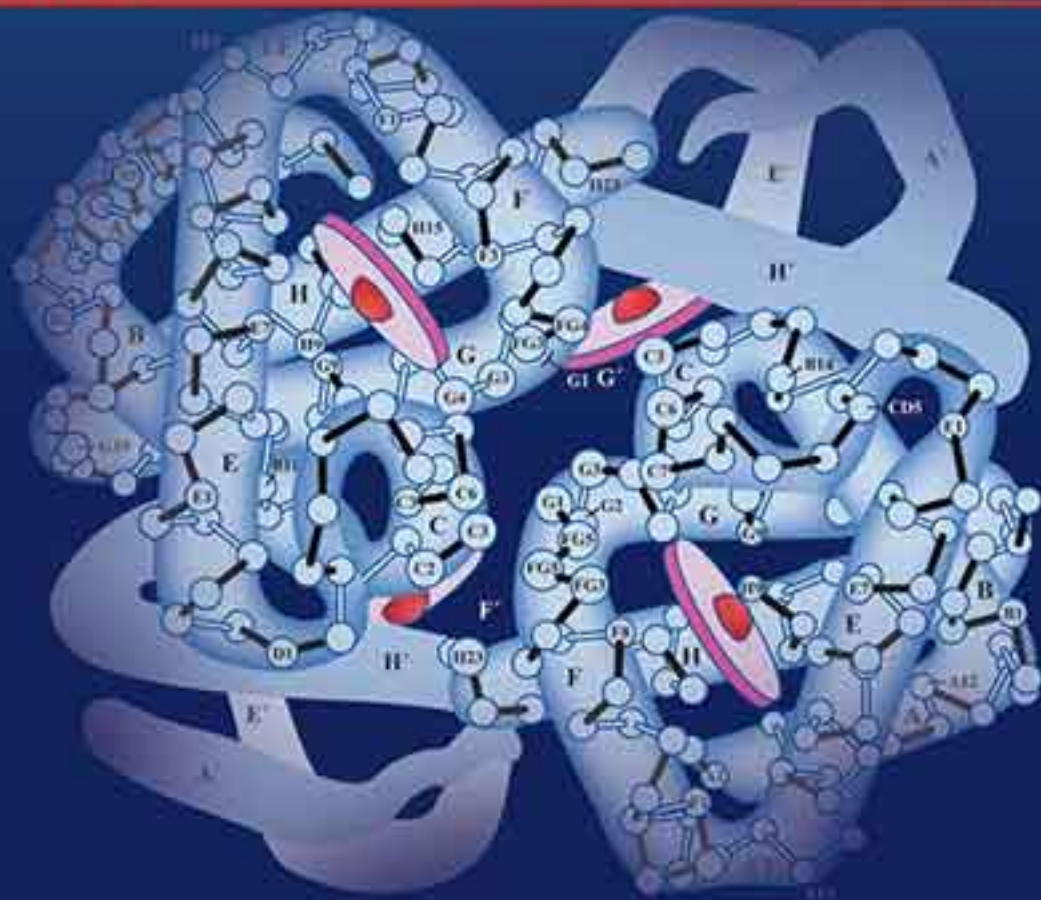


Biochemia

WYDANIE 7



Spis treści

CZĘŚĆ I: Budowa i funkcja białek

Rozdział 1:	Aminokwasy	1
Rozdział 2:	Struktura białek	15
Rozdział 3:	Białka globularne	29
Rozdział 4:	Białka fibrylarne	49
Rozdział 5:	Enzymy	61

CZĘŚĆ II: Bioenergetyka i metabolizm węglowodanów

Rozdział 6:	Bioenergetyka i fosforylacja oksydacyjna	79
Rozdział 7:	Wprowadzenie do węglowodanów	95
Rozdział 8:	Wprowadzenie do metabolizmu i proces glikolizy	105
Rozdział 9:	Cykl kwasów trikarboksylowych i kompleks dehydrogenazy pirogronianowej	125
Rozdział 10:	Glukoneogeneza	135
Rozdział 11:	Metabolizm glikogenu	145
Rozdział 12:	Metabolizm monosacharydów i disacharydów	159
Rozdział 13:	Szlak pentozofosforanowy i fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego	169
Rozdział 14:	Glikozaaminoglikany, proteoglikany i glikoproteiny	183

CZĘŚĆ III: Metabolizm lipidów

Rozdział 15:	Metabolizm lipidów pokarmowych	201
Rozdział 16:	Metabolizm kwasów tłuszczowych, triacylogliceroli i ciał ketonowych	211
Rozdział 17:	Metabolizm fosfolipidów, glikolipidów i eikozanoidów	235
Rozdział 18:	Cholesterol, lipoproteiny i metabolizm steroidów	255

CZĘŚĆ IV: Metabolizm azotu

Rozdział 19:	Aminokwasy: usuwanie azotu	283
Rozdział 20:	Aminokwasy: rozpad i synteza	301
Rozdział 21:	Aminokwasy: Przemiana w wyspecjalizowane produkty	319
Rozdział 22:	Metabolizm nukleotydów	335

CZĘŚĆ V: Integracja metabolizmu

Rozdział 23:	Metaboliczne efekty insuliny i glukagonu	353
Rozdział 24:	Cykl stan sytości – stan głodzenia	369
Rozdział 25:	Cukrzyca	387
Rozdział 26:	Otyłość	401

CZĘŚĆ VI: Medyczne aspekty żywienia

Rozdział 27:	Żywnienie: omówienie i makroskładniki odżywcze	.411
Rozdział 28:	Mikroskładniki odżywcze: witaminy	.435
Rozdział 29:	Składniki odżywcze: minerały	.461

CZĘŚĆ VII: Magazynowanie i ekspresja informacji genetycznej

Rozdział 30:	Struktura, replikacja i naprawa DNA	.465
Rozdział 31:	Struktura, synteza i obróbka RNA	.499
Rozdział 32:	Synteza białka	.515
Rozdział 33:	Regulacja ekspresji genu	.535
Rozdział 34:	Biotechnologia a choroby człowieka	.553

ZAŁĄCZNIK	Przypadki kliniczne	.581
Index		.xx
Figure Sources		.xx

CZĘŚĆ I:

Budowa i funkcja białek

1

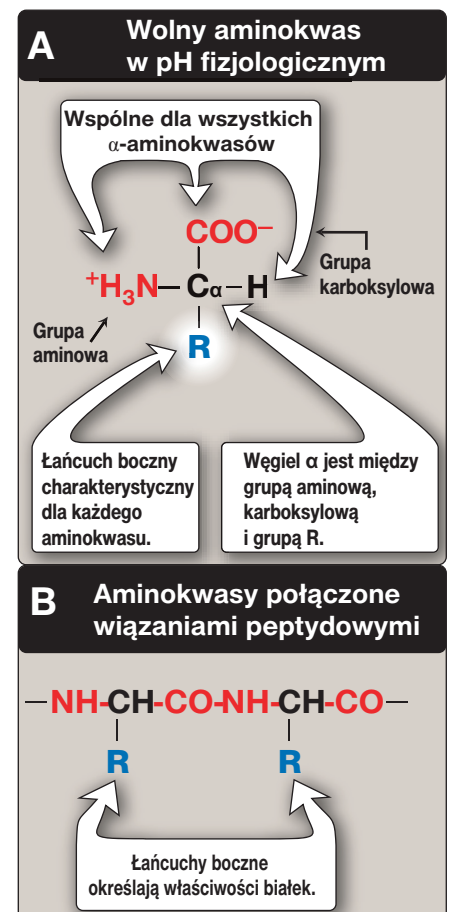
Aminokwasy

I. WPROWADZENIE

Białka są najliczniejszymi i najbardziej zróżnicowanymi funkcjonalnie cząsteczkami w układach żywych. Właściwie każdy proces życiowy jest uzależniony od tej grupy makrocząsteczek. Na przykład enzymy i hormony polipeptydowe regulują metabolizm ustrojowy, podczas gdy białka kurczliwe w mięśniach warunkują ruch. W kościach białko kolagenowe tworzy zrąb do odkładania kryształów fosforanu wapnia, działając jak pręty stalowe w zbrojonym betonie. W krwiobiegu takie białka, jak hemoglobina i albumina, przenoszą cząsteczki niezbędne do życia, natomiast immunoglobuliny zwalczają zakaźne bakterie i wirusy. Krótko mówiąc, białka przedstawiają ogromne zróżnicowanie funkcji, ale wszystkie mają wspólną cechę strukturalną, będąc liniowymi polikondensatami aminokwasów. W tym rozdziale opisano właściwości aminokwasów. W rozdziale 2 wyjaśniono, jak te proste elementy są połączone, tworząc białka, posiadające unikatowe trójwymiarowe struktury, dzięki którym są zdolne do pełnienia specyficznych funkcji biologicznych.

II. STRUKTURA

Mimo że w przyrodzie opisano ponad 300 różnych aminokwasów, tylko 20 występuje powszechnie jako składniki białek ssaków. [Uwaga: Te podstawowe aminokwasy (kanoniczne) są jedynymi kodowanymi genetycznie (przez 64 kodony, czyli jednostki w sekwencji mRNA składającej się z trzech nukleotydów). Niestandardowe aminokwasy są tworzone w wyniku chemicznych modyfikacji aminokwasów podstawowych (zob. s. 51).] Każdy aminokwas ma grupę karboksylową, pierwszorzędową grupę aminową (z wyjątkiem proliny, która ma drugorzędową grupę aminową) i charakterystyczny łańcuch boczny (grupę R) przy atomie węgla α . W fizjologicznym pH (około 7,4) grupa karboksylowa jest zdysocjowana, tworząc ujemnie naładowany jon karboksylowy ($-\text{COO}^-$), a grupa aminowa ulega protonowaniu ($-\text{NH}_3^+$) (ryc. 1.1A). W białkach prawie wszystkie te grupy aminowe i karboksylowe są połączone za pomocą wiązania peptydowego i ogólnie rzecz biorąc nie są dostępne dla reakcji chemicz-



Rycina 1.1

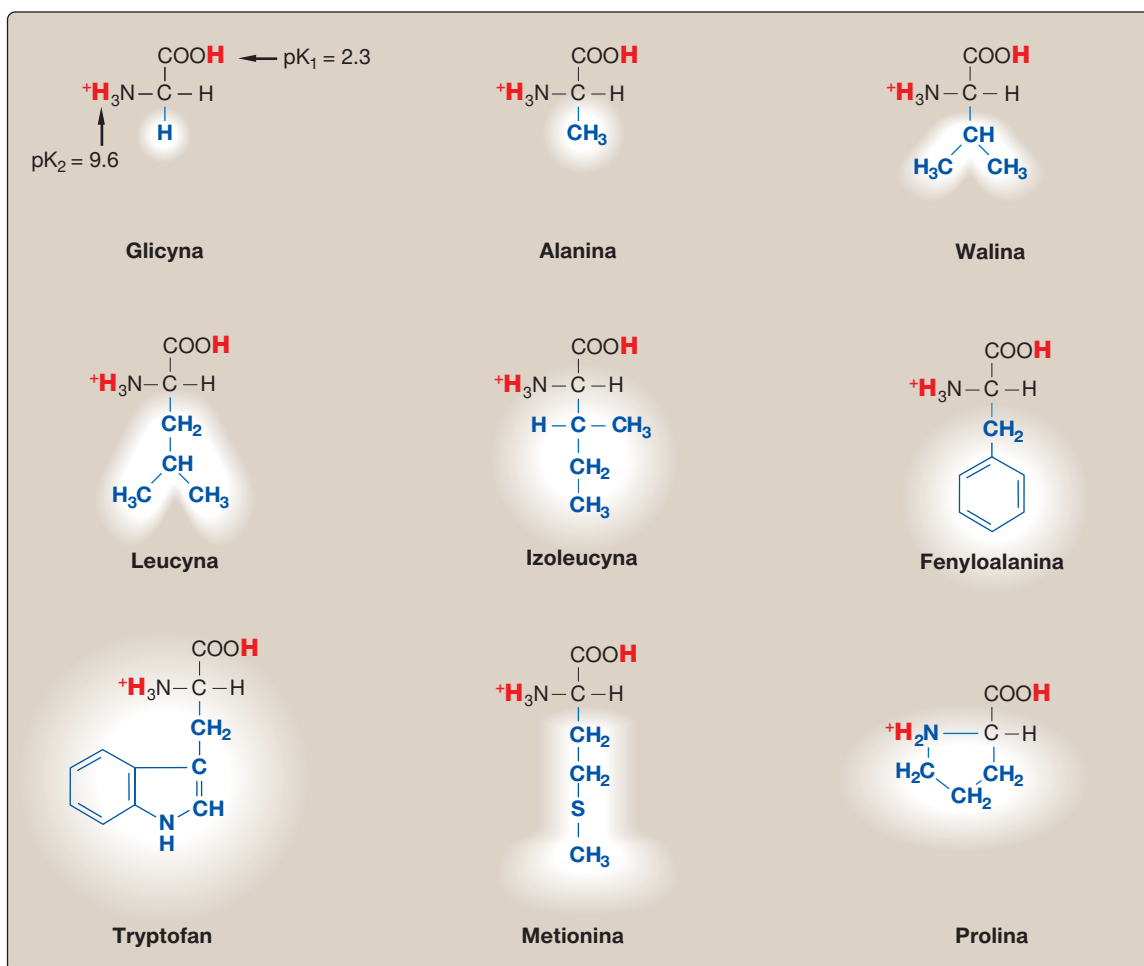
A, B. Cechy strukturalne aminokwasów.

nej, z wyjątkiem tworzenia wiązań wodorowych (ryc. 1.1B). W związku z tym, to charakter łańcuchów bocznych ostatecznie decyduje o roli, jaką aminokwas odgrywa w białku. Dlatego ze względów praktycznych istotne jest klasyfikowanie aminokwasów ze względu na właściwości ich łańcuchów bocznych, tzn. czy są one niepolarne (mają równomierny rozkład elektronów) czy polarne (mają nierównomierny rozkład elektronów, tak jak kwasy i zasady), jak pokazano na rycinach 1.2 i 1.3.

A. Aminokwasy z niepolarnymi łańcuchami bocznymi

Każdy z tych aminokwasów ma niepolarny łańcuch boczny, który nie zyskuje i nie traci protonów, ani też nie uczestniczy w tworzeniu wiązań wodorowych lub jonowych (zob. ryc. 1.2). Łańcuchy boczne tych aminokwasów mogą być traktowane jako lipofilowe, czyli hydrofobowe, o właściwości, która promuje oddziaływania hydrofobowe (zob. ryc. 2.10, s. 21).

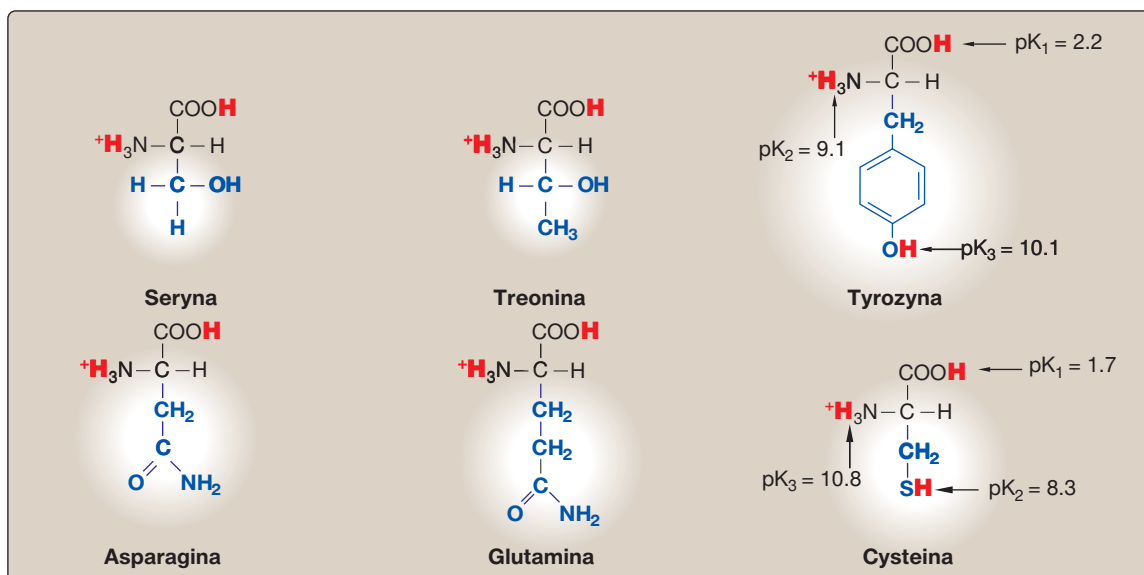
NIEPOLARNE ŁAŃCUCHY BOCZNE



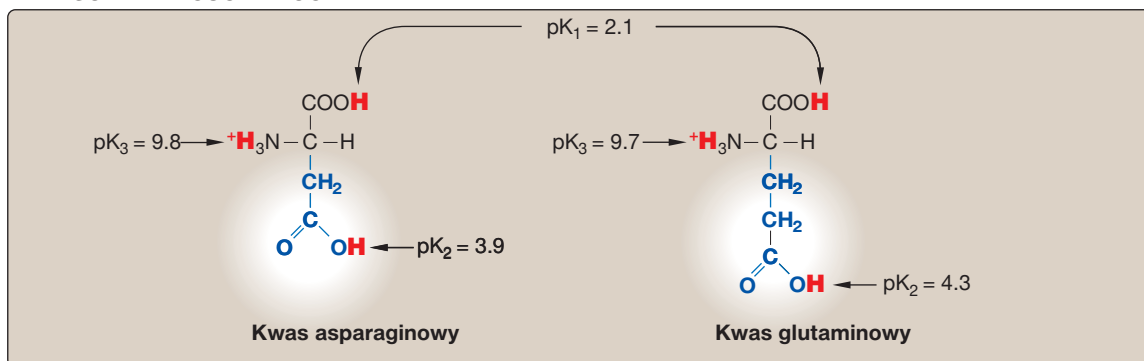
Rycina 1.2

Klasyfikacja 20 standardowych aminokwasów, według ładunku i polarności ich łańcuchów bocznych w kwaśnym pH, została przedstawiona tutaj i na rycinie 1.3. Każdy aminokwas jest pokazany w całkowicie uprotonowanej formie, z kationami wodorowymi, zaznaczonymi kolorem. Wartości pK dla grup α -karboksylowych i α -aminowych aminokwasów niepolarnych są podobne do wartości dla glicyny.

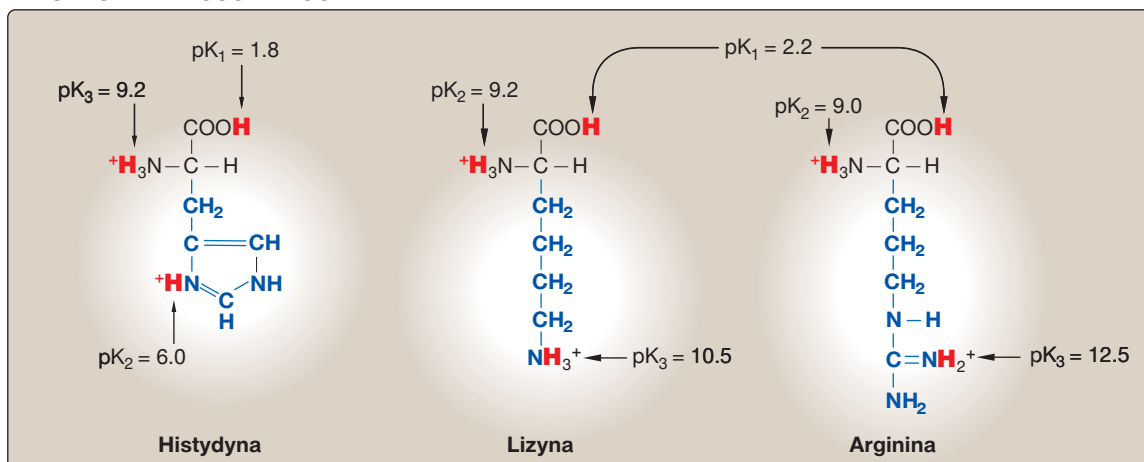
POLARNE ŁAŃCUCHY BOCZNE BEZ ŁADUNKU



KWASOWE ŁAŃCUCHY BOCZNE

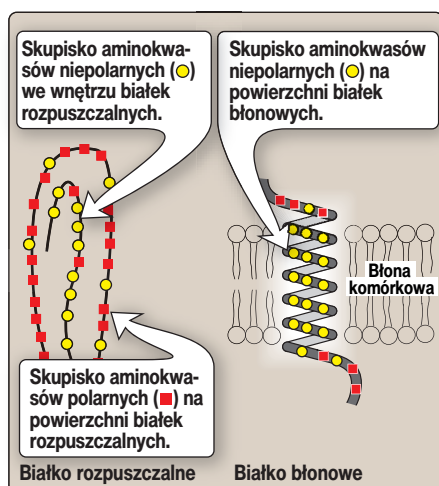


ZASADOWE ŁAŃCUCHY BOCZNE

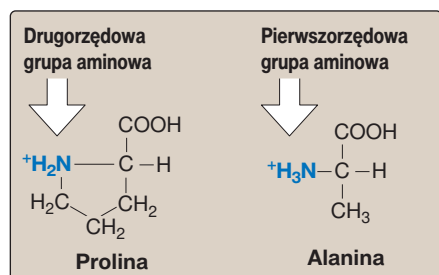


Rycina 1.3

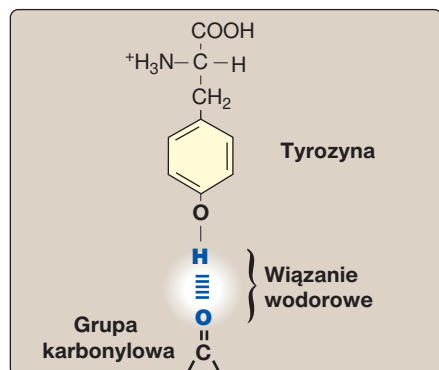
Klasyfikacja 20 aminokwasów powszechnie spotykanych w białkach, według ładunku i polarności ich łańcuchów bocznych w kwaśnym pH (kontynuacja ryc. 1.2). [Uwaga: W pH fizjologicznym (7.35 do 7.45) grupy α -karboksylowe, kwasowe łańcuchy boczne i łańcuch boczny wolnej histydyny są pozbawione protonów].

**Rycina 1.4**

Rozmieszczenie aminokwasów niepolarnych w białkach rozpuszczalnych i błonowych.

**Rycina 1.5**

Porównanie drugorzędowej grupy aminowej obecnej w prolinie z pierwszorzędową grupą aminową obecną w innych aminokwasach, takich jak alanina.

**Rycina 1.6**

Wiązanie wodorowe pomiędzy fenolową grupą hydroksylową tyrozyny i inną cząsteczką posiadającą grupę karbonylową.

1. Lokalizacja w białkach: W białkach obecnych w roztworach wodnych (środowisko polarne), łańcuchy boczne aminokwasów niepolarnych mają tendencję do skupiania się razem we wnętrzu białka (ryc. 1.4). Zjawisko to, znane jako efekt hydrofobowy, jest wynikiem hydrofobowości niepolarnych grup R, które działają podobnie jak kropelki oleju, zlewające się w środowisku wodnym. Niepolarne grupy R wypełniają w ten sposób wnętrze zwiniętego białka, wspomagając nadawanie mu trójwymiarowego kształtu. Dla białek jednak, które znajdują się w środowisku hydrofobowym, takim jak błony biologiczne, niepolarne grupy R znajdują się na zewnętrznej powierzchni białka, oddziałując z otoczeniem lipidów (zob. ryc. 1.4). Znaczenie tych hydrofobowych oddziaływań w stabilizowaniu struktury białka jest omówione na s. 22.

Niedokrwistość sierpowata, choroba krwinek czerwonych, która sprawia, że przybierają kształt sierpowaty zamiast dyskowego, wynika z podstawienia polarnego glutaminianu przez niepolarną walinę w pozycji szóstej podjednostki β hemoglobiny A (zob. s. 40).

2. Prolina: Prolina różni się od innych aminokwasów tym, że jej łańcuch boczny i azot grupy α -aminowej tworzą sztywną strukturę pięciocząłonowego pierścienia (ryc. 1.5). Prolina ma więc raczej drugorzędową (a nie pierwszorzędową) grupę aminową. Często określa się ją mianem „iminokwasu”. Unikatowa geometria proliny przyczynia się do tworzenia włóknikowatej struktury kolagenu (zob. s. 51), chociaż deformuje α -spirale obecne w białkach globulinnych (zob. s. 18).

B. Aminokwasy z polarnymi łańcuchami bocznymi pozbawionymi ładunku

Aminokwasy te mają zerowy ładunek netto w obojętnym pH, chociaż łańcuchy boczne cysteiny i tyrozyny mogą tracić proton w zasadowym pH (zob. ryc. 1.3). Seryna, treonina i tyrozyna posiadają polarną grupę hydroksylową, która może brać udział w tworzeniu wiązania wodorowego (ryc. 1.6). Łańcuchy boczne asparaginy i glutaminy zawierają grupę karbonylową i grupę amidową, i obie mogą także uczestniczyć w tworzeniu wiązania wodorowego.

1. Wiązanie disiarczkowe: Łańcuch boczny cysteiny zawiera grupę sulfhydrylową (tiolową, $-SH$), która jest ważnym składnikiem miejsca aktywnego wielu enzymów. W białkach, grupy $-SH$ dwóch reszt cysteiny mogą zostać utlenione, tworząc kowalencyjne wiązanie sieciujące, zwane wiązaniem disiarczkowym (disulfidowym) ($-S-S-$). Dwie reszty cysteiny połączone wiązaniem disiarczkowym są nazywane cystyną. (Zob. s. 22, gdzie szerzej przedyskutowano tworzenie wiązania disiarczkowego).

Wiele białek zewnątrzkomórkowych jest stabilizowanych wiązaniami disiarczkowymi. Przykładem jest albumina, białko krwi, które funkcjonuje jako transporter różnych cząsteczek.

2. Łańcuchy boczne jako miejsca przyłączenia różnych związków: Polarne grupy hydroksylowe seryny, treoniny i (rzadziej) tyrozyny mogą służyć jako miejsce przyłączenia struktur takich jak grupy fosforanowe. Ponadto grupa amidowa asparaginy, jak też grupa hydroksylowa seryny lub treoniny, mogą służyć jako miejsce przyłączenia łańcuchów oligosacharydowych w glikoproteinach (zob. s. 191).

C. Aminokwasy z kwasowymi łańcuchami bocznymi

Aminokwasy, kwas asparaginowy i kwas glutaminowy są donorami protonów. W fizjologicznym pH łańcuchy boczne tych aminokwasów są całkowicie zjonizowane z ujemnie naładowaną grupą karboksylową ($-\text{COO}^-$). Całkowicie zjonizowane formy są nazywane asparaginianem lub glutaminianem.

D. Aminokwasy z zasadowymi łańcuchami bocznymi

Łańcuchy boczne aminokwasów zasadowych przyjmują protony (zob. ryc. 1.3). W fizjologicznym pH grupy R lizyny i argininy są całkowicie zjonizowane i naładowane dodatnio. Natomiast wolny aminokwas histydyna ma charakter lekko zasadowy, ale głównie występuje w formie neutralnej w fizjologicznym pH. Jednakże histydyna w białku może mieć grupę R naładowaną dodatnio (uprotonowaną) albo obojętną, zależnie od jonowego środowiska tworzonego przez białko. Ta ważna właściwość histydyny przyczynia się do buforującej roli, jaką odgrywa w funkcjonowaniu takich białek jak hemoglobina (zob. s. 34). [Uwaga: Histydyna jest jedynym aminokwasem z łańcuchem bocznym, który może jonizować w zakresie fizjologicznego pH].

E. Skróty i symbole powszechnie występujących aminokwasów

Każdej nazwie anglojęzycznej aminokwasu towarzyszy trzyliterowy skrót i jednoliterowy symbol (ryc. 1.7). Jednoliterowe kody są ustalone według następujących zasad.

- 1. Niepowtarzająca się pierwsza litera:** Jeżeli tylko jeden aminokwas zaczyna się od danej litery, wtedy ta litera jest użyta jako jego symbol. Na przykład V = val = walina.
- 2. Najczęściej występujące aminokwasy mają priorytet:** Jeśli więcej niż jeden aminokwas rozpoczyna się od danej litery, najczęstszy z tych aminokwasów otrzymuje tę literę jako jego symbol. Na przykład glicyna jest bardziej powszechna niż glutaminian, więc G = glicyna.
- 3. Podobnie brzmiące nazwy:** Niektóre jednoliterowe symbole brzmią jak nazwy aminokwasów, które reprezentują. Na przykład F = fenyloalanina.
- 4. Litera blisko litery początkowej:** Dla pozostałych aminokwasów, jednoliterowy symbol przypisano najbliższej w alfabecie literze do początkowej litery aminokwasu, na przykład K = lizyna. Ponadto B jest przypisana do Asx, co oznacza kwas asparaginowy lub asparaginę, Z przypisano do Glx, co oznacza kwas glutaminowy lub glutaminę, i X przypisano do niezidentyfikowanego aminokwasu.

1 Niepowtarzająca się pierwsza litera

Cysteina	=	Cys	=	C
Histydyna	=	His	=	H
Izoleucyna	=	Ile	=	I
Metionina	=	Met	=	M
Seryna	=	Ser	=	S
Walina	=	Val	=	V

2 Najczęściej występujące aminokwasy mają priorytet:

Alanina	=	Ala	=	A
Glicyna	=	Gly	=	G
Leucyna	=	Leu	=	L
Prolina	=	Pro	=	P
Threonina	=	Thr	=	T

3 Podobnie brzmiące nazwy:

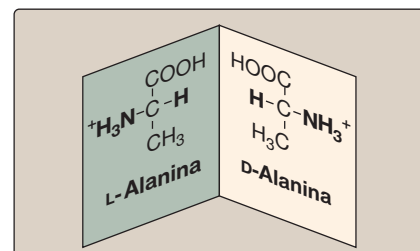
Arginina	=	Arg	=	R	("aRginina")
Asparagina	=	Asn	=	N	(zawiera N)
Asparaginian	=	Asp	=	D	("asparDyk")
Glutaminian	=	Glu	=	E	("glutEminian")
Glutamina	=	Gln	=	Q	("Q-tamina")
Fenyloalanina	=	Phe	=	F	("Fenyloalanina")
Tyrozyna	=	Tyr	=	Y	("tYrozyna")
Tryptofan	=	Trp	=	W	(podwójny pierścień w cząsteczce)

4 Litera blisko litery początkowej:

Asparaginian lub asparagina	=	Asx	=	B	(blisko A)
Glutaminian lub glutamina	=	Glx	=	Z	
Lizyna	=	Lys	=	K	(blisko L)
Nieoznaczony aminokwas	=		=	X	

Rycina 1.7

Skróty i symbole standardowych aminokwasów.

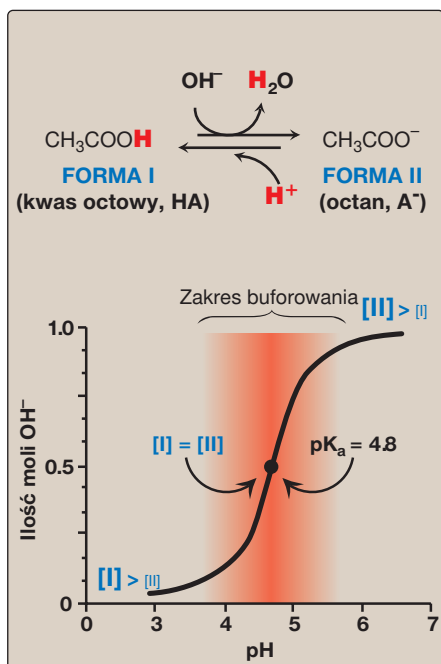


Rycina 1.8

Formy D i L alaniny są odbiciami lustrzanymi (enancjomery).

F. Izomery aminokwasów

Ponieważ α -węgiel aminokwasu jest przyłączony do czterech różnych grup chemicznych, jest w związku z tym atomem asymetrycznym (chiralnym). Glicyna jest wyjątkiem, ponieważ jej α -węgiel ma dwa podstawniki wodorowe. Aminokwasy z chiralnym α -węglem występują w dwóch formach izomerycznych, oznaczonych jako D i L, które są enancjomerami (lustrzanymi odbiciami) (ryc. 1.8). [Uwaga: Enancjomery są optycznie czynne. Jeżeli izomer D lub L wywołuje rotację płaszczyzny światła spolaryzowanego zgodnie ze wskazówkami zegara, to określa się go formą (+)]. Wszystkie aminokwasy w białkach ssaków mają konfigurację L. Jednak D-aminokwasy znajdują się w niektórych antybiotykach i bakteryjnych ścianach komórkowych (zob. s. 291). [Uwaga: Racemazy enzymatycznie konwertują D- i L-izomery wolnych aminokwasów].



Rycina 1.9

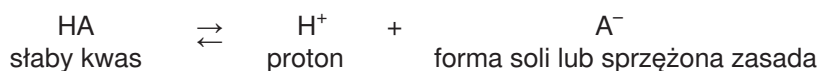
Krzywa miareczkowania kwasu octowego.

III. KWASOWE I ZASADOWE WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW

Aminokwasy w roztworze wodnym zawierają słabo kwasowe grupy α -karboksylowe i słabo zasadowe grupy α -aminowe. Ponadto każdy z aminokwasów kwasowych i zasadowych zawiera w łańcuchu bocznym grupę ulegającą jonizacji. W ten sposób wolne aminokwasy i niektóre aminokwasy zaangażowane w wiązania peptydowe mogą działać jako bufony. Kwasy mogą być zdefiniowane jako donory protonów, a zasady jako akceptory protonów. Kwasy (lub zasady) opisane jako słabe jonizują tylko w ograniczonym zakresie. Stężenie protonów $[H^+]$ w roztworze wodnym jest wyrażane jako pH, gdzie $pH = \log 1/[H^+]$ lub $-\log [H^+]$. Ilościowa relacja między pH roztworu i stężeniem słabego kwasu (HA) oraz jego sprzężonej zasady (A^-) jest opisana równaniem Hendersona-Hasselbalcha.

A. Wyprowadzenie równania

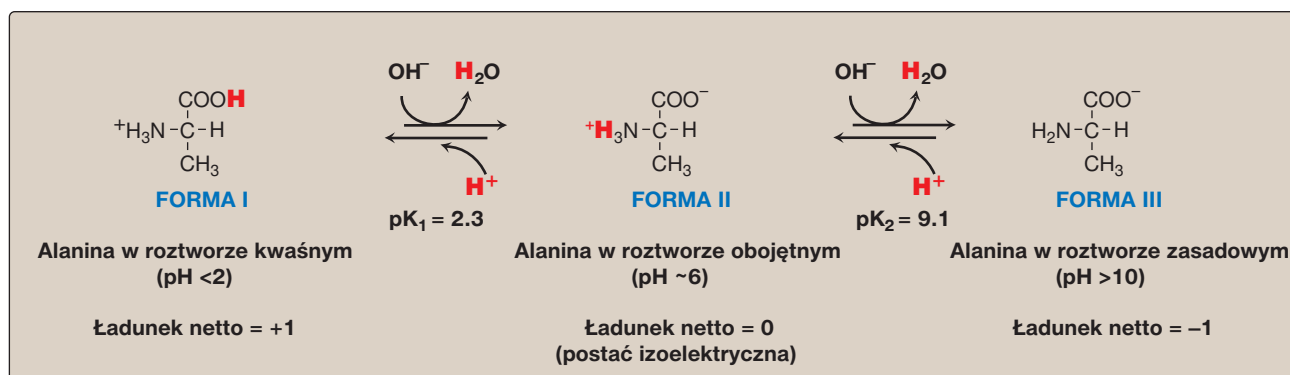
Rozważmy uwolnienie protonu przez słaby kwas, reprezentowany przez HA:



Sól lub sprzężona zasada A^- jest zjonizowaną formą słabego kwasu. Z definicji, stałą dysocjacji kwasu, K_a , jest:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

[Uwaga: Im większa K_a , tym silniejszy kwas, ponieważ wzrasta stężenie $[H^+]$ i $[A^-]$. I odwrotnie, im mniejsza wartość K_a , tym mniej kwasu]

**Rycina 1.10**

Formy jonowe alaniny w roztworze kwaśnym, obojętnym i zasadowym.

zdysocjowało, w związku z tym kwas jest słabszy, gdyż zwiększa się stężenie cząsteczek niezdisocjowanych $[HA]$. Obliczając $[H^+]$ z powyższego równania, następnie logarytmując obie strony rozwiązane równania, mnożąc obie strony przez -1 i podstawiając $pH = -\log [H^+]$ i $pK_a = -\log K_a$, otrzymujemy równanie Hendersona-Hasselbalcha:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

B. Bufory

Buforem jest roztwór, który jest oporny na zmiany pH po dodaniu niewielkich ilości mocnego kwasu lub zasady. Bufor może być tworzony przez zmieszanie słabego kwasu (HA) z jego sprzężoną zasadą (A^-). Jeśli kwas taki jak HCl jest dodany do buforu, A^- może go zneutralizować, przekształcając się w tym procesie do HA . Jeśli dodawana jest zasada, HA może ją zneutralizować w procesie przekształcenia do A^- . Maksymalna pojemność buforowania występuje w pH równym pK_a , ale skojarzona para kwas-zasada nadal może służyć jako skuteczny bufor, gdy pH roztworu jest około ± 1 jednostki pH w zakresie pK_a . Jeśli ilości HA i A^- są równe, wartość pH jest równa pK_a . Jak pokazano na ryc. 1.9, roztwór zawierający kwas octowy ($HA = CH_3 - COOH$) i octan ($A^- = CH_3 - COO^-$) z pK_a 4.8 jest oporny na zmiany pH od 3.8 do 5.8 z maksymalnym buforowaniem w pH 4.8. Przy wartości pH niższej od pK_a postać uprotonowanego kwasu ($CH_3 - COOH$) jest dominującą formą w roztworze. W pH o wyższej wartości niż pK_a postać deprotonowanej zasady ($CH_3 - COO^-$) dominuje w roztworze. W pH powyżej pK_a forma deprotonowanej zasady ($CH_3 - COO^-$) dominuje w roztworze.

C. Miareczkowanie aminokwasu

Krzywą miareczkowania aminokwasu można analizować w taki sam sposób, jak opisano dla kwasu octowego.

- 1. Dysocjacja grupy karboksylowej:** Przykładem może być alanina, która zawiera poddające się jonizacji grupy α -karboksylową i α -aminową [Uwaga: Jej $-CH_3$ grupa R nie jonizuje]. Przy niskim (kwaśnym) pH obie te grupy są uprotonowane (ryc. 1.10). Przy wzroście

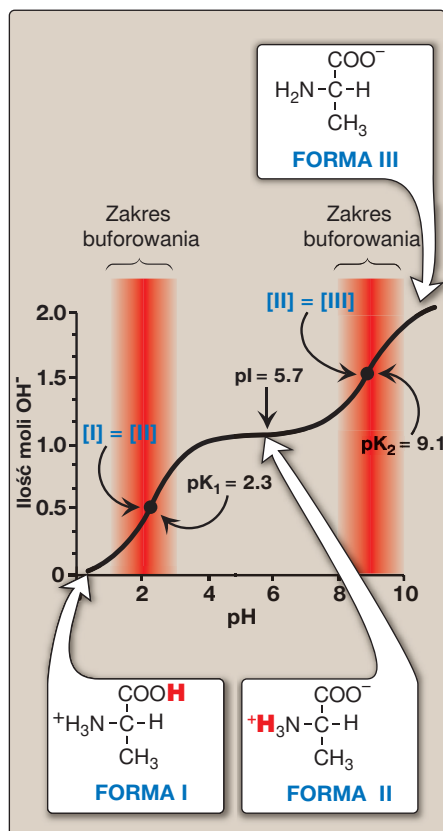
pH roztworu grupa $-\text{COOH}$ formy I może dysocjować, dostarczając H^+ do otoczenia. Uwolnienie protonu H^+ powoduje powstanie grupy karboksylowej $-\text{COO}^-$. Ta struktura jest pokazana jako forma II, która jest dipolarną formą cząsteczki (zob. ryc. 1.10). Ta forma, zwana także jonem obojnaczym (zwiterjonem od nazwy niemieckiej „zwitter”, czyli hybryda) jest izoelektryczną postacią alaniny, co oznacza, że ma ładunek ogólny (netto) zero.

2. Zastosowanie równania Hendersona-Hasselbalcha: Stała dysocjacji grupy karboksylowej aminokwasu nazywa się K_1 , zamiast K_a , ponieważ cząsteczka zawiera drugą grupę do miareczkowania. Równanie Hendersona-Hasselbalcha służy do analizowania dysocjacji grupy karboksylowej alaniny w taki sam sposób, jak opisano dla kwasu octowego:

$$K_1 = \frac{[\text{H}^+][\text{II}]}{[\text{I}]}$$

gdzie I jest całkowicie uprotonowaną postacią alaniny, a II jest izoelektryczną formą alaniny (zob. ryc. 1.10). Równanie to może być ponownie napisane i zamienione do postaci logarytmicznej:

$$\text{pH} = \text{p}K_1 + \log \frac{[\text{II}]}{[\text{I}]}$$



Rycina 1.11

Krzywa miareczkowania alaniny.

3. Dysocjacja grupy aminowej: Druga grupa alaniny do miareczkowania jest grupą aminową ($-\text{NH}_3^+$) pokazaną na rycinie 1.10. Jest to dużo słabszy kwas niż grupa $-\text{COOH}$, dlatego ma znacznie mniejszą stałą dysocjacji K_2 [Uwaga: Jej $\text{p}K_a$ jest zatem większa]. Uwolnienie H^+ z uprotonowanej grupy aminowej formy II daje w pełni odprotonowaną postać alaniny, formę III (zob. ryc. 1.10).

4. pK alaniny: Sekwencyjną dysocjację H^+ z grupy karboksylowej i aminowej alaniny przedstawiono na rycinie 1.10. Każda grupa miareczkowalna ma $\text{p}K_a$ liczbowo równą pH, w którym dokładnie połowa H^+ została usunięta z tej grupy. Wartość $\text{p}K_a$ dla najbardziej kwaśnej grupy ($-\text{COOH}$) jest $\text{p}K_1$, natomiast $\text{p}K_a$ dla następnej najbardziej kwaśnej grupy ($-\text{NH}_3^+$) jest $\text{p}K_2$ [Uwaga: $\text{p}K_2$ grupy α -karboksylowej aminokwasów jest -2 , natomiast grupy α -aminowej jest -9].

5. Krzywa miareczkowania alaniny: Stosując równanie Hendersona-Hasselbalcha do każdej dysocjującej grupy kwasowej, istnieje możliwość wyznaczenia kompletnej krzywej miareczkowania słabego kwasu. Na rycinie 1.11 przedstawiono zmianę pH, jaka występuje podczas dodawania zasady do w pełni uprotonowanej postaci alaniny (I), aż do utworzenia całkowicie odprotonowanej formy (III). Należy zauważyć:

a. Pary buforowe: Para $-\text{COOH}/-\text{COO}^-$ może służyć jako bufor w zakresie pH blisko $\text{p}K_1$, a para $-\text{NH}_3^+/-\text{NH}_2$ może buforować w zakresie bliskim $\text{p}K_2$.

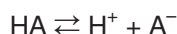
- b. Gdy pH = pK:** Kiedy pH jest równe pK_1 (2.3), wtedy równa ilość form I i II alaniny znajduje się w roztworze. Kiedy pH jest równe pK_2 (9.1), wtedy w roztworze są równe ilości form II i III.
- c. Punkt izoelektryczny:** W obojętnym pH alanina występuje głównie w dipolarnej formie II, w której grupy aminowa i karboksylowa są zjonizowane, ale ładunek netto jest zerowy. Punkt izoelektryczny (pI) to pH, w którym aminokwas jest elektrycznie obojętny, oznacza to pH, w którym suma ładunków dodatnich jest równa sumie ładunków ujemnych. Dla aminokwasu takiego jak alanina, który ma tylko dwa dysocjujące wodory (jeden z grupy α -karboksylowej i jeden z α -aminowej), pI jest średnią pK_1 i pK_2 ($pI = [2.3 + 9.1]/2 = 5.7$), jak pokazano na rycinie 1.11. Wartość pI w ten sposób jest pośrodku między pK_1 (2.3) i pK_2 (9.1). pI odpowiada pH, w którym przeważa forma II (z ładunkiem netto zerowym) i w którym są również równe ilości form I (ładunek netto +1) i III (ładunek netto -1).

Rozdział białek osocza według ładunku zazwyczaj odbywa się w pH powyżej pI głównych białek. Dlatego ładunek białek jest ujemny. W polu elektrycznym białka będą wędrować w kierunku elektrody dodatniej z szybkością określoną przez ich całkowity ładunek ujemny. Zróżnicowanie obrazu ruchliwości jest wskaźnikiem niektórych chorób.

6. Ładunek netto w pH obojętnym: W pH fizjologicznym aminokwasy mają ujemnie naładowaną grupę ($-\text{COO}^-$) i dodatnio naładowaną grupę ($-\text{NH}_3^+$), obie przyłączone do węgla α . [Uwaga: Glutaminian, asparaginian, histydyna, arginina i lizyna mają dodatkowe potencjalnie naładowane grupy w ich łańcuchach bocznych]. Substancje takie jak aminokwasy, które mogą działać jako kwas lub zasada, są zdefiniowane jako amfoteryczne i są określane jako amfolyty (amfoteryczne elektrolity).

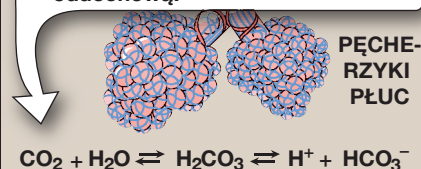
D. Inne zastosowania równania Hendersona-Hasselbalcha

Równanie Hendersona-Hasselbalcha może służyć do obliczania jak pH roztworu fizjologicznego odpowiada na zmiany w stężeniu słabego kwasu i/lub jego odpowiedniej formy soli. Na przykład w układzie buforu wodorowęglanowego równanie Hendersona-Hasselbalcha przewiduje, jak zmiany stężenia jonów wodorowęglanowych $[\text{HCO}_3^-]$ i dwutlenku węgla wpływają na pH (ryc. 1.12A). Równanie jest również przydatne do obliczania ilości jonowych form leków kwaśnych i zasadowych. Na przykład większość leków jest albo słabymi kwasami lub słabymi zasadami (ryc. 1.12B). Kwasowe leki (HA) uwalniają H^+ , powodując powstawanie anionu z ładunkiem (A^-).



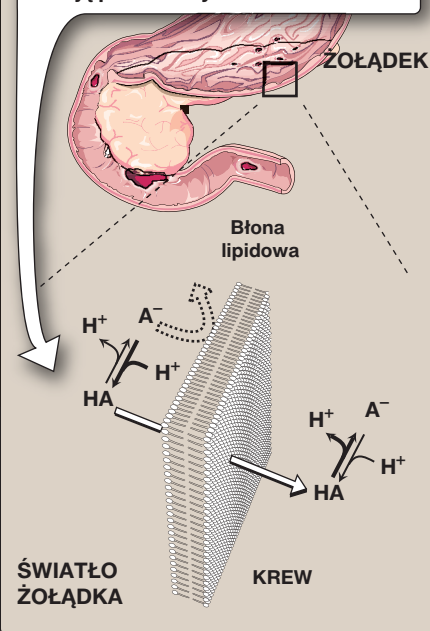
A DWUWĘGLAN JAKO BUFOR

- $\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{CO}_2]}$
- Podwyższenie stężenia HCO_3^- powoduje wzrost pH.
- Niedrożność płuc powoduje wzrost ilości dwutlenku węgla i wywołuje spadek pH i w rezultacie kwasicę oddechową.



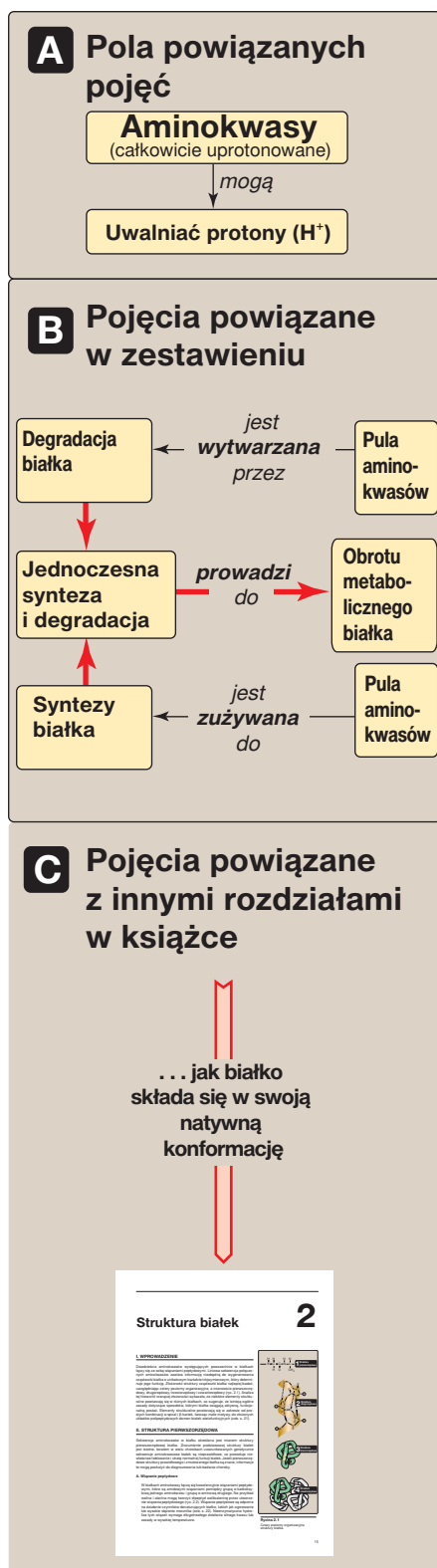
B WCHŁANIANIE LEKU

- $\text{pH} = \text{pK} + \log \frac{[\text{Lek}^-]}{[\text{Lek-H}]}$
- Przy pH w żołądku (1.5), lek taki jak aspiryna (słaby kwas, $\text{pK} = 3.5$) będzie w dużej mierze uprotonowany (COOH), a zatem bez ładunku.
- Leki bez ładunku zazwyczaj szybciej niż cząsteczki z ładunkiem przenikają przez błony komórkowe.



Rycina 1.12

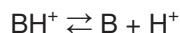
Równanie Hendersona-Hasselbalcha służy do przewidywania: (A) zmian pH przy zmianach stężenia dwuwęglanu (HCO_3^-) lub dwutlenku węgla (CO_2) i (B) jonowych form leków.



Rycina 1.13

A-C. Symbole używane w zestawieniach pojęć.

Słabe zasady (BH⁺) mogą także uwalniać H⁺. Jednak uprotonowana forma zasadowych leków jest zazwyczaj obdarzona ładunkiem i utrata protonu produkuje zasadę bez ładunku (B).



Lek przechodzi przez błony łatwiej, jeśli jest bez ładunku. W związku z tym dla słabego kwasu, takiego jak aspiryna, HA bez ładunku może przenikać przez błony, natomiast A⁻ nie może. Podobnie dla słabej zasady, takiej jak morfina, postać bez ładunku, B, penetruje przez błonę komórkową, ale BH⁺ nie przenika. W związku z tym efektywne stężenie formy przenikającej przez błony dla każdego leku w miejscu jego wchłaniania zależy od względnych stężeń postaci z ładunkiem (nieprzenikalnej) i bez ładunku (przenikalnej). Stosunek między dwoma formami jest określony przez pH w miejscu absorpcji i przez moc słabego kwasu lub zasady, która jest reprezentowana przez pK_a grup ulegających jonizacji. Równanie Hendersona-Hasselbalcha jest użyteczne przy określaniu, ile leku znajduje się po obu stronach membrany, która oddziela dwa kompartmenty różniące się wartością pH, na przykład żołądka (pH 1.0–1.5) i osocza krwi (pH 7.4).

IV. KONCEPCJA ZESTAWIENIA POJĘĆ

Studenci czasami postrzegają biochemię jako zestaw faktów lub równań do zapamiętania, a nie treści, które należy zrozumieć. Szczegóły pokazane dla wzbogacenia zrozumienia tych pojęć mimowolnie prowadzą do rozterek. Pomocną byłaby mapa drogowa – przewodnik, przydatny studentom do zrozumienia, jak różne tematy do siebie pasują, tworzą sensowną całość. Dlatego w tym podręczniku autorzy stworzyli serię biochemicznych zestawień pojęć, aby zilustrować graficznie ideę przedstawioną w danym rozdziale i aby pokazać, jak informacje mogą być grupowane lub organizowane. Koncepcja zestawienia jest narzędziem do pokazania połączeń pomiędzy pojęciami. Materiał jest reprezentowany w sposób hierarchiczny, z najbardziej ogólnymi pojęciami w górnej części mapy i bardziej konkretnymi, mniej ogólnymi pojęciami ułożonymi poniżej. Zestawienia pojęć idealnie funkcjonują jako szablony lub przewodniki do organizowania informacji, więc student może łatwo znaleźć najlepszy sposób zintegrowania nowych informacji z wiedzą, jaką już posiada. Konstrukcja zestawienia pojęć jest opisana poniżej.

A. Pola koncepcji i linki

Dydaktycy definiują pojęcia jako „postrzegane prawidłowości w zdarzeniach lub obiektach”. W zestawieniach biochemicznych koncepcje obejmują abstrakcje (na przykład **wolna energia**), procesy (na przykład **fosforylacja oksydacyjna**) i związki chemiczne (na przykład glukozo-6-fosforan). Te ogólnie zdefiniowane pojęcia są traktowane priorytetowo z centralną ideą umieszczoną w górnej części strony. Pojęcia, które wynikają z tej centralnej idei, są następnie rysowane w polach (ryc. 1.13A). Rozmiar druku wskazuje względną wagę każdej koncepcji. Między polami koncepcji są nakreślone linie, aby pokazać ich powiązania. Metka na linii definiuje relację między dwoma pojęciami, tak że czyta się ją jako wiążące stwierdzenie (co oznacza, że połącze-

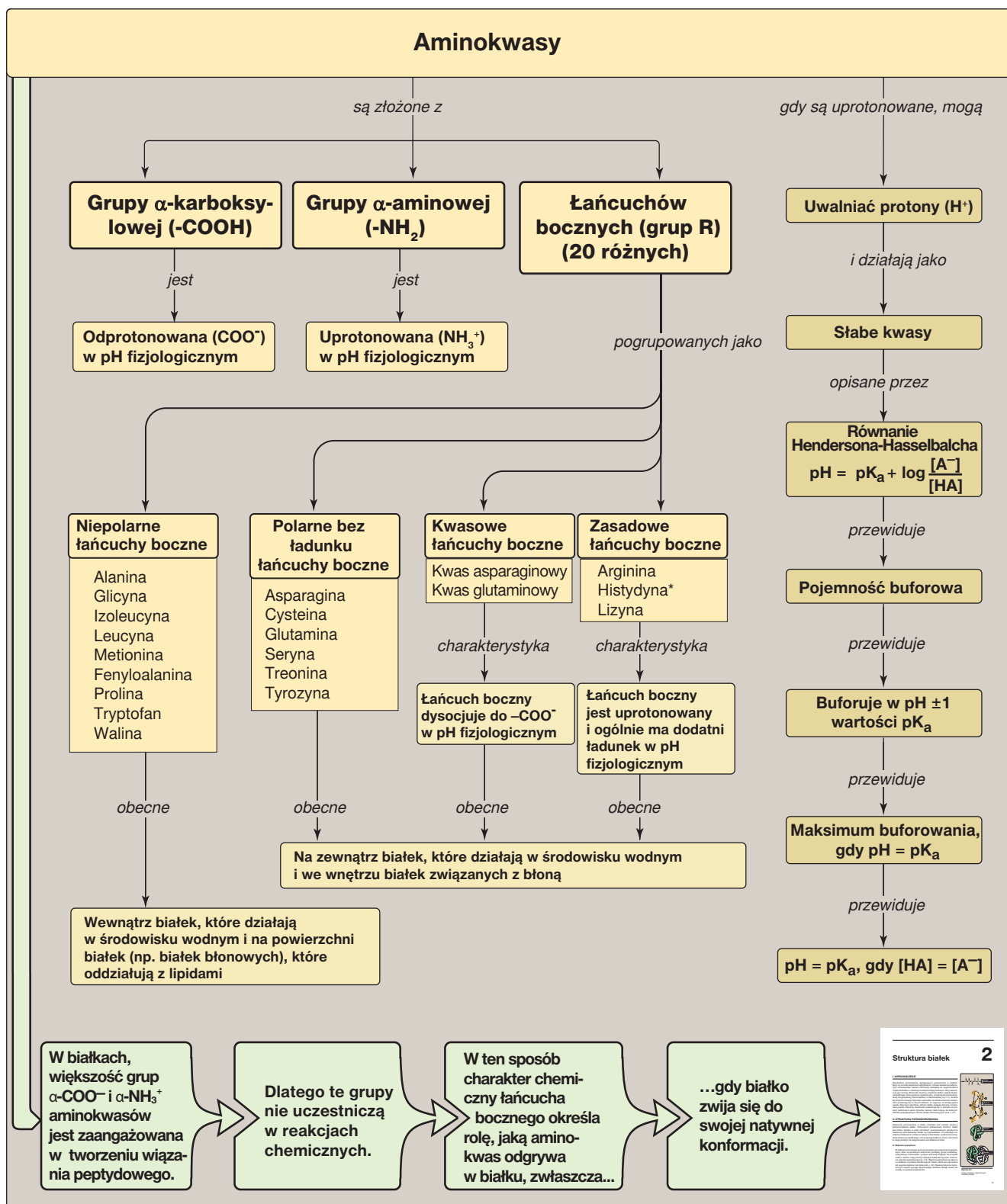
nie tworzy znaczenie). Linie ze strzałką wskazują kierunek, w którym połączenie powinno być odczytywane (ryc. 1.14).

B. Wzajemne powiązania

W odróżnieniu od liniowych diagramów lub schematów, zestawienia pojęć mogą zawierać wzajemne powiązania, które pozwalają czytelnikowi na wizualizację złożonych relacji między pojęciami występującymi w różnych częściach zestawienia (ryc. 1.13B) lub między danym zestawieniem a innymi rozdziałami tej książki (ryc. 1.13C). Takie „usieciowanie” może pomóc w identyfikacji pojęć, które są kluczowe dla więcej niż jednego zagadnienia w biochemii, wzmacniając jednocześnie efektywność studentów w sytuacjach klinicznych i na Lekarskim Egzaminie Końcowym (LEK) lub innych egzaminach, które wymagają zintegrowania materiału. Studenci uczą się wizualnie postrzegać nieliniowe relacje między faktami, w przeciwieństwie do powiązań w obrębie tekstu liniowego.

V. STRESZCZENIE ROZDZIAŁU

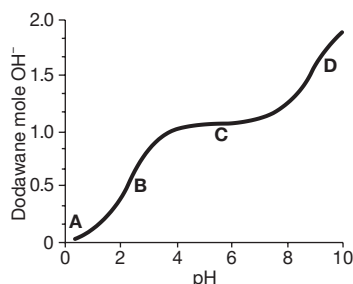
Każdy aminokwas ma **grupę α -karboksylową** i pierwszorzędową **grupę α -aminową** (z wyjątkiem **proliny**, która posiada **drugorzędową grupę aminową**). W fizjologicznym pH grupa α -karboksylowa jest zdysocjowana, tworząc ujemnie naładowany jon karboksylanowy ($-\text{COO}^-$), a grupa α -aminowa jest uprotonowana ($-\text{NH}_3^+$). Każdy aminokwas zawiera również jeden z 20 charakterystycznych **łańcuchów bocznych** przyłączony do atomu węgla α . Charakter chemiczny tej **grupy R** określa funkcję aminokwasu w białku i stanowi podstawę klasyfikacji aminokwasów na **niepolarne, polarne bez ładunku, kwasowe (o ładunku elektrostatycznym ujemnym) lub zasadowe (o ładunku elektrostatycznym dodatnim)**. Wszystkie wolne aminokwasy, a także obdarzone ładunkiem aminokwasy w łańcuchach peptydowych, mogą funkcjonować jako **bufory**. Ilościowa relacja pomiędzy wartością pH roztworu a stężeniem słabego kwasu (HA) i sprzężonej z nim zasady (A^-) jest opisana **równaniem Hendersona-Hasselbalcha**. Buforowanie występuje w ± 1 pH jednostki wartości pK_a i jest maksymalne, gdy $\text{pH} = \text{pK}_a$, w której $[\text{A}^-] = [\text{HA}]$. Ze względu na to, że atom węgla α każdego aminokwasu (z wyjątkiem glicyny) jest połączony z czterema różnymi grupami chemicznymi, jest atomem asymetrycznym (**chiralnym**), a aminokwasy mogą występować w formie D- i L-izomerów, które są optycznie czynnymi odbiciami lustrzanymi (**enancjomerami**). Tylko L-forma aminokwasów jest obecna w białkach syntetyzowanych przez organizm człowieka.



Pytania sprawdzające

Wybierz najlepszą odpowiedź.

1.1 Które z poniższych stwierdzeń dotyczących krzywej miareczkowania aminokwasu niepolarnego jest prawdziwe?



- A. Punkt A reprezentuje zakres, w którym aminokwas jest odprotonowany.
- B. Punkt B reprezentuje zakres minimalnego buforowania.
- C. Punkt C reprezentuje zakres, w którym ładunek netto aminokwasu jest zerowy.
- D. Punkt D reprezentuje pK grupy karboksylowej aminokwasu.
- E. Aminokwasem mogłaby być lizyna.

Prawidłowa odpowiedź = C. Punkt C reprezentuje punkt izoelektryczny (pI) i jako taki znajduje się w połowie drogi pomiędzy wartościami pK_1 i pK_2 dla niepolarnego aminokwasu. Aminokwas jest w pełni uprotonowany w punkcie A. Punkt B reprezentuje region maksymalnego buforowania, podobnie jak punkt D. Lizyna jest aminokwasem zasadowym, a wolna lizyna, oprócz grupy α -aminowej i α -karboksylowej, ma jonizujący łańcuch boczny.

1.2 Które z poniższych stwierdzeń na temat peptydu Val-Cys-Glu-Ser-Asp-Arg-Cys jest poprawne?

- A. Peptyd zawiera asparaginę.
- B. Peptyd zawiera łańcuch boczny z drugorzędową grupą aminową.
- C. Peptyd zawiera łańcuch boczny, który może być fosforylowany.
- D. Peptyd nie jest w stanie utworzyć wewnętrznego wiązania disiarczkowego.
- E. W pH = 5 peptyd migrowałby w polu elektrycznym w kierunku katody (elektrody ujemnej).

Prawidłowa odpowiedź = C. Grupa hydroksylowa seryny może przyjąć grupę fosforanową. Asp jest asparaginianem. Drugorzędową grupę aminową posiada prolina. Dwie reszty cysteiny mogą w warunkach utleniających tworzyć wiązanie disiarczkowe (kowalencyjne). Ładunek netto peptydu w pH = 5 jest ujemny i peptyd wędrowałby w kierunku anody.

1.3 Dwuletnie dziecko wykazuje objawy kwasicy metabolicznej po zażyciu nieznannej ilości aromatyzowanych tabletek aspiryny. Podczas badania pH krwi wynosiło 7.0. Zważywszy, że pK_a aspiryny (kwasu acetylosalicylowego) wynosi 3, oblicz iloraz formy zjonizowanej do niezjonizowanej w pH 7.0.

Prawidłowa odpowiedź = 10 000 do 1. $pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$. Dlatego $7 = 3 + x$, a $x = 4$. Iloraz A^- (zjonizowanej) do $[HA]$ (niezjonizowanej) jest więc 10 000 do 1, ponieważ $\log 10\,000$ wynosi 4.

