**Meď**

Meď je dôležitý prechodný biokov prítomný:

* V ľudskom organizme
* V živočíšnych organizmoch
* V rastlinných organizmoch
* V mikroorganizmoch

V tele človeka je asi ,g medi, pričom príjem aj výdaj je regulovaný, pretože vyšší obsah medi môže byť toxický

Meď v biosystémoch sa vyskystuje v dvoch exidačných číslach I a II, niektoré CuII komplexy však môžu byť oxidované na CuIII.

Meď sa v biosystémoch zúčastňuje exidačno-redukčných procesov. Zlúčeniny medi sú na druhom mieste po železe v účasti na oxidačno-redukčných procesoch.

**Výskyt medi v prírode:**

Kuprit Cu2O

Kovelín CuS

Chalkozín Cu2S

Chalkopyrit CuFeS2

Malachit CuCO3.Cu(OH)2

Azurit CuCO3.Cu(OH)2

**Fe versus Cu**

Ďalší kov po železe, ktorá príroda využíva pre transport elektrónov

Zjavne sa Cu stala bioelementom neskôr ako Fe, pravdepodobne až vtedy, keď sa zvýšila koncentrácia O2 v atmosfére

Ovtedy nasrastá počer Cu pretoínov, ktoré nahrádzajú fe pretoíny v ich redox procesoch

V niektorých organizmoch boli Fe-S a Cu proteínompriradené tie isté funkcie, v niektorých dokonca koexistujú ( prípadne spolupracujú)

Na rozdiel od železa, meď nepotrebuje špeciálne kofaktory, aby mohla bť redox centrom v biologii, čo môže byť spôsobené tým, že meď sa dokáže viac prispôsobovať nepravidelnej koordinačnej sfére, ktorú ponúkajú a poskytujú proteíny

**Viazanie a uchovávanie**

**Metalotionány**

Proteíny s nízkou molekulovou hmmotnosťou bohaté na cysteín, ktorí sú schopné viazať iony kovov s elektronovou konfiguráciou d10 (zn2+, Cu+, Cd2+, Ag+, Hg2+, Pt2+, Bi3+) vo forme kov-tiotálových klastroch

Metalotioniny boli identifikované u stavovcoc, bezstavovcov, rastlín, eukaryotickýcha niektorých prokaryotických mikroorganizmov.

Delia sa na tri triedy:

**Trieda 1**= MTs cicavcoc s molekulovou hmotnosťou 6-7kDa, ktoré pozostávajú z 61-62 aminokyselinových zvyškov (20 z nich he cysteínových) .Atómy síry z cysteínov vytvárajú disulfidové mostíky.

**Trieda 2**= polypeptidy, ktoré nemajú takmer žiaden evolučný vzťah s MTs cicavcov- proteíny kvasiniek, morských ježov a hrachu. Podobnosť s triedou 1 spočíva v ich štruktúre.

Oba typy pozostávajú z malých jednoreťazových proteínov s veľkým množstvom kovov a cysteínových zvyškov pospájaných vzájomne väzbou medzi ionom kovu a atomom síry pochádzajúceho z tiolovej skupiny

**Trieda 3** = peptidy obsahujúce atypické deriváty glycínu známe ako **fytochelatíny a kadystíny**

Kadystíny tvoria klastre obsahujúce väzby medzi ionom kovu a atomom síry pochádzajúceho zo zvyškov cysteínu

**Štruktúra metalotionínov**

Spoločný štruktúrny motív všetkých foriem 1. A 2. Triedy MTs je opakovanie tripeptidovej sekvencie C-X-C (C= cysteín, X= rôzna animokyselina od cysteínu a aromatických aminokyselín)

Je v nich úzka zhoda v usporiadaní cysteínových zvyškov aminokyselín pozdlž peptidového reťazca

Naviazanie kovu vedie k charakteristickým absorbanciám v blízkej obkasti spektra s vlnovou dlžkou UV žiarenia.

Získaná pomocou 113Cd NMR spektroskope Cd—MT-2 z králičej pečene

**Funkcia metalotionínov**

**Viazanie ionov kovov**- vysoká afinita a reaktivita voči ionom kovov

**Rýchly transport a regulácia ionov kovov v organizme**= vysoký pomer kov/proteín (v porovnaní s ostatnými) nezvyčajná štruktúra a pozoruhodná kinetická labilita

**Vychytávanie a uskladnenie biokovov zinku a medi**= účasť na absorbcii ionov medi a zinku v čreve ( podobne ako feritíny uchovávajú železo)

**Zvláštna reaktivita pri zneškodňovaní voľných radikálov**= hydroxylové a superoxidové radikály primárne útočia na cysteinyl-tiolové skupiny metalotionínov zahrňujúcich atomy medi alebo železa. Metalotioniny medi vykazujú aktivitu podobnú superoxid dismutáze obsahujúcej iony železa.

**Transport**

**ATPázy prenášajúce meď**

Predstavujú časť z väčšej skupiny prenášačov zodpovedných za prenos ťažkých kovov (Cu, Cd, Zn, Hg, As)

Všetci zástupcovia tejto skupiny majú 6-8 transmembránových segmentov

ATPázy sú lokalizované v membráne Golgiho aparátu bunky ( má aktívnu úlohu pri sekrečnej činnosti bunky, slúži na transport a syntézu biekovín)

**Metalošaperóny**

Sú schopné získavať kovový kofaktor, chrániť ho pred intracelulárnymi chelátormi a poskytovať ióny kovov enzýmom, ktoré ich vyžadujú

U eukaryotov boli identifikované tri triedy šaperónov medi:

U dvoch z nich bol preukázaný prenos atomov medi priamo na intracelulárne cieľové miesto:

1. ATX 1 (anti-oxidant= pôvodne gén chrániaci voči oxidačnému stresu) – dnes proteín riadiaci pohyb ( posun, vkladanie) Cu špecificky ku CuATPáze lokalizovanej v Golgiho aparáte sekrečnej dráhy
2. CCS (copper chaperone for SOD) prenáša meď ku superoxiddizmutáze
3. COX17 ďašia dráha existuje pre dodanie medi mitochondriálnemu enzýmu. Cytochrom oxidáze, zapája Cu8 do cytochrom oxidázy, CuA vyžaduje okrem COX17 aj SCO1 (tiež šaperón)

**Klasifikácia proteínov medi podľa koordinačného okolia Cu v aktívnom centre**

1. **Typ** (trigonal planar)= modré proteíny ( kupredoxíny)
2. **Typ** ( square planar) ´jednojadrové katalytické proteíny
3. **Typ** = antiferomagneticky prepojené (coupled) dvojjadrové Cu(II) proteiny = v oxidázach, v kyslík prenašajúcich proteiny – hemocyanín, tyrozinázy
4. **Typ** = dvojjadrové Cu(I) proteíny alebo proteíny s Cu ionmi dvoch rôznych oxidačných stavoch = v cytochrom c oxidázach, v nitrir reduktázach

**Modré proteíny**

Nájdené v baktériách a rastlinách

Zabezpečujú transport elektronu cyklickým prenosom medzi Cu(I) a Cu(II)

Podieľajú sa na :

**Fotosyntéze**- zabezpečujú transport elektronov z cytochromu f na fotosystém

**Resperácii**- sú donory elektronov pre bakteriálne oxidázy

**Oxidačnej deaminácii** primárnych amínov

**Redukcii** nitritov

Názov podľa ich intenzívneho modrého sfarbenia, ktoré je spôsobené prítomnosťou Cu chromoforu v jeho oxidovanej forme

Modrá farba je spôsobená intenzívnou absorpciou žiarenia s vlnovou dĺžkou 600nm, ktorá je priradená prenosu náboja z ligandu na kov

**Delenie modrých pretoínov**- podľa typu ligandu umiestneného v axiálnej polohe voči trigonálnej rovine rozoznávame skupiny modrých proteínov:

Plastocyaníny- jeden atom S metioninu

Rusticyaníny- jeden atom S metionínu

Auracyaníny

Azuríny- jeden atom S metioníny a jeden atom O karbonylovej skupiny peptidu

Fytocyaníny- jeden atom kyslíka glutamínu

**Funkcia modrých proteínov**

Zúčastňujú sa na prenose elektronov

**Plastocyaníny**

-je to modrý meď obsahujúcu protein, nachádza sa v chloroplastoch rastlín

Plantacyanin participuje v rastlinách na fotosyntéze

**Cu štruktúry verzus metabolity O2prenášače O2**

**Hemocyaníny (3.typ)**

Meď obsahujúce prenášače O2

Sú nepravidelne distribuované v dvoch veľlých kameňoch

Mäkkýše (chobotnice a slimáky)

Článkonožce (morské raky a škorpiony)

**U mäkkýšov** superjednotka obsahuje osem kovalentne viazaných domén

Každá doména obsahuje jeden pár atomov medi- elektronový mikroskop potvrdil že sa usporadúvajú cylindricky

**U článkonožcov** individuálne subjednotky obsahujú dva atomi medi- usporiadúvajú sa do hexamérov

V oboch prípadoch sa po oxygenácii bezfarebné proteiny menia na modré= preto cyaniny (grécky- modré)

Monomérne gemocyaníny, podobne ako myoglobín prípadne myohemorytrín, nie sú známe

Viazanie O2 je však vysoko kooperatívne s Ca2+ a Mg2+

Aj ked sa hemocyaníny mäkkýšov a článkonožcov líšia v sekundárnej a terciálnej štruktúre, ion medi je v oboch prípadoch koordinovaný troma imidazolovými zvyškami z histadínu v triginálne pyramidálnom obklopení

V deoxyHc majú Cu(I) iony elektronovú konfiguráciu d10 = sú diamagnetické a bezfarebné

V oxyHc majú Cu(II) iony d 9 konfiguráciu= paramagnetické a modré

Vlastbosti oxyHc sú dané tým, že O2 je viazaný mostíkovo k dvom atómom Cu aktívneho centra

**Cu štruktúry verzus metabolity O2 enzýmy odstraňujúce O2 anionu**

**ZnCu superoxidizmutáza**

Bola potvrdená vo všetkých eukaryontoch a mnohých prokaryontoch

ZnCuSOD

Katalyzuje disproporcionačnú reakciiu toxického suoeroxidového anionu O2- na kyslík O2 a peroxid vodíky H2O2

2 O2-  + 2H+ ---- O2+ H2O2

Superoxidový aniony (superoxide) je biologicky veľmi toxický

Meď reprezentuje katalytické aktívne centrum

Meď redukovaná a oxidovaná počas katalytického cyklu

Zinok nemení oxidačné číslo, ZnII plní štruktúrnu funkciu a funkciu stabilizácie

Zmeny počas katalýzy prebiehajú na Cu

**V redukovanje forme** CuI ZnSOD je mmeď viazaná troma histidínovými imidazolmi v trigonálne-planárnom usporiadaní a zinok troma histidínovými imidazolmi a jedným aspartátom

**V oxidovanej forme** CuII ZnSOD je meď pentakoordinovaná, štyroma imidazolmi ( jeden je od imodazolu pri Zn, keďže počas procesu dochádza k jeho deprotonizácii) a jednou molekulou vody

Zaujímavou štruktúrnou črtouZnCuSOD je, že v oboch formách je prítomný lievikovitý kanál, ktorý zabezpečuje prístup substrátu k medi

Na začiatku je kanál široká 24A a tesne pri medi lenA

To zabezpečuje prístup len substrátov s podobnou veľkosťou a nábojom ako má O2- , napr: CN-, N3-, F --- špecifickosť enzýmu voči O2- anionu

Okrem toho je v blízkosti aktívneho centra prítomný arginín (zabezpečuje elektrostatiku aktívneho centra počas procesu) a reťazec molekul vody- zabezpečujú správne fungujúci mechanizmus

**Cu štruktúry verzus metabolity O2**

**enzýmy aktivujúce O2**

Možno k nim zaradiť:

**Tyrozináza**= monooxygenáza s dvoma atomami Cu v aktívnom centre

**Cu hydroxylázy DBH** (dopamín beta-hydroxyláza) a **PHM** (peptidyl alfa-hydroxilujúca monooxygenáza) = jednojadrové nehémove aktivátory O2 obsahujúce Cu v aktívnych centrách

**Tyrozináza**

Monooxygenáza- aktívnym centrom podobná hemocyanínu

UV a Raman spektrá ako aj EXAFS štúdie potvrdili prítomnosť identickej Cu2O2 štruktúry ako v oxyhemocyaníne

Katalyzuje hydroxyláciu tyrozínu na dopa (3-(3,4-dihydroxyfenyl)alanín) a oxidáciu dopa na dopachinon, aby sa iniciovala reakcia hnednutia pozorovaná u čerstvého ovocia a zeleniny ako aj biosyntéza melanínu počas pigmentácie stavovcov

Mechanizmus aktivácie O2 tyrozinázou bol sledovaný rôznymi modelovými zlúčeninami, tieto štúdie dopomohli k záveru, že tento anzým počas aktivácie a štiepenia O2 nepotrebuje H+ na rozdiel od Fe štruktúr aktivujúcich O2

Hydroxylázy- nazývané aj jednojadrové nehémové aktivátory O2

Sú to enzýmy obsahujúce dva atomy medi, ktoré aktivujú O2 a uskutočňujú hydroxyláciu substrátu, konkrétne doamín beta-hydroxyláza (DBH)peptidyl alfa-hydroxylujúca monooxygenáza (PHM)

**Hydroxyláza**

Obsahujú dva atomy Cu podobne ako tyrozinázy

Avšak na rozdiel od tyrozináz, dve Cu centrá v DBH a PHM sú podstatne vzdialenejšie a teda nemôžu aktivovať O2 prestredníctvom premostenia Cu centier pomocou O2 (tvorba Cu2O2 mostíkov)

Kryštalografická analýza PHM a DBH dokázala, že sú vzdialené 11A

Jedno Cu centrum (CuA) má tri histadíny

Druhé Cu centrum (CuB) má dva histadíny, jeden metionín a jednu molekulu rozpúšťadla

Lakázy

* Sú prítomné v hubách a niektorých rastlinách
* Jednoduchý polypeptidový reťazec s 500 zvyškami AMK a 4 iónmi Cu
* Základná funkcia – oxidácia prevažne aromatických substrátov – polyfenoly, diamíny, metoxy deriváty fenolov
* Oxidujú aj niektoré anorganické zlúčeniny

Askorbát oxidáza

* Vo vyšších rastlinách (uhorka, cuketa...)
* Monomérna molekula obsahuje 552 AMK zvyškov a 4 ióny Cu
* V bunkovej stene a cytoplazme
* Základná funkcia – oxidácia L-askorbátu – nie je celkom jasná
* Ceruloplazmín
* Nachádza sa v krvnej plazme
* Viaže 5-6 mg Cu cirkulujúcej v krvnej plazme
* Bol prvýkrát izolovaný v roku 1940
* Je monomérny glykoproteín obsahujúci jednoduchý polypeptidový reťazec s 1046 zvyškami AMK
* Je syntetizovaný v pečeni a viaže 6 iónov Cu pred sekréciou do plazmy

**Cu štruktúry verzus metabolity O2 enzýmy redukujúce O2 na H2O**

Ceruloplazmín má viac funkcií:

* ochrana krvi a membránových proteínov pred peroxidmi
* mobilizácia a oxidácia Fe z buniek pre jeho transport prostredníctvom transferínu (preto sa niekedy nazýva aj ferooxidáza)
* antioxidant = likvidácia voľných radikálov z plazmy
* aktivácia aminoxidáz = kontrola amínov v plazme
* transport medi mimo pečene
* **Ceruloplazmín –** zúčastňuje sa na vylučovaní nadbytočnej medi z buniek. Tvorí sa pečeni.
* Defekt ATP spôsobuje, že meď prijatá potravou nemôže byť inkorporovaná do ceruloplazmínu ani sa vylúčiť z organizmu exkréciou do žlče a hromadí sa v pečeni, mozgu, rohovke, obličkách, ktoré toxicky poškodzuje.
* Kumulácia medi v orgánoch vedie k nadbytku voľných radikálov a zníženiu redukovaného glutatiónu čo spôsobuje peroxidáciu membránových lipidov, poškodenie proteínov bohatých na SH skupiny a poškodenie DNA.
* Wilsonova choroba = hepatolentikulárna degenerácia je geneticky podmienené metabolické ochorenie s autozomálne recesívnym typom dedičnosti, pri ktorom dochádza k hromadeniu medi v tkanivách, najmä v mozgu a pečeni.
* Predominantne postihuje mladšie vekové kategórie, s rozmanitou klinickou extrapyramídovou, mozočkovou a psychiatrickou symptomatikou spojenou s poškodením pečene.
* **Liečba spočíva v podávaní farmaceutika (D-penicilamínu), ktorý chelátovo viaže meď, a tým sa vylučuje do moču. Telo je tak zbavené prebytku medi).**
* Nadbytok Cu v organizme – Wilsonova choroba
* Kayser-Fleischerov prstenec
* Nedostatok medi spôsobuje v organizmoch živočíchov a človeka poruchy v tvorbe krvi, degeneratívne zmeny miechy, spomalenie rastu, depigmentácia vlasov a srsti
* Nitrit reduktáza

- Participuje na denitrifikačnom procese, počas ktorého je nitrát konvertovaný na nitrit, oxid dusnatý, oxid dusný a dusík.

* Redukuje nitrit na NO pomocou H+ a e-

NO2 - + 2H+ + e- -> NO + H2O

* Meď má antibakteriálne vlastnosti (tento poznatok, ktorý nie je možné dosť dobre

datovať, pochádza zo starej Perzie, kde sa podľa zákona musela pitná voda uchovávať v lesklých medených nádobách).

* Niektoré meďnaté komplexy (napr.

s kyselinou salicylovou a jej derivátmi) sa používajú ako liečivá proti reumatickým artritídam (zápal klbov).