

Repetitorium chemie 2013/2014

Metabolické dráhy

František Škanta

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

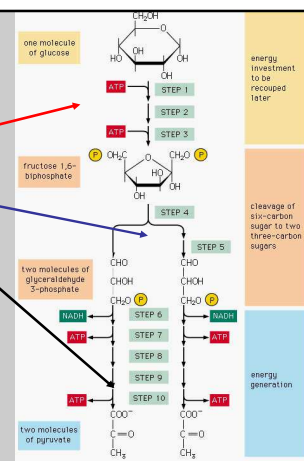
Temnostní fáze

Glykolýza

Glykolýza

1. fosforylace
2. štěpení hexosy na dvě vzájemně převoditelné triosy
3. vytvoření ATP na úrovni substrátu.

Čistý zisk na 6 uhlíků:
2 ATP
2 NADH



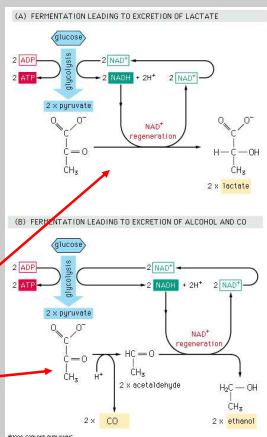
Jaký je osud pyruátu bez přítomnosti kyslíku?

Bez přístupu kyslíku nemůže být mitochondrii využita energie obsažená v NADH

Buňka se proto musí NADH zbavit, jinak se systém inhibuje

Živočichové a bakterie

rostliny a kvasinky



Jaký je osud pyruátu v přítomnosti kyslíku?

Pyruát vstupuje aktivním transportem (symport s H^+) do matrix mitochondrie, kde je na vnitřní membráně (pyruvátdehydrogenasovým komplexem) přeměněn na acetyl-CoA.

Pyruvátdehydrogenasový komplex katalyzuje sekvenci tří reakcí:



Komplex využívá pět různých koenzymů: Thiaminpyrofosfát (TPP), koenzym A (CoA-SH), NAD^+ , FAD a lipoamid.

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

Krebsův cyklus

Krebsův cyklus (1937)

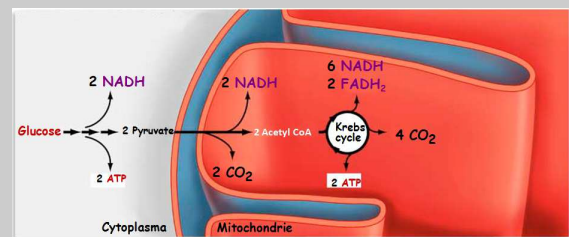
Sled 8 reakcí

Jak probíhá?



Oxidace acetyl-CoA za vzniku 2 CO_2 a energie uvolněná touto reakcí je „uložena“ do koenzymů (3 NADH, 1 FADH) a 1 GTP (živočiškové) nebo 1 ATP (rostliny a bakterie)

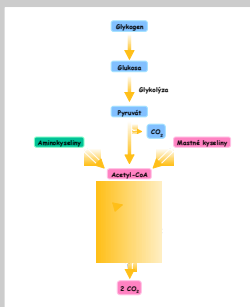
Matrix mitochondrie



Cyklus je: aerobní

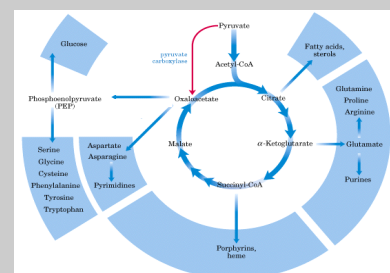
Centrální cyklus

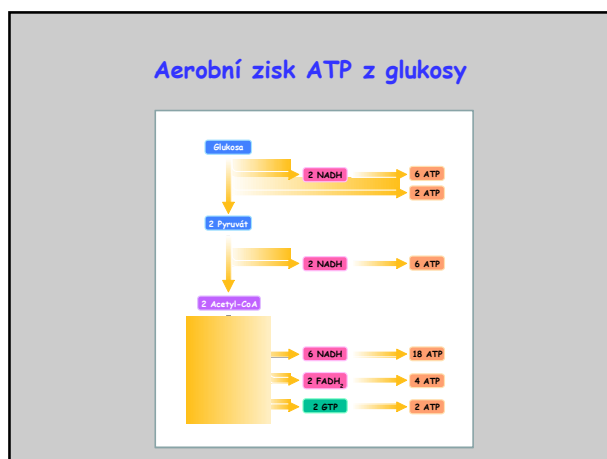
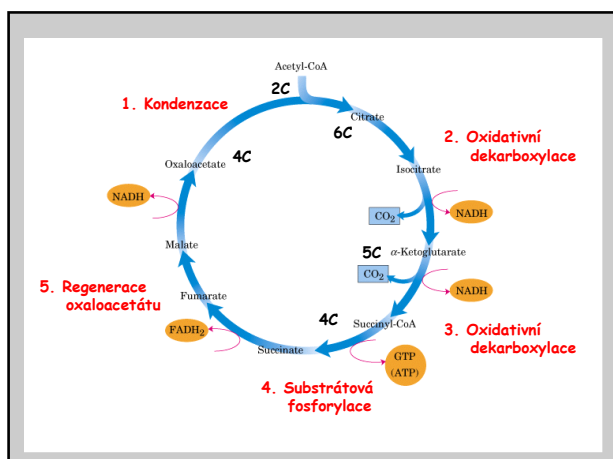
Má dvě části: katabolickou, kde se odbourává acetyl-CoA



Centrální cyklus

anabolickou, která je zdrojem substrátů pro jiné dráhy





Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

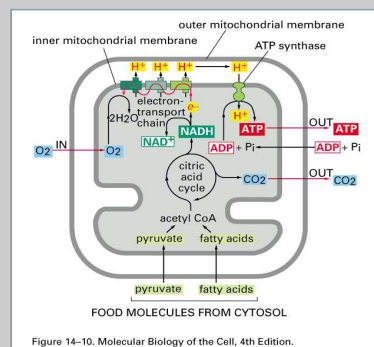
Oxidativní fosforylace

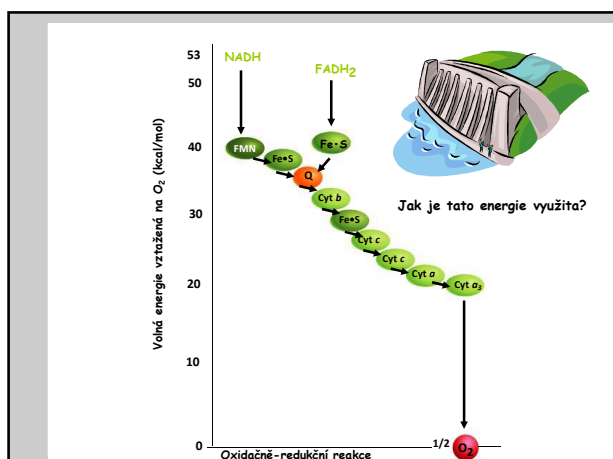
Co znamená?

Oxidativní fosforylace

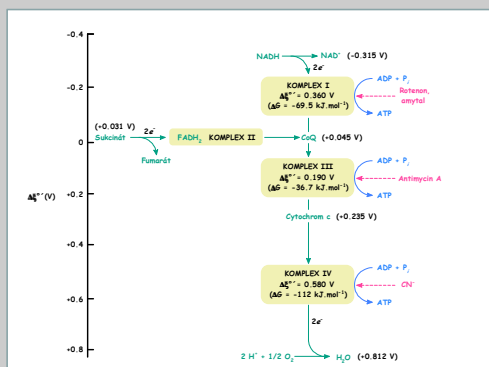
Oxidace redukováných koenzymů
a přeměna ADP na ATP.

Jak mitochondrie generuje chemickou energii z živin?

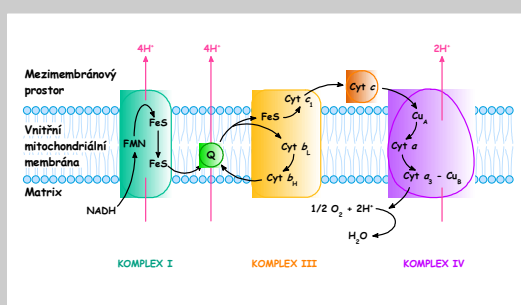




Přehled elektronového transportu mitochondrie



Mitochondriální elektronový transport



Komplexy sekvence elektronového transportu

- Komplexy jsou řazeny podle vzrůstajícího redukčního potenciálu.
- Komplex I:** Katalyzuje oxidaci NADH koenzymem Q (CoQ).
 $\text{NADH} + \text{CoQ (oxidovaný)} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{CoQ (redukovaný)}$
- Komplex III:** Katalyzuje oxidaci CoQ (red.) cytochromem c.
 $\text{CoQ (redukovaný)} + 2 \text{ cytochrom c (oxidovaný)} \rightarrow \text{CoQ (oxidovaný)} + 2 \text{ cytochrom c (redukovaný)}$
- Komplex IV:** Katalyzuje oxidaci redukovaného cytochromu c kyslíkem – terminálním akceptorem elektronů.
 $2 \text{ cytochrom c (red.)} + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ cytochrom c (oxid.)} + \text{H}_2\text{O}$

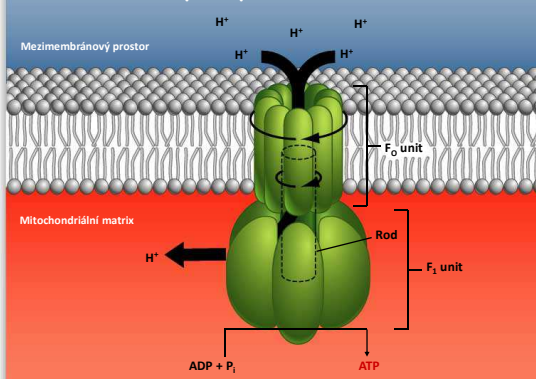
Chemiosmotická hypotéza oxidativní fosforylace

Mitchell, P., Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism.

Nature 191, 144-148 (1961).

Volná energie elektronového transportu je realizována pumpováním H^+ z mitochondriální matrix do mezimembránového prostoru za tvorby **elektrochemického H^+ gradientu** přes membránu. Elektrochemický gradient je posléze uplatněn při **syntéze ATP**. Tato volná energie se nazývá **protonmotivní síla**.

Struktura ATP syntázy



Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

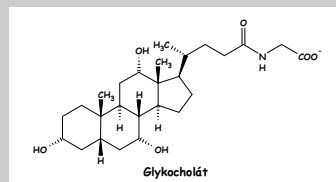
Metabolismus lipidů

Triacylglyceroly

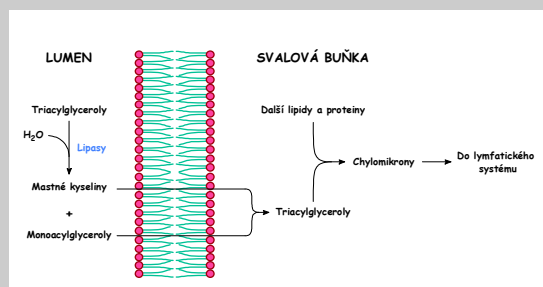
- Skladují velké množství metabolické energie.
- Kompletní oxidací **1g mastné kyseliny** 38 kJ energie
1g sacharidů nebo proteinů pouze 17 kJ.
- 1g tuku skladuje 6 x více energie než 1 g hydratovaného glykogenu.
- Zásoby glykogenu a glukosy vystačí zásobovat organismus energií jeden den, proti tomu zásoby triacylglycerolů vystačí na týdny.
- **U savců** je hlavním místem akumulace triacylglycerolů **cytoplazma adiposních buněk** (tukových buněk).

Triacylglyceroly z potravy

- **Triacylglyceroly** ze střevní sliznice jsou z důvodu **nerozpustnosti** převáděny na **micely** za účasti **žlučových kyselin**. Žlučové kyseliny jsou amfipatické (obsahují polární i nepolární části), jsou syntetizovány v játrech a uvolňovány ze žlučníku.
- Žlučové kyseliny obalí triacylglyceroly a usnadní tak funkci hydrolytickým lipasám.



Tvorba chylomikronů



Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

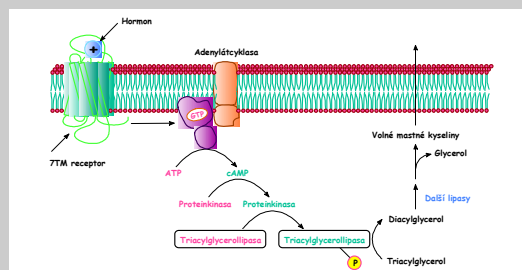
Světelná fáze

Temnostní fáze

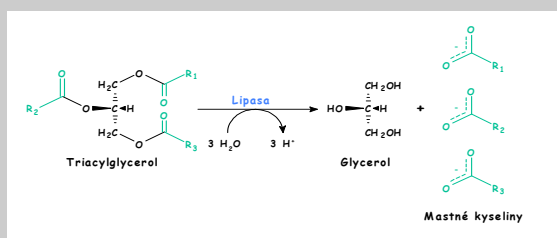
Katabolismus lipidů

Hormonální regulace hydrolýzy triacylglycerolů

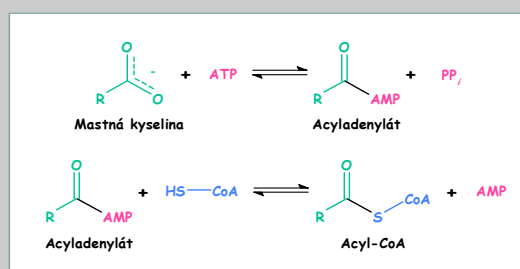
Lipasy adiposních buněk jsou aktivovány adrenalinem, (nor...), glukagonem a ACTH. Insulin má inhibiční efekt na hydrolýzu triacylglycerolů.



Lipolýzou uvolněné mastné kyseliny se váží na sérový **albumin**, který slouží jako jejich nosič do tkání. **Glycerol** se absorbuje v **játrech**.

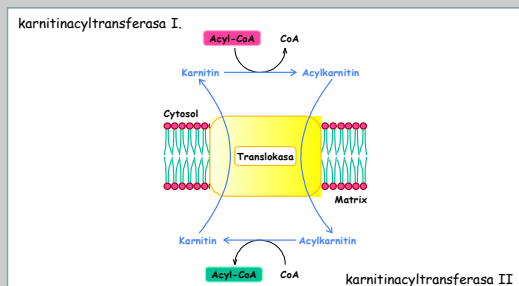


Aktivace mastných kyselin

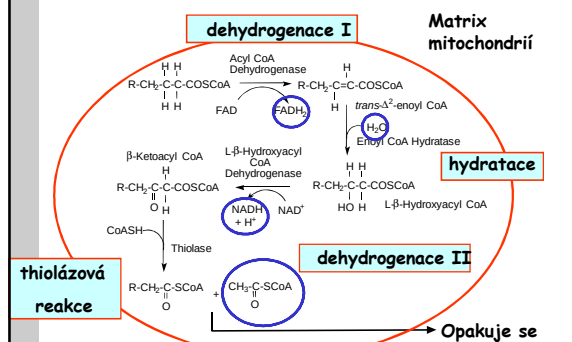


Na vnější membráně mitochondrie jsou mastné kyseliny aktivovány za katalýzy **acylCoA syntetasy**.

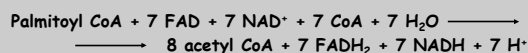
Transport aktivované mastné kyseliny do matrix mitochondrie



Reakční sekvence beta-oxidace



Výtěžek kompletní oxidace palmitátu



V dýchacím řetězci se získá z jednoho NADH asi 3 ATP a z jednoho FADH₂ asi 2 ATP.

Sečteno:

$$7 \times \text{FADH}_2 = 14 \text{ ATP}$$

$$7 \times \text{NADH} = 21 \text{ ATP}$$

$$\text{Oxidace 8 acetyl CoA v citrátovém cyklu} = 88 \text{ ATP}$$

$$\text{Součet} : 118 \text{ ATP}$$

$$\text{Spotřeba na aktivaci mastné kyseliny} : 2 \text{ ATP}$$

$$\text{Konečný součet} : 116 \text{ ATP}$$

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

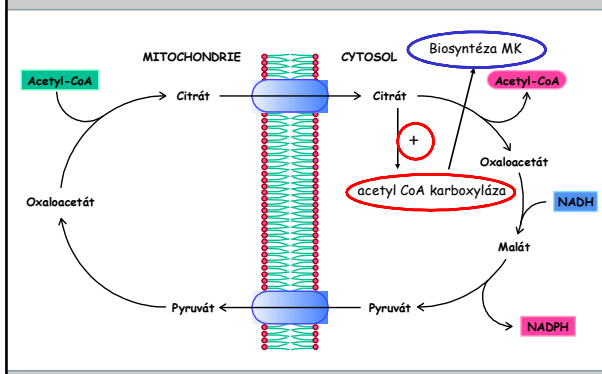
Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

Anabolismus lipidů

Transfer acetylCoA do cytosolu



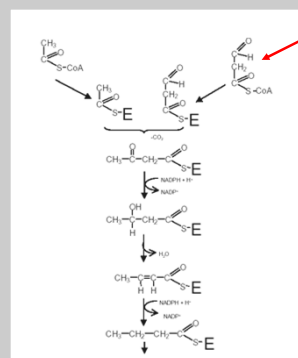
Klíčovým krokem syntézy mastných kyselin je tvorba malonyl CoA



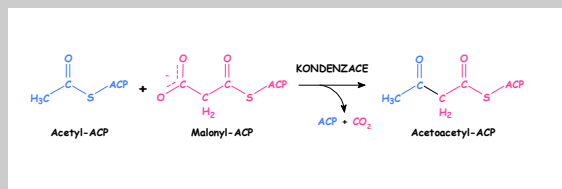
Katalyzuje **acetyl CoA karboxylasa** (obsahuje biotin) a je allostericky **aktivována** nadbytkem **citrátu**, naopak je **inhibována** nadbytkem **Acetyl CoA**, které nejsou dostatečně rychle esterifikovány. Dva kroky katalýzy.

Multienzymový komplex - acetyl CoA karboxyláza
Acyl přenášející protein ACP-SH

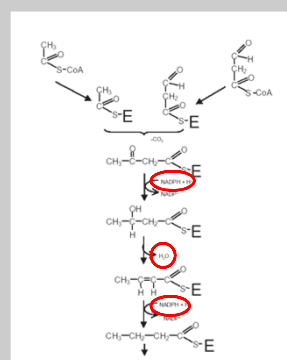
Biosyntéza mastných kyselin



Kondenzace - zjednodušeně



Biosyntéza mastných kyselin



Kondenzace

Redukce I.

Dehydratace

Redukce II.

Rozdíly mezi odbouráváním a syntézou mastných kyselin

1. Syntéza mastných kyselin probíhá v **cytoplasmě**, odbourávání v **matrix** mitochondrií.
2. Meziprodukty syntézy mastných kyselin jsou kovalentně vázány na **sulfhydrylové skupiny ACP** (acyl carrier protein), kdežto **meziprodukty degradace** jsou vázány na **SH skupinu CoA**.
3. Enzymy syntézy vytvářejí **polypeptidový řetězec** (synthasa mastných kyselin). Enzymy degradace jsou umístěny **volně** v matrix.
4. Řetězec mastných kyselin se prodlužuje o dva uhlíky z acetyl CoA. Aktivovaným donorem dvou uhlíků je malonyl CoA a **prodlužování řetězce je poháněno odštěpováním CO₂**.
5. Redukčním činidlem při syntéze je **NADPH**, oxidačními činidly při degradaci jsou **FAD⁺** a **NAD⁺**.
6. Prodlužování řetězce na synthase mastných kyselin končí tvorbou palmitátu (C₁₆). Další prodlužování řetězce a tvorba nenasycených kyselin probíhá na jiných enzymech.

Živočiškové nedokáží převést mastné kyseliny na glukosu !!!

- Proč ?
- Acetyl-CoA nemůže být převeden na pyruvát nebo oxaloacetát, neboť vstupuje do citrátového cyklu a oba uhlíky se v jeho průběhu odštěpí jako CO₂.
- Rostliny mají další dva enzymy v tzv. **glyoxylátovém cyklu** a jsou schopné převést acetyl CoA na oxaloacetát.

Regulace metabolismu mastných kyselin

- Syntéza mastných kyselin probíhá za situace, kdy je **dostatek sacharidů** a **energie** a nedostatek mastných kyselin.
- Ústřední klíčovou roli hraje **acetyl CoA karboxylasa**.
- Karboxylasa je pod kontrolou **adrenalinu**, **glukagonu** a **insulinu**.
- **Insulin** stimuluje syntézu mastných kyselin aktivací karboxylasy, **glukagon** a **adrenalin** mají opačný účinek.
- **Citrát**, znak dostatku stavebních jednotek a energie, **aktivuje** karboxylasu.
- **Palmitoyl CoA** a **AMP**, naopak, **inhibují** karboxylasu.

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

Fotosyntéza

Chloroplasty

Světlo absorbující pigmenty

Světelná reakce

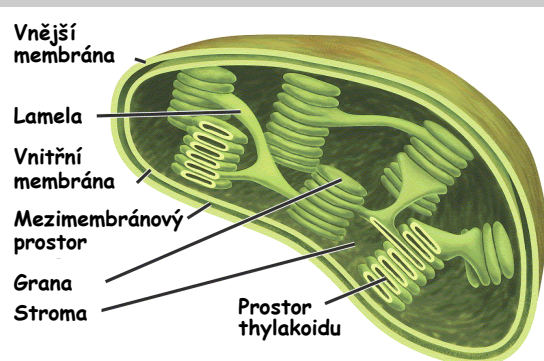
C_3 rostliny (Calvinův - Bensonův cyklus)

Fotorespirace

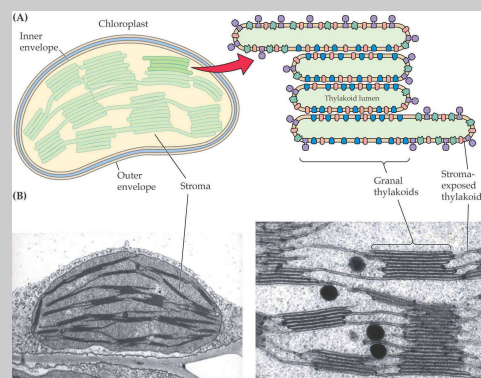
C_4 rostliny (Hatch-Slackův cyklus)

CAM rostliny

Chloroplast

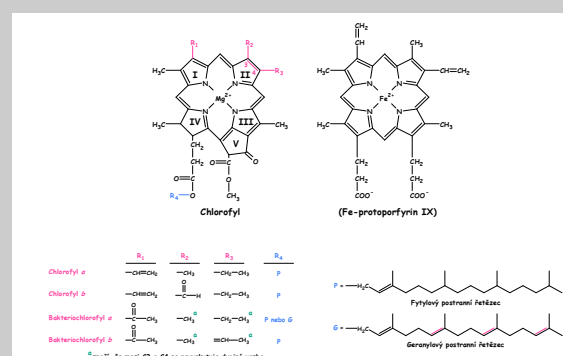


Chloroplast - fotosyntetická organela eukaryot

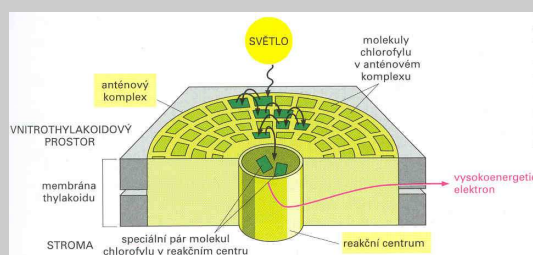


Pigmenty a antény

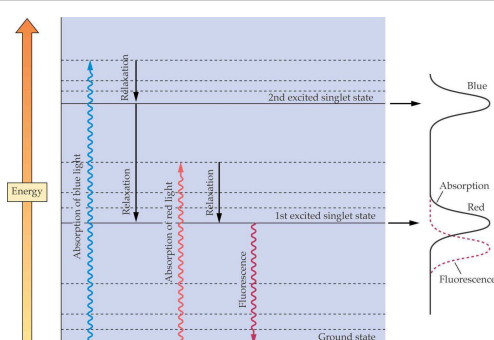
Struktury chlorofylů



Model antény a reakčního centra



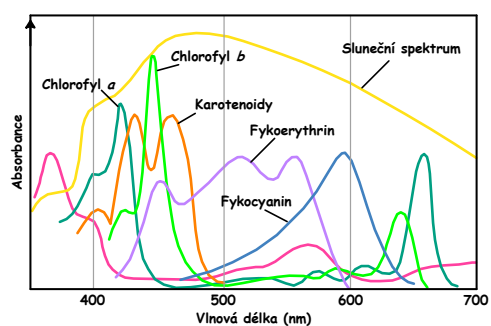
Přeměny světelného záření po dopadu na povrch listu



Rostlina je zelená díky chlorofylu.

Ale proč je chlorofyl zelený?

Absorpční spektra různých fotosyntetických pigmentů.



Primární procesy fotosyntézy

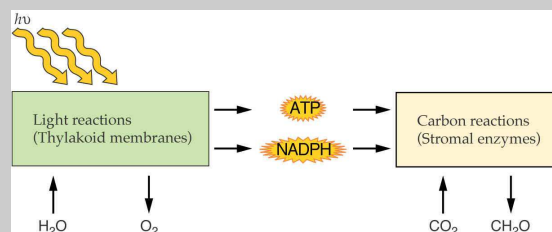
Procesy spojené s absorpcí a přeměnou světelné energie v energii chemickou

Procesy: Fotolýza vody
Cyklický a necyklický transport e^-

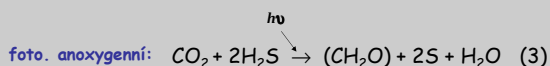
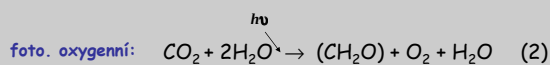
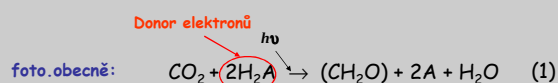
Sekundární procesy fotosyntézy

Fixace CO_2 a jeho následná redukce na cukr

Vstupy a výstupy látek a energie v primárních procesech oxygenní fotosyntézy



Přehled fotosyntézy - souhrnná reakce



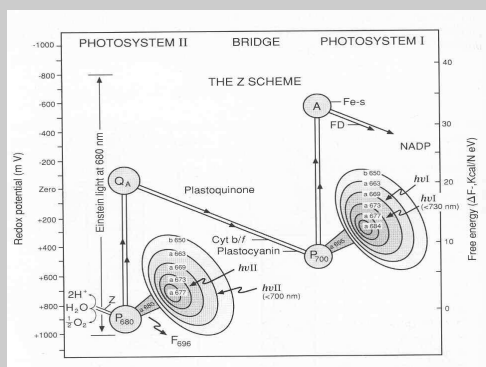
Primární procesy fotosyntézy

Realizovány dvěma fotosystémy, které se vzájemně liší složením pigmentů

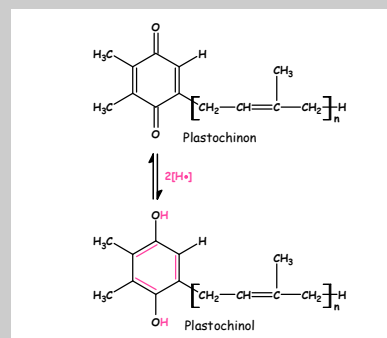
Fotosystém I: absorbuje dlouhovlnnějšího záření v červené oblasti 700 nm, obsahuje fykobiliny, chlorofyl a, chlorofyl b

Fotosystém II: absorbuje krátkovlnnější oblast záření 680 nm, obsahuje xantofyly, karotenoidy, fykobiliny, chlorofyl a, chlorofyl b

Schéma přenosu elektronů v thylakoidní membráně Z schéma



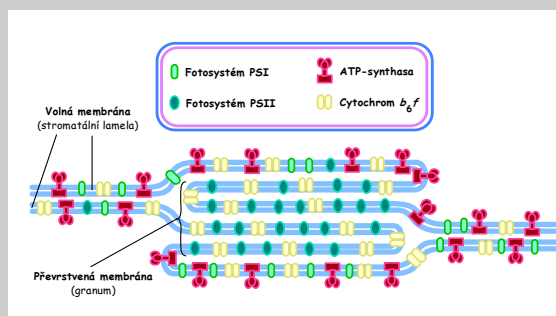
Plastochinon (Q) - plastochinol (QH2)



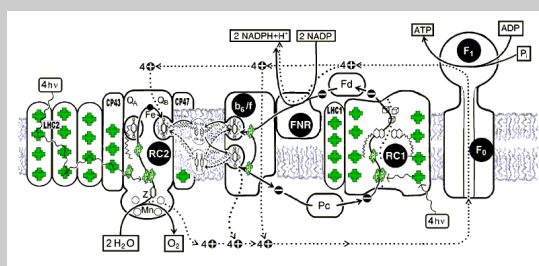
Fotolýza vody - tvorba kyslíku

- PS II (P680, fotosystém II) obsahuje centrum uvolňující kyslík (oxygen evolving center-OEC).
 - Působením světelných kvant (fotonů) zde dochází k rozkladu molekul vody
- $$2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4 \text{H}^+ + 4 \text{e}^-$$
- Elektrony uvolněné z vody vstupují do PSII, kde jsou světelnými kvanty uvedeny excitací do vyšších energetických hladin označených jako P680* a posléze putují řetězcem přes QH2.

Lokalizace systémů PSII, PSI, cytochromu b_6f a ATP-synthasy na thylakoidech



Stroma



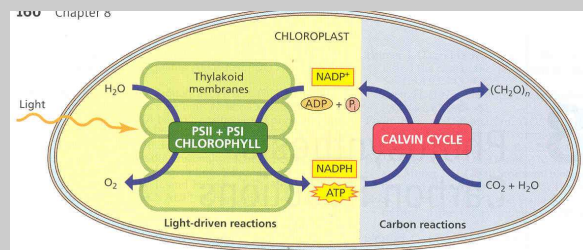
Thylakoid

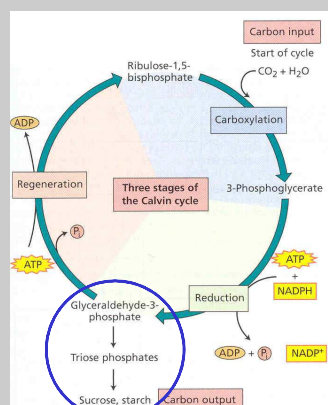
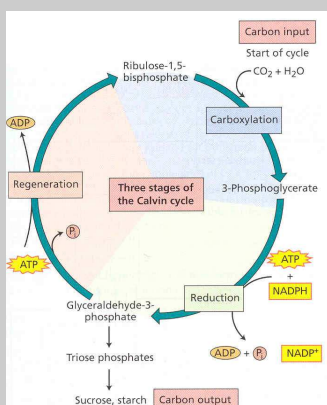
Z-schéma světelné fáze fotosyntézy

- Elektrony mohou dosáhnout na ferredoxin-NADP+ reduktasu (FNR), která katalyzuje redukci NADP+.
- Oxidace vody a tok elektronů přes Q cyklus generuje transmembránový protonový gradient s vyšší koncentrací protonů na straně thylakoidní dutiny (lumen - uvnitř). Energie gradientu se uplatňuje při tvorbě ATP.
- Různé prostetické skupiny fotosyntetického aparátu rostlin mohou být seřazeny podle redukčního potenciálu v diagramu zvaném Z-schéma.
- Elektrony uvolněné z P680 po absorpci fotonů jsou nahrazovány elektrony z fotolýzy vody. Každý elektron prochází řetězcem přenašečů do hotovosti plastochinonových molekul. Vytvořený redukováný plastochinol redukuje cytochrom b_6f komplex, za současného transportu protonů do thylakoidů. Cytochrom b_6f přenáší elektrony na plastocyanin (Pc) a ten regeneruje fotooxidovaný P700 v PSI. Elektrony emitované z PSI redukují přes řetězec přenašečů NADP+ na NADPH. **Necyklický proces.** V **cyklickém procesu** se elektrony vrací zpět na cytochrom b_6f a přitom se přendávají další protony do thylakoidu.

Calvin-Bensonův cyklus (cyklus PRC)

Fotosyntetické procesy v chloroplastech - souhrn





Biosyntéza sacharidů:

- Celková stechiometrie Calvin-Bensonova cyklu:
- $3 \text{ CO}_2 + 9 \text{ ATP} + 6 \text{ NADPH} \rightarrow \text{GAP} + 9 \text{ ADP} + 8 \text{ Pi} + 6 \text{ NADP}^+$
- Vytvořený **GAP** může být využit k řadě biosyntéz, buď vně nebo uvnitř chloroplastu. Může být převeden na **fruktosa-6-fosfát** dalším postupem cyklu a poté na **glukosa-1-fosfát (G1P)** (fosfoglukosaisomerasa a fosfoglukosamutasa).
- G1P je prekurzor všech dalších sacharidů rostlin.
- Hlavní složka škrobu, **α-amylóza**, je syntetizována v stromatu chloroplastu jako dočasná skladovatelná forma glukosy.
- **α-Amylóza** je také syntetizována jako dlouhodobá skladovatelná forma v jiných částech rostlin jako jsou listy, semena a kořeny.
- **Celulosa** tvořena dlouhými řetězci β(1→4)-vázanými glukosovými jednotkami je hlavním polysacharidem rostlin. Je syntetizována z UDP-glukos v rostlinné plasmové membráně a vylučována do extracelulárního prostoru.

Fotorespirace

CO_2 soutěží s O_2 o vazbu na Rubisco
(Karboxylace nebo Oxygenace)

Oxygenasová reakce RUBISCA.

- Od roku 1960 je známo, že osvětlené rostliny spotřebovávají kyslík a uvolňují CO_2 drahou odlišnou od oxidativní fosforylace.
- Při nízkých hladinách CO_2 a vysokých O_2 může proces fotorespirace převládnout nad fixací CO_2 .
- Překvapení: Kyslík kompetuje s CO_2 jako substrát ribulosakarboxylasy.
- Přesnější název: ribulosabisfosfátkarboxylasa-oxygenasa (**RUBISCO**).
- Při oxygenasové reakci se vytváří z RuBP 3-fosfoglycerát a 2-fosfoglykolát. 2-Fosfoglykolát je hydrolyzován na glykolát a ten je oxidován za tvorby CO_2 v sérii enzymových reakcí v peroxisomech a mitochondrii.

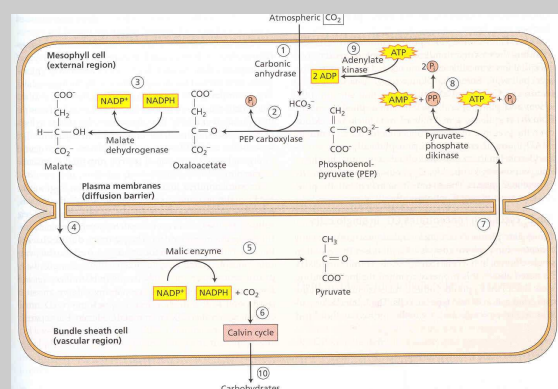
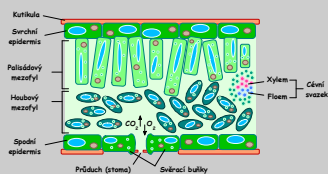
Co je důsledkem oxygenační aktivity Rubisco ?

Fotorespirace je devastující proces jehož výsledkem je neužitečná spotřeba světlem vytvořeného NADPH a ATP !!!

CO₂ koncentrační mechanismy rostlin C₄

Rostliny C₄ koncentrují na povrchu listu CO₂.

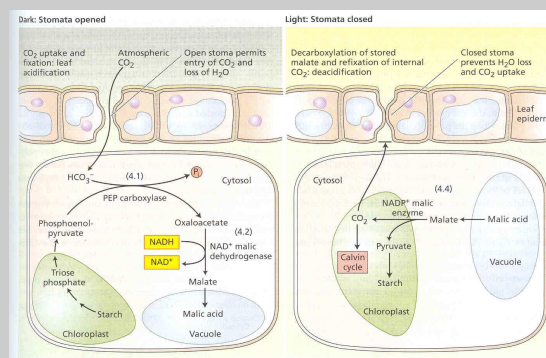
- Řada rostlin se evolučně přizpůsobila kolísání koncentrace O₂ a CO₂ tak, že koncentrují ve fotosyntetických buňkách CO₂ a zabraňují fotorespiraci. Např. cukrovka, cukrová třtina, kukuřice a mnoho plevelných rostlin. Typické pro tropické oblasti.
- List má charakteristickou anatomii - pod vrstvou buněk tzv. mesofylu jsou soustředěny pochvy cévních svazků. V mesofylových buňkách není ribulobisfosfátkarboxylasa !!



Cyklus C₄ - M. Hatch a R. Slack (1960)

- V mesofylu reaguje vstupující CO₂ ve formě HCO₃⁻ s fosfoenolpyruvátem za tvorby oxaloacetátu (čtyři uhlíky, proto C₄). Oxaloacetát je redukován NADPH na malát, který je transportován do buněk cévních svazků, kde je oxidativně dekarboxylován na CO₂, pyruvát a NADPH. Takto koncentrovaný CO₂ vstupuje do Calvinova cyklu.
- Pyruvát je transportován zpět do mesofylu, kde je fosforylován za katalýzy **pyruvát-fosfát dikinasy** za tvorby fosfoenolpyruvátu. Při aktivaci přechází ATP na AMP + PP_i. PP_i je posléze hydrolyzován všudepřítomnou pyrofosfatasou na 2 x P_i.
- Oxid uhlíčitý je koncentrován v buňkách cévních svazků na úkor spotřeby 2 ATP / CO₂.
- Fotosyntéza C₄ rostlin spotřebovává celkem 5 ATP na rozdíl od C₃ rostlin, které spotřebují 3 ATP.

Rostliny CAM



CAM rostliny jako varianta rostlin C_4 .

- Dráha byl poprvé popsána u tučnolistých rostlin a odtud název **CAM** - **crassulacean acid metabolism**.
- U CAM rostlin je časově oddělen záchyt CO_2 a Calvin-Bensonův cyklus.
- CAM rostliny otevírají stomata (póry v listech) v noci a zachycují CO_2 drahou C_4 ve formě malátu.
- Pro zachycení CO_2 je nutné velké množství fosfoenolpyruvátu. To se získává štěpením škrobu a glykolýzou.
- Během dne je malát štěpen za tvorby CO_2 vstupujícího do Calvin - Bensonova cyklu a pyruvátu použitého na resyntézu škrobu.
- Celý tento proces je veden také z důvodu zabránění ztrátě vody !!!
- Stejnou drahou probíhá fotosyntéza u sukulentů.