиди и трипептиди.

Дел од аминокиселините се добиваат со разградување на клеточни протеини

- Разградувањето на клеточни протеини е од големо значење за одржување на протеинската рамнотежа во организмот
- Степенот на разградување на протеините има за цел:
 - Елиминација на абнормални протеини
 - Регулација на клеточниот метаболизам (регулација на концентрацијата на некои ензими/сигнални протеини во метаболичките процеси)
- Брзина на разградување на клеточни протеини:
- Зависи од природата на протеинот
 - Протеини со долг полуживот се разградуваат со константна брзина (неселективно разградување)
 - Протеини со краток полуживот се разградуваат селективно и строго регулирано од страна на клеточни системи.
- При недоволен внес на протеини преку храна, разградувањето на клеточни протеини се контролира.



Многу метаболички процеси директно или индиректно зависат од степенот на разградување на протеини:

органогенеза, срцева работа, метаболизам на холестерол, воспалителен одговор, транскрипција на гени, имунолошки одговор итн..

Аминокиселинската секвенца на протеинот активира одредени системи за разградување

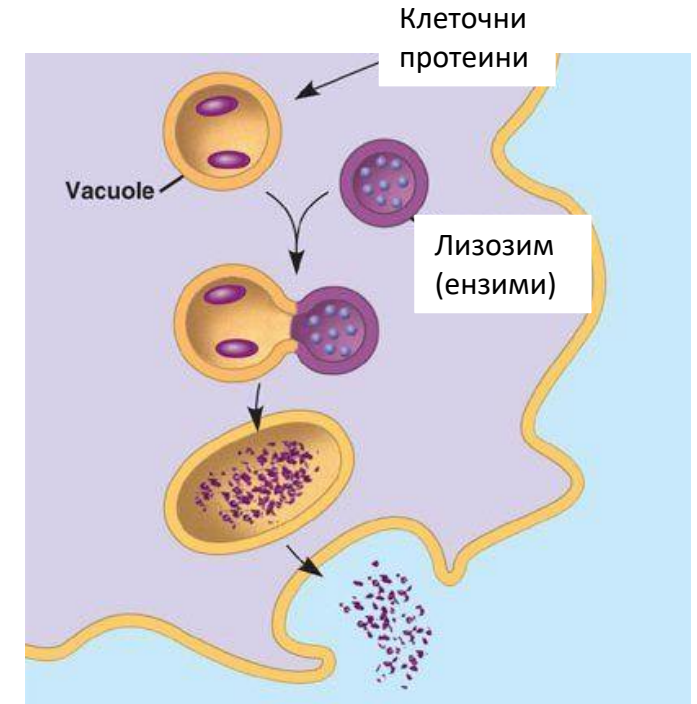
- Неколку системи одредуваат колку одреден протеин е подложен на разградување:
 - Аминокиселината на N-крајот на низата
 - Полуживотот на протеините во цитоплазмата е во тесна врска со присутната аминокиселина на N-крајот

Стабилни N-терминални АК	полуживот > 20h
Ala Cys Gly Met Pro Ser Thr Val	
Лабилни N-терминални АК	
полуживот 20-30min	Glu Ile Tyr
полуживот 2-3min	Arg Asp Leu Lys Phe

- Одредени аминокиселински секвенци присутни во примарната структура на протеинот
 - PEST протеини – протеини богати со АК: Pro, Glu, Ser, Thr се многу подложни на разградување (полуживот = 30min)
 - KFERQ протеини – протеини богати со Lys, Phe, Glu, Arg, Gln се сврзуваат специфчно со протеинот prp73 и се пренесуваат во лизозомите каде подлежат на разградување
 - „Обележани“ протеини – содржат секвенци кои се „маркирани“ за разградување
- Нестабилни аминокиселини на N-крајот на примарната структура на протеинот
 - Arg, Leu на N-крајот се подложни на разградување од страна на сложен систем (убиквитин) со протеазите

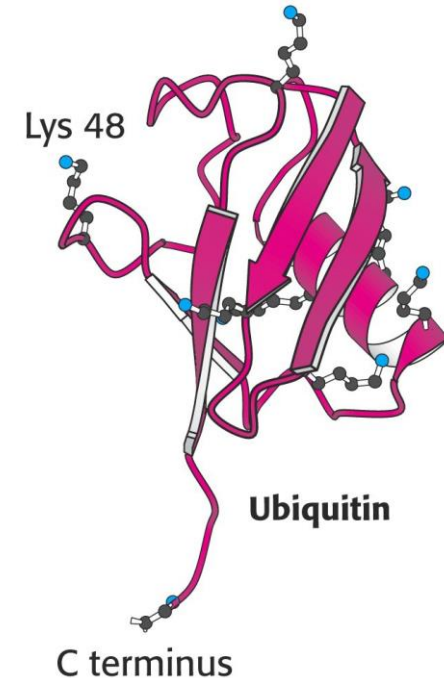
Неселективното разградување на клеточни протеини се одвива на ниво на ЛИЗОЗОМИ

- Лизозомите се органели кои содржат различни протеолитички ензими (протеаза, хидролази и липази).
- Екстрацелуларните протеини влегуваат во клетките со ендоцитоза и се соединуваат со лизозомите преку рецептори-медијатори.
- Клеточните протеини се внесуваат директно во лизозомите во клетките.
- Разградувањето на клеточните протеини во лизозомите е неселективно и се одвива под дејство на ПРОТЕАЗИ и при ниско рН 5.
- За одвивање на овие реакции не е потребна енергија во вид на АТР.
- Резултат – аминокиселини кои може да се искористат за синтеза на клеточни протеини (рециклирање), да се складираат или да подлежат на понатамошно разградување (катаболизам).
- Зголемена активност на ензимите во лизозомите е забележана при одредени состојби – бременост, гладување, или при одредени заболувања како ревматски артрит.



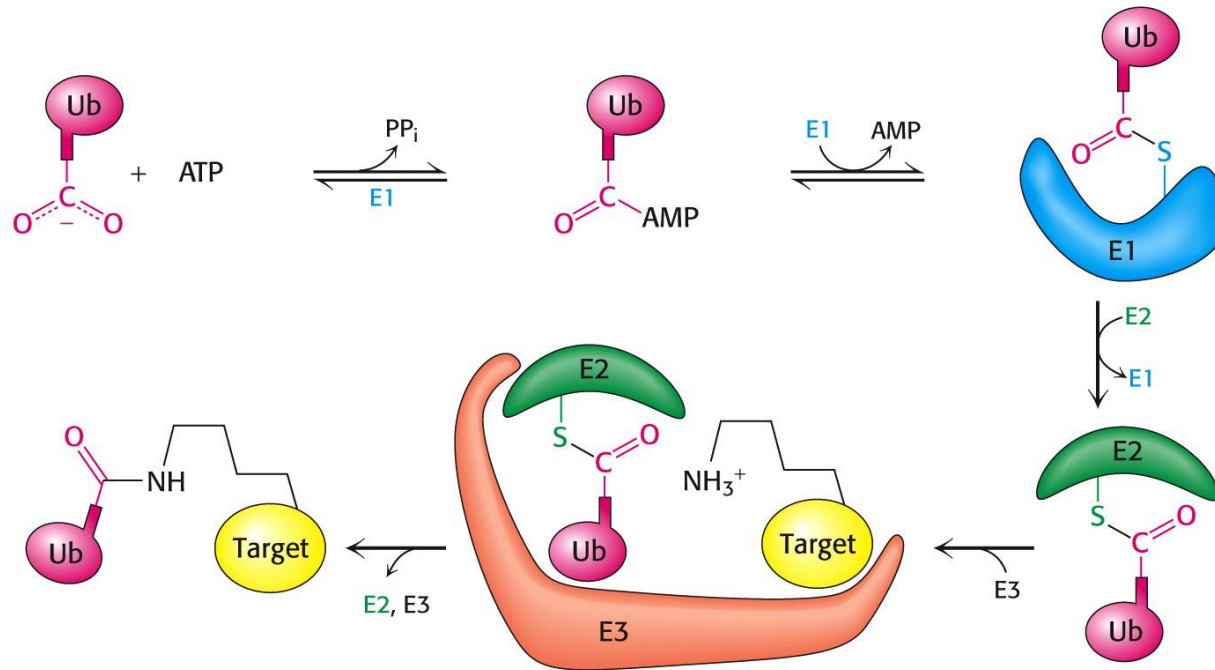
Селективното разградување на клеточните протеини се одвива со посредство на убиквитин

- Убиквитинот претставува протеин (MW=8500) кој се среќава во сите еукариотски клетки.
- Сигнален протеин (маркер) за деградација на протеините.
- Строго конзервирана структура кај различни еукариотски клетки (иста структура кај човек, жаба и винска мушичка).
- Механизмот на дејство на убиквитин е преку С-терминалната аминокиселина – глицин, која ковалентно се сврзува со ϵ -амино групата на аминокиселински остатоци на лизин (изопептидни врски) во секвенцата на протеинот кој подлежи на разградување.
- Процесот на образување на изопептидни врски користи енергија од АТР, и дејство на три ензими.



Три ензимски катализирани реакции учествуваат во сврзување на убиквитин со целниот протеин

- Првите две реакции имаат за цел активација на убиквитинот и негово конјугирање со цел да се овозможи сврзување со протеинот.
- Убиквитин-протеин лигаза – ензим кој катализира образување на убиквитин-протеин комплекс.



E1 – убиквитин-активирачки ензим
E2 – убиквитин-конјугирачки ензим
E3 – убиквитин-протеин лигаза

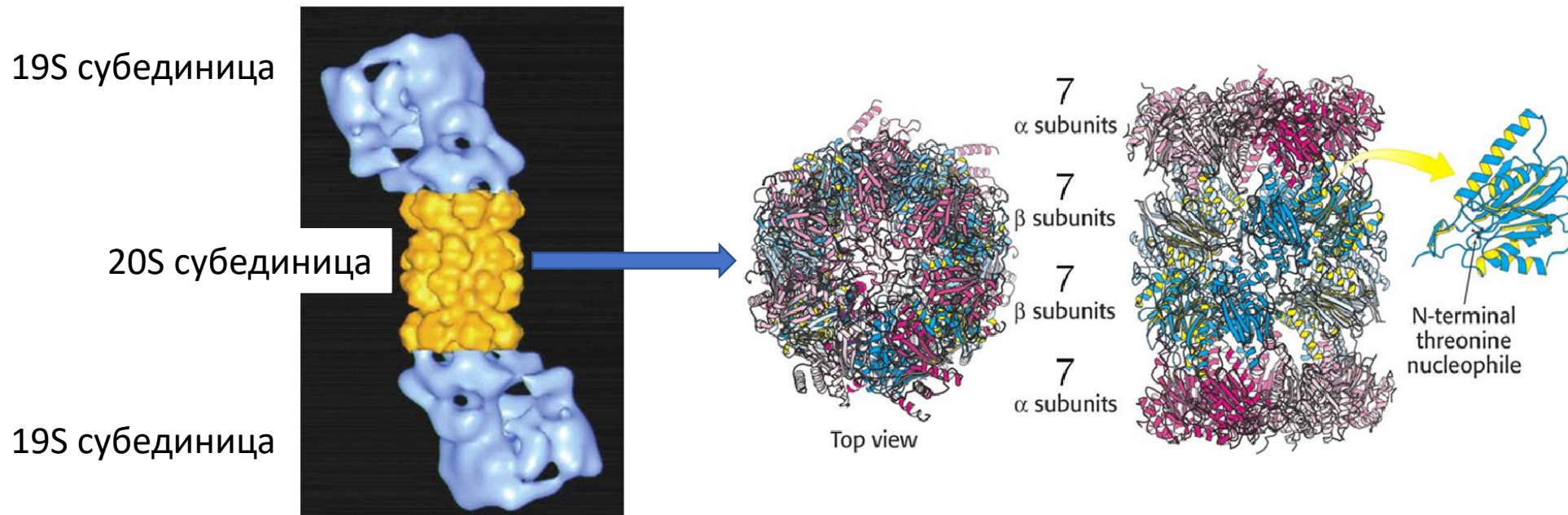
- Убиквитин-протеин комплекс е сигнал за разградување на протеинот.

Убиквитинот како фактор за определување на брзината на разградување на клеточните протеини

- Степенот на сврзување на убиквитин определува колку брзо ќе се одвива разградувањето на протеините.
- Правило: Колку повеќе молекули на убиквитин се ковалентно сврзани за протеинот, толку побрзо ќе се одвива разградувањето.
- Присуството на одредени аминокиселини на N-крајот на низата го определуваат степенот на убиквитинација.
 - Met, Pro – бавно разградување
 - Arg, Leu – брзо разградување
 - PEST (Pro, Glu, Ser, Thr) – брзо разградување
- По сврзувањето со убиквитин, протеините подлежат на разградување до аминокиселини на ниво на протеозомите.
- Убиквитинот се рециклира и може да сврзе нов протеин.

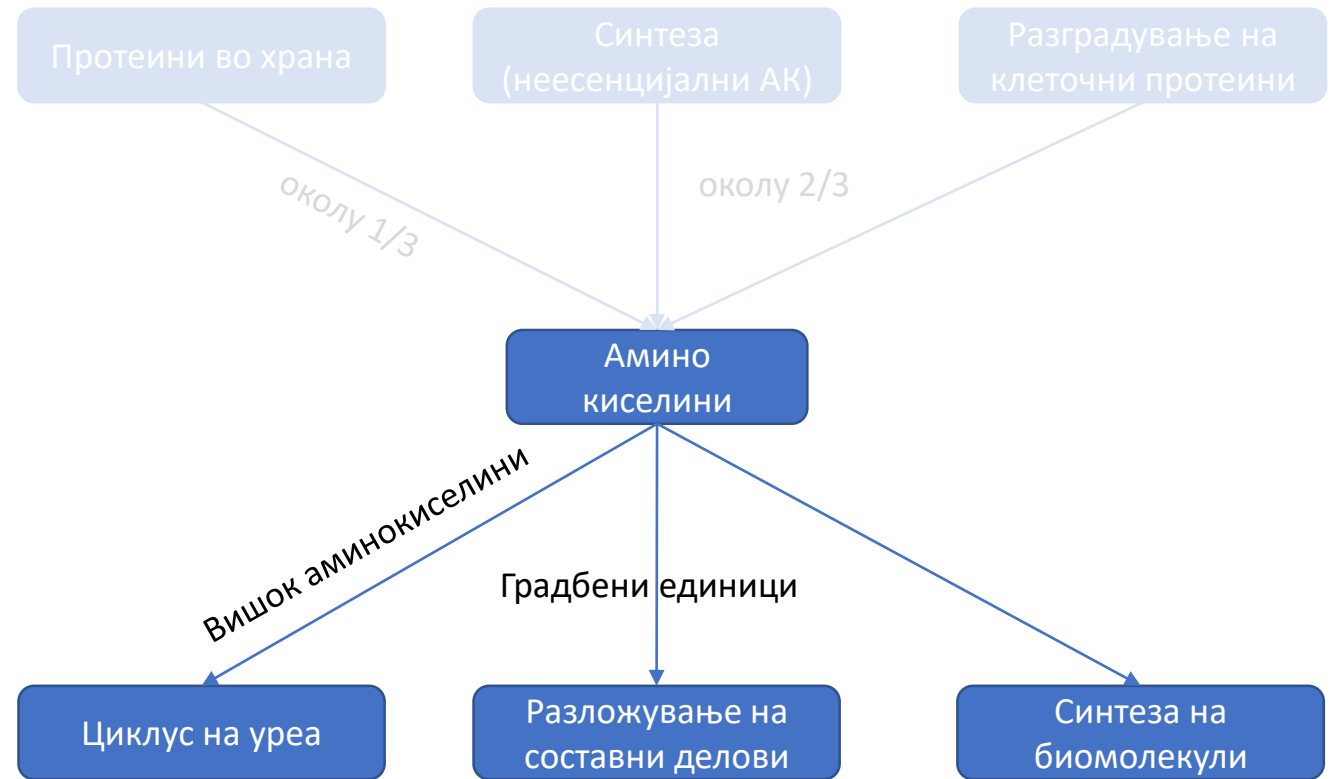
Протеозомот ги „препознава“ обележаните протеини и ги разградува до аминокиселини

- Протеазомот е изграден од три градбени субединици – две 19S и една 20S субединица.
- 19S комплексот има улога на пренесувач (транспортен протеин) до протеолитичката субединица (20S).
- 20S протеазомот содржи 28 субединици кои формираат структура слична на буре. Активните центри на протеазите (ензимите) се сместени во центарот и се во директен контакт со убиквитин-протеин комплексот.
- На ниво на протеозомот, протеините се разградуваат на пептиди со должина од 7-9 аминокиселински остатоци.



Кои се понатаможните претворби на аминокиселините во организмот?

- Аминокиселините во организмот можат да подлежат на неколку вида претворби:
- Вишокот аминокиселини се претвора во екскреторна форма – уреа и се исфрла од организмот
- Дел од аминокиселините се разградуваат на нивните составни делови
 - Отстранување на азотниот атом
 - Разложување на јаглеродната низа
 - Интермедиери во останатите метаболички циклуси
 - Градбени единици за останати интермедиери
- Дел од аминокиселините учествуваат во синтеза на други биомолекули како:
 - Пурински и пиримидински бази
 - Биогени амини
 - Жолчни киселини



КРАЕН РЕЗУЛТАТ

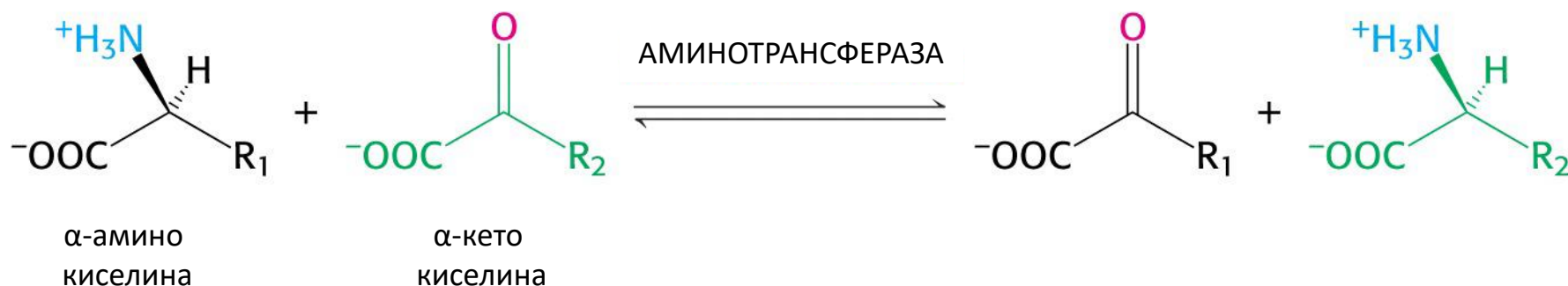
Одржување на рамнотежа во организмот!

Три хемиски реакции се клучни во катаболизмот на аминокиселините

- Специфичната градба на аминокиселините – поседувањето на различни функционални групи овозможува вклучување во неколку типови хемиски реакции.
- Класификација на хемиските реакции во катаболизмот на аминокиселини:
 - Реакции на ниво на amino група
 - Трансаминација
 - Деаминација
 - Деамидација
 - Реакции на ниво на карбоксилна група
 - Декарбоксилација
 - Реакции на ниво на метил група
 - Трансметилирање
 - Специфични реакции на поодлени аминокиселини
 - Реакции на разгранети странични низи

Трансаминацијата е една од клучните реакции во метаболизмот на аминокиселините

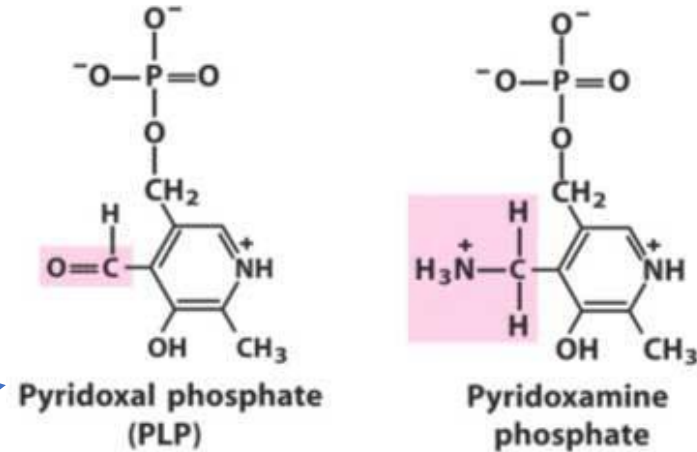
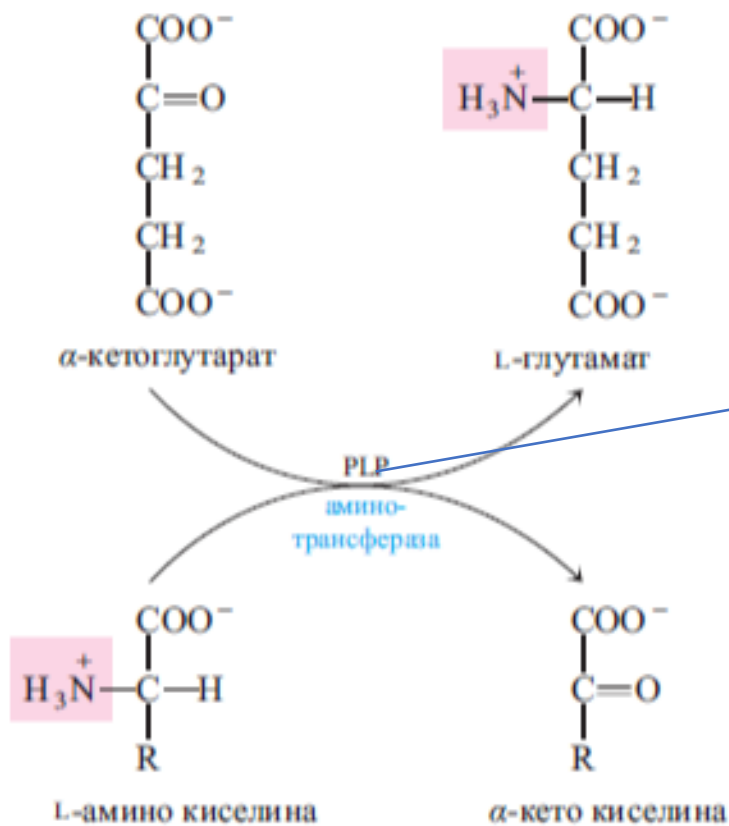
- Реакциите на трансаминација се ензимски катализирани реакции на пренос (трансфер) на α -амино група од α -амино киселина (донор) на α -кето киселина (акцептор).
- Ензими: АМИНОТРАНСФЕРАЗИ (ТРАНСАМИНАЗИ)



- Поодлените аминотрансферази се именуваат во зависност од супстратот – аспартат аминотрансфераза катализира пренос на α -амино група од аспартат на α -кето киселина акцептор.
- α -кето киселина акцептор во реакциите на трансаминација најчесто е α -кетоглутарат или оксалоацетат

Пиридоксал фосфат (PLP) претставува кофактор за дејство на аминотрансферазите

- Механизам на пренос на аминок групата под дејство на аминотрансферази

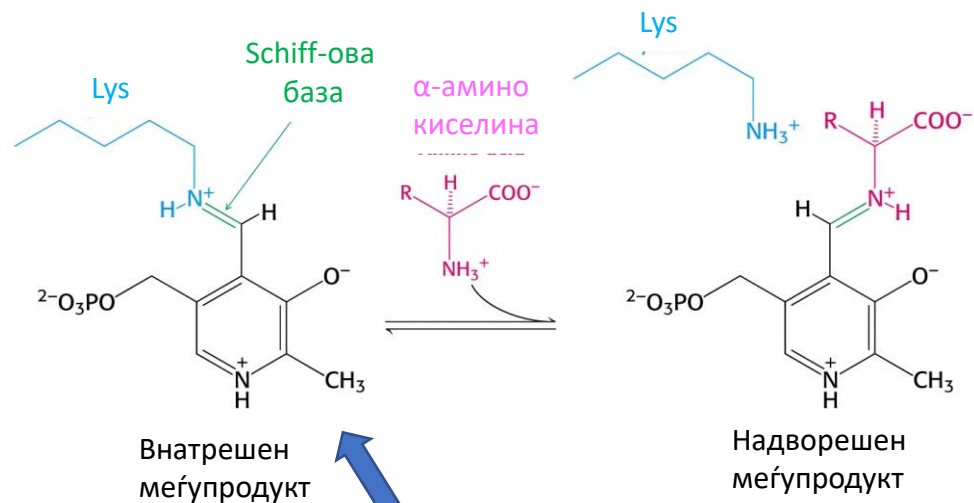


Пиридоксал фосфатот преминува во пиридоксамин фосфат во реакцијата на трансаминација

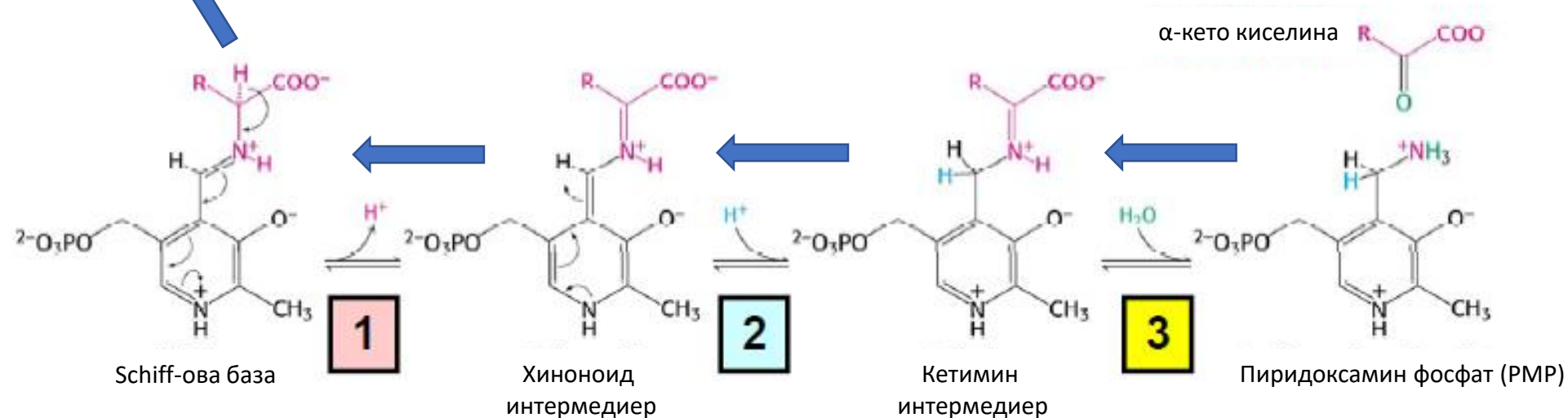


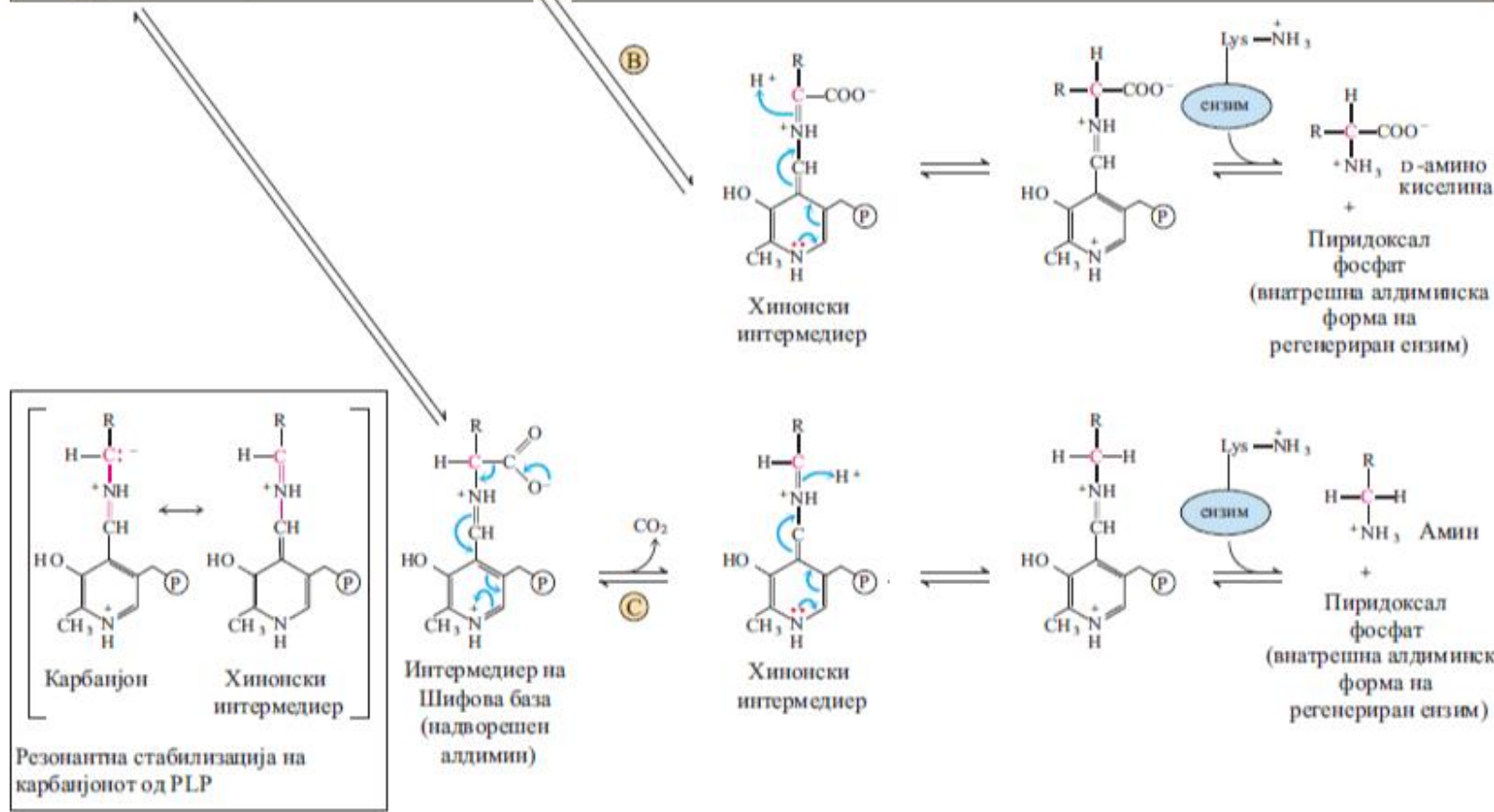
Пиридоксал фосфатот е дериват на Витамин В6

Schiff-ова база е интермедиерно соединение во реакцијата на трансаминација со PLP



1. Schiff-овата база губи протон од α -C атомот на аминокиселината и образува хиноноид интермедиер.
2. Со протонирање на алдехидниот C-атом се образува кетимин интермедиер.
3. Со хидролиза се образува α -кето киселина и пиридоксامين фосфат (PMP)

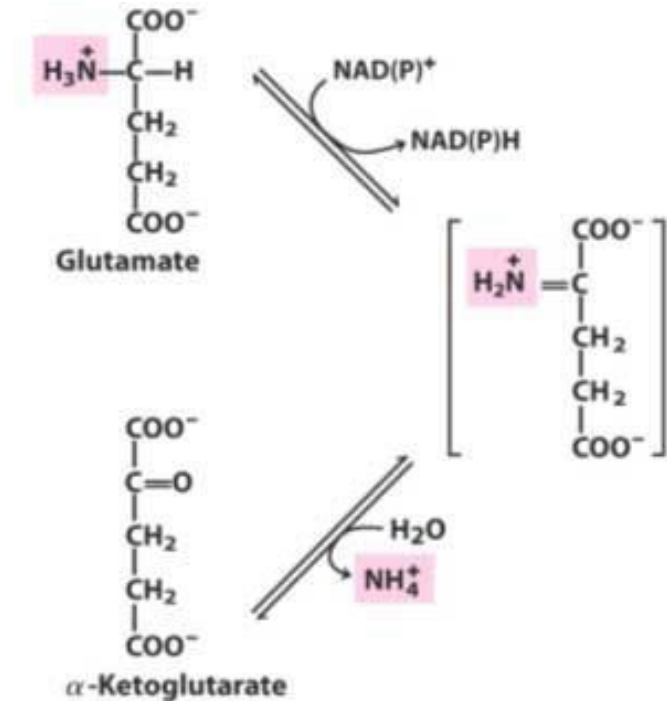




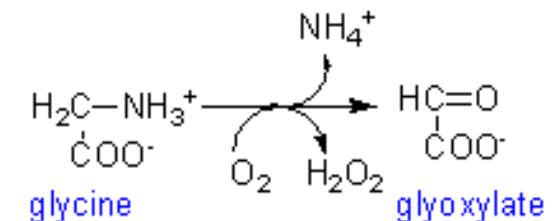
- Пиридоксал фосфатот е сврзан за ензимот образувајќи Шифова база наречена внатрешен алдимин.
- Внатрешниот алдимин на PLP претрпува трансминација и гради надворешен алдимин со α -амино групата на супстратот аминокиселина
- Три можни претворби на надворешен алдимин
- Трансминација (A),
- Рацемизација (B)
- Декарбоксилација (C)

Реакцијата на оксидативна деаминација резултира со формирање на амонијак

- Деаминација – реакција на отстранување на amino група од аминокиселините
- Не е многу важна реакција во метаболизмот на повеќето аминокиселини
- Мал број аминокиселини учествуваат во реакции на деаминација (глутаминска киселина, глицин, серин и треонин).
- Два типа на реакции на деаминација
 - Оксидативна деаминација
 - Неоксидативна деаминација
- Оксидативна деаминација – клучна реакција за добивање на α -кетоглутарат (главен акцептор во реакциите на трансаминација)
- Ензимски катализирана реакција: ГЛУТАМАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА
- Продукти на реакцијата = α -кетоглутарат и амонијак
- Глицин подлежи на оксидативна деаминација со дејство на ГЛИЦИН ОКСИДАЗА (продукти = глиоксалат и амонијак)

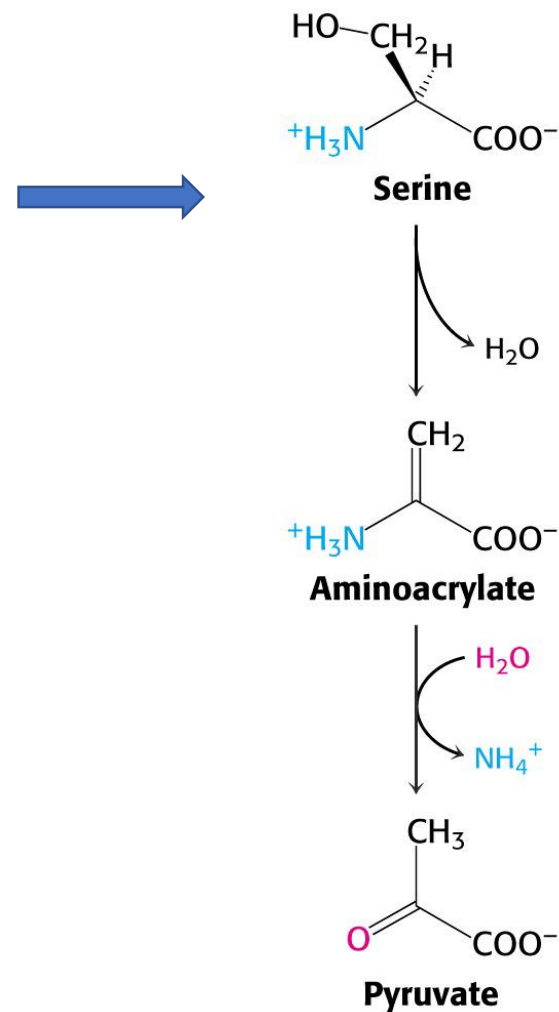
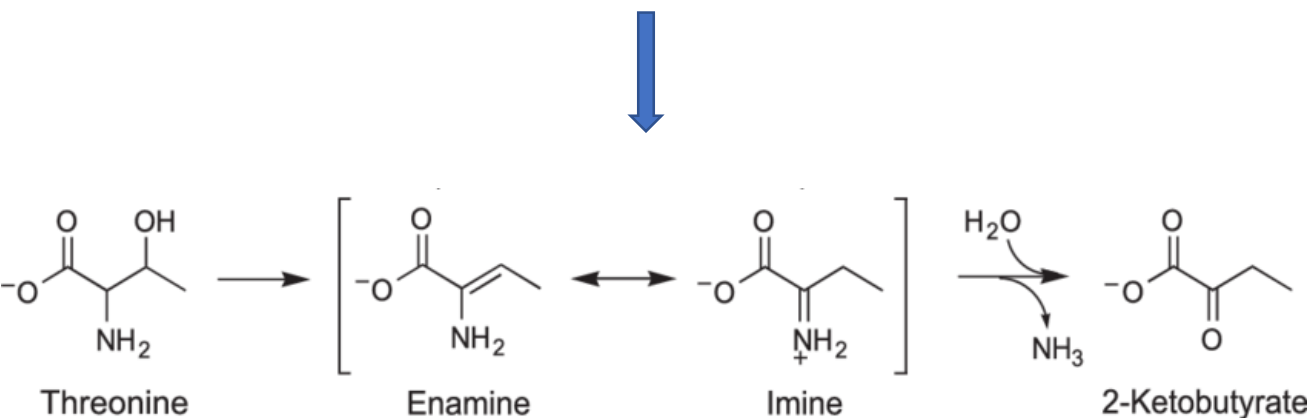


glycine oxidase



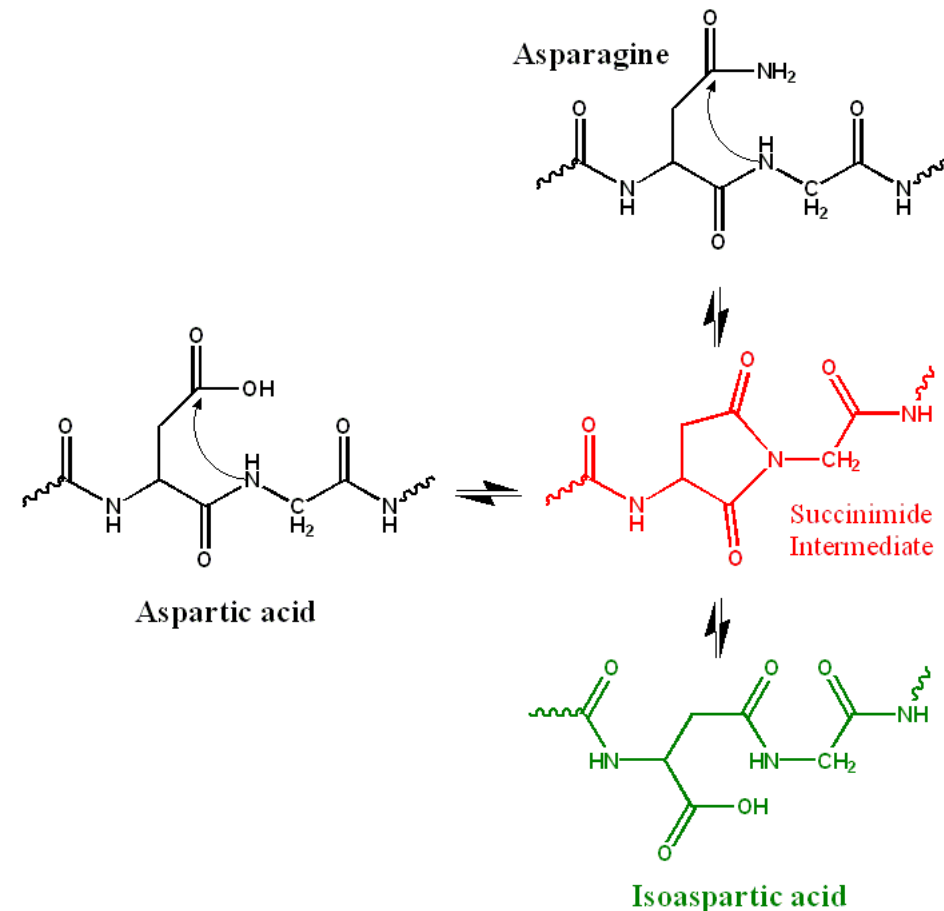
Неколку аминокиселини учествуваат во реакција на неоксидативна деаминација

- Аминокиселините серин и треонин учествуваат во реакција на неоксидативна деаминација
- Со деаминација на серин се образува пируват под дејство на СЕРИН ДЕАМИНАЗА.
- Реакцијата е дехидратација и се одвива преку интермедиер – аминокрилат.
- Краен продукт е пируват.



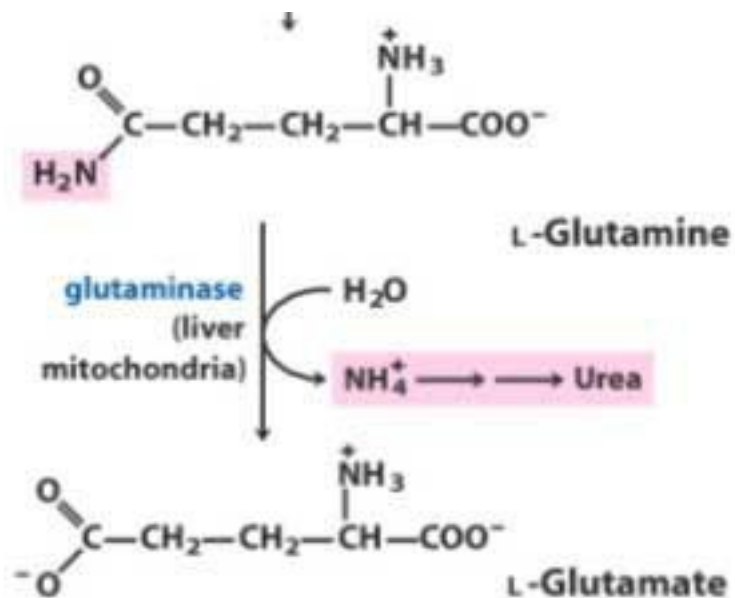
Реакцијата на деамидација се одвива кај аминокиселините Аспарагин и Глутамин

- Деамидација претставува директно отстранување на амино група од страничната низа на аминокиселината.
- Две аминокиселини се подложни на реакцијата: аспарагин и глутамин
- Со деамидација на аспарагин се образува аспарагинска киселина, додека продукт на реакцијата на глутамин е глутаминска киселина
- Реакцијата се одвива преку интермедиерно соединие – сукцинимид, под дејство на ензим
- Два можни продукти на реакцијата.



Реакцијата на деамидација на глутамин се одвива бавно

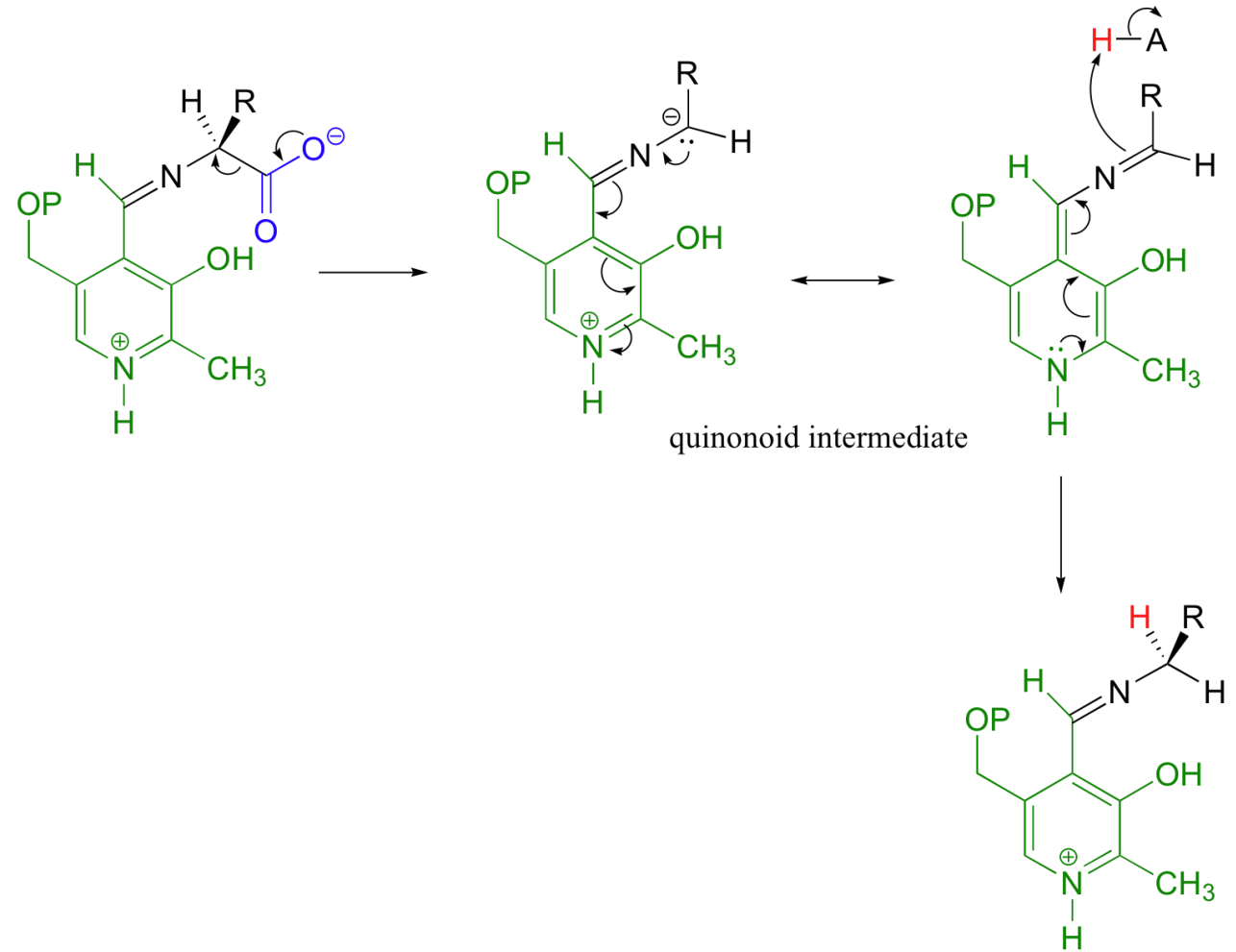
- Важна реакција во метаболизмот на глутамин во црниот дроб.
- Ензим – ГЛУТАМИНАЗА, катализира деамидација на глутамин во глутамат и ослободување на амонијак



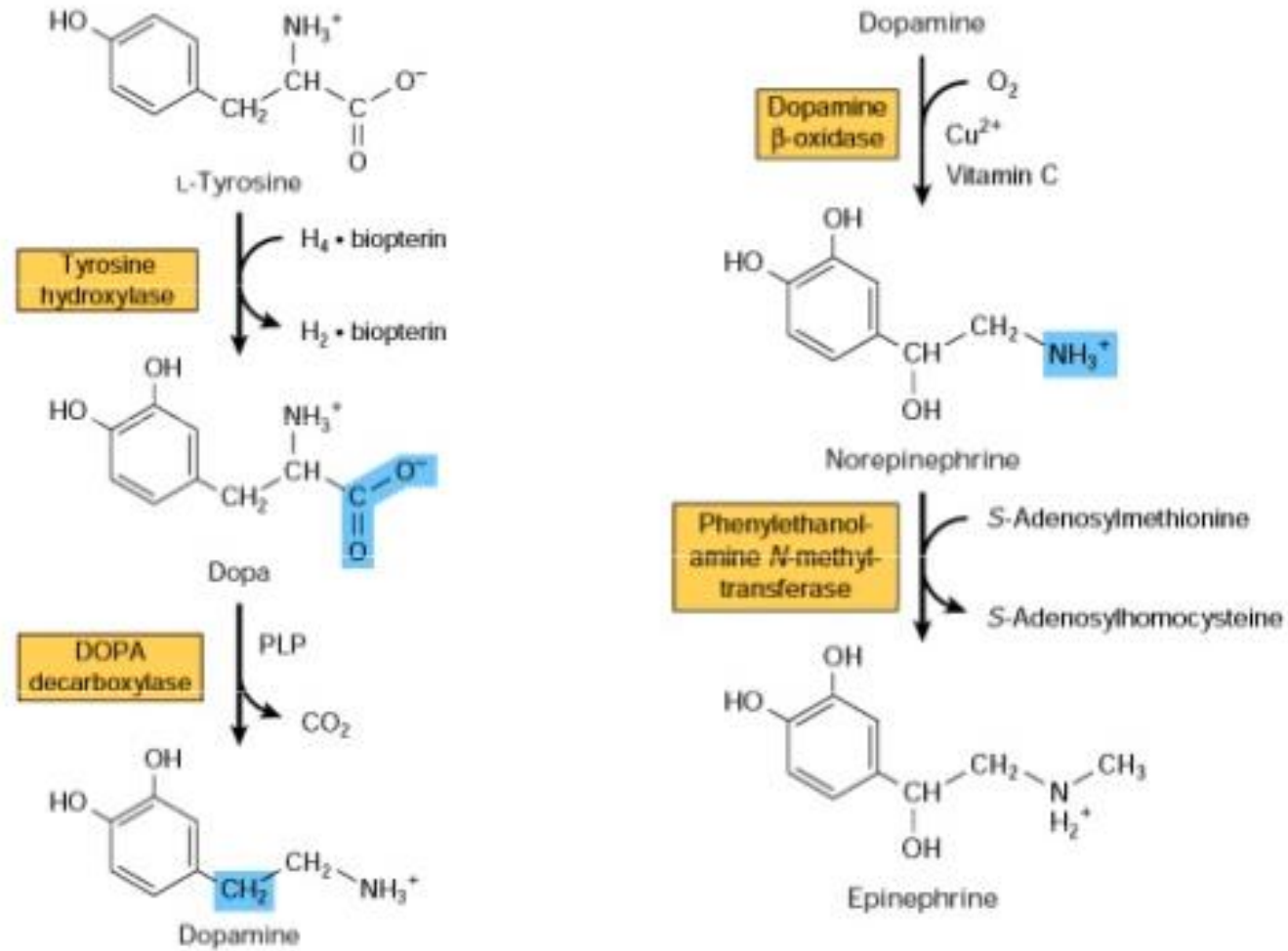
- Значење на реакцијата на деамидација: промена на стабилноста, функцијата и структурата на протеините

Реакциите на декарбоксилација на аминокиселини се клучни за образување на биолошки активни амини во организмот

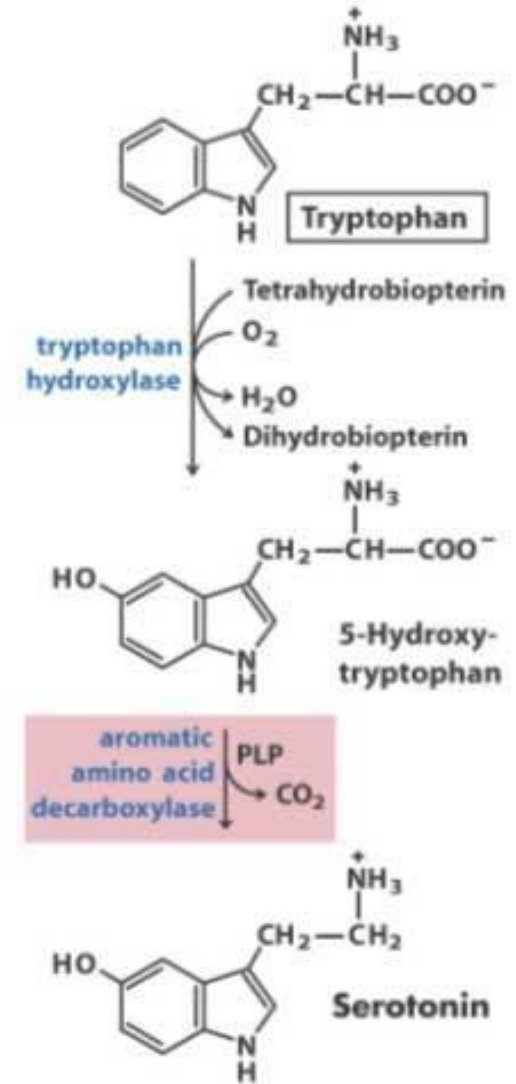
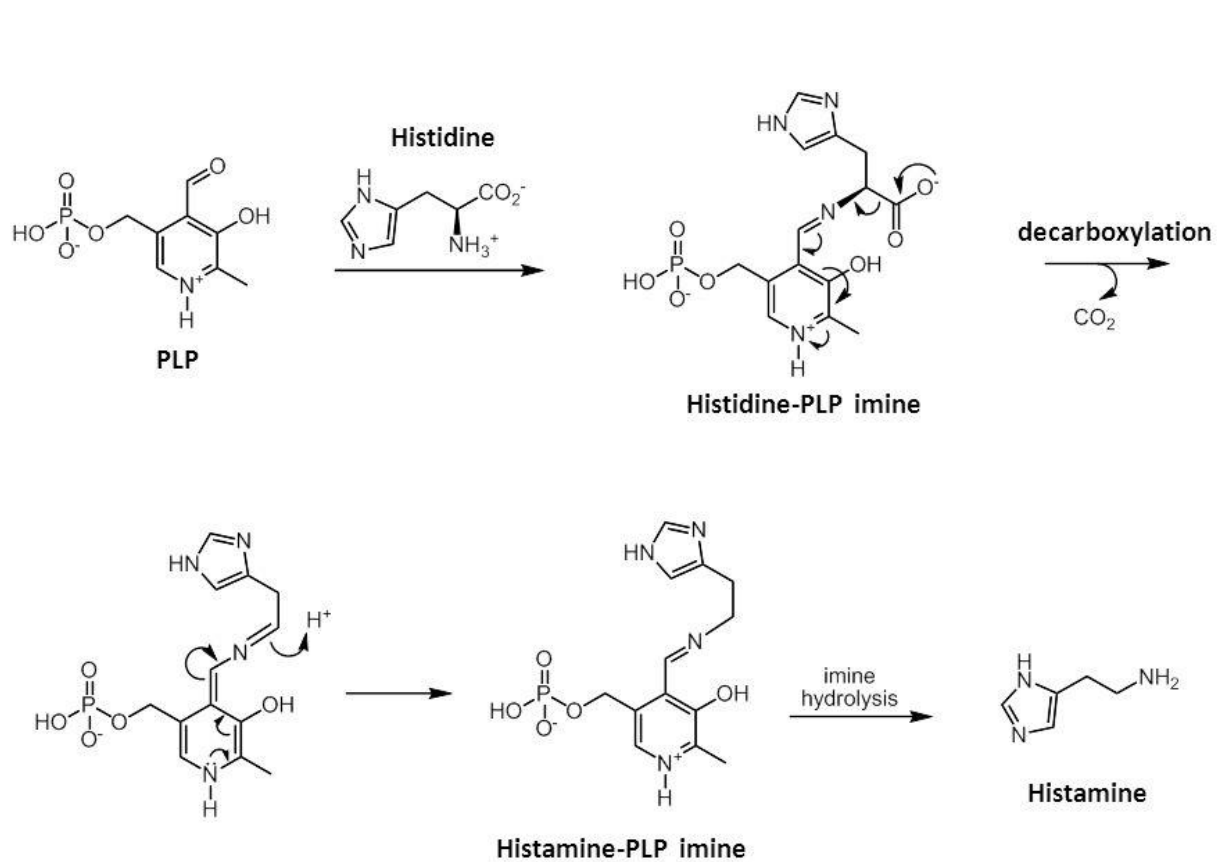
- Декарбоксилација претставува реакција на отстранување на карбоксилна група од аминокиселината, при што се формира амин и се ослободува CO_2 .
- Ензимски катализирани реакции – ДЕКАРБОКСИЛАЗИ
- Голем дел од декарбоксилазите имаат PLP како кофактор
- Примери за некои поважни биолошки амини кои се добиваат од аминокиселини во реакции на декарбоксилација
 - Катехоламини (допамин, епинефрин, норепинефрин)
 - Хистамин
 - Серотонин



Катехоламините се образуваат во реакции на декарбоксилација на тирозин

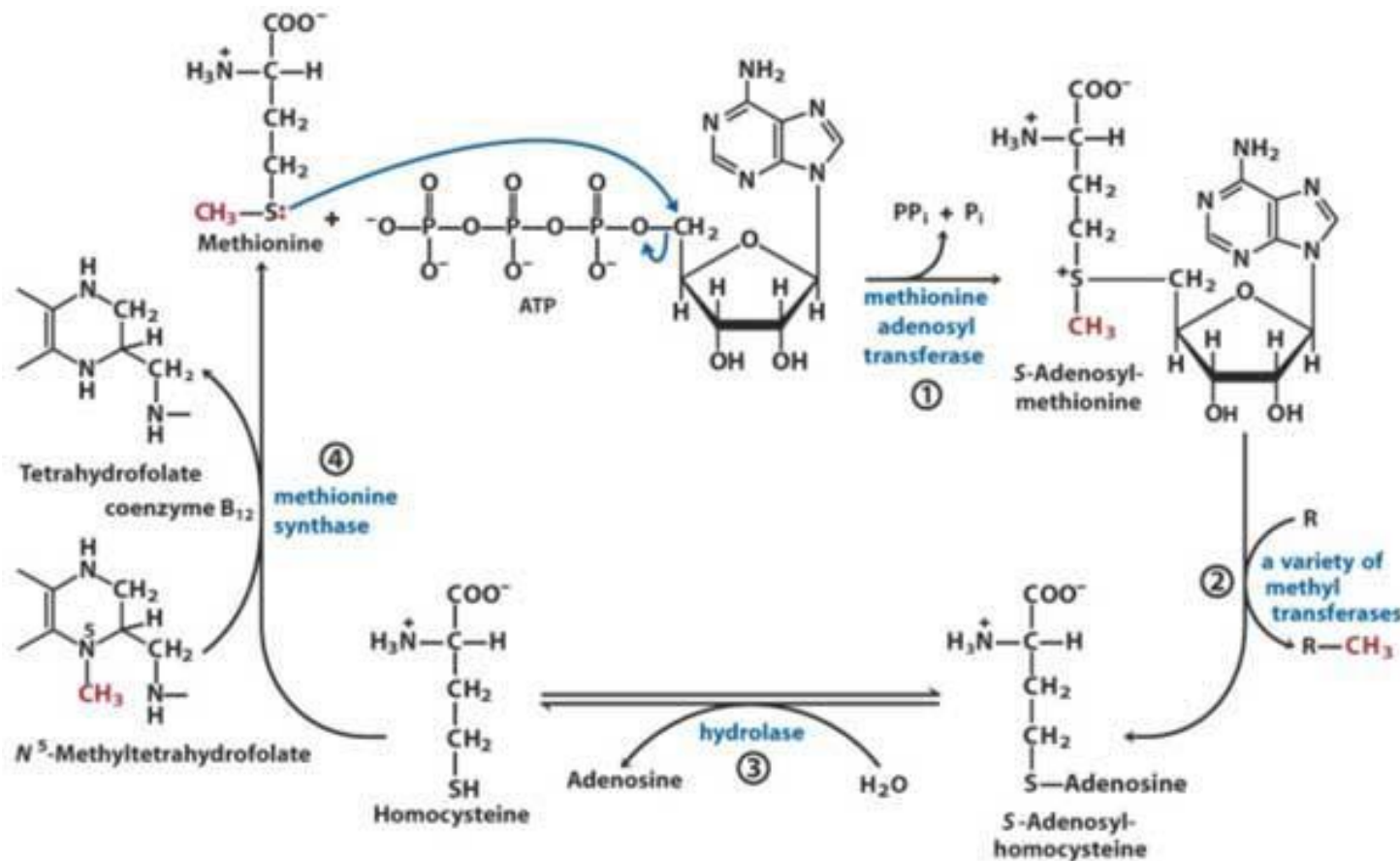


Хистамин и серотонин се образуваат од хистидин и триптофан во реакции на декарбоксилација



Реакциите на метил група кај аминокиселините се реакции на трансметилирање

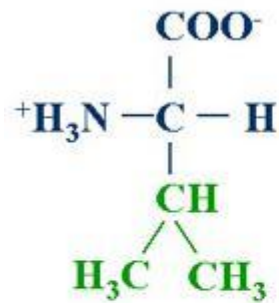
- Аминокиселините се метаболизираат преку пренос на CH_3 групи.
- Ензимски катализирани реакции – МЕТИЛТРАНСФЕРАЗИ
- Пример – реакција на пренос на метил група од метионин до S-аденозилметионин.



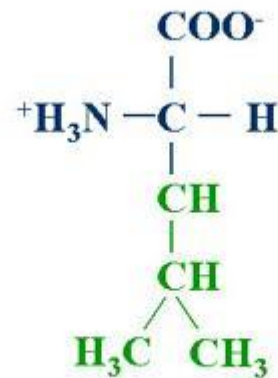
Значење на реакциите – пренос на метил групи на други молекули

Аминокиселините со разгранети низи не се разградуваат во црниот дроб

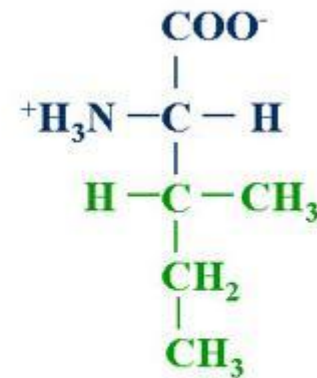
- Посебни метаболички патишта за разградување на леуцин, изолеуцин и валин.
- Може да се искористат како извор на енергија во мускулите, бубрезите и мозокот.
- Ензимски катализирани реакции на разградување – АМИНОТРАНСФЕРАЗИ ЗА РАЗГРАНЕТИ НИЗИ – претворба на леуцин, изолеуцин и валин до соодветни α -кето киселини.



Valine

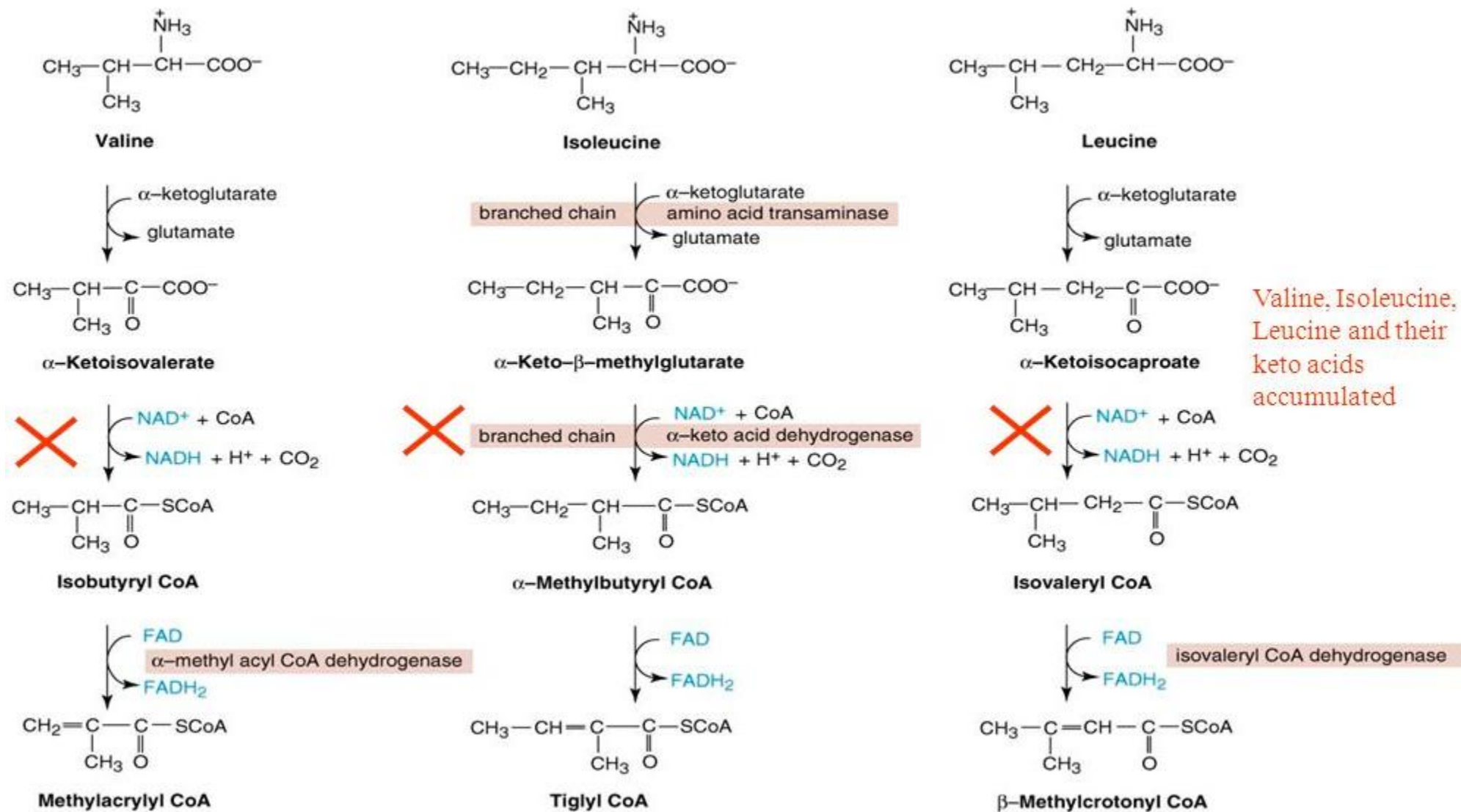


Leucine



Isoleucine

Недостаток на ензимите предизвикува генетско заболување кое се манифестира со урина со мирис на јаворов сируп



Резиме на темата

- Аминокиселините се добиваат преку храната, со разградување на клеточни протеини или со синтеза (неесенцијални)
- Протеините од храна се разградуваат во желудникот и тенкото црево под дејство на ензими
- Клеточните протеини се разградуваат до аминокиселини во ензимски катализирани реакции, при што аминокиселинската секвенца на протеинот активира одредени системи за разградување
- Контролираното разградување на протеини се одвива на ниво на лизозоми или со посредство на убиквитин
- Аминокиселините се разградуваат на нивните составни делови
- Значајни типови реакции се: трансаминација, деаминација, деамидација, декарбоксилација, трансметилирање и реакции на разгранети јаглородни низи