

## 16. Metabolismus proteinů a aminokyselin

Proteiny jsou hlavními složkami všech organismů. Proto je metabolismus proteinů a jejich základních jednotek aminokyselin řazen ke klíčovým biochemickým dějům. Proteiny se v organismech neskladují jako např. sacharidy nebo tuky, ale neustále se degradují a syntetizují. Organismus si udržuje jen jistou hotovost (tzv. *pool*) aminokyselin.

### Anabolismus proteinů

Podrobně se touto problematikou budeme zabývat v kapitole Nukleové kyseliny, a to proto, že tvorba proteinů (*proteosyntéza*) je vyjádřením (*expresí*) genetické informace uložené v DNA. Protože návod pro tvorbu proteinu je nejdříve z příslušného genu v DNA přepsán do mRNA (*transkripce*), která přejde do cytosolu, je místem proteosyntézy u eukaryot právě cytosol. Proteosyntézy se účastní i další typy RNA a celý komplexní proces je označován jako *translace*.

### Katabolismus proteinů

Organismus si musí poradit s nepotřebnými proteiny, které přestaly plnit svou funkci, s proteiny, které se dostaly v podobě „vetřelců“ (viry, bakterie) do těla, a samozřejmě i s proteiny, které jsou běžnou součástí potravy.

Podstatou degradace je hydrolyzá. Hydrolyzá proteinů je *proteolýza* a proteolytické enzymy se mohou nazývat *proteasy*. Synonymní pojmenování pro enzymy hydrolyzující peptidové vazby je *peptidasy*. Proteasy z pohledu štěpení vazby patří mezi C–N hydrolasy.

Podle místa, na kterém v polypeptidovém řetězci hydrolyticky působí, se proteasy se dělí na *exopeptidasy* a *endopeptidasy*.

*Exopeptidasy* odštěpují z peptidů koncové aminokyseliny. Rozlišujeme:

- *aminopeptidasy* – odštěpování probíhá z N-konce (ve střední sliznici),
- *karboxypeptidasy* – odštěpování probíhá z C-konce (v tenkém střevu).

*Endopeptidasy* (*proteinasy*) štěpí proteiny uprostřed řetězce.

Další dělení proteas se provádí podle funkční skupiny účinné v aktivním místě enzymu. Označují se zpravidla podle aminokyseliny, která je nositelem této skupiny (např. serinové, threoninové nebo cysteinové proteasy – viz také kapitola Enzymy).

Třetí způsob rozdělení proteas je podle kyselosti prostředí, které je optimální pro jejich aktivitu (kyselé, neutrální a alkalické proteasy).

Pro tyto enzymy je charakteristické, že se tvoří v *neaktivních formách* (tzv. *zymogenech*), aby nezpůsobovaly proteolýzu v místě svého vzniku. Aktivují se až na místě určení.

### Degradace proteinů z potravy

V trávicím traktu se peptidové vazby postupně hydrolyzují. Hydrolyzu proteinů usnadňuje jejich denaturace tepelnou úpravou potravy a silně kyselým prostředím žaludku. Uvedme si z celé řady tyto příklady enzymů:

- *Pepsin* je kyselá endopeptidasa tvořená buňkami žaludku a je hlavní součástí žaludeční šťávy.
- *Trypsin*, *chymotrypsin* a *elastasa* jsou mírně alkalické endopeptidasy. Tvoří se v pankreatu (slinivce břišní) a aktivují ve dvanáctníku.

Trávicí proteasy získávají účinnost až při vyloučení do trávicího traktu. Tvoří se jako neúčinné zymogeny, které se až na místě potřeby modifikují do účinné podoby. Tím je zabráněno předčasné degradaci jich samých a jiných proteinů na nesprávném místě. Jako příklad si uvedme pepsinogen, který je vylučován do žaludečního obsahu. Působením žaludeční HCl se z něj odštěpuje pět peptidů a vzniká pepsin-inhibitorový komplex. Z něj se pak uvolňuje inhibitorový peptid a teprve nyní vzniká účinná proteasa – pepsin.

Aminokyseliny se vstřebávají a rozvádí krví. Značnou část aminokyselin zachytí a zpracují játra.

## Degradace tkáňových proteinů

Uvnitř buněk je nutno udržovat pořádek. Jakmile přestane nějaký protein plnit svou funkci, jeho osud je zpečetěn. Ve spolupráci s enzymy je k němu připojen malý globulární protein *ubikvitin* o 76 aminokyselinových zbytcích (jeden i několik – mohou být i zřetězeny). Proces se jmenuje *ubikvitinace*. To je jednoznačné označení pro nasměrování do *proteazomu*, složitého enzymového komplexu, připomínající válec. Ubikvitinovaný protein je vtážen dovnitř válce a zde je hydrolyzován. Zbytkové oligopeptidy hydrolyzují cytosolové exopeptidasy. Proteazomy jsou přítomny v cytosolu eukaryotních a cytoplazmě prokaryotních buněk.

V *lyzosomech* jsou hydrolyzovány hlavně mimobuněčné (extracelulární) proteiny a receptory. Lyzozomy obsahují asi 50 různých hydrolytických enzymů. Nejvíce je zde proteas zvaných *katepsiny*. Aktivitu enzymů podmiňuje kyselé prostředí lyzozomu. K lyzozomu jsou proteiny dopravovány uvnitř vakuol, které vznikají obalením proteinu vychlípěním plazmatické membrány buňky. Takto bývají likvidovány i bakterie či viry.

Na závěr je třeba zmínit se i o dalších proteolytických enzymech – cysteinových proteasách *kaspasách*, které hrají zásadní roli při *apoptóze* – programové buněčné smrti, při níž je řízeně likvidována nepotřebná nebo nefunkční buňka způsobem, který chrání její okolí. Je třeba odlišit apoptózu od *nekrózy* způsobené poraněním buňky, jejíž uvolněná cytoplazma působí na své okolí a vyvolává zánětlivou reakci. Obdrží-li buňka signál (vnější, ale i vnitřní) ke své programové smrti, nastává řetězec dějů, kterých se účastní kaspasy. Hovoříme o *kaspasové kaskádě*, v níž jedny kaspasy iniciují jiné a rozbíhá se nevratný řetězec dějů. Během apoptózy je narušen cytoskelet buňky, rozpouští se její organely. Zvláštní roli má narušení funkcí mitochondrií zvýšením propustnosti její vnitřní membrány, kdy uvolněné látky jsou také aktivátory kaspas. Např. uvolněný cytochrom *c* s nimi vytváří proteinový komplex apoptozom, aktivující další kaspasy. Závěrem se buňka rozpadá na biomembránou obalená apoptotická tělíška, se signálními molekulami na svém povrchu, které nabízí tělíška jiným buňkám k pohlcení fagocytózou.

Odedávna se v mlékárenském průmyslu využívá chymosinového syřidla získávaného ze sliznice telecích žaludků. Chymosin účinkuje v přítomnosti vápenatých iontů. Tato endopeptidasa vykonává funkci žaludeční proteinyasy u mláďat krměných mateřským mlékem, kdy u nich ještě není vyvinuta funkce pepsinu. Chymosin štěpí přednostně vazbu Phe–Met v mléčném proteinu  $\kappa$ -kaseinu za vzniku nerozpustného *para- $\kappa$* -kaseinu a C-koncového glykopeptidu. Tím je narušena stabilita kaseinových micel, a ty se účinkem  $\text{Ca}^{2+}$  srážejí. Dnes se ve velkovýrobě využívá syřidel získaných z geneticky upravených plisní *Aspergillus niger*, kvasinek *Kluyveromyces lactis* a různých druhů bakterií.

## Degradace aminokyselin

$\alpha$ -Aminokyseliny nejsou jen stavebními kameny proteinů. Jsou i důležitými metabolity pro energetiku buňky a prekurzory jiných dusíkatých sloučenin (hem, aminy, glutathion, nukleotidy, nukleotidové koenzymy). Aminokyseliny se dělí na esenciální a neesenciální. Neesenciální aminokyseliny umí syntetizovat organismus, esenciální se mu musí dodávat v potravě. Nadbytečné aminokyseliny se degradují na běžné metabolické produkty – pyruvát, oxalacetát a 2-oxoglutarát, a tím se zapojují do metabolického procesu také jako palivo. Při dostatku zdrojů slouží k výstavbě glukosy, mastných kyselin a ketoláték.

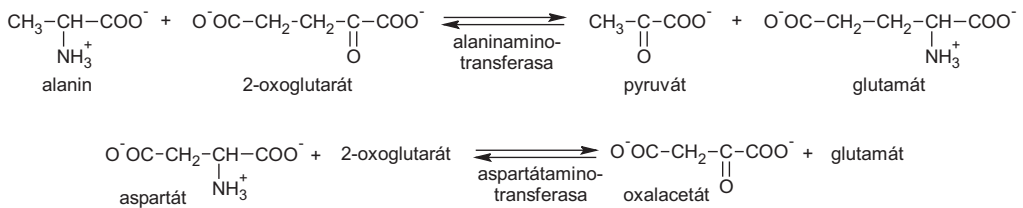
**Tabulka 14** Esenciální a neesenciální aminokyseliny pro lidský organismus

Esenciální aminokyseliny		Neesenciální aminokyseliny	
arginin	lysin	alanin	glutamová kyselina
fenylalanin	methionin	asparagin	glycin
histidin	threonin	asparagová kyselina	prolin
isoleucin	tryptofan	cystein	serin
leucin	valin	glutamin	tyrosin

Katabolismus proteinogenních aminokyselin nemůže probíhat podle jednotného schématu, neboť jednotlivé aminokyseliny se značně liší svou uhlíkovou kostrou a případně dalšími funkčními skupinami.

V degradační dráze aminokyselin je obvyklým prvním krokem odstranění  $\alpha$ -aminoskupiny transaminační reakcí (podrobněji u popisu degradace jednotlivých aminokyselin). Děje se tak působením enzymů aminotransferas (dříve zvaných transaminasy). Tyto enzymy obsahují jako koenzym pyridoxalofosfát (PLP). Je derivátem vitamínu B<sub>6</sub> (pyridoxinu) a v enzymu je vázán jako pyridoxamin-5'-fosfát na lysin enzymu.

V našem těle hrají hlavní roli alaninaminotransferasa a aspartátaminotransferasa (zkratkami ALT a AST), které vyměňují aminoskupiny alaninu a aspartátu s oxoskupinou 2-oxoglutarátu. Tyto reakce mohou probíhat stejně snadno v obou směrech, proto mají význam v degradaci i biosyntéze aminokyselin. V prvním případě tak probíhá výměna skupin mezi dvojicemi alanin – pyruvát a 2-oxoglutarát – glutamát, ve druhém mezi dvojicemi aspartát – oxalacetát a 2-oxoglutarát – glutamát.

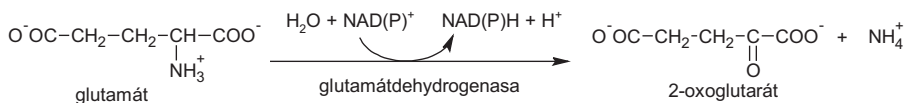


Význam těchto přeměn tkví v tom, že pyruvát je důležitým meziproductem v metabolismu sacharidů a hojný alanin je využíván k přenosu nadbytečného dusíku krví z tkání do jater, 2-oxoglutarát je také hojným meziproductem metabolismu sacharidů a glutamát je nejvhodnější aminokyselinou pro vstup do dále uvedené oxidační deaminace.

Enzymy ALT i AST se nacházejí v různých tkáních, ale nejvíce jich je v játrech. ALT působí pouze v cytosolu, AST v cytosolu i mitochondriích buněk. Tyto enzymy se ve zvýšené míře uvolňují do krve při jaterních problémech (např. hepatitidě). Jejich stanovení v krvi je v klinické biochemii součástí tzv. jaterních testů.

Rovněž rozvětvené aminokyseliny valin, leucin a isoleucin podléhají transaminaci s 2-oxoglutarátem (enzymem je aminotransferasa rozvětvených aminokyselin).

Glutamát se oxidační deaminací glutamátdehydrogenasou mění na 2-oxoglutarát a amoniak. U savců podléhá této reakci dostatečnou rychlostí jedině glutamát.

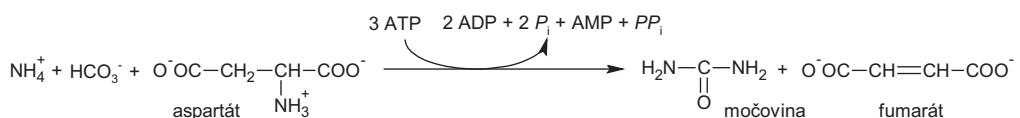
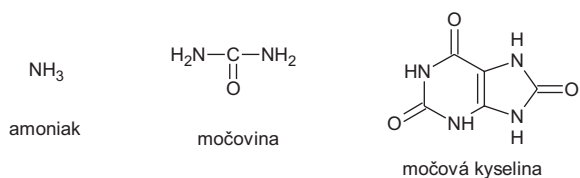


Amoniak se odstraňuje z organismu savců v ureosyntetickém (močovinovém) cyklu.

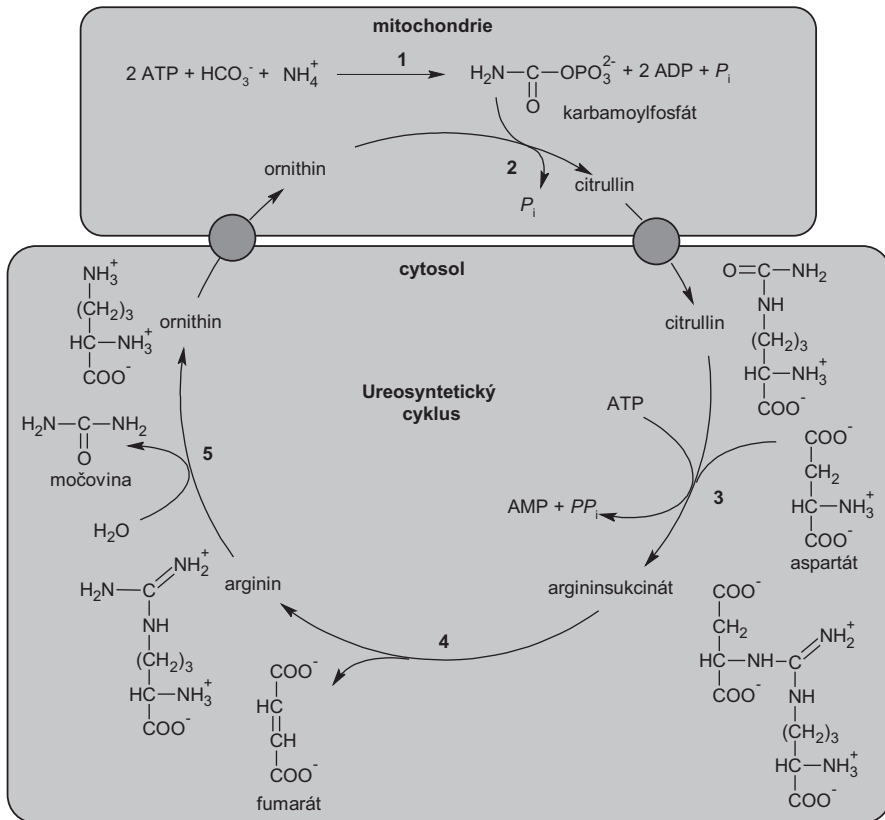
### Ureosyntetický cyklus

Nadbytečný dusík vylučují savci v podobě močoviny, ptáci a plazi v podobě močové kyseliny. Ryby a mnoho nižších vodních živočichů vylučuje přímo amoniak.

Močovina se z uvolněného amoniaku tvoří v ureosyntetickém cyklu podle úhrnné rovnice:



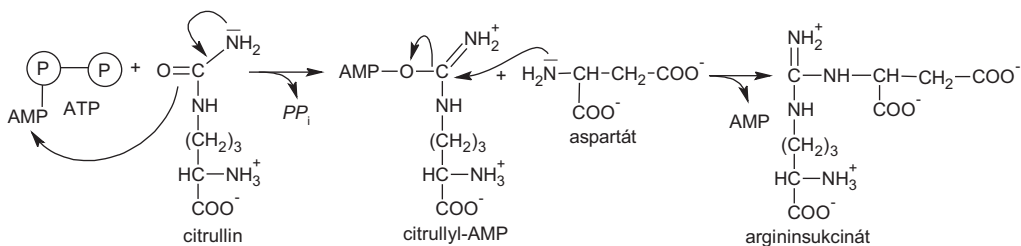
Převedení dusíku do poměrně netoxické a rozpustné močoviny stojí hodně energie. Energetické náklady na cyklus spočívají ve spotřebě 4 makroergních vazeb z hydrolyzy 3 ATP. Organismy, které mohou vyloučit jinak velmi toxický amoniak přes kůži přímo do vody, tuto energii ušetří. Syntéza močoviny nastává v *játrech*, krevním oběhem se převádí do *ledvin* a odtud se vylučuje močí.



**Obrázek 93:** Ureosyntetický cyklus

Na reakcích ureosyntetického cyklu se podílí 5 enzymů – dva mitochondriální a tři cytosolové:

- Karbamoylfosfátsynthetasa (CPS; 1) v mitochondriích aktivuje amoniak a hydrogenuhlíčan za vzniku karbamoylfosfátu, který může vstoupit do ureosyntetického cyklu. Známe i cytosolovou CPS, která používá jako donor dusíku glutamin a podílí se na biosyntéze pyrimidinů.
- Ornithinkarbamoyltransferasa (2) přenáší karbamoylovou skupinu na ornithin a vzniká citrullin.
- Argininsukcinátsynthetasa (3) spojuje citrullin s aspartátem za vzniku argininsukcinátu za spoluúčasti ATP.



- Argininsukcinátlýasa (4) odštěpí z argininsukcinátu fumarát. Fumarátem je ureosyntetický cyklus spojen s citrátovým cyklem. Z meziproduktů citrátového cyklu je využíván i oxalacetát, na nějž je transaminasou přenášena aminoskupina z glutamátu za vzniku aspartátu a obnovy 2-oxoglutarátu.
- Arginasa (5) odštěpuje močovinu a obnovuje ornithin, který vstupuje do mitochondrií.