

Vlastnosti aminokyselin a bílkovin

Představení kapitoly

Aminokyseliny a bílkoviny jsou základní stavební a funkční složky živých organismů. Aminokyseliny tvoří proteiny, které zajišťují prakticky všechny životně důležité funkce – od stavebních (kolagen, keratin), přes transportní (hemoglobin, albumin), až po enzymatické a regulační. Tato kapitola se zaměřuje na chemické a fyzikální vlastnosti aminokyselin a proteinů, jejich strukturu, chování v různých podmínkách, laboratorní metody jejich stanovení a klinický význam.

Obsah

1	Aminokyseliny: Struktura a klasifikace	2
2	Chemické vlastnosti aminokyselin.....	3
2.1	Izoelektrický bod (pI).....	3
2.2	Vybrané chemické reakce aminokyselin.....	4
3	Struktura bílkovin	5
4	Fyzikální a chemické vlastnosti bílkovin	6
4.1	Rozpustnost.....	6
4.2	Denaturace.....	7
4.3	Velikost a náboj.....	7
4.4	Sorpční a pufrační vlastnosti	7
5	Metody pro stanovení proteinů	8
5.1	Chemické metody	8
5.2	Spektrofotometrické metody.....	9
5.3	Imunochemické metody	9
5.4	Elektroforetické metody	11
5.5	Další moderní metody.....	12
6	Klinický význam bílkovin a aminokyselin	13
6.1	Klinicky významné změny bílkovin	13
6.2	Poruchy metabolismu aminokyselin	13

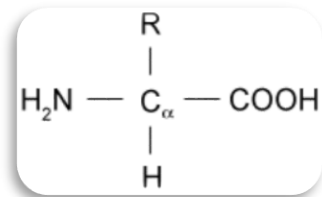
1 Aminokyseliny: Struktura a klasifikace

Téma aminokyseliny, jejich struktura a klasifikace je probírána v kapitole „Aminokyseliny, peptidy, bílkoviny; metody separace“. Zde se zaměříme přímo na chemické vlastnosti aminokyselin a metody s nimi spojené.

Obecné shrnutí k aminokyselinám:

Aminokyseliny jsou **základními stavebními kameny bílkovin**, které určují jejich strukturu a tím i biologické funkce v organismu. Společným rysem všech aminokyselin je přítomnost centrálního **α -uhlíku**, na který jsou navázány čtyři různé skupiny:

- **aminoskupina ($-\text{NH}_2$)** – chová se zásaditě, může přijímat protony,
- **karboxylová skupina ($-\text{COOH}$)** – chová se kyselé, může protony uvolňovat,
- **vodíkový atom ($-\text{H}$)**,
- **postranní řetězec (R)** – část, která se liší u jednotlivých aminokyselin a je klíčová pro jejich chemické i biologické vlastnosti (polarita, náboj, hydrofobita)

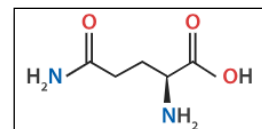


Klasifikace aminokyselin:

- **Podle polaritý R-řetězce:**
 - *Nepolární (hydrofobní)* – nacházejí se uvnitř proteinů (glycin, alanin, valin aj.).
 - *Polární neionizovatelné* – tvoří vodíkové můstky, zvyšují rozpustnost (serin, threonin aj.).
 - *Kyselé* – nesou při fyziologickém pH záporný náboj (aspartát, glutamát).
 - *Zásadité* – nesou kladný náboj (lysin, arginin, histidin).
- **Podle nutnosti příjmu:**
 - *Esenciální* – tělo je neumí syntetizovat, musí být přijímány potravou (např. leucin, lysin, tryptofan).
 - *Neesenciální* – organismus si je dokáže vytvořit (např. alanin, glutamát, glycin).



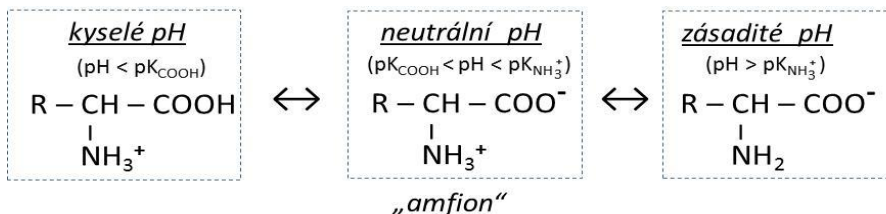
Otázka: Které tři aminokyseliny mají zásadité postranní řetězce? Identifikujte následující aminokyselinu. Proč je pro náš organismus tak významná?



2 Chemické vlastnosti aminokyselin

Struktura postranního řetězce aminokyselin určuje chemické a fyzikální vlastnosti aminokyselin. Aminokyseliny neabsorbují viditelné světlo, proteiny jsou známy absorpcí UV záření o vlnové délce kolem 280 nm, což je podmíněno přítomností tryptofanu. Postranní řetězec také ovlivňuje jejich rozpustnost ve vodě. Alifatické (Ala, Val, Leu, Ile) a aromatické (Trp, Tyr, Phe) aminokyseliny jsou hydrofobní. Ostatní aminokyseliny jsou hydrofilní.

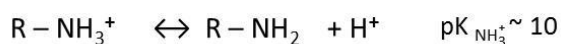
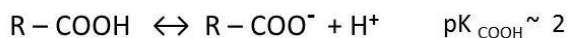
Většina aminokyselin nemá při neutrálním pH v roztocích vnější elektrický náboj, vytváří dipolární ion (zwitterion, amfion), kdy aminoskupina je protonizovaná ($-\text{NH}_3^+$) a karboxyskupina ionizovaná ($-\text{COO}^-$). Tedy počet kladně nabitých ionizovaných skupin se vyrovná počtu záporně nabitých skupin a bílkovina se navenek chová jako elektroneutrální, nepohybuje se v elektrickém poli. Rozpustnost bílkovin při pH **izoelektrického bodu (pI)**, je menší než při kterékoli jiné hodnotě pH. Zvýší-li se koncentrace H^+ v roztoku (klesne pH) natolik, že je potlačena disociace karboxy skupiny, aminokyselina se navenek jeví jako kladně nabitá. U alkalických roztoků je tomu naopak. Složitější situace nastává u aminokyselin se dvěma karboxy nebo amino skupinami. Platí však, že při neutrálním pH jsou kyselé aminokyseliny (Asp, Glu) záporně nabité, bazické (Lys, Arg, His) kladně.



2.1 Izoelektrický bod (pI)

Každá aminokyselina obsahuje kyselou i zásaditou skupinu a podle pH prostředí se může chovat buď jako kyselina, nebo jako zásada. Existuje však určité pH, při němž má aminokyselina **vyrovnaný počet kladných a záporných nábojů** – výsledný elektrický náboj je tedy nulový. Toto pH se označuje jako **izoelektrický bod (pI)**.

- V **izoelektrickém bodě** je rozpustnost aminokyseliny ve vodě nejnížší, protože molekuly se mezi sebou snadněji shlukují a vysrážejí.
- Hodnota pI závisí na povaze postranního řetězce:
 - **kyselé aminokyseliny** mají pI nižší než 6,
 - **zásadité aminokyseliny** mají pI vyšší než 7.

amfoterní charakter AKIzoelektrický bod (pI)

$$pI = (pK_{\text{COOH}} + pK_{\text{NH}_3^+}) / 2$$

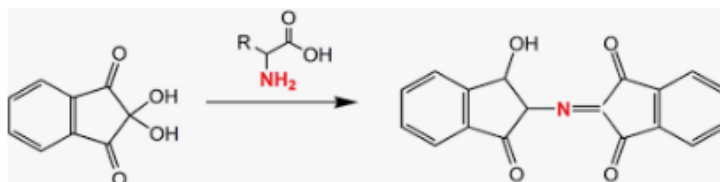
Izoelektrický bod je důležitý v biochemii i medicíně – například při **elektroforéze bílkovin**, kde pohyb molekul v elektrickém poli závisí právě na jejich náboji při daném pH.

2.2 Vybrané chemické reakce aminokyselin

Aminokyseliny se díky své struktuře účastní celé řady chemických reakcí. Některé z nich se využívají v analytické chemii k jejich **kvalitativnímu průkazu**:

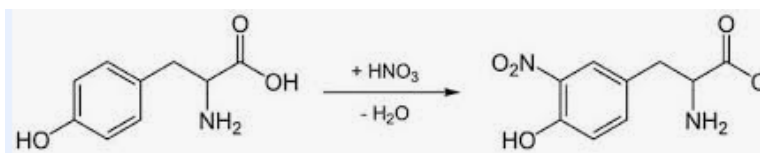
- Reakce s ninhydrinem**

Používá se k detekci **volných aminokyselin**. Ninhydrin oxiduje aminoskupinu na iminokyselinu, která se hydrolyticky štěpí za vzniku amoniaku. Amoniak pak reaguje se dvěma molekulami ninhydrinu a vzniká barevný produkt s **intenzivní modrofialovou barvou**. Tuto reakci využívá např. chromatografie aminokyselin nebo kriminalistika při průkazu otisků prstů.



- Xantoproteinová reakce**

Specifická pro **aromatické aminokyseliny** (tyrosin, částečně tryptofan a fenylalanin). V přítomnosti koncentrované kyseliny dusičné dochází k **nitraci aromatického jádra**, čímž vznikají žlutě zbarvené nitroderiváty. Po přidání zásady se barva zvýrazní. Tato reakce byla historicky jednou z prvních k průkazu proteinů.

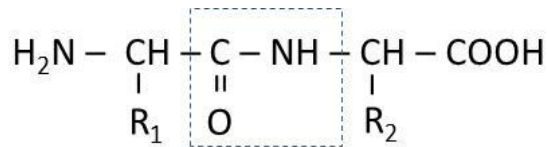


3 Struktura bílkovin

Také téma peptidy, bílkoviny a jejich struktura je probírána v kapitole „Aminokyseliny, peptidy, bílkoviny; metody separace“. Zde se zaměříme opět přímo na jejich chemické vlastnosti a metody s nimi spojené.

Obecně o peptidech, bílkovinách a jejich struktuře a rozdělení:

Bílkoviny (proteiny) jsou základní stavební materiál těla (kolagen, keratin), ale také hormony, enzymy a protilátky. Tvoří je **20 základních aminokyselin**, spojených **peptidovými vazbami**. Kratší řetězce tvoří **peptidy** (např. inzulin, oxytocin, glutathion), delší **polypeptidy** a bílkoviny.



Struktura proteinů:

- **Primární** – pořadí aminokyselin dané genetickým kódem.
- **Sekundární** – uspořádání do α -helixu či β -skládaného listu (vodíkové vazby).
- **Terciární** – prostorový tvar řetězce, stabilizovaný disulfidovými, iontovými a hydrofobními interakcemi.
- **Kvarterní** – spojení více podjednotek (např. hemoglobin).

Dělení proteinů:

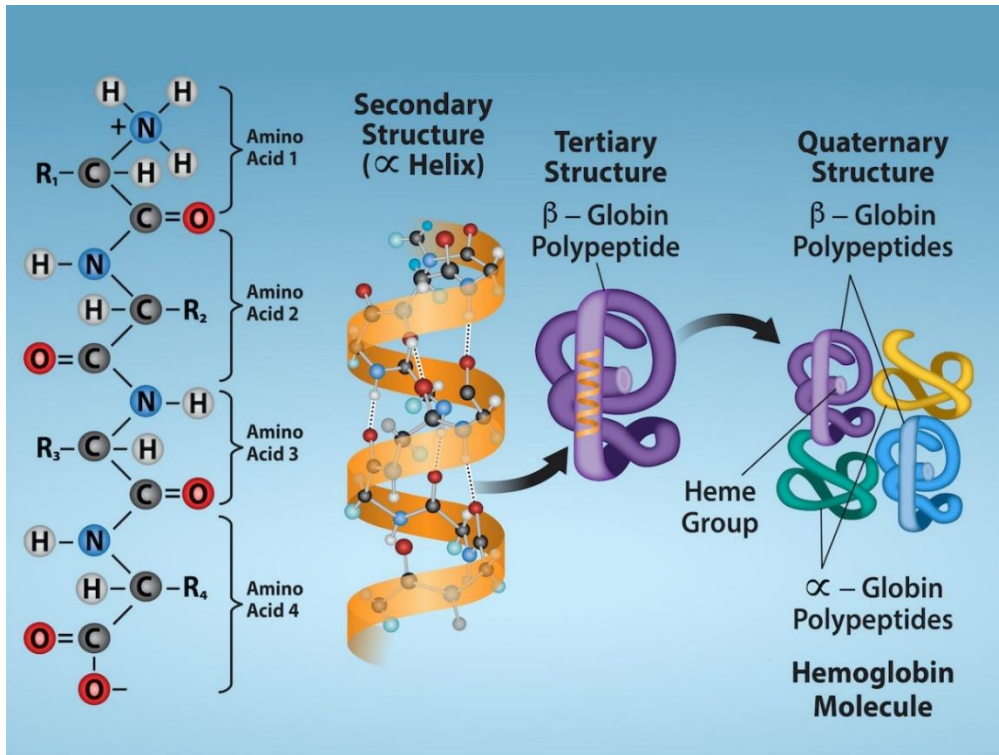
- **Podle tvaru:** fibrilární (kolagen) a globulární (albumin, hemoglobin).
- **Podle složení:** jednoduché (jen AK) a složené (lipoproteiny, hemoproteiny, glykoproteiny, metaloproteiny).



Zajímavost: Jasně červená barva okysličené krve a tmavší odstín odkysličené odpovídá změně konformace hemoglobinu.



Otázka: Které typy interakcí se podílejí na terciární struktuře bílkovin a proč jsou důležité?



(Zdroj: <https://raider.pressbooks.pub/biology1/chapter/21-protein-structure-and-function/>)

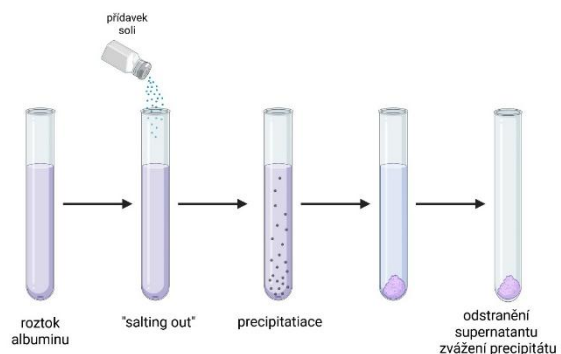
4 Fyzikální a chemické vlastnosti bílkovin

Rozmanitost bílkovin je dána různým chemickým charakterem aminokyselin a jejich relativním zastoupením v bílkovinách. Bílkoviny vykazují řadu specifických fyzikálně-chemických vlastností, které souvisejí s jejich strukturou. Tyto vlastnosti ovlivňují jejich funkci, chování v prostředí i možnosti laboratorního zkoumání.

4.1 Rozpustnost

Stabilita a rozpustnost proteinů ve vodném roztoku jsou ovlivněny několika faktory: zastoupením aminokyselin (počtem ionizovatelných a hydrofobních zbytků), velikostí a tvarem molekuly, pH (vzdáleností od izoelektrického bodu, pI), iontovou silou (soli), teplotou a přítomností dalších rozpouštědel, například organických molekul.

Při nízké iontové síle (např. 0,15 M NaCl – fyziologický roztok) mnoho proteinů vykazuje tzv. vsolovací efekt: ionty soli pomáhají udržovat hydratační obal a síť vodíkových vazeb kolem proteinu, čímž zvyšují jeho rozpustnost.



Při vysoké iontové síle dochází k vysolovacímu efektu. Soli soutěží s proteiny o vodu a odstraňují hydratační obal. Tyto účinky podporují hydrofobní interakce a agregaci molekul proteinů (precipitace). Běžně používaným vysolovacím činidlem je síran amonný. Síran amonný, který je ve vodě vysoce rozpustný a při rozpouštění v ní poskytuje tři hydratované ionty. Jeho postupným přidáváním do roztoku se mohou ze směsi bílkovin izolovat jednotlivé frakce.



Zajímavost: *Proteinové doplňky – Whey protein (syrovátkový) a kasein se liší stravitelností a rozpustností – rozdíly vyplývají z jejich struktury.*

4.2 Denaturace

Denaturace proteinů je proces, při kterém dochází k narušení **vyšších strukturálních úrovní bílkovin** (sekundární, terciární a kvartérní) bez změny jejich **primární struktury** (pořadí aminokyselin). V důsledku toho protein ztrácí svou **biologickou aktivitu**. Denaturaci mohou vyvolat různé **fyzikální faktory**, například **zvýšená teplota**, **ultrafialové záření**, **ionizující záření** nebo **mechanické působení**, a také **chemické faktory**, mezi něž patří **extrémní pH**, **organická rozpouštědla**, **chaotropní látky** (močovina, guanidinium chlorid) nebo **těžké kovy** tvořící komplexy se **sulfhydrylovými skupinami cysteinu**. Denaturace může být **reverzibilní**, kdy se po odstranění vyvolávajícího činitele protein částečně navrácí do původní struktury, nebo **ireverzibilní**, kdy dojde k trvalým změnám a **vysrážení bílkoviny**. Tento jev má zásadní význam v biologii i praxi – vysvětluje ztrátu **enzymové aktivity**, využívá se při **sterilizaci** a je důležitý také v **potravinářství**, například při **srážení bílkovin** při vaření vajec či výrobě sýrů.

4.3 Velikost a náboj

Proteiny jsou amfoterní makromolekuly nesoucí při různém pH odlišný **celkový elektrický náboj**, který vyplývá z přítomnosti ionizovatelných postranních skupin aminokyselin. Hodnota náboje ovlivňuje jejich chování v elektrickém poli – v kyselém prostředí se proteiny stávají kladně nabitými, v zásaditém prostředí naopak nesou záporný náboj. Spolu s tím hraje významnou roli také **velikost a tvar proteinových molekul**, které určují rychlost jejich pohybu v roztoku či gelu. Tyto vlastnosti se prakticky využívají při metodách, kde dochází k **separaci proteinů na základě rozdílů v náboji a velikosti** – typickým příkladem je elektroforéza, jež umožňuje rozdělit směs proteinů a poskytnout cenné informace o jejich složení.

4.4 Sorpční a pufrací vlastnosti

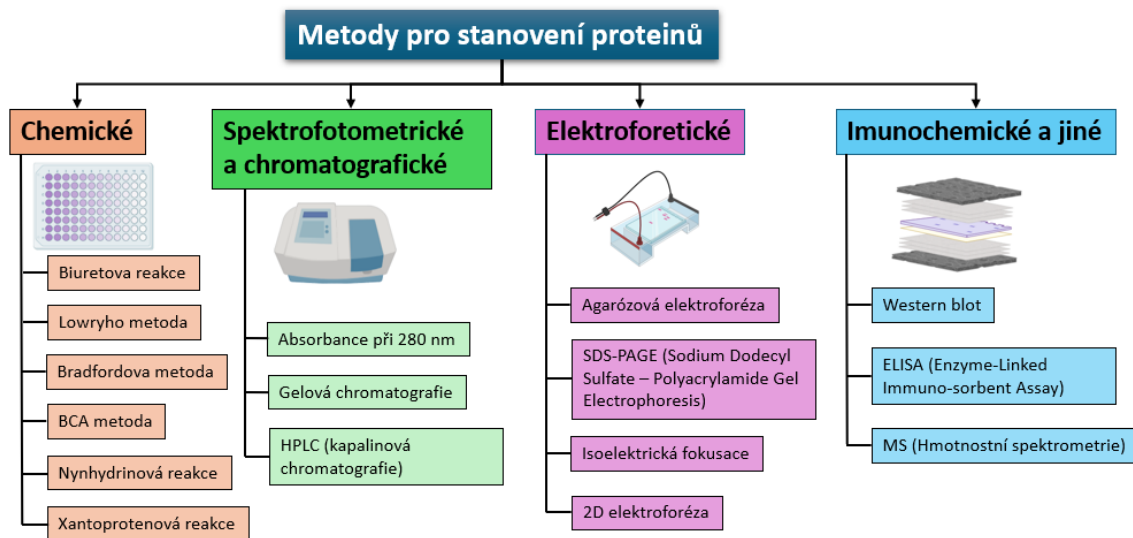
Proteiny mají výrazné **sorpční vlastnosti**, které vyplývají z přítomnosti funkčních skupin schopných vytvářet vodíkové můstky, elektrostatické či hydrofobní interakce. Díky tomu dokážou **vázat různé molekuly a ionty** na svůj povrch, což se uplatňuje jak v biologických procesech, tak při purifikaci bílkovin.

Současně proteiny vykazují také **pufrací vlastnosti**, protože obsahují ionizovatelné skupiny (karboxylové, aminové, imidazolové aj.), které mohou přijímat nebo odevzdávat protony. Díky tomu přispívají k **udržení stabilního pH** v biologických systémech, například v krevní plazmě.



Otázka: Jak ovlivňuje pH celkový elektrický náboj bílkovin a jak se tato vlastnost prakticky využívá??

5 Metody pro stanovení proteinů



5.1 Chemické metody

Biuretová reakce

Základní kolorimetrická metoda pro důkaz bílkovin. V alkalickém prostředí tvoří **měďnaté ionty (Cu^{2+})** komplex s **peptidovými vazbami**. Vzniká charakteristické **fialové zbarvení**, jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci proteinů.

Lowryho metoda

Jedna z nejcitlivějších klasických metod pro stanovení bílkovin. Kombinuje **biuretovou reakci** se vznikem barevného komplexu po redukci **Folin-Ciocalteu činidla** (směs fosfomolybdenanu a fosfotungstanu). Výsledkem je modré zbarvení, které lze přesně měřit spektrofotometricky.

Bradfordova metoda

Využívá vazby **barviva Coomassie Brilliant Blue G-250** na bazické aminokyseliny (zejména arginin, částečně lysin a histidin) a na aromatické postranní řetězce (fenylalanin, tryptofan, tyrosin). Po navázání na bílkovinu se barvivo mění z červené formy na modrou. Tato metoda je rychlá, jednoduchá a velmi oblíbená při stanovení bílkovin v biologických vzorcích.

BCA metoda (bicinchoninová kyselina)

Podobně jako Lowryho metoda je založená na **komplexaci měďnatých iontů** po jejich redukcí bílkovinami. V alkalickém prostředí vzniká **fialový komplex** s vysokou citlivostí, který se hodnotí spektrofotometricky. Výhodou je dobrá stabilita barvy a reprodukovatelnost výsledků.

5.2 Spektrofotometrické metody

Proteiny přirozeně absorbují ultrafialové (UV) záření v oblasti kolem 280 nm. Důvodem je přítomnost aromatických aminokyselin – především tyrosinu, tryptofanu a částečně fenylalaninu – jejichž aromatické kruhy silně absorbují právě v této oblasti spektra.

Výhodou této metody je, že je jednoduchá, rychlá a nevyžaduje žádná přídavná činidla – měří se přímo roztok bílkoviny. Intenzita absorbance při 280 nm je úměrná koncentraci proteinu a lze ji kvantifikovat pomocí Lambert-Beerova zákona.

Nevýhodou je relativně nízká specifita – pokud jsou ve vzorku přítomny jiné látky absorbující v UV oblasti (např. nukleové kyseliny nebo některé metabolity), může dojít k falešně zvýšeným hodnotám. Proto se metoda často kombinuje s dalšími postupy pro ověření výsledků.

5.3 Imunochemické metody

Imunochemické metody využívají vysokou **specifitu protilátek**, které se vážou na cílový protein. Díky tomu je možné nejen zjistit jeho přítomnost, ale i přesně stanovit jeho množství. Tyto metody jsou dnes základním nástrojem klinické i výzkumné biochemie.

➤ ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)

Metoda **ELISA** patří mezi nejčastěji používané imunochemické techniky pro stanovení proteinů, hormonů, protilátek či jiných analytů. Je založena na **specifické vazbě antigenu a protilátky**, která je následně převedena na měřitelný barevný signál pomocí enzymatické reakce.

1. Zachycení analytu primární protilátkou

Na povrchu inertního nosiče (obvykle **96jamková mikrotitrační destička**) je navázána **specifická primární protilátka** proti stanovovanému analytu. Do jamek se napipetují vzorky a kalibrátory. Pokud vzorek obsahuje sledovaný analyt, dojde k jeho **navázání na protilátku**. Nereagující složky se následně odmyjí.



2. Navázání sekundární protilátky s enzymem

Do jamek se přidává **sekundární protilátka**, která se váže na jiný epitop analytu. Tato protilátka je kovalentně spojena s enzymem (např. peroxidáza křenu – HRP). Po navázání je opět odstraněn přebytek nevázané protilátky promytím.

3. Enzymatická reakce se substrátem

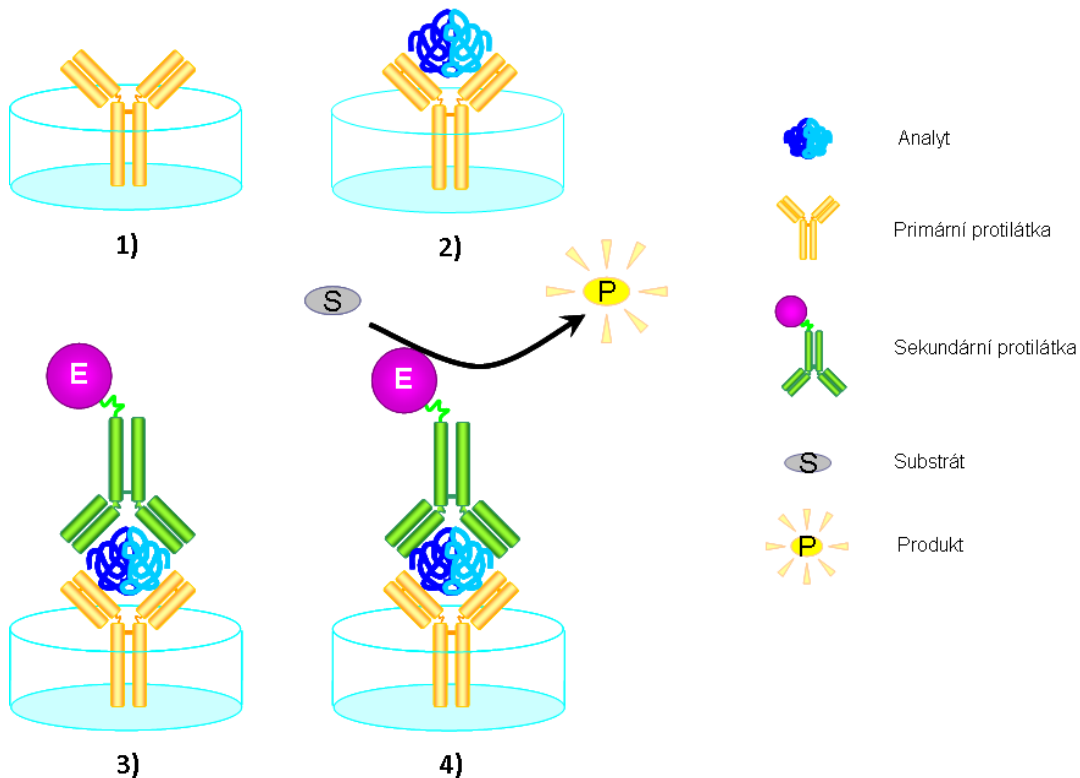
Do systému se přidá vhodný **substrát enzymu**. Přítomný enzym katalyzuje reakci, při níž vzniká **barevný produkt**. Intenzita jeho zbarvení je přímo úměrná množství analytu ve vzorku.

4. Detekce a vyhodnocení

Barevný signál se měří pomocí spektrofotometru (tzv. **ELISA reader**). Výsledkem je **závislost mezi koncentrací analytu a absorbancí** na zvolené vlnové délce. Pomocí kalibrační křivky lze poté přesně určit koncentraci analytu v jednotlivých vzorcích.

Výhody: velmi vysoká citlivost a specifita, možnost analýzy mnoha vzorků najednou.

Využití: diagnostika infekčních onemocnění, stanovení hormonů, nádorových markerů nebo protilátek.



Western blot

Jedná se o kombinovanou metodu: proteiny jsou nejprve odděleny podle velikosti pomocí elektroforézy, poté přeneseny na membránu a následně detekovány specifickými protilátkami.

Výhody: umožňuje nejen stanovení koncentrace, ale i identifikaci konkrétního proteinu mezi mnoha dalšími.

Využití: výzkum, diagnostika některých infekčních onemocnění (např. HIV), ověřování výsledků z ELISA testů.

Imunonefelometrie a imunoturbidimetrie

V obou případech se sleduje zákal, který vzniká při tvorbě imunokomplexů antigen–protilátka.

Imunonefelometrie: měří rozptyl světla, který imunokomplexy vyvolávají.

Imunoturbidimetrie: měří přímo pokles intenzity procházejícího světla vlivem zakalení roztoku.

Využití: stanovení koncentrace sérových bílkovin (např. imunoglobulinů, C-reaktivního proteinu, komplementu).

5.4 Elektroforetické metody

Elektroforéza je soubor metod, které využívají **pohyb nabitých molekul v elektrickém poli**. Proteiny se dělí podle svého **náboje, velikosti nebo izoelektrického bodu**, a proto lze těmito technikami získat velmi podrobné informace o jejich vlastnostech.

Agarózová a acetátová elektroforéza

Proteiny se pohybují v porézním nosiči (agarózovém nebo acetátovém gelu) pod vlivem elektrického pole. Separace je dána jejich **celkovým nábojem a velikostí**.

Použití: klasická metoda v klinické diagnostice, např. při rozdělení **sérových proteinů** na frakce (albumin, α -, β - a γ -globuliny). Důležitá při diagnostice **paraproteinémií** (např. mnohočetný myelom).

SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate – Polyacrylamide Gel Electrophoresis)

Proteiny se před separací ošetří detergentem SDS, který je **denaturuje** a zároveň jim dodá **uniformní záporný náboj**. Díky tomu se v elektrickém poli oddělují **především podle své molekulové hmotnosti**.

Použití: výzkumná biochemie a molekulární biologie – **analýza čistoty preparátu, stanovení velikosti proteinů, kontrola rekombinantních proteinů**.

Isoelektrická fokusace (IEF)

Proteiny se separují v **pH gradientu** a migrují elektrickým polem tak dlouho, dokud nedosáhnou svého **izoelektrického bodu (pI)**. V tomto pH je jejich čistý náboj nulový a migrace se zastaví.

Výhoda: extrémně vysoké rozlišení i mezi proteiny, které se jinak velmi podobají.

Použití: detailní charakterizace proteinů, detekce mutací a jemných změn v jejich struktuře.

➤ 2D elektroforéza (2D-PAGE)

Kombinuje **isoelektrickou fokusaci** (1. krok) a **SDS-PAGE** (2. krok). Proteiny jsou nejprve uspořádány podle **pI**, a následně podle **velikosti**. Výsledkem je dvojrozměrný gel s vysokou rozlišovací schopností.

Použití: klíčová metoda v **proteomice**, umožňuje mapovat stovky až tisíce proteinů v buňce či tkáni a porovnávat jejich změny při různých stavech (zdraví vs. nemoc).

5.5 Další moderní metody

Kromě klasických kolorimetrických, spektrofotometrických, imunochemických a elektroforetických metod se v současné biochemii uplatňují také **vysoce citlivé instrumentální techniky**, které umožňují detailní analýzu složení a množství proteinů.

Hmotnostní spektrometrie (MS)

Hmotnostní spektrometrie umožňuje **přesně určit molekulovou hmotnost, složení a strukturu proteinů**. Principem je ionizace proteinů nebo jejich fragmentů a měření jejich pohybu v elektrickém a magnetickém poli podle **poměru hmotnosti k náboji (m/z)**.

Výhody: extrémní citlivost, možnost identifikace i velmi malého množství látky, schopnost rozlišit různé modifikace proteinů (např. fosforylace, glykosylace).

Použití: proteomika, hledání biomarkerů nemocí, analýza složení komplexních směsí.

Kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography)

HPLC je technika, která slouží k **separaci a kvantifikaci proteinů nebo peptidů** na základě jejich interakcí se stacionární a mobilní fází. Proteiny putují chromatografickou kolonou různou rychlostí podle svých fyzikálně-chemických vlastností (např. hydrofobita, velikost, náboj).

Výhody: vysoká účinnost separace, možnost kvantifikace, kombinovatelnost s detekčními metodami (např. UV, fluorescenční, MS).

Použití: stanovení čistoty proteinů, analýza směsí, příprava proteinových vzorků pro další metody (např. MS).

6 Klinický význam bílkovin a aminokyselin

Bílkoviny a aminokyseliny jsou nejen základními stavebními a funkčními složkami organismu, ale zároveň i důležitými ukazateli zdraví a nemoci. Jejich hladiny v biologických tekutinách (zejména v krvi a moči) slouží v klinické biochemii k diagnostice, sledování průběhu onemocnění i k hodnocení výživového stavu pacienta. Změny koncentrace často odrážejí **patologické procesy, poruchy metabolismu nebo zánětlivé reakce**.

6.1 Klinicky významné změny bílkovin

Hypoalbuminémie znamená sníženou koncentraci albuminu v séru. Nejčastějšími příčinami jsou jaterní selhání, kdy je snížena tvorba bílkovin, nefrotický syndrom se zvýšenými ztrátami močí, nebo těžká podvýživa a malabsorpce. Klinicky je hypoalbuminémie důležitá především proto, že vede k poklesu onkotického tlaku a následně ke vzniku otoků. Zároveň slouží jako ukazatel závažnosti onemocnění.

Paraproteinémie je stav, kdy se v krvi objevují abnormální monoklonální imunoglobuliny, označované jako **paraproteiny**. Typicky se s ní setkáváme u mnohočetného myelomu. Je to významný diagnostický i monitorovací marker u hematologických malignit.

Reaktanty akutní fáze jsou proteiny, jejichž koncentrace v séru se zvyšuje při zánětu nebo infekci. Mezi nejvýznamnější patří **C-reaktivní protein (CRP), haptoglobin a transferin**. Tyto bílkoviny umožňují rychlé zhodnocení přítomnosti i intenzity zánětlivého procesu a patří k základním laboratorním markerům v klinické praxi.

Specifické proteiny mají význam především v diagnostice a sledování konkrétních onemocnění. Například **prostatický specifický antigen (PSA)** se využívá ve screeningu a monitoraci karcinomu prostaty. **β_2 -mikroglobulin** je marker některých hematologických malignit a zároveň se používá v nefrologii k hodnocení funkce ledvin.

6.2 Poruchy metabolismu aminokyselin

Poruchy metabolismu aminokyselin jsou často **vzácná dědičná metabolická onemocnění**, která mohou mít závažné důsledky pro vývoj a zdraví dítěte. Proto jsou dnes součástí **novorozeneckého screeningu**.

Fenylketonurie (PKU) je genetická porucha metabolismu fenylalaninu způsobená deficitem enzymu fenylalaninhydroxylázy. Následkem je hromadění fenylalaninu, které je toxické pro nervový systém. Bez léčby vede k těžkému mentálnímu postižení. Základem terapie je včasná dietní léčba s omezením příjmu fenylalaninu v potravě.

Mezi další dědičné poruchy patří **homocystinurie, tyrosinémie a MSUD (Maple Syrup Urine Disease)**. Všechny tyto stavy jsou způsobeny geneticky podmíněnými defekty enzymů zapojených do metabolismu aminokyselin. Bez léčby mohou vést k závažným neurologickým poruchám, opoždění psychomotorického vývoje nebo k postižení orgánů. Díky novorozeneckému screeningu je možné tyto nemoci odhalit včas a zahájit odpovídající léčbu.

Shrnutí

Aminokyseliny jsou stavební jednotky bílkovin, jejichž vlastnosti určují chování a funkci celého proteinu. Klíčovým pojmem je izoelektrický bod, který ovlivňuje náboj a rozpustnost proteinů. Struktura proteinů se popisuje na čtyřech úrovních – od primární sekvence aminokyselin až po kvartérní uspořádání. Proteiny jsou amfoterní, mají sorpční a pufrací vlastnosti a podléhají denaturaci vlivem fyzikálních či chemických faktorů. Stanovení proteinů se provádí řadou metod – od jednoduchých kolorimetrických (Biuret, Bradford) až po vysoce citlivé imunochemické (ELISA, Western blot) nebo moderní instrumentální (MS, HPLC). V klinické praxi mají proteiny zásadní význam při diagnostice zánětu (CRP), onkologických onemocnění (PSA), imunologických poruch (paraproteinémie) či dědičných metabolických vad (PKU, MSUD).

Kontrolní otázky

1. Které tři aminokyseliny mají zásadité postranní řetězce?
2. Co je izoelektrický bod a proč je důležitý pro rozpustnost proteinů?
3. Jaký je rozdíl mezi sekundární a terciární strukturou bílkovin?
4. Jaký je princip ninhydrinové reakce při stanovení proteinů?
5. Proč proteiny absorbují UV záření při 280 nm?
6. Co je paraproteinémie a s jakým onemocněním souvisí?
7. Jaký je princip 2D elektroforézy?