

Repetitorium chemie
2014/2015

Metabolické
dráhy

František Škanta

Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

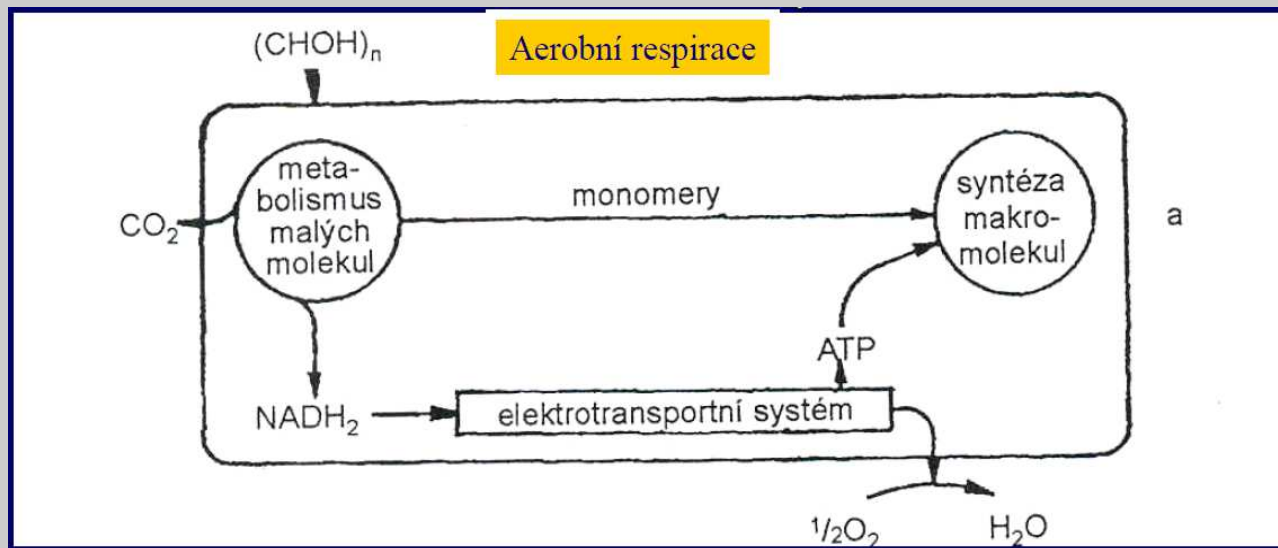
Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

Metabolismus

Chemoorganotrofie (příklad: aerobní respirace, anaerobní respirace, fermentace)



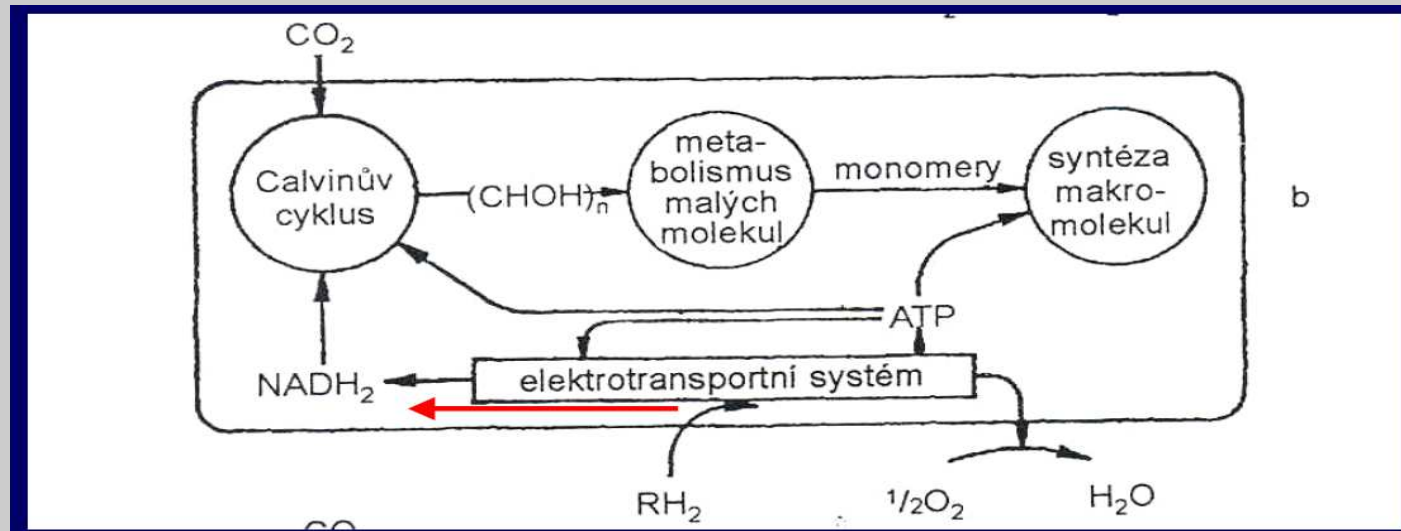
Výroba energie: oxidace organických látek, které jsou zároveň zdrojem C

Anaerobní respirace: jiný akceptor elektronů než O_2 v respiračním řetězci, při fermentaci chybí respirační řetězec, tvorba ATP je pouze na substrátové úrovni

Metabolismus malých molekul: např. glykolýza a Krebsův cyklus

!!!!!! Ústřední problém: reoxidace redukováného NADH !!!!!!!!!!!!!

Chemolithotrofie

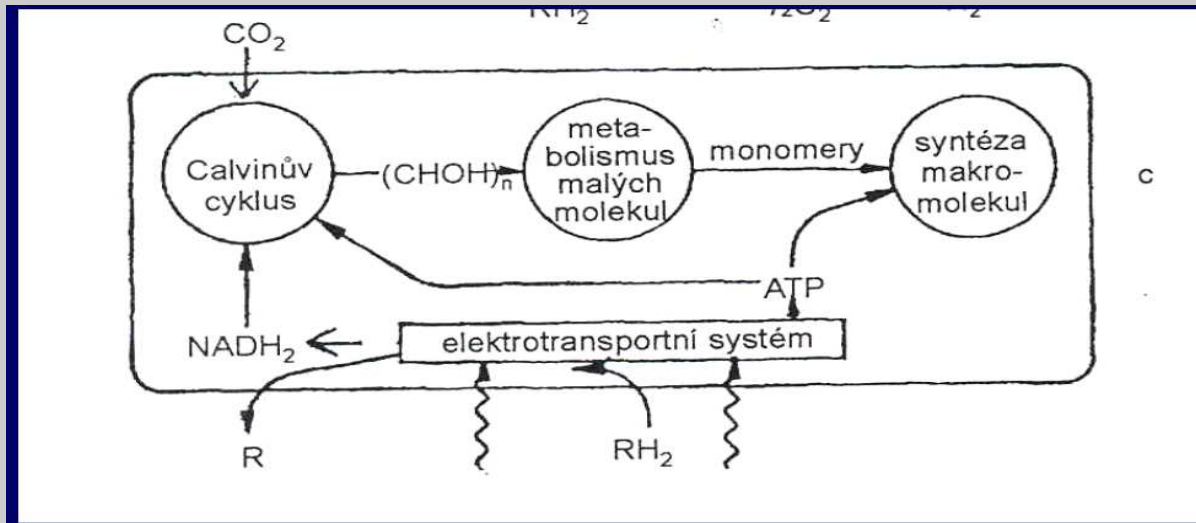


Výroba energie: oxidace anorganických látek (RH_2): sloučeniny síry, dusíku, trojmocné železo, jiné kovy, plynný vodík

Zdroj C: CO_2

!!!!!! Ústřední problém: výroba dostatku ATP, reverzní transport elektronů, redukce NAD^+ k redukci CO_2 v Calvinově cyklu !!!!!

Fototrofie



Výroba energie: světelný tok

Elektrontransportní systém je součástí jednoho fotosystému (anoxygenní fotosyntéza, donor elektronů: sulfan, vodík, atd.) nebo dvou fotosystémů (oxygenní fotosyntéza: donor elektronů: voda)

!!!!!! Ustřední problém: redukce NAD^+ k redukci CO_2 v Calvinově cyklu !!!!!

Glykolýza

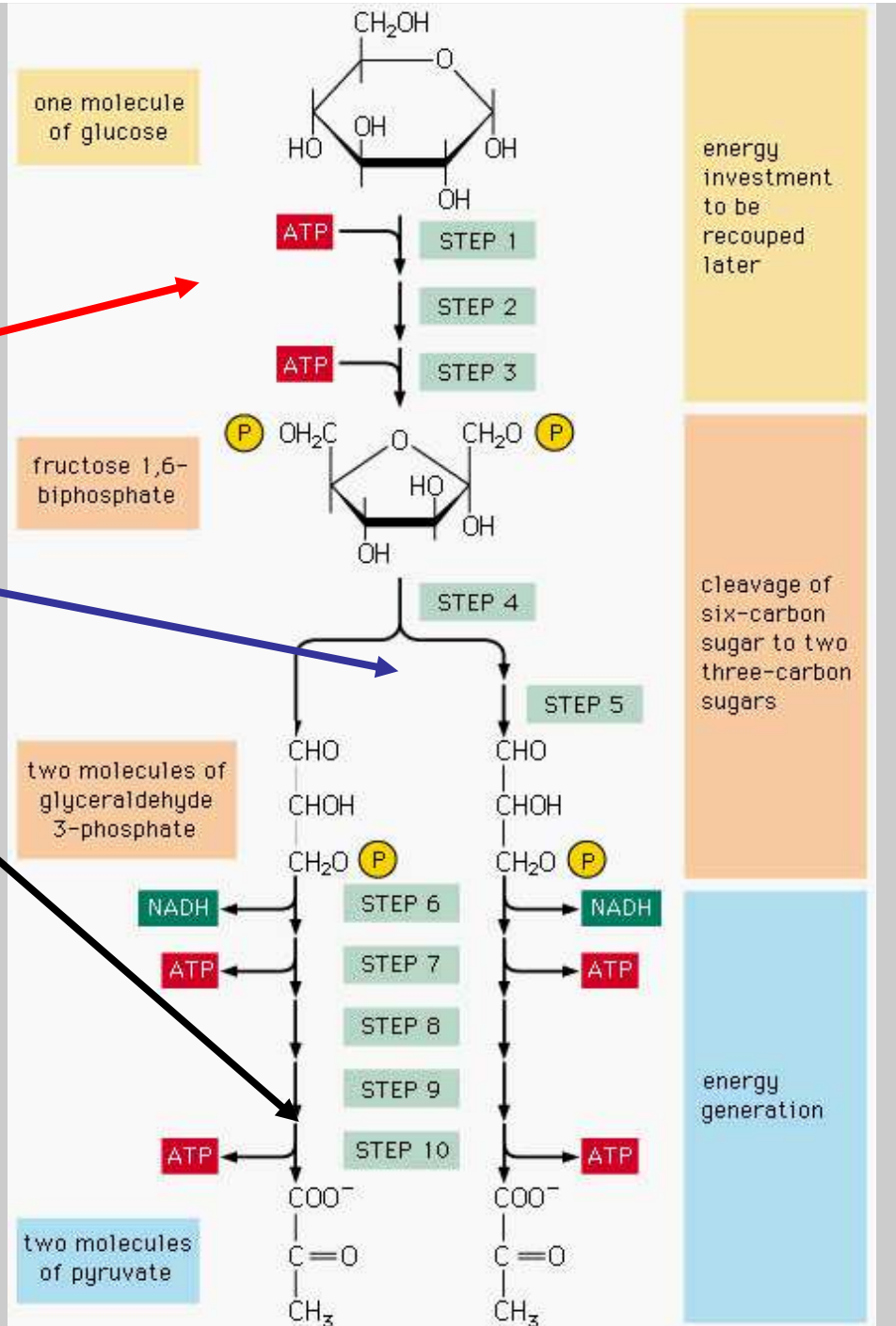
Glykolýza

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?

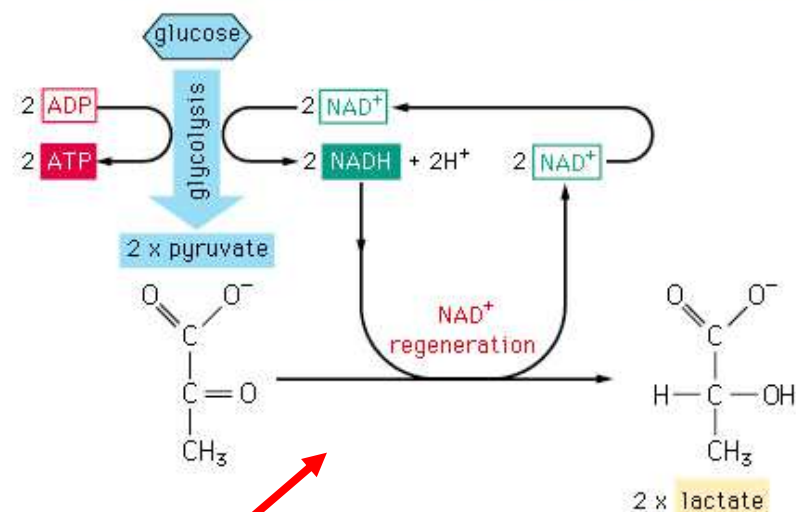
Bez přístupu kyslíku nemůže být mitochondrií využita energie obsažená v NADH

Buňka se proto musí NADH zbavit, jinak se systém inhibuje

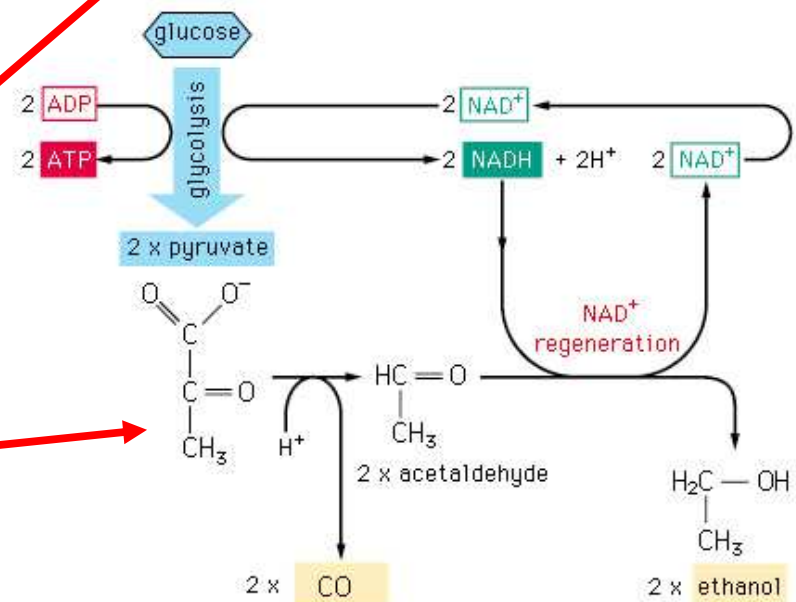
živočichové a bakterie

rostliny a kvasinky

(A) FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF LACTATE



(B) FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF ALCOHOL AND CO



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 sekvencí tří reakcí:



Komplex využívá pěti 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)

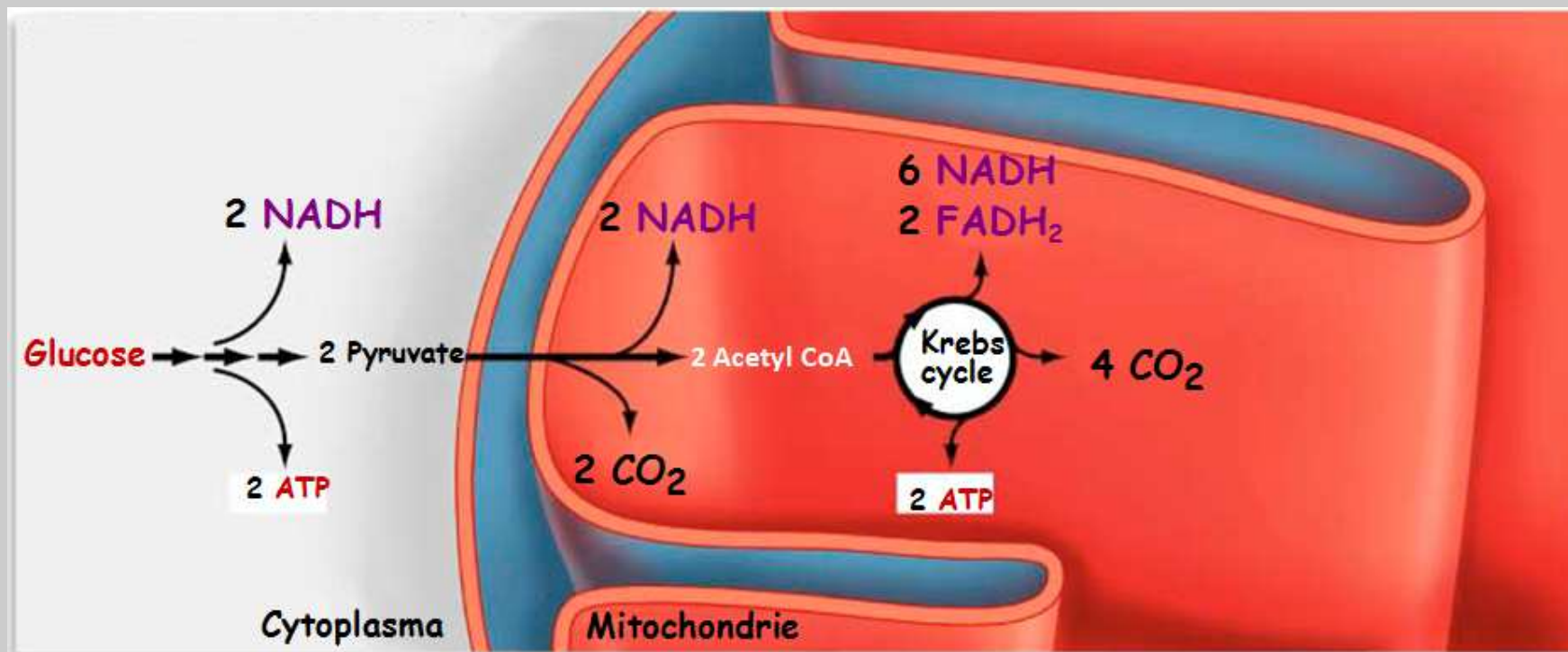


Sled 8 reakcí

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 (živočichové) nebo 1 ATP (rostliny a bakterie)

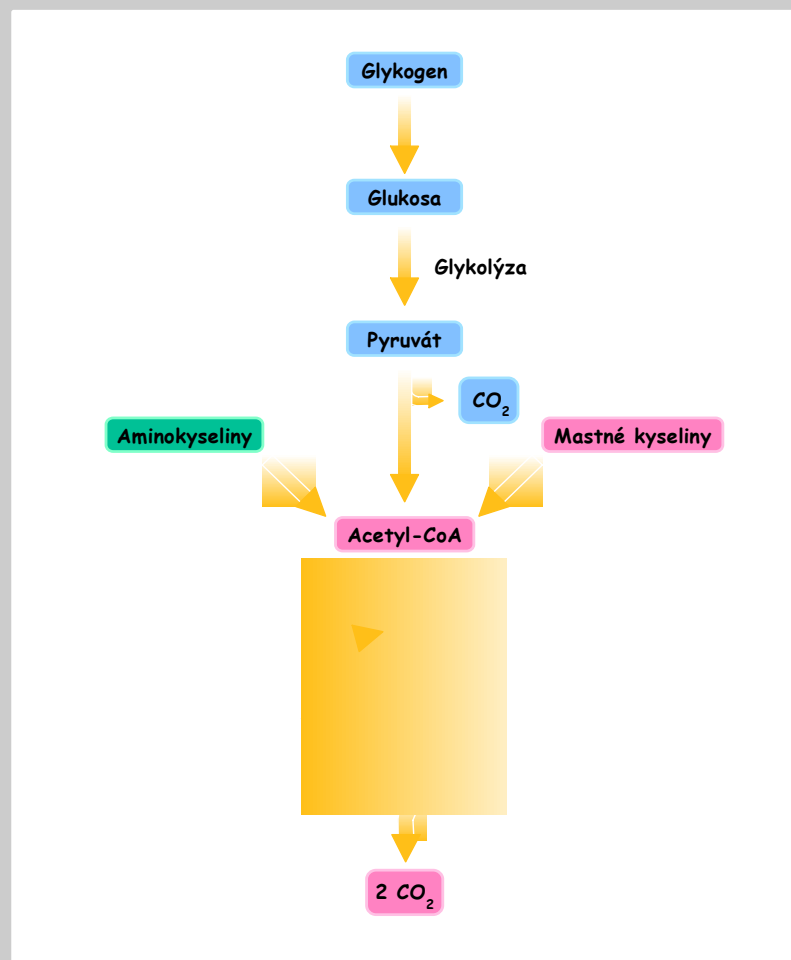
Matrix mitochondrie



Cyklus je: aerobní

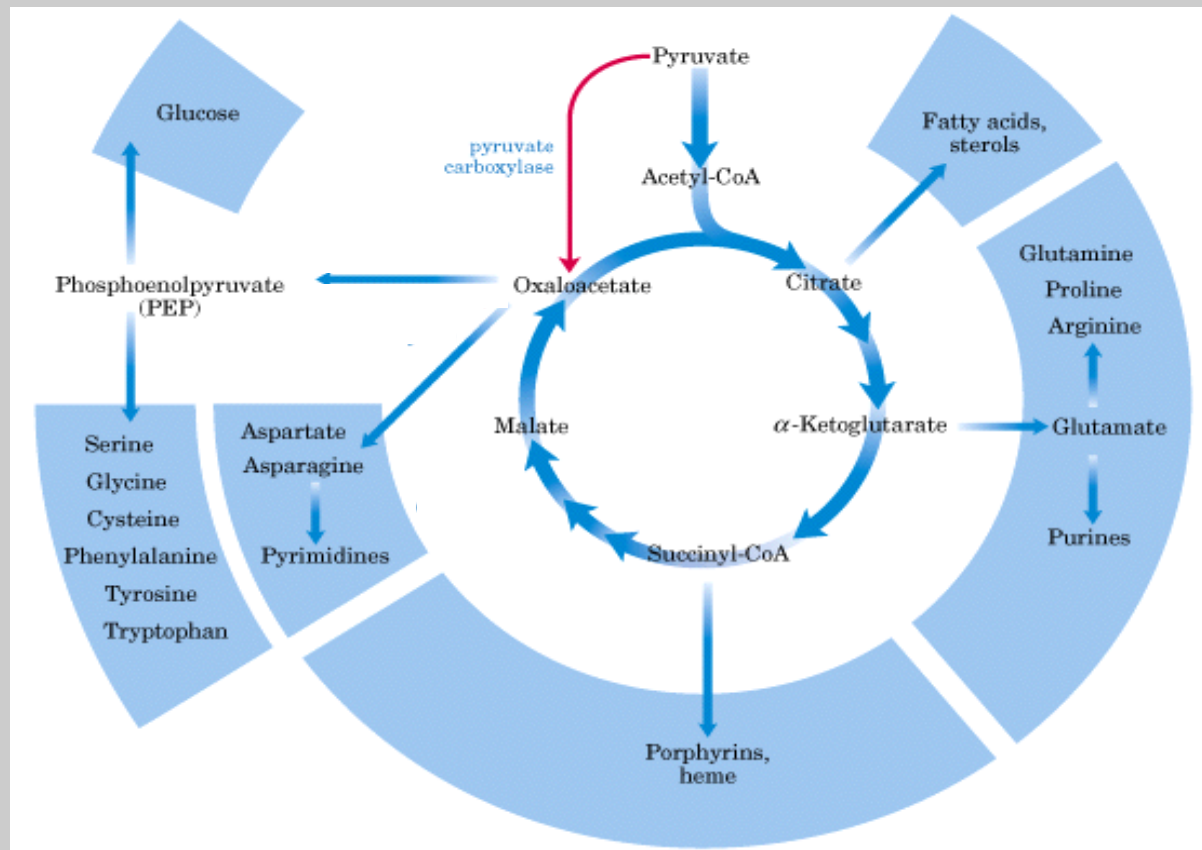
Centrální cyklus

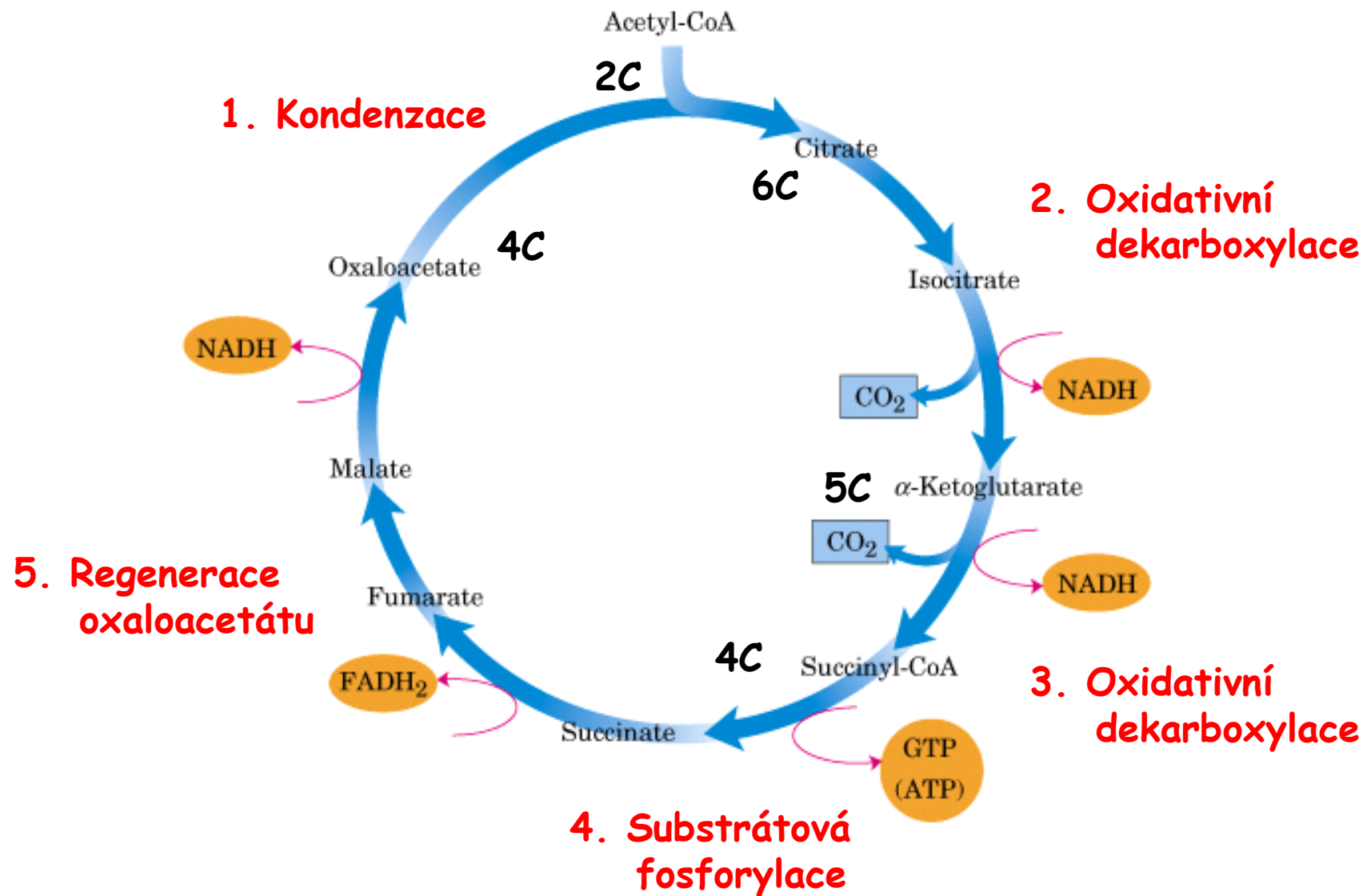
Má dvě části: **katabolickou**, kde se odbourává acetyl-CoA



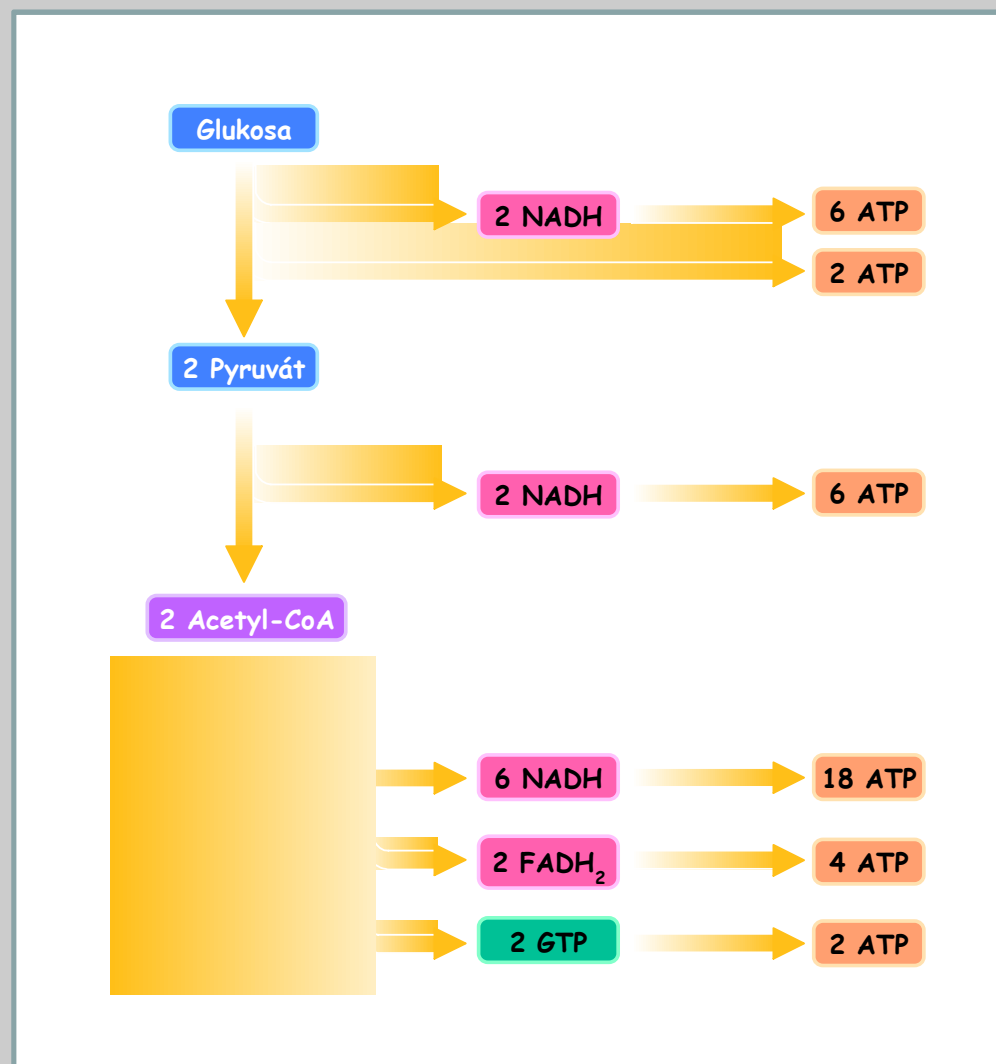
Centrální cyklus

anabolickou, která je zdrojem substrátů pro jiné dráhy





Aerobní zisk ATP z glukosy



Metabolické dráhy

Primární metabolismus

Metabolismus sacharidů

Glykolýza

Krebsův cyklus

Oxidativní fosforylace

Metabolismus lipidů

Oxidace mastných kyselin

Syntéza mastných kyselin

Fotosyntéza

Světelná fáze

Temnostní fáze

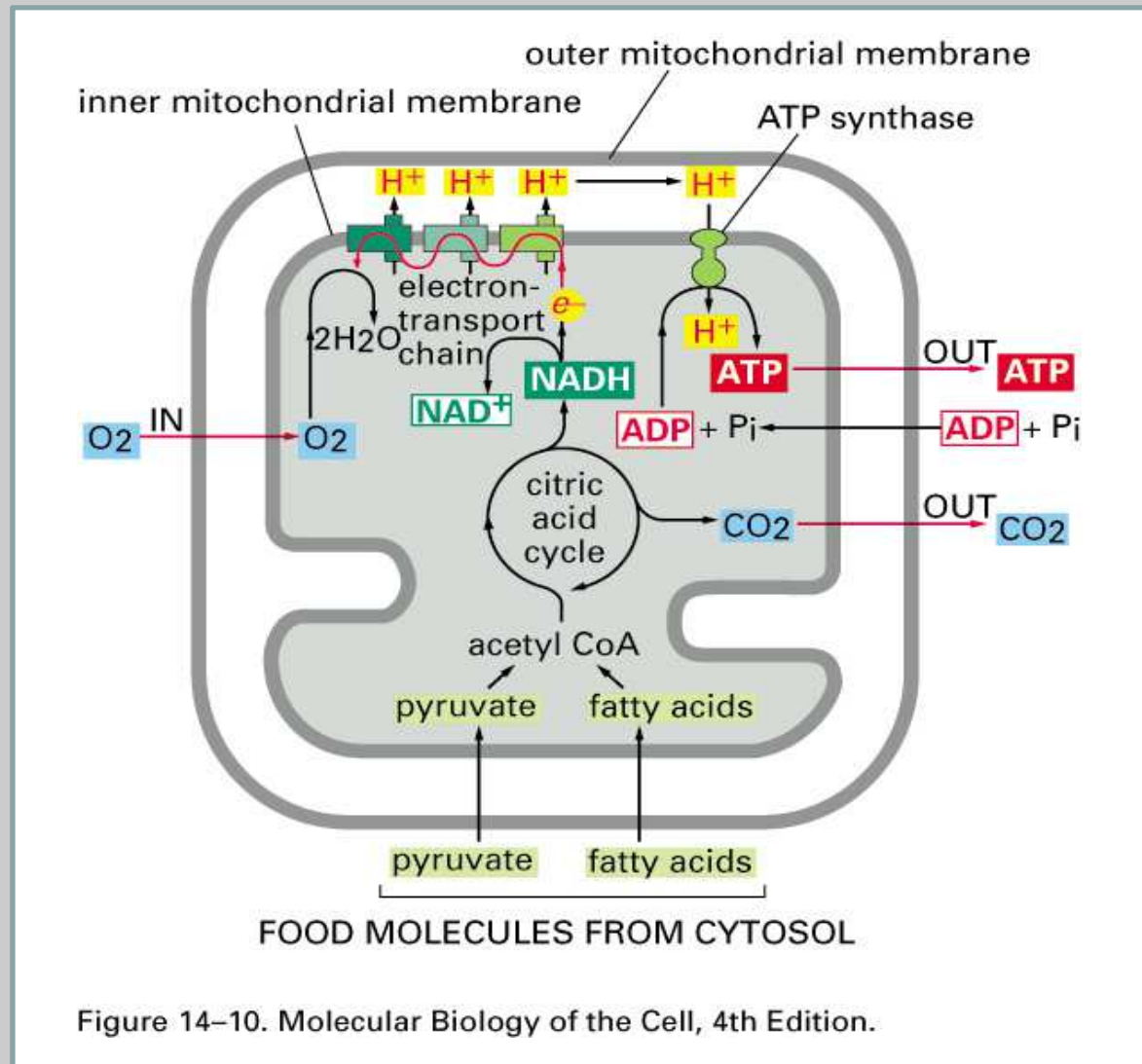
Oxidativní fosforylace

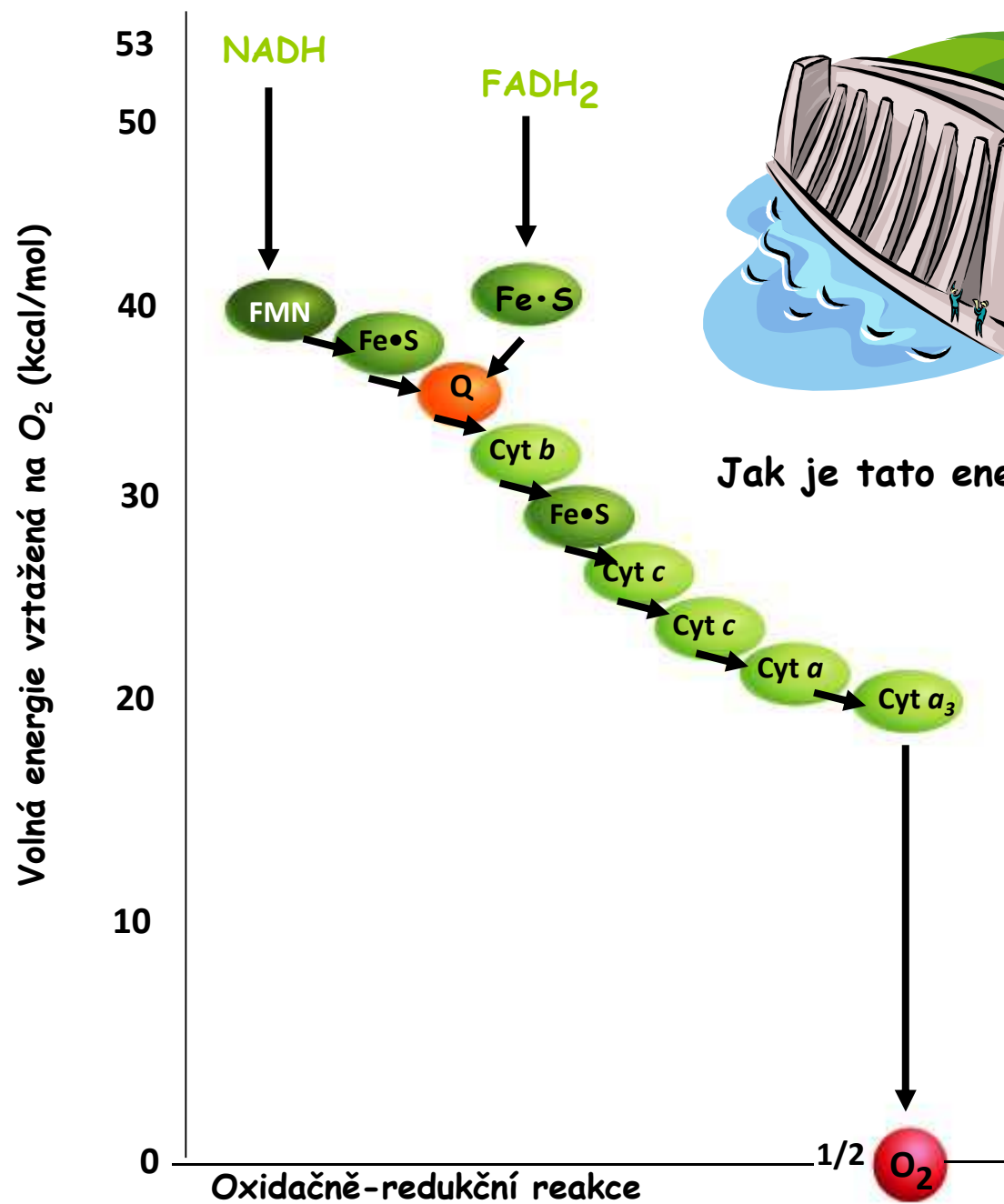
Co znamená?

Oxidativní fosforylace

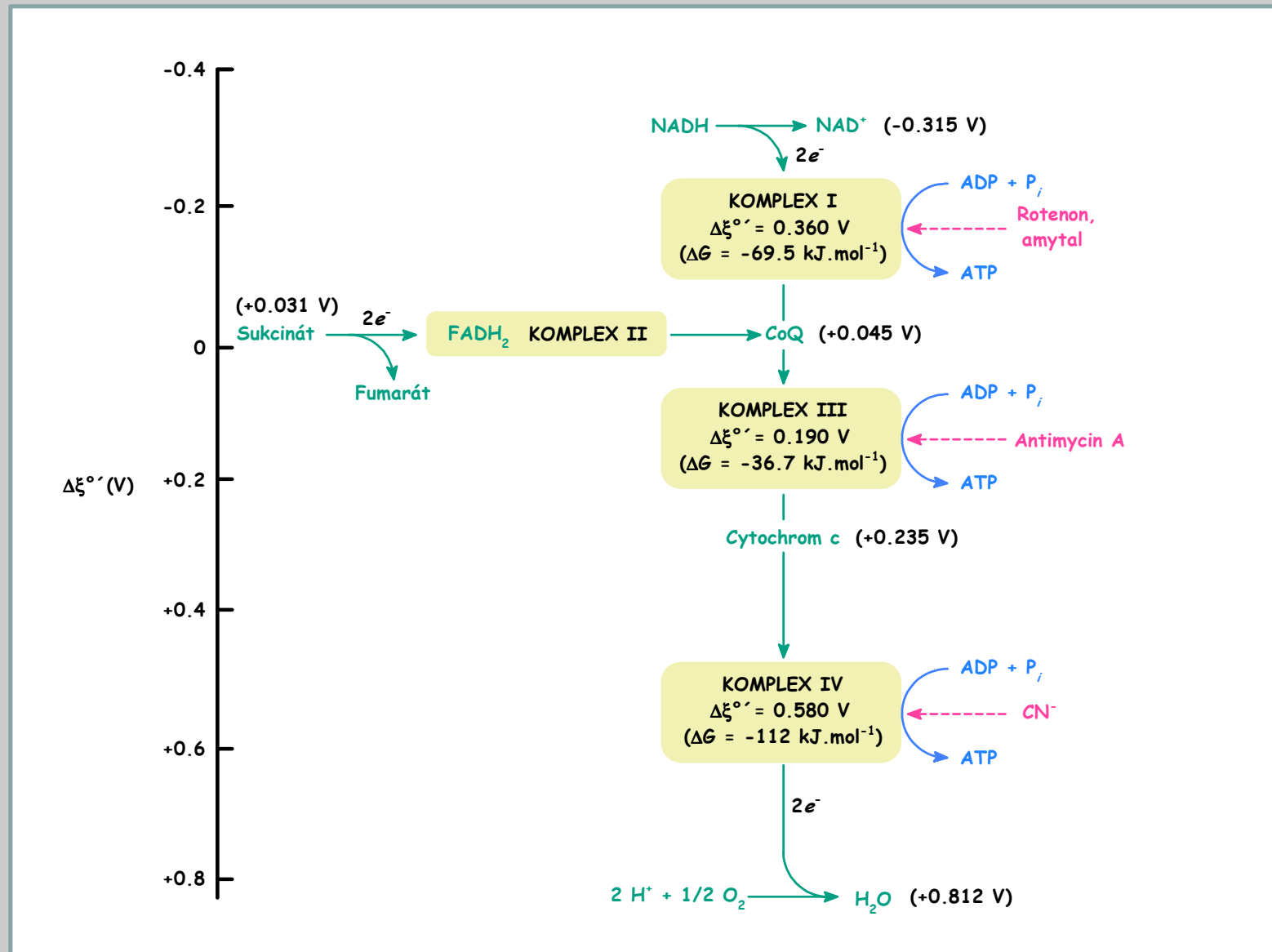
Oxidace redukovaných koenzymů
a přeměna ADP na ATP.

Jak mitochondrie generuje chemickou energii z živin?

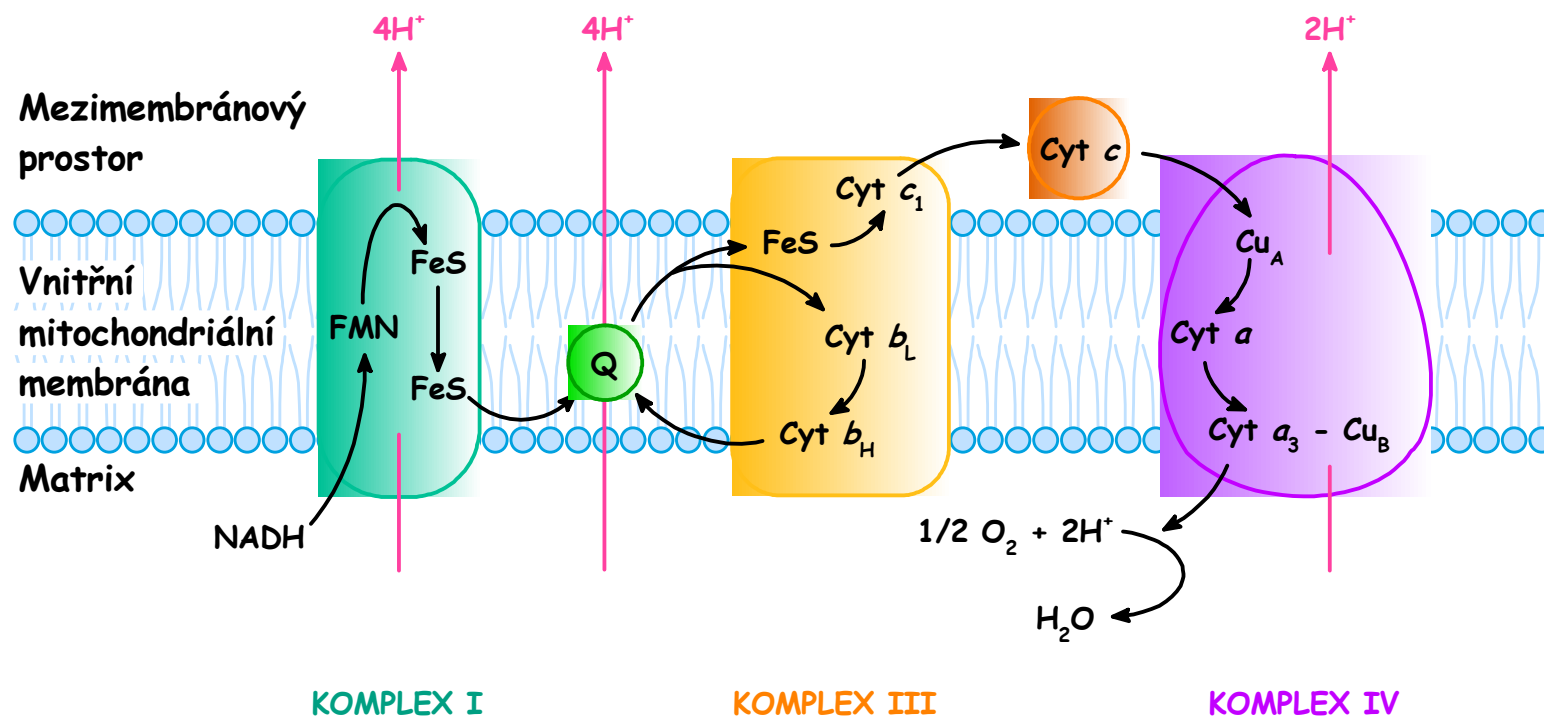




Přehled elektronového transportu mitochondrie



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.
$$\text{CoQ (redukovaný)} + 2 \text{ cytochrom c (oxidovaný)} \rightarrow$$
$$\rightarrow \text{CoQ (oxidovaný)} + 2 \text{ cytochrom c (redukovaný)}$$
- **Komplex IV:** Katalyzuje oxidaci redukovaného cytochromu c kyslíkem - terminálním akceptorem elektronů.
$$2 \text{ cytochrom c (red.)} + \frac{1}{2} \text{ O}_2 \rightarrow 2 \text{ cytochrom c (oxid.)} + \text{H}_2\text{O}$$

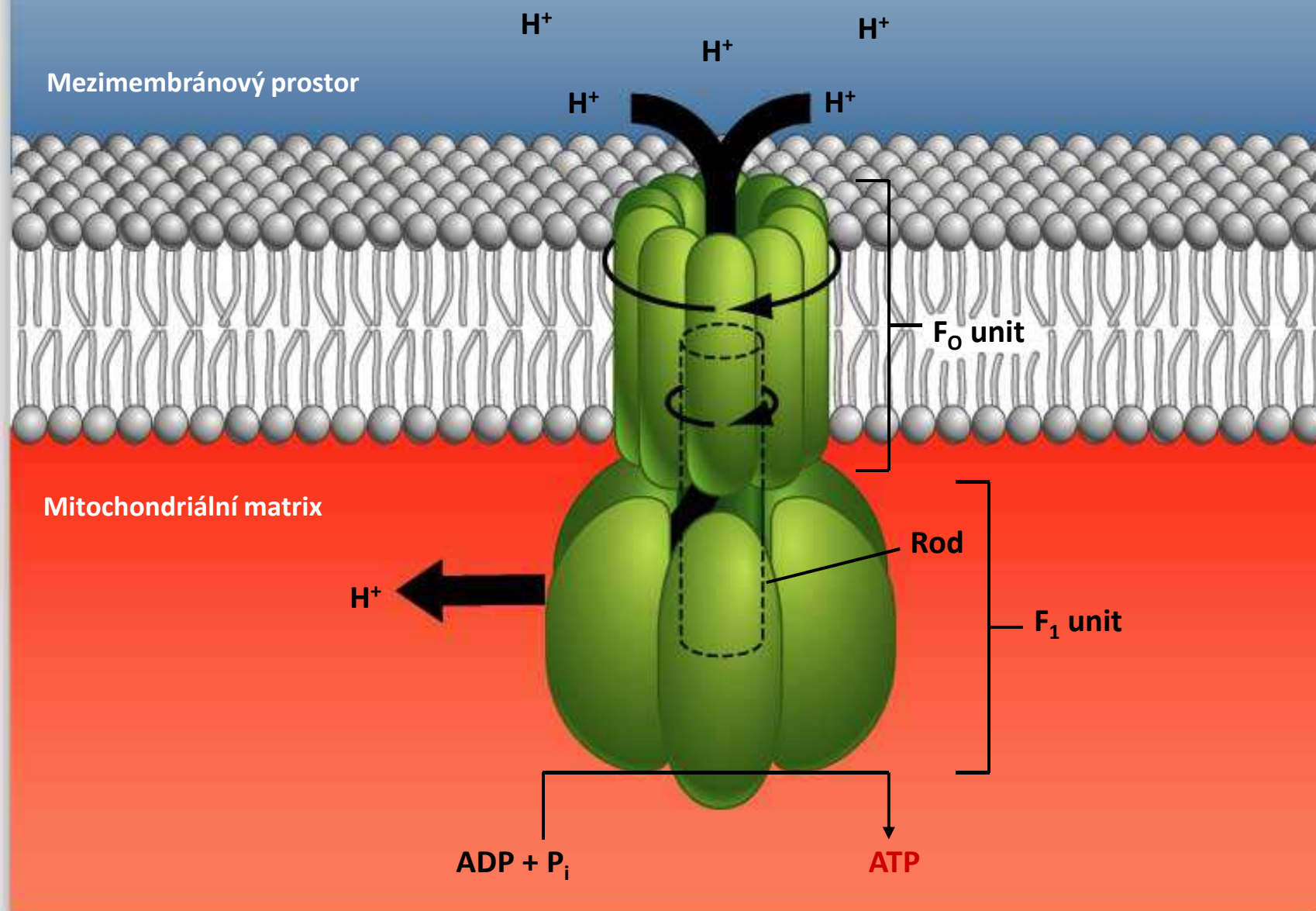
Chemiosmotická hypotéza oxidativní fosforylace

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

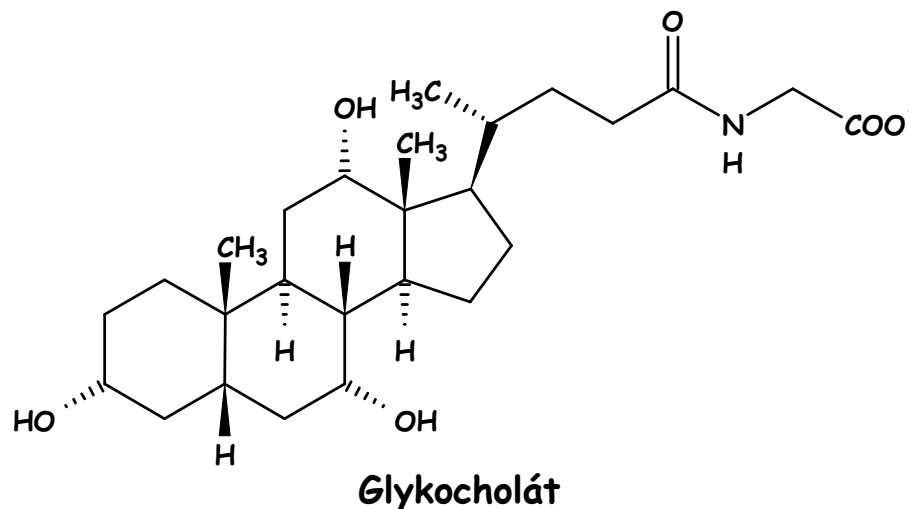
Metabolismus lipidů

Triacylglyceroly

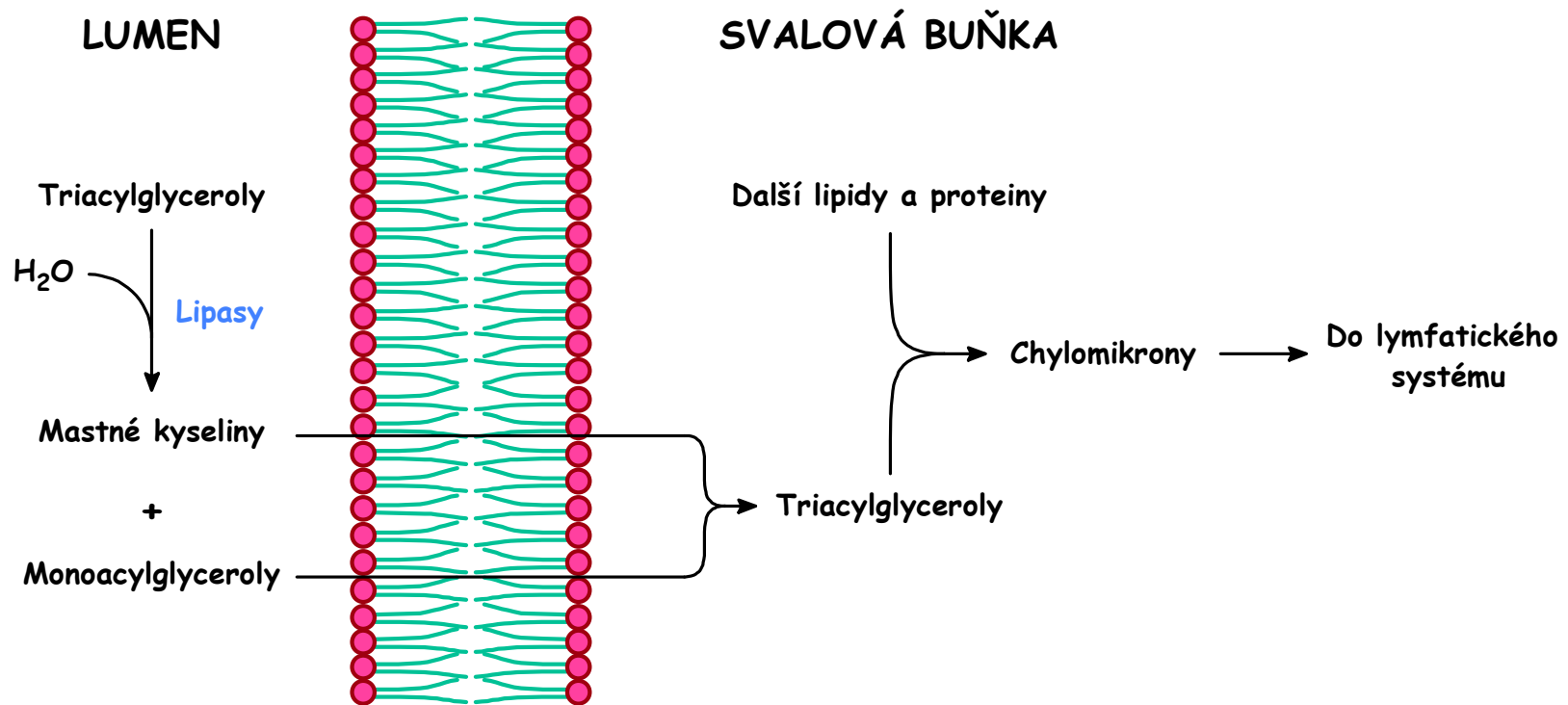
- Skladují velké množství metabolické energie.
- Kompletní oxidací **1g mastné kyseliny 38 kJ** energie
1g sacharidů nebo proteinů pouze 17 kJ.
- 1g tuku skladuje 6 x více energie než 1 g hydratovaného glykogenu.
- Zásoby glykogenu a glukosy vystačí zásobovat organismus energií jeden den, proti tomu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

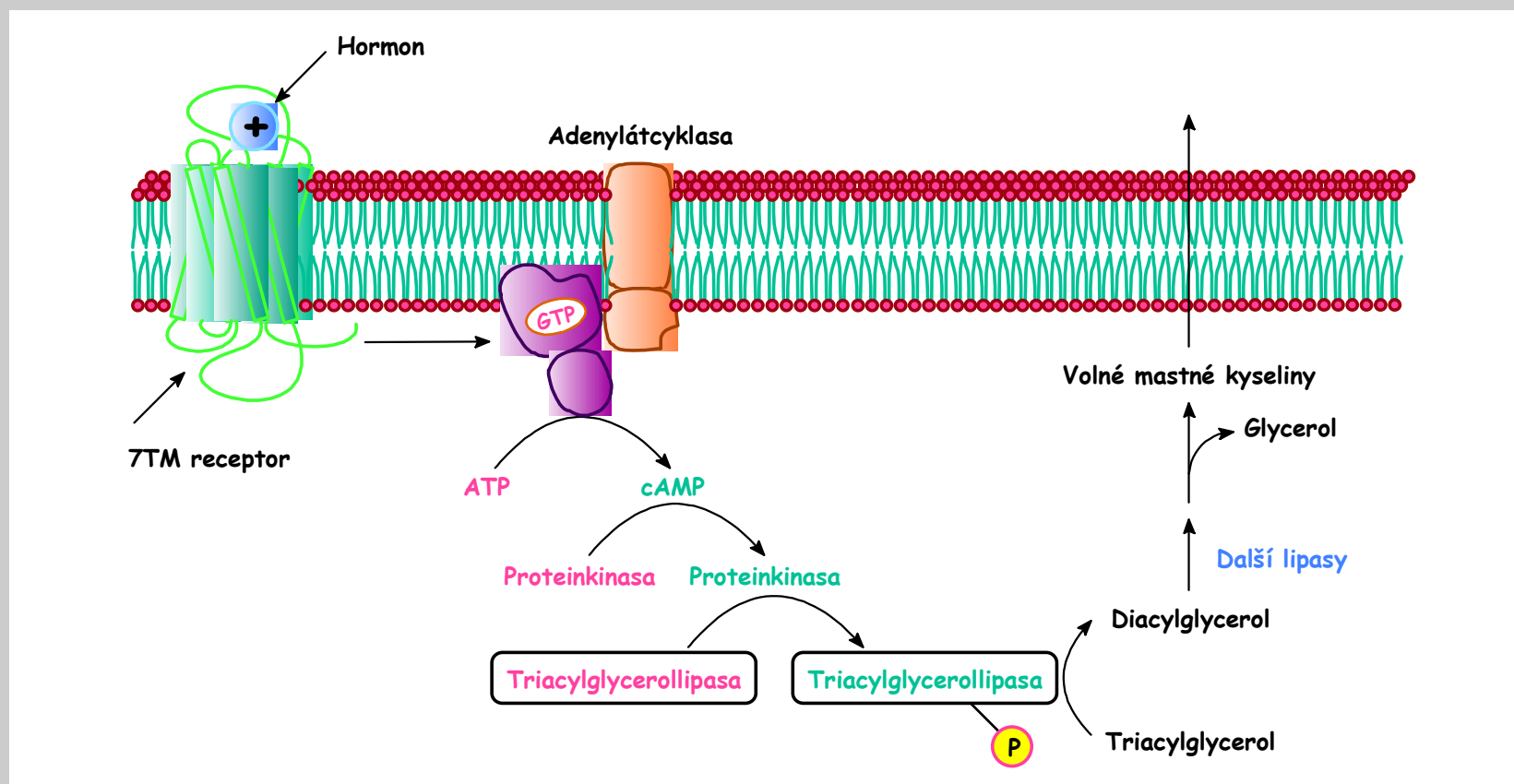
Světelná fáze

Temnostní fáze

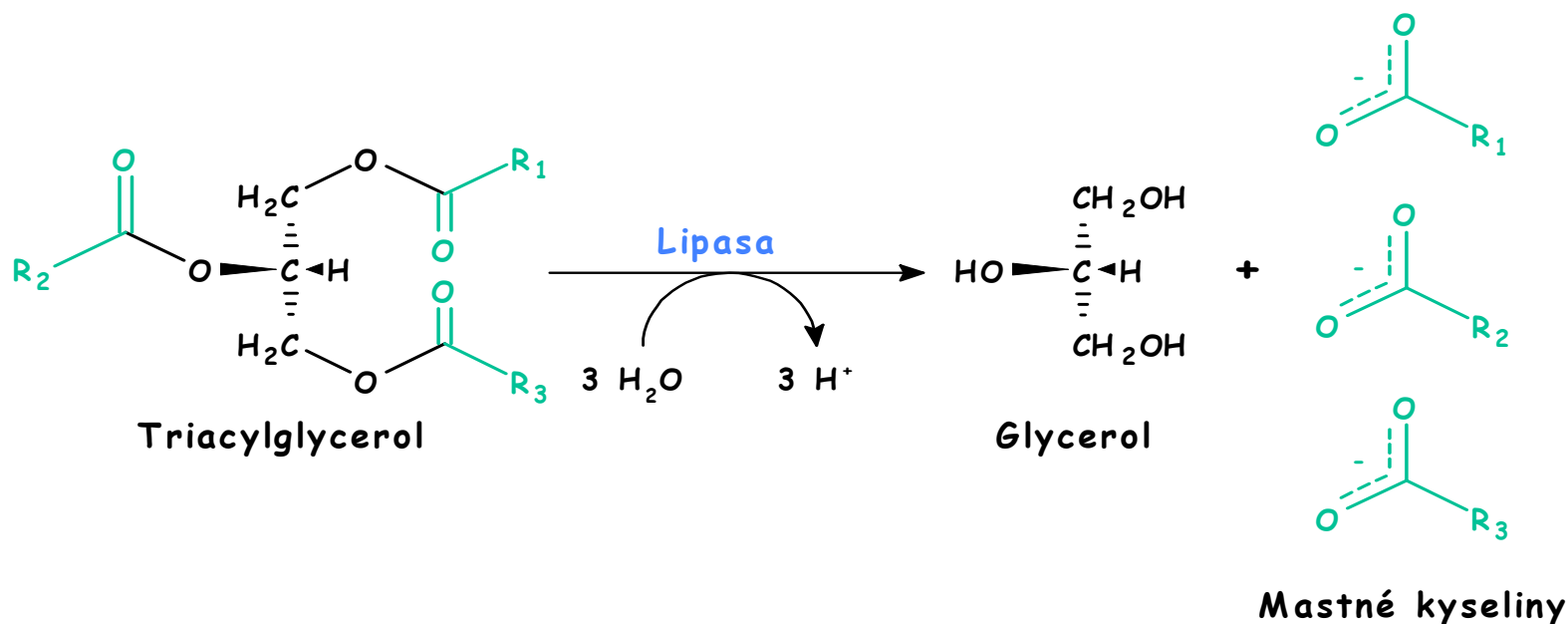
Katabolismus lipidů

Hormonální regulace hydrolýzy triacylglycerolů

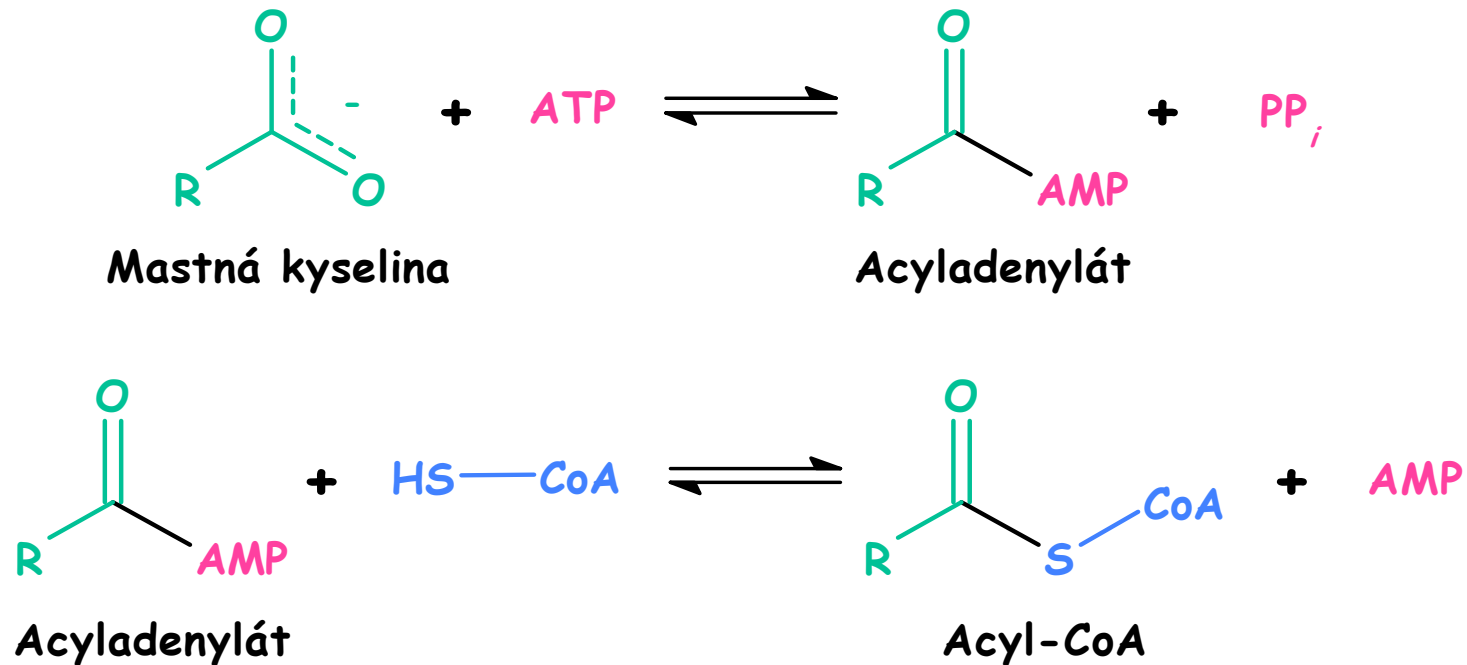
Lipasy adiposních buněk jsou aktivovány **adrenalinem**, (nor...), **glukagonem** a **ACTH**. **Insulin** má inhibiční efekt na hydrolýzu triacylglycerolů.



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



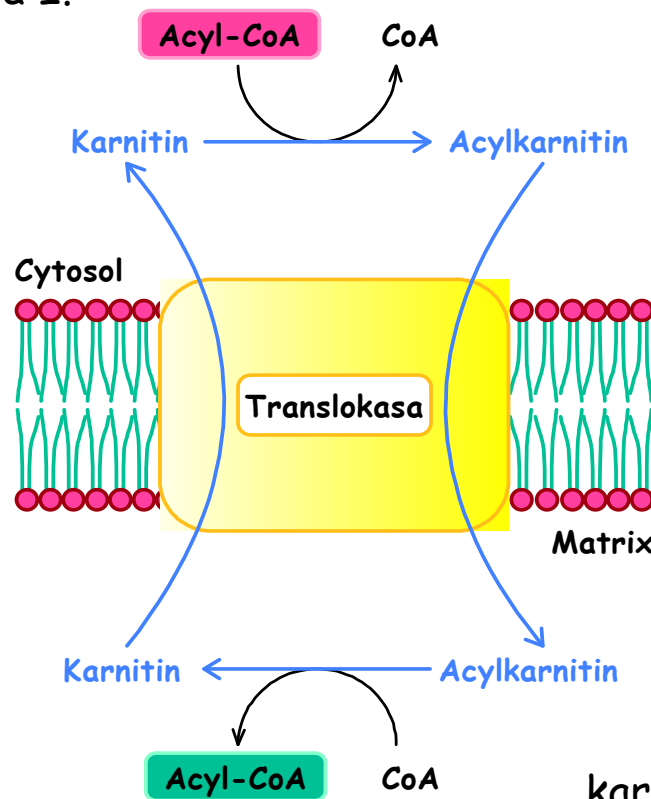
Aktivace mastných kyselin



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

Transport aktivované mastné kyseliny do matrix mitochondrie

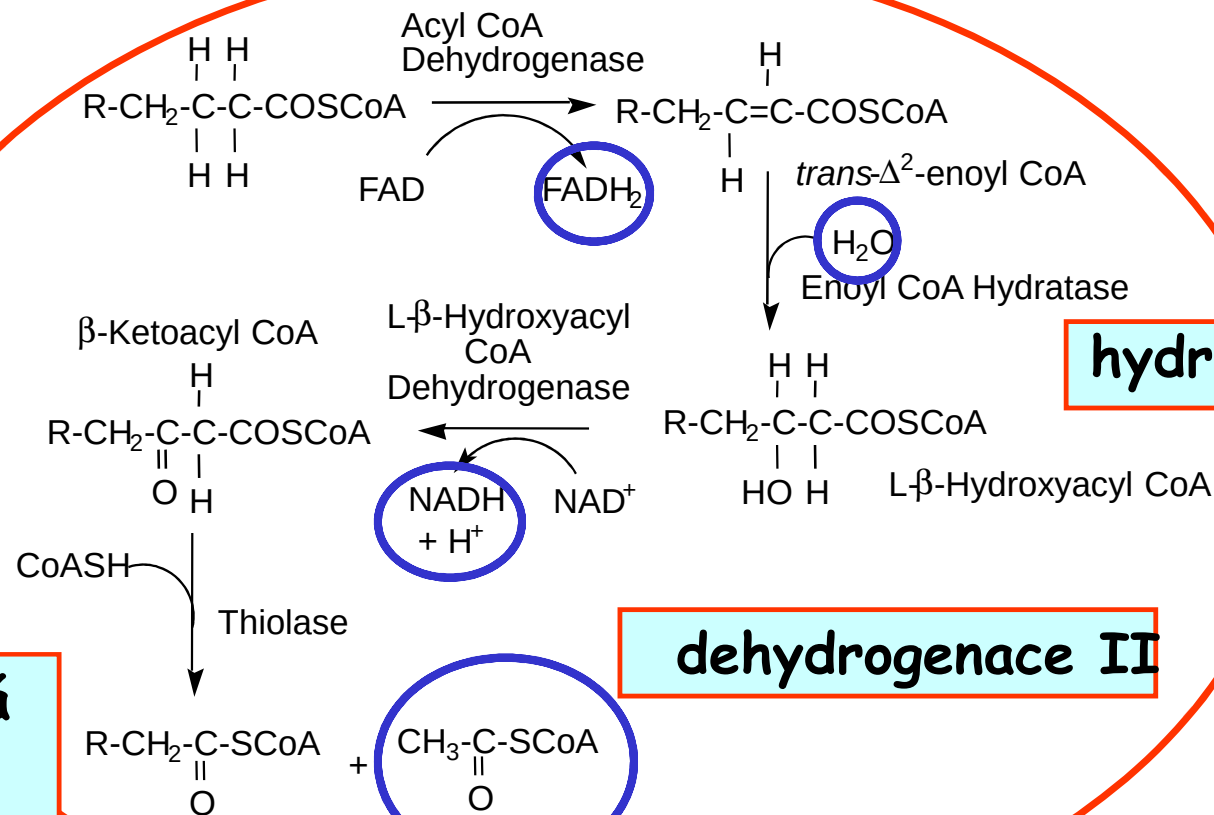
karnitinacyltransferasa I.



Reakční sekvence beta-oxidace

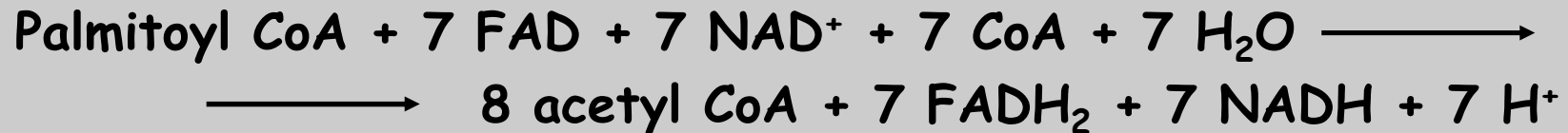
Matrix
mitochondrií

dehydrogenace I



Opakuje se

Výtěžek kompletní oxidace palmitátu



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

Sečteno:

7 x FADH₂ = 14 ATP

7 x NADH = 21 ATP

Oxidace 8 acetyl CoA v citrátovém cyklu = 88 ATP

Součet : 118 ATP

Spotřeba na aktivaci mastné kyseliny: 2 ATP

Konečný součet : 116 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

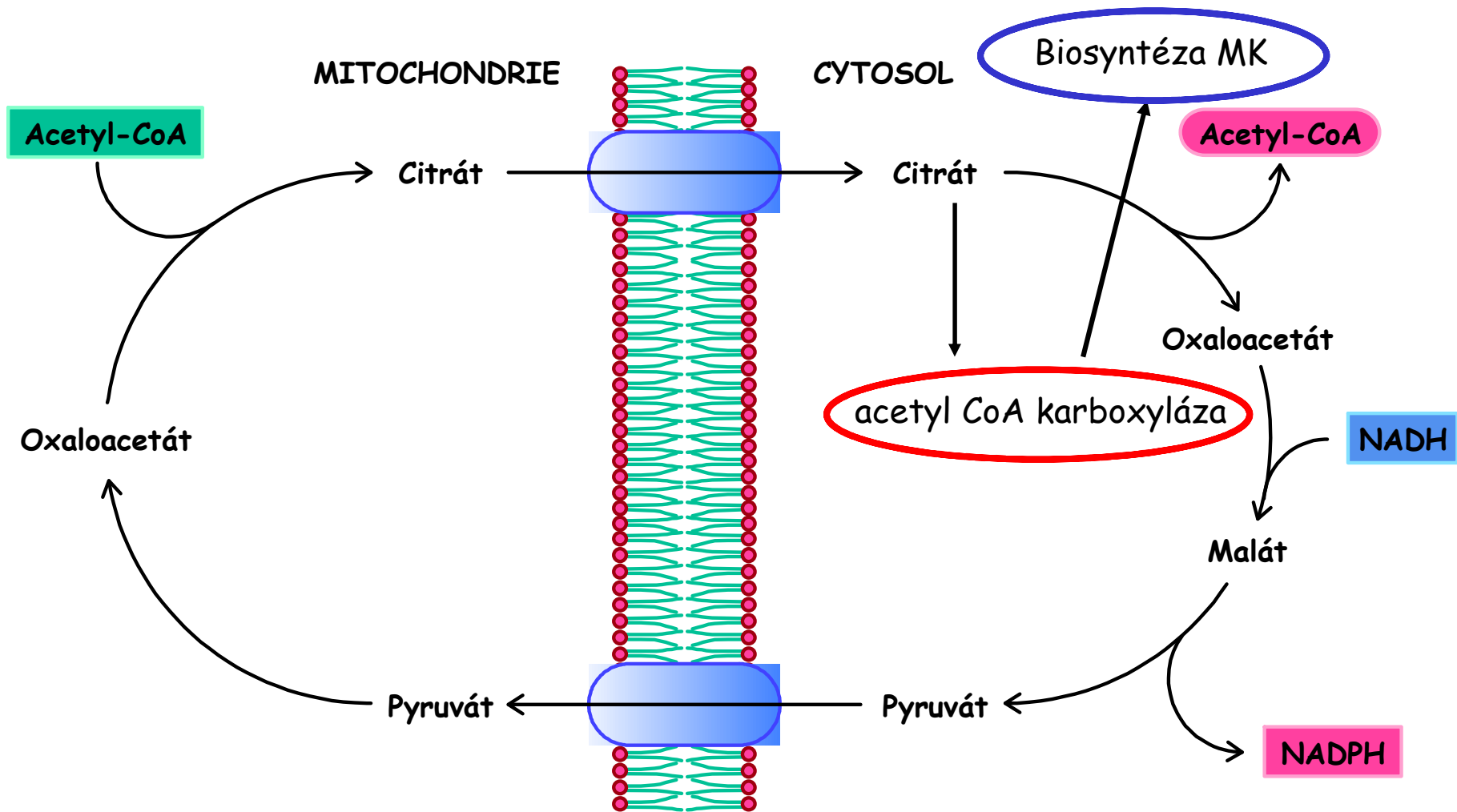
Klíčovým krokem syntézy mastných kyselin je tvorba malonyl CoA



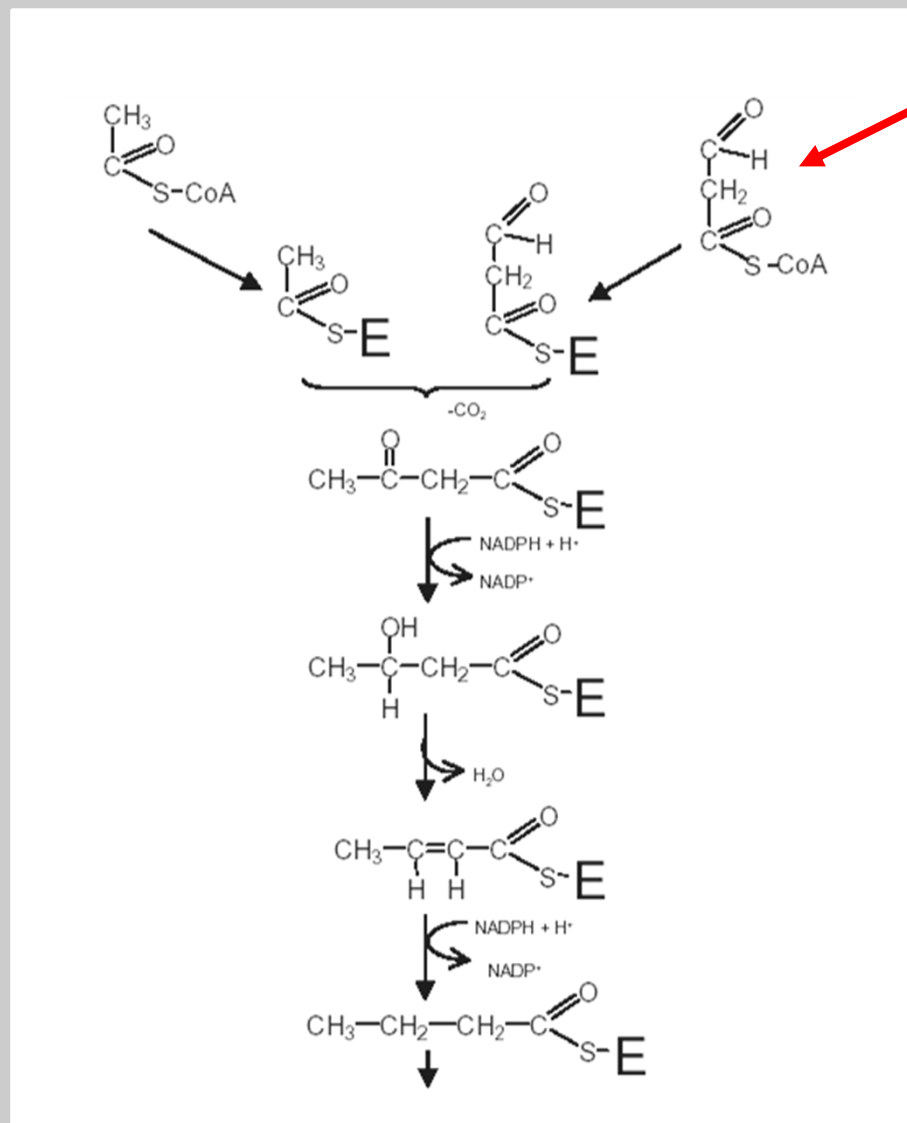
Katalyzuje **acetyl CoA karboxylasa** (obsahuje biotin) a je allostericky **aktivována** nadbytkem **citrátu**, naopak je **inhibována** nadbytkem **Acetyl CoA**, které nejsou dostatečně rychle esterifikovány.
Dva kroky katalýzy.

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

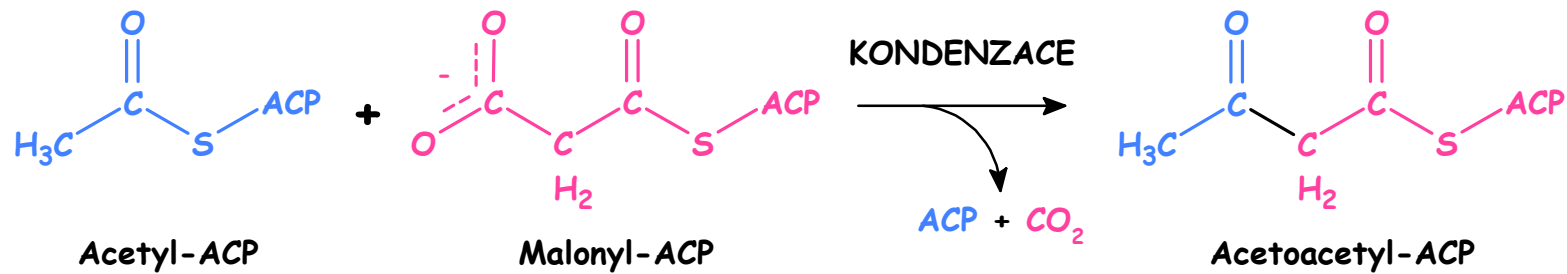
Transfer acetylCoA do cytosolu



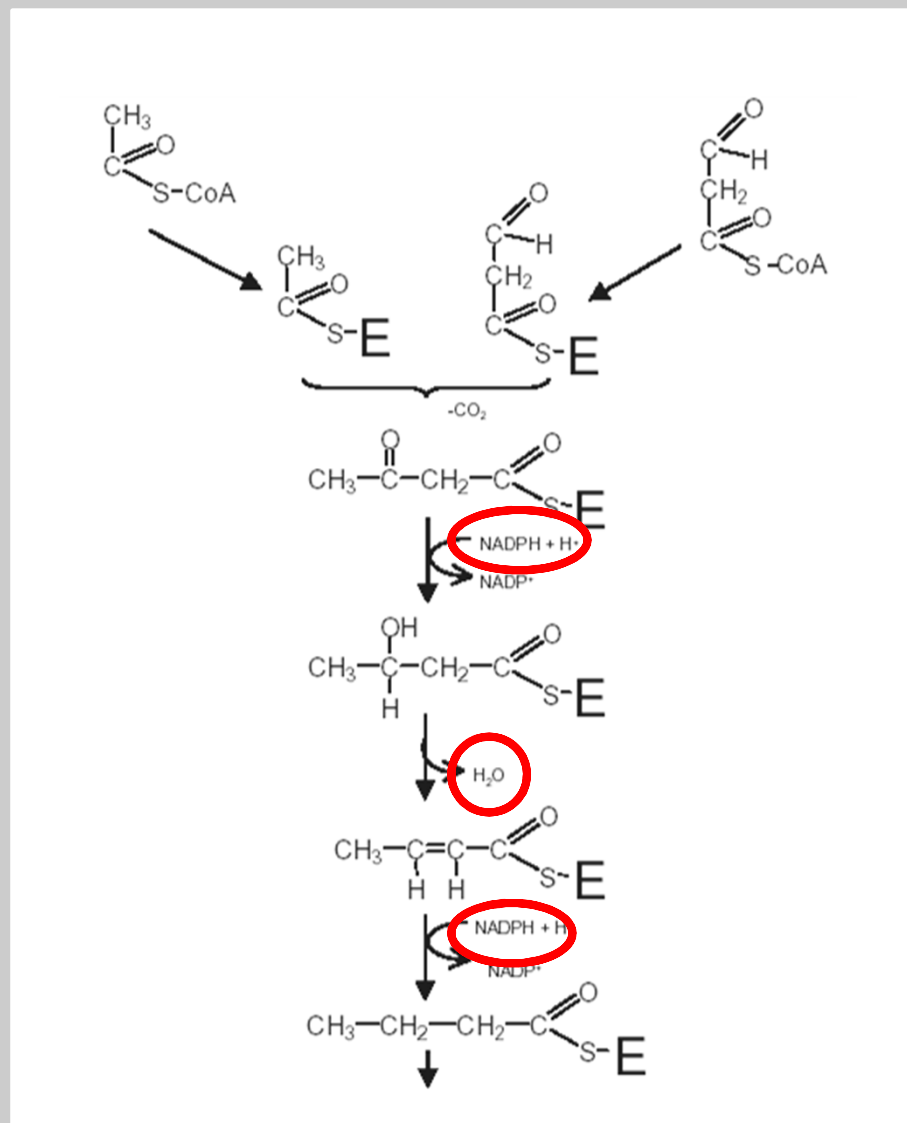
Biosyntéza mastných kyselin



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 CO_2 .
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 (C_{16}). Další prodlužování řetězce a tvorba nenasycených kyselin probíhá na jiných enzymech.

Živočichové 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 CO_2 .
- Rostliny, plísně a bakterie 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

Vnější
membrána

Lamela

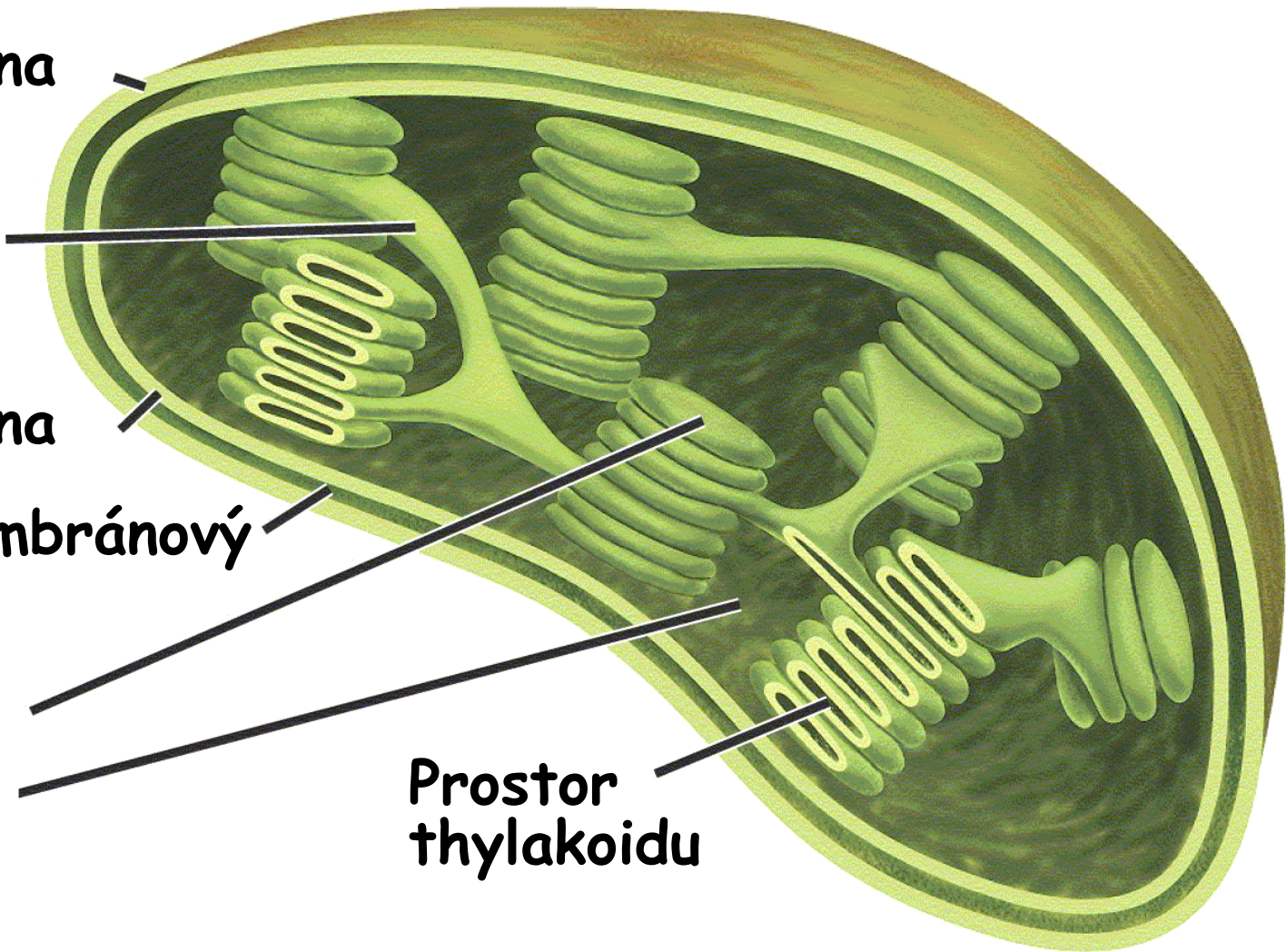
Vnitřní
membrána

Mezimembránový
prostor

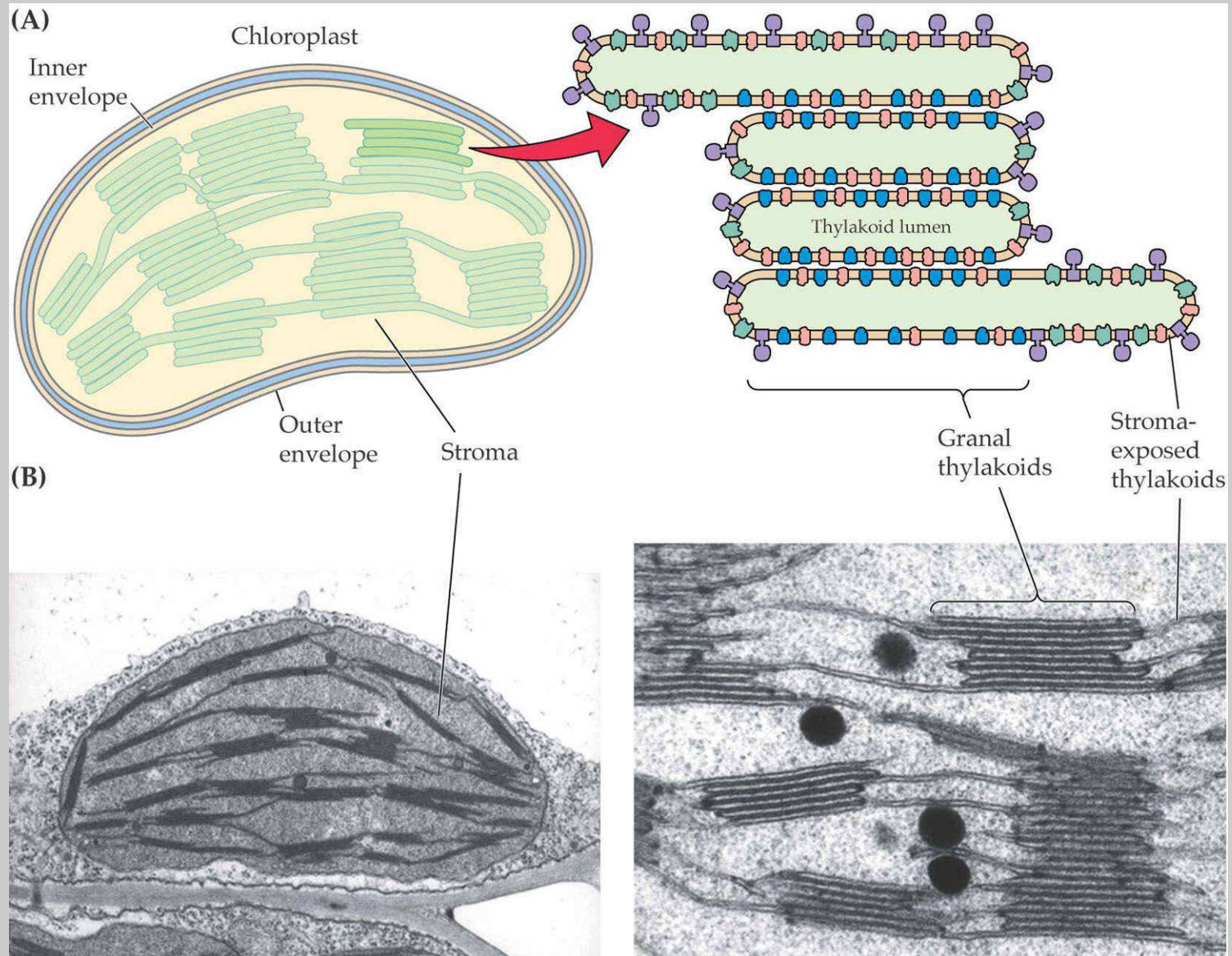
Grana

Stroma

Prostor
thylakoidu

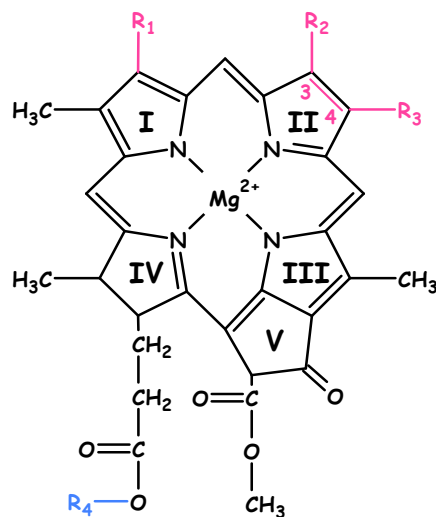


Chloroplast - fotosyntetická organela eukaryot

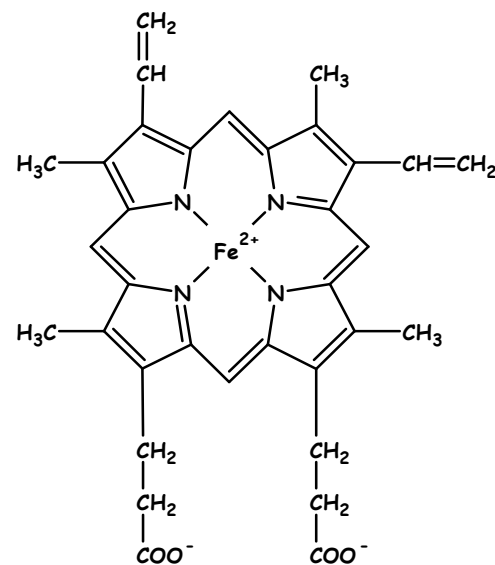


Pigmenty a antény

Struktury chlorofylů



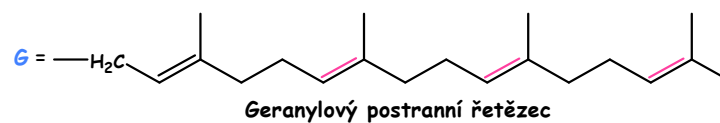
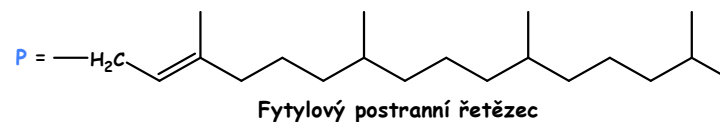
Chlorofyl



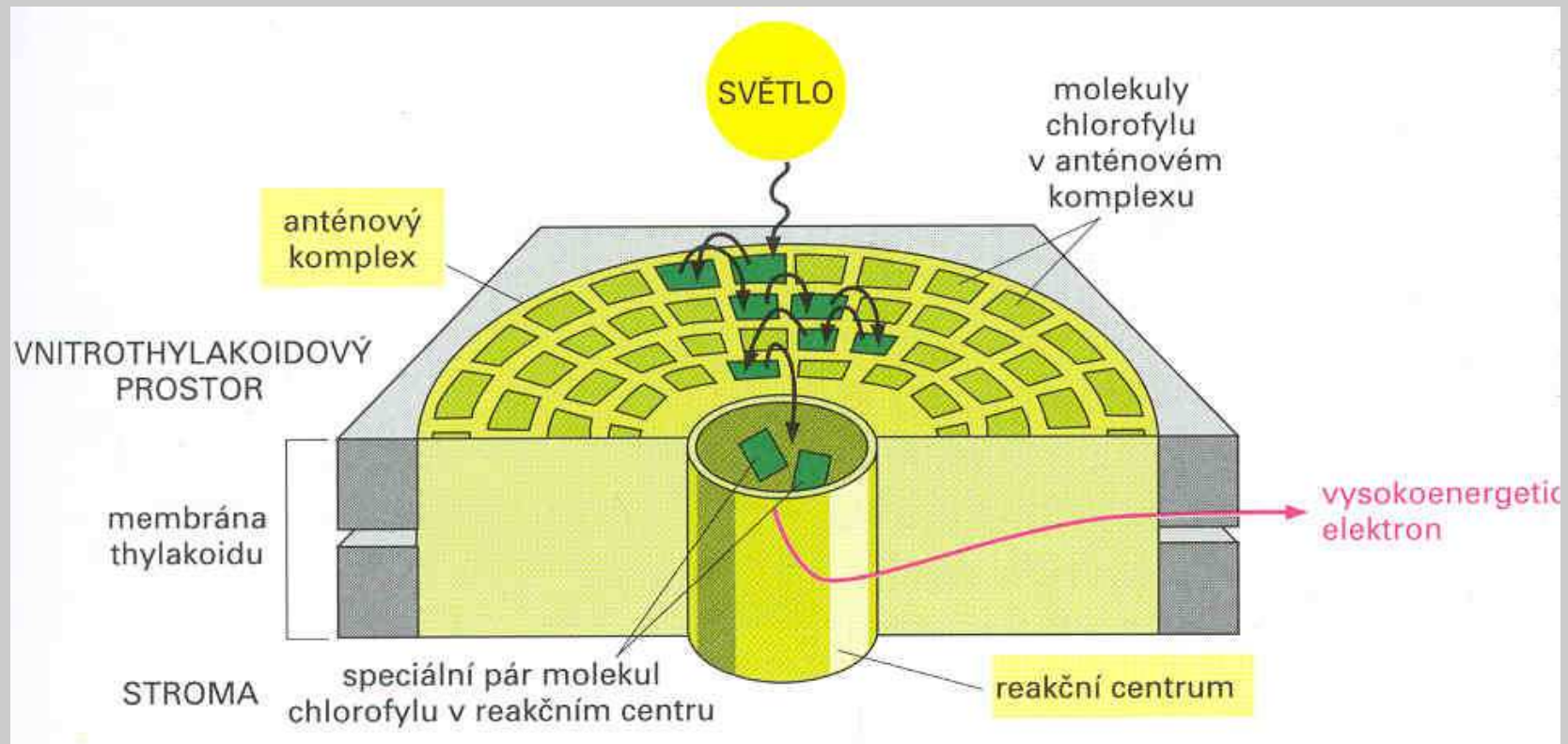
(Fe-protoporphyrin IX)

	R_1	R_2	R_3	R_4
Chlorofyl <i>a</i>	$-\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	P
Chlorofyl <i>b</i>	$-\text{CH}=\text{CH}_2$	$-\text{C}(=\text{O})-\text{H}$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3$	P
Bakteriochlorofyl <i>a</i>	$-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3^a$	$-\text{CH}_2-\text{CH}_3^a$	P nebo G
Bakteriochlorofyl <i>b</i>	$-\text{C}(=\text{O})-\text{CH}_3$	$-\text{CH}_3^a$	$=\text{CH}-\text{CH}_3^a$	P

^a značí, že mezi C3 a C4 se nevyskytuje dvojná vazba.



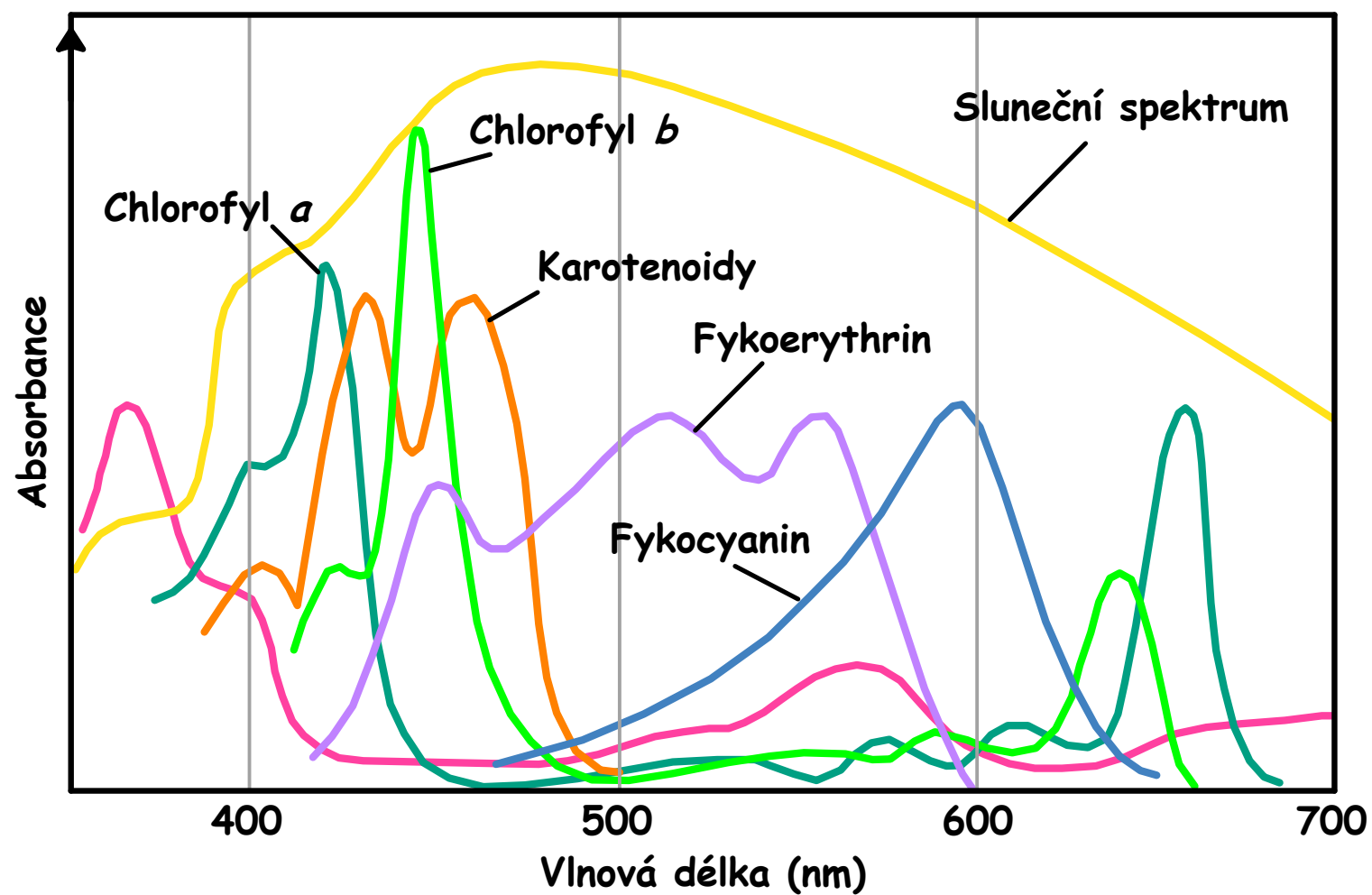
Model antény a reakčního centra



Rostlina je zelená díky chlorofylu.

Ale proč je chlorofyl zelený?

Absorpční spektra různých fotosyntetických pigmentů.



Primární procesy fotosyntézy

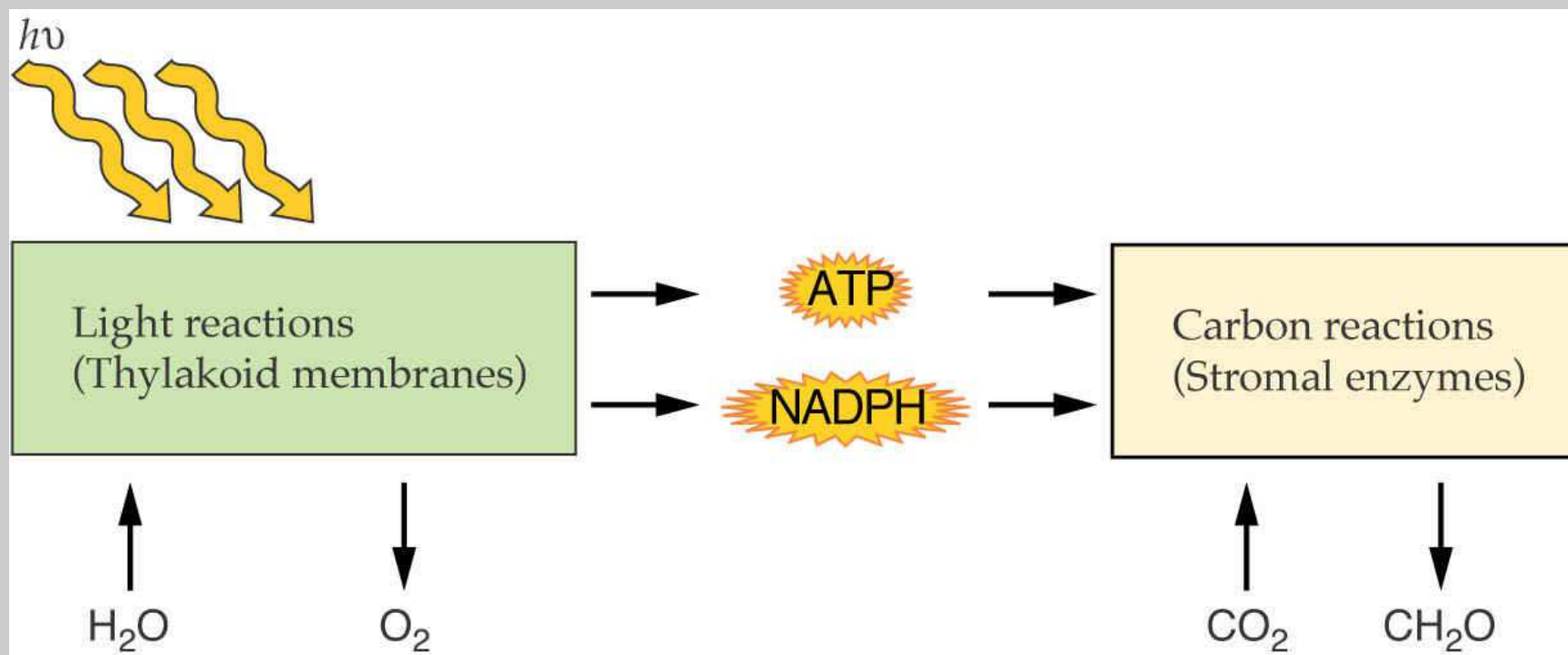
Procesy spojené s absorpcí a přeměnou světelné energie v energii chemickou

Procesy: Fotolýza vody
Cyklický a necyklický transport e^-

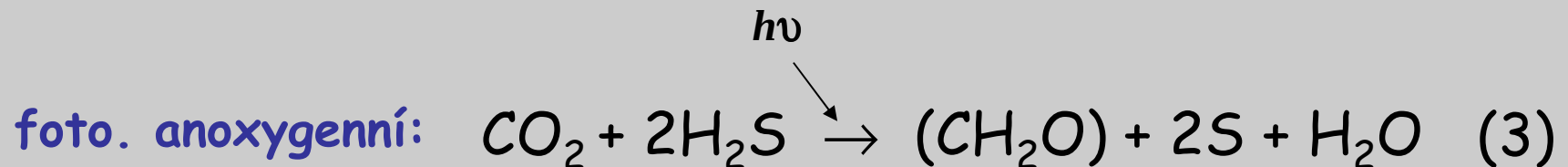
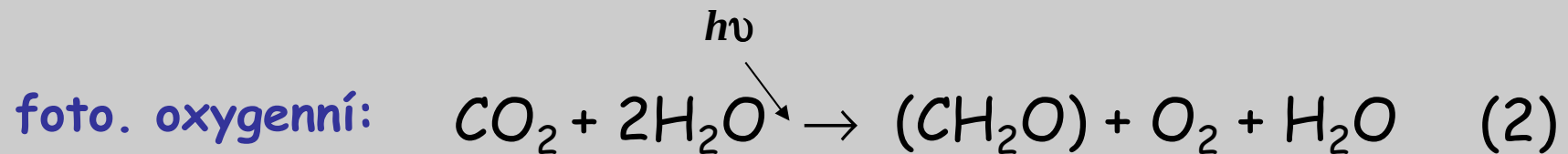
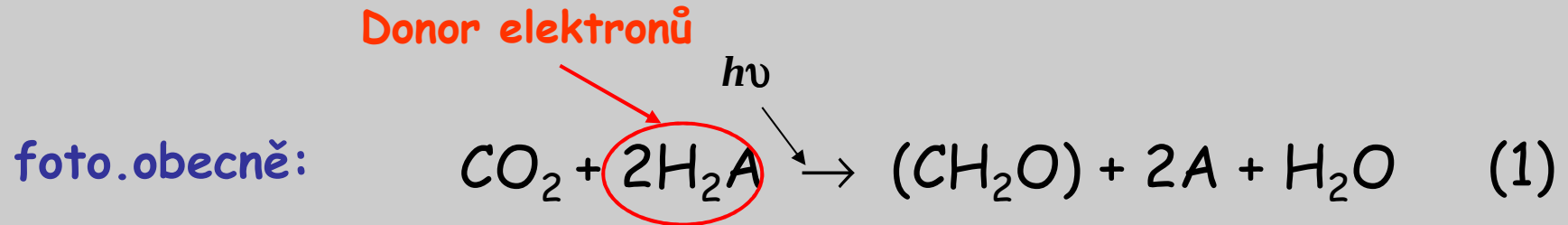
Sekundární procesy fotosyntézy

Fixace CO_2 a jeho následná redukce na cukr

Vstupy a výstupy látek a energie v primárních procesech oxygenní fotosyntézy



Přehled fotosyntézy - souhrnná reakce



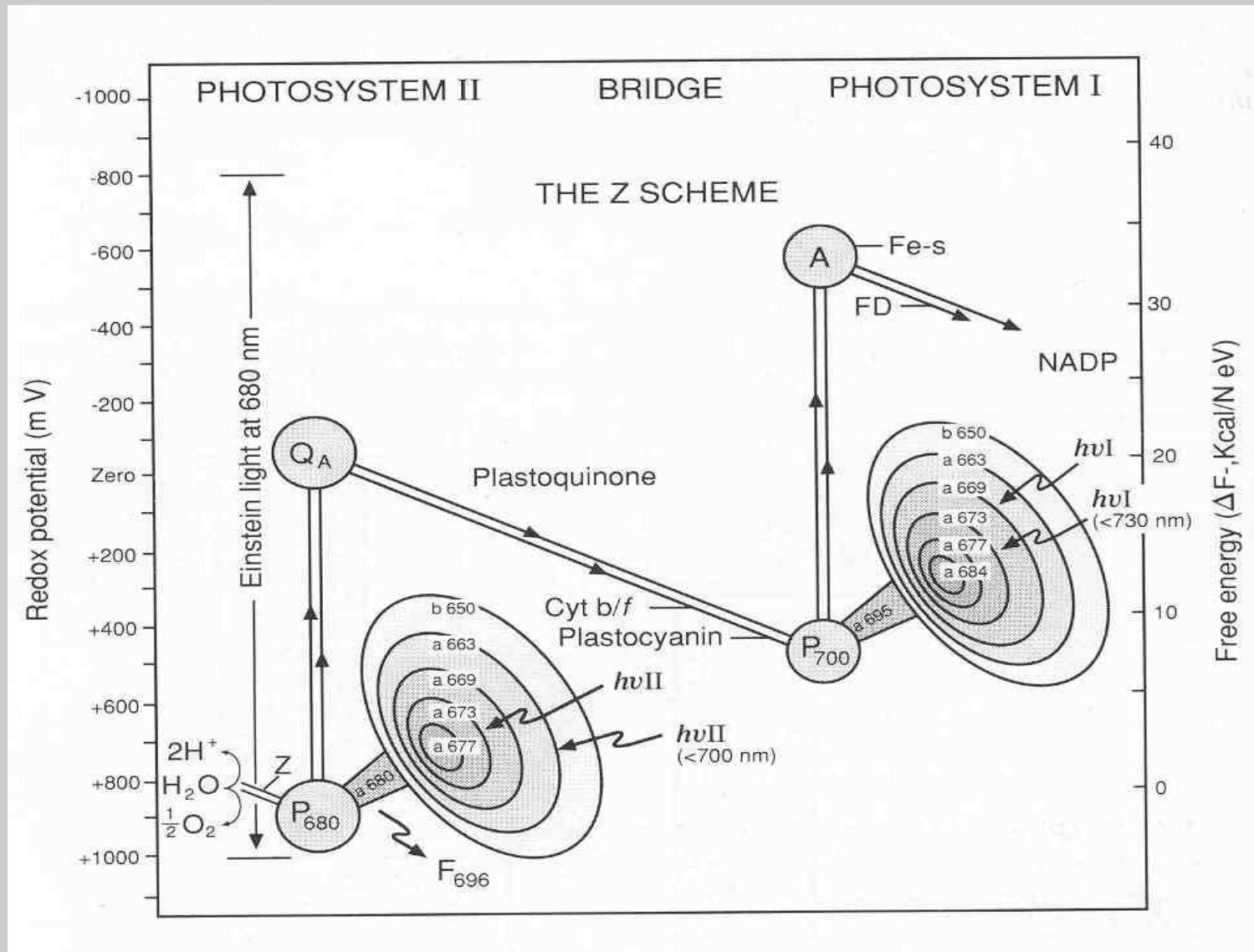
Primární procesy fotosyntézy

Realizovány dvěma fotosystémy, které se vzájemně liší složením pigmentů

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

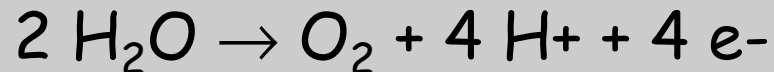
Fotosystém II: absorbuje kratkovlnější oblast záření **680 nm**, obsahuje xantofyly, karotenoidy, fykobiliny, chlorofyl a, chlorofyl b

Schéma přenosu elektronů v thylakoidní membráně Z schéma



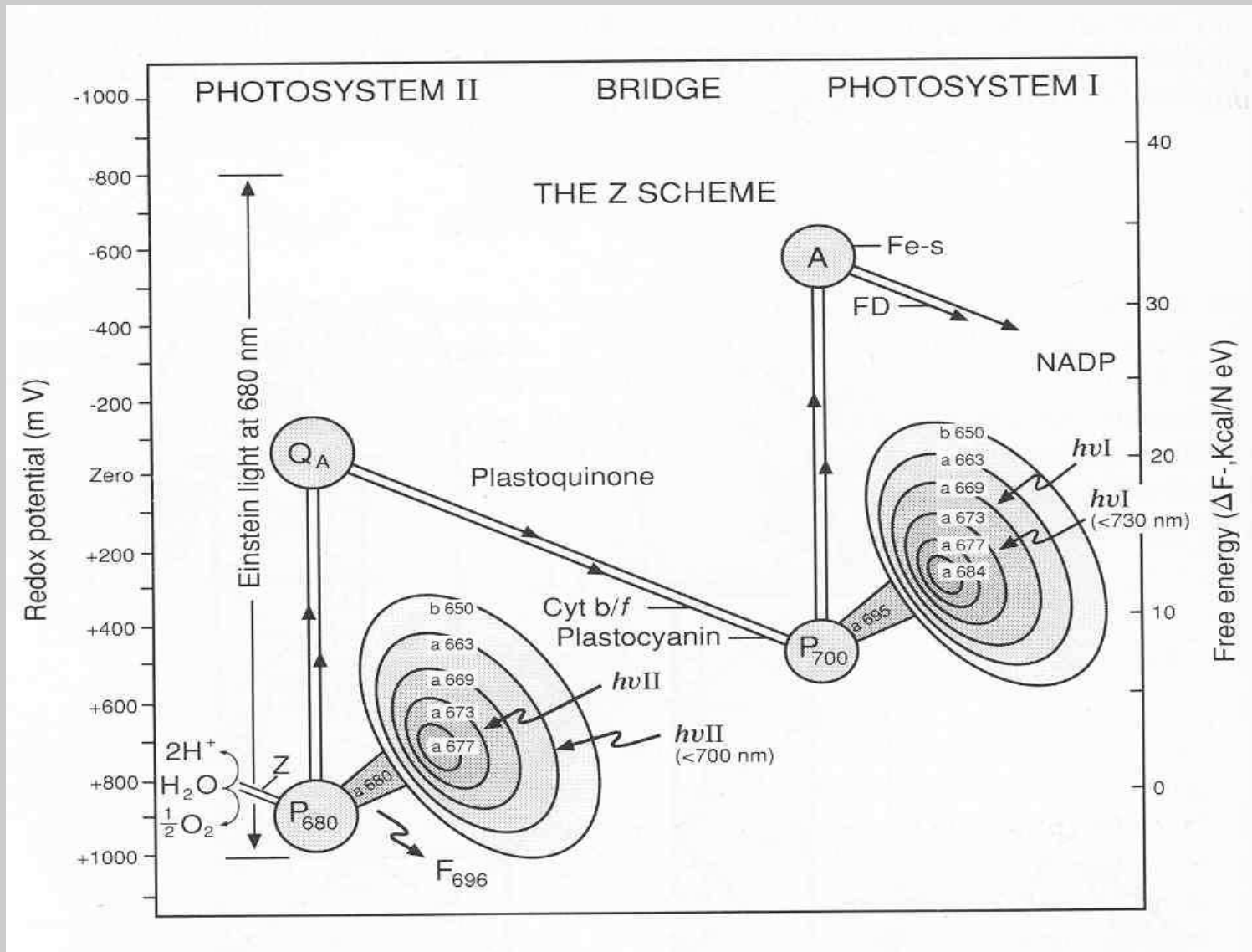
Fotolýza vody – tvorba kyslíku

- PS II (P680, fotosystém II) obsahuje centrum uvolňující kyslík (oxygen evolving center-OEC).
- Působením světelných kvant (fotonů) zde dochází k rozkladu molekul vody



- 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.

Schéma přenosu elektronů v thylakoidní membráně Z schéma



Plastochinon (Q) - plastochinol (QH₂)

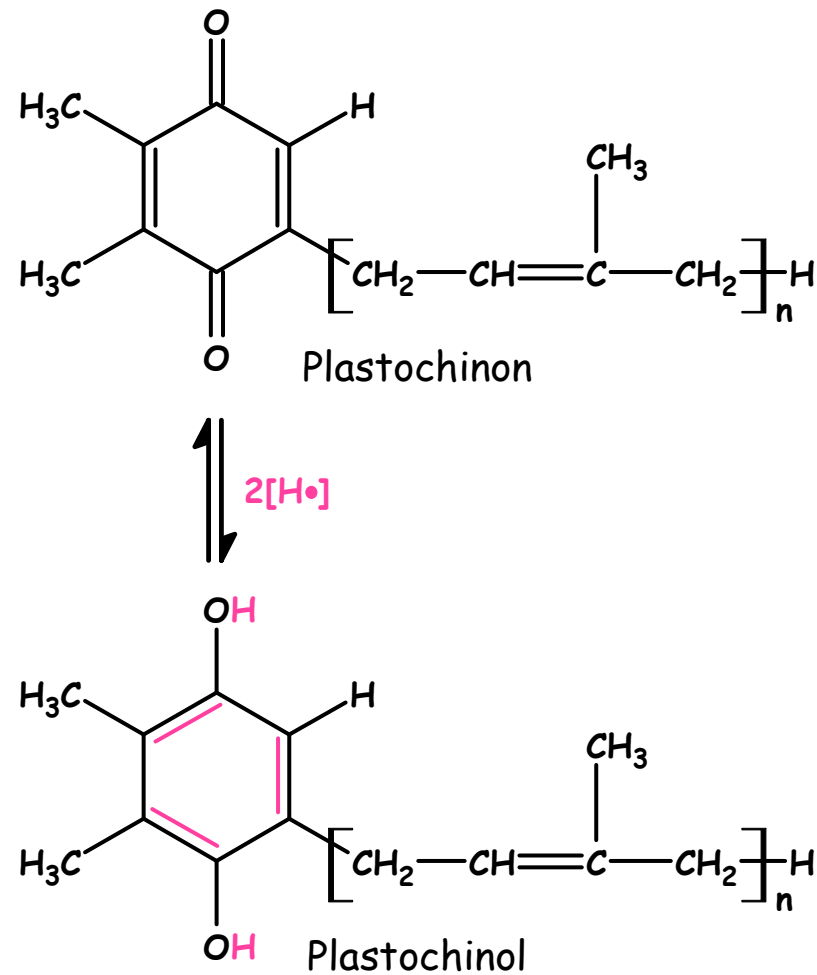
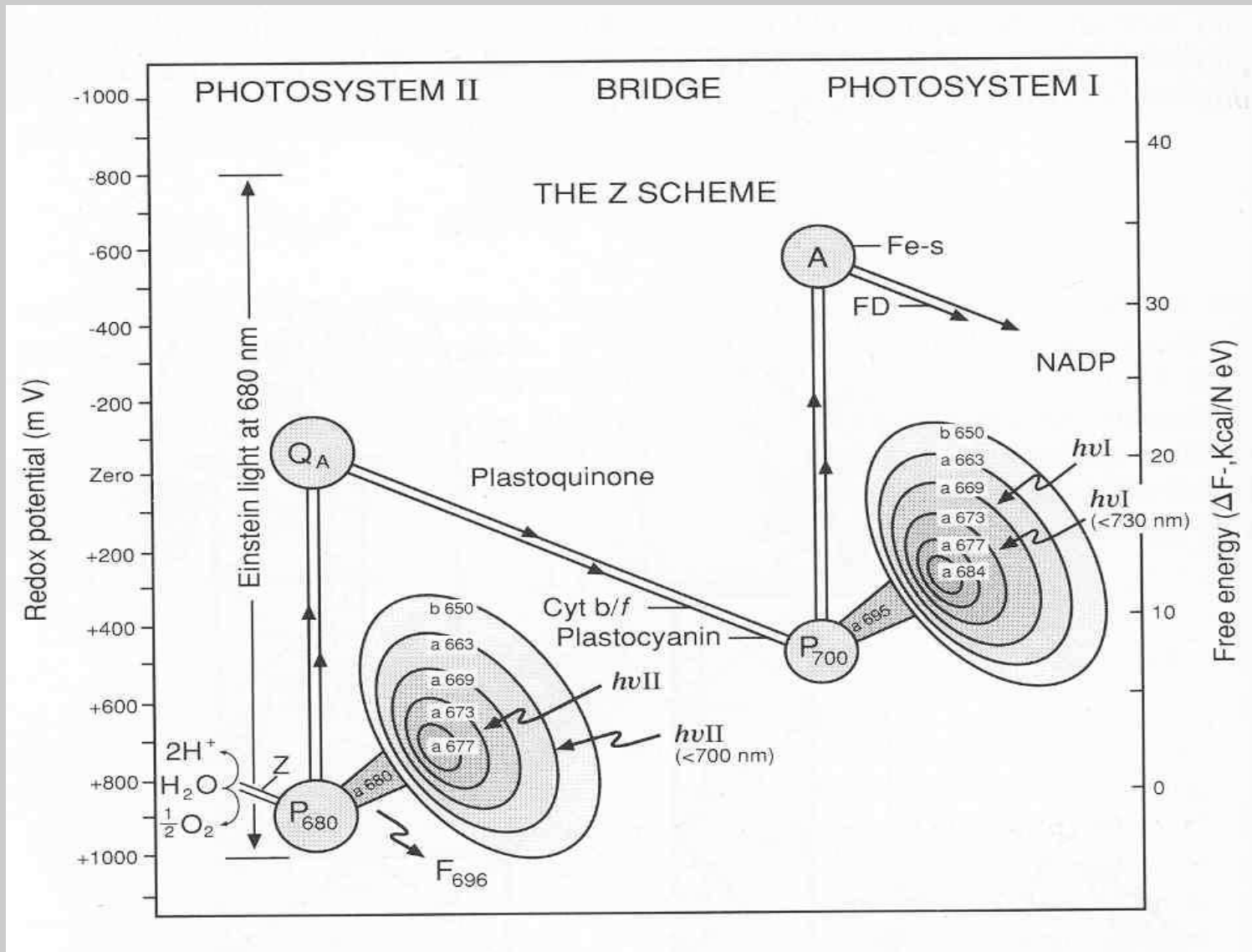
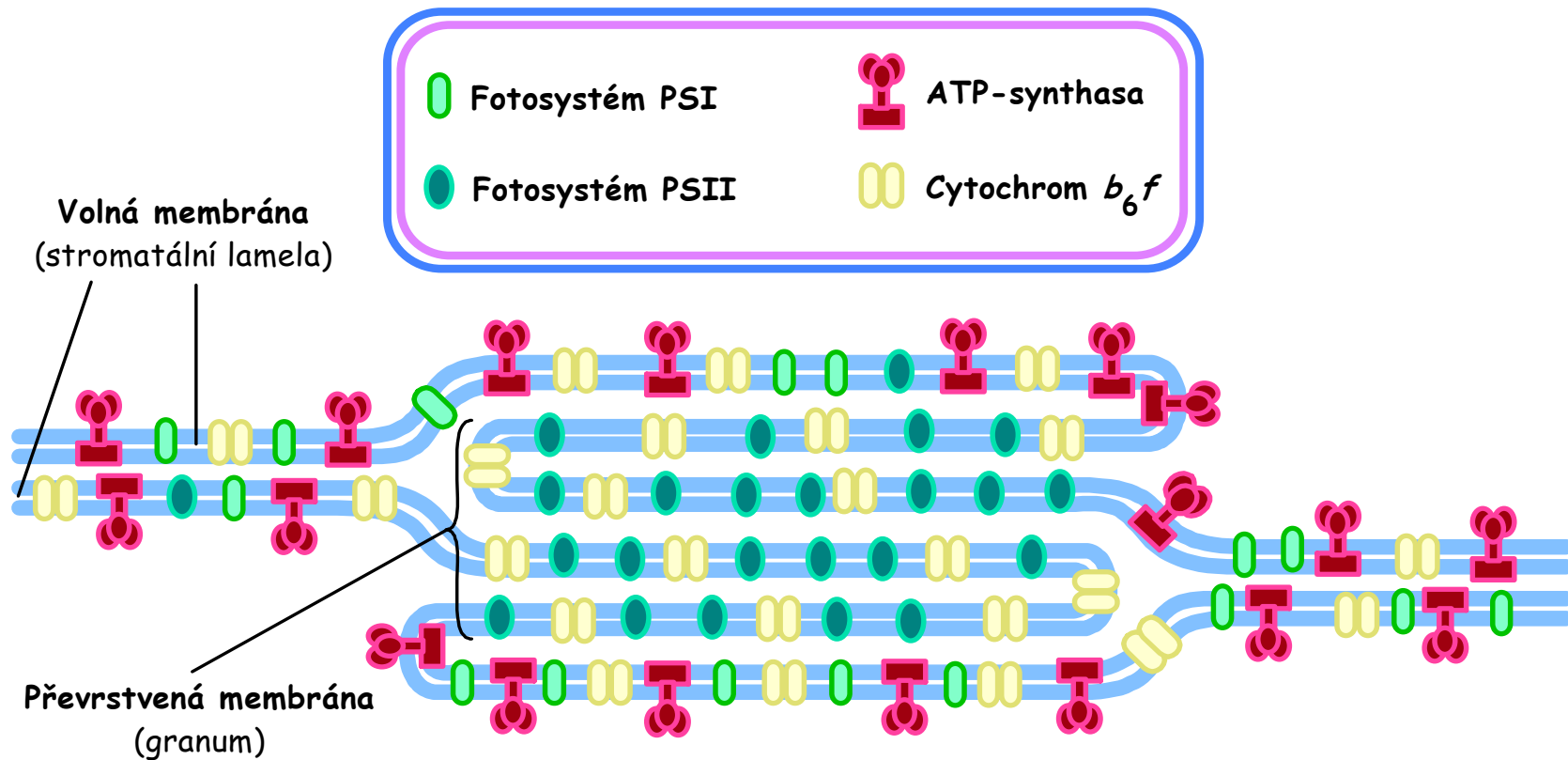


Schéma přenosu elektronů v thylakoidní membráně Z schéma



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



Vnější
membrána

Lamela

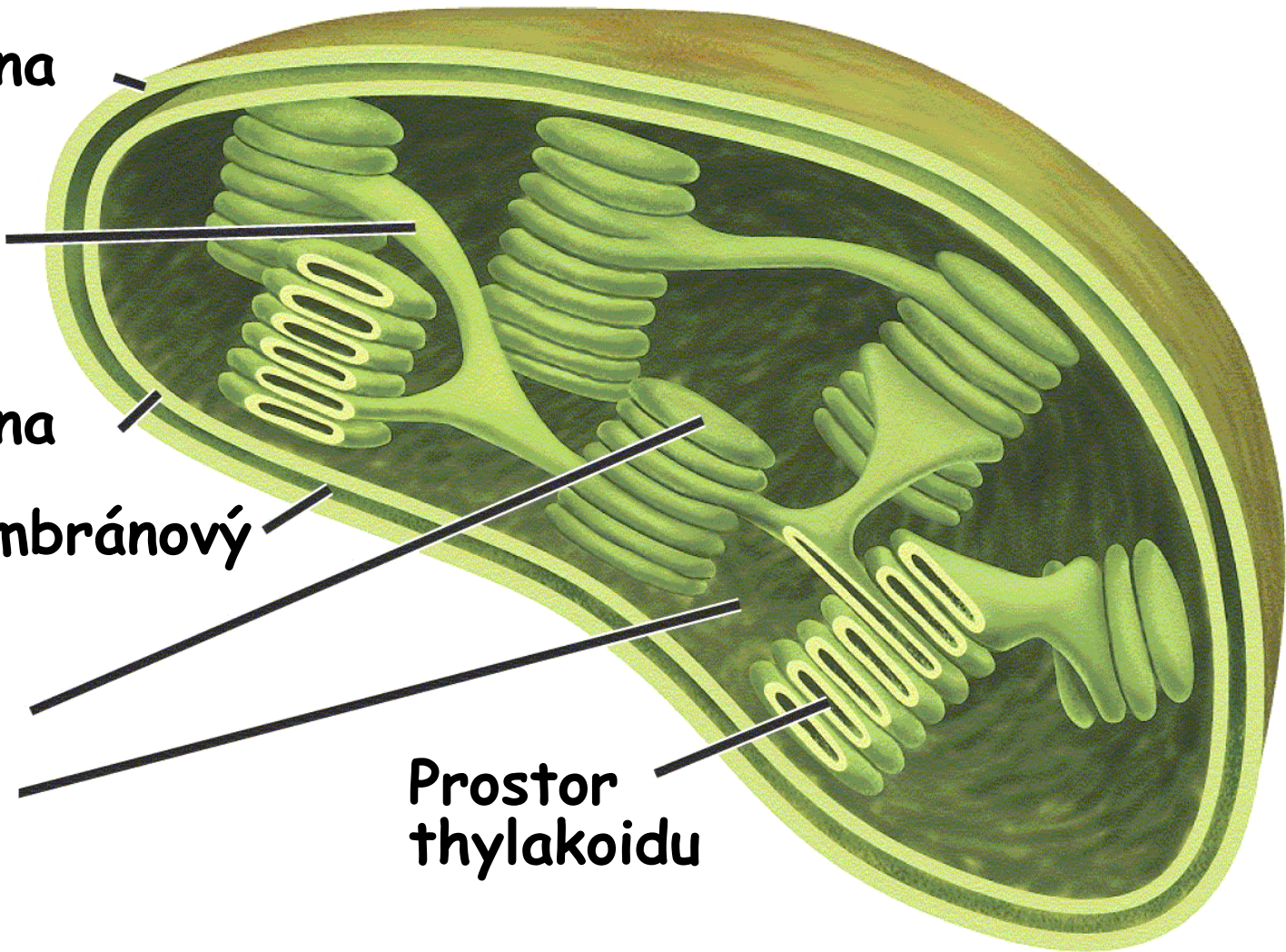
Vnitřní
membrána

Mezimembránový
prostor

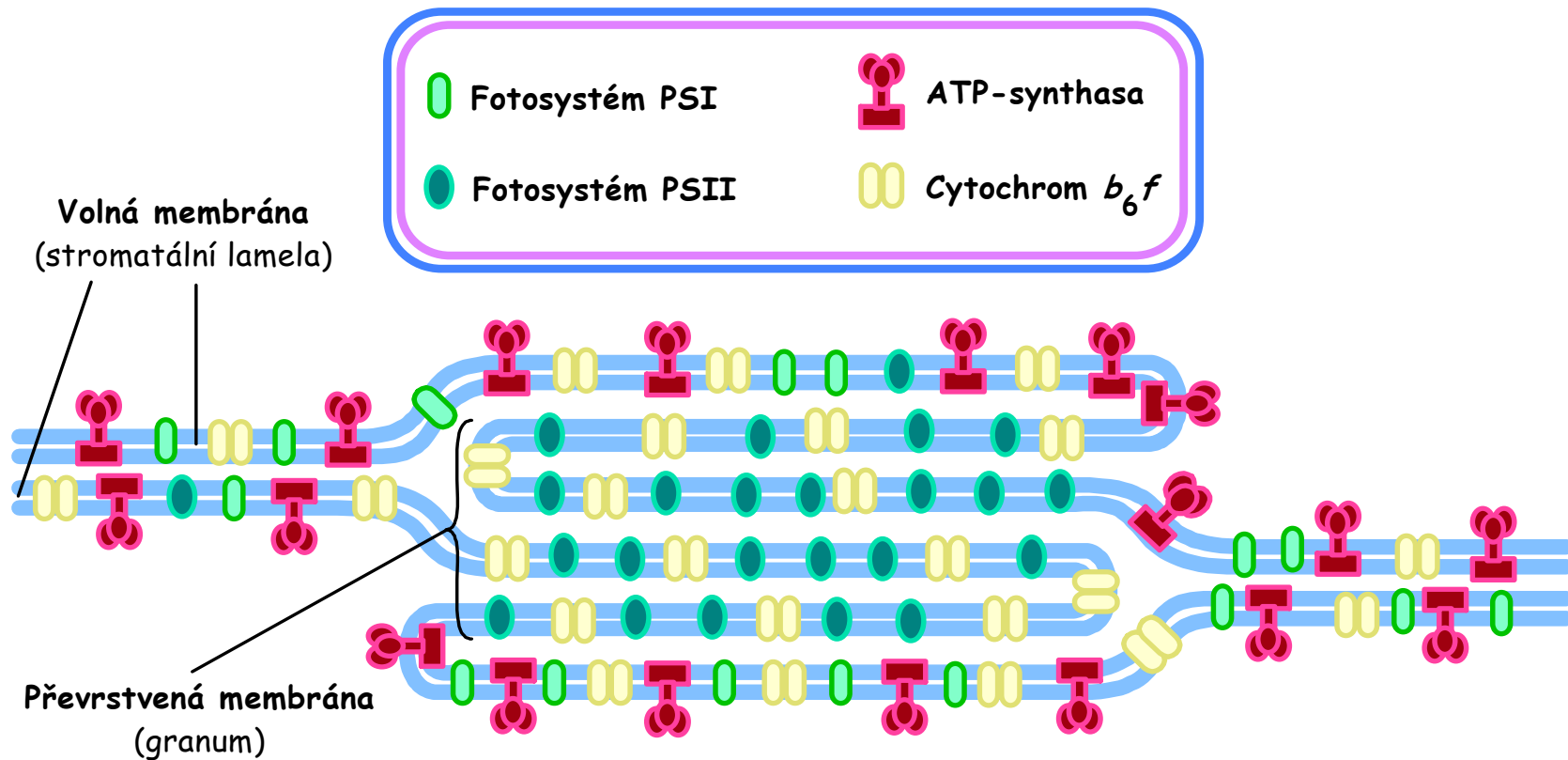
Grana

Stroma

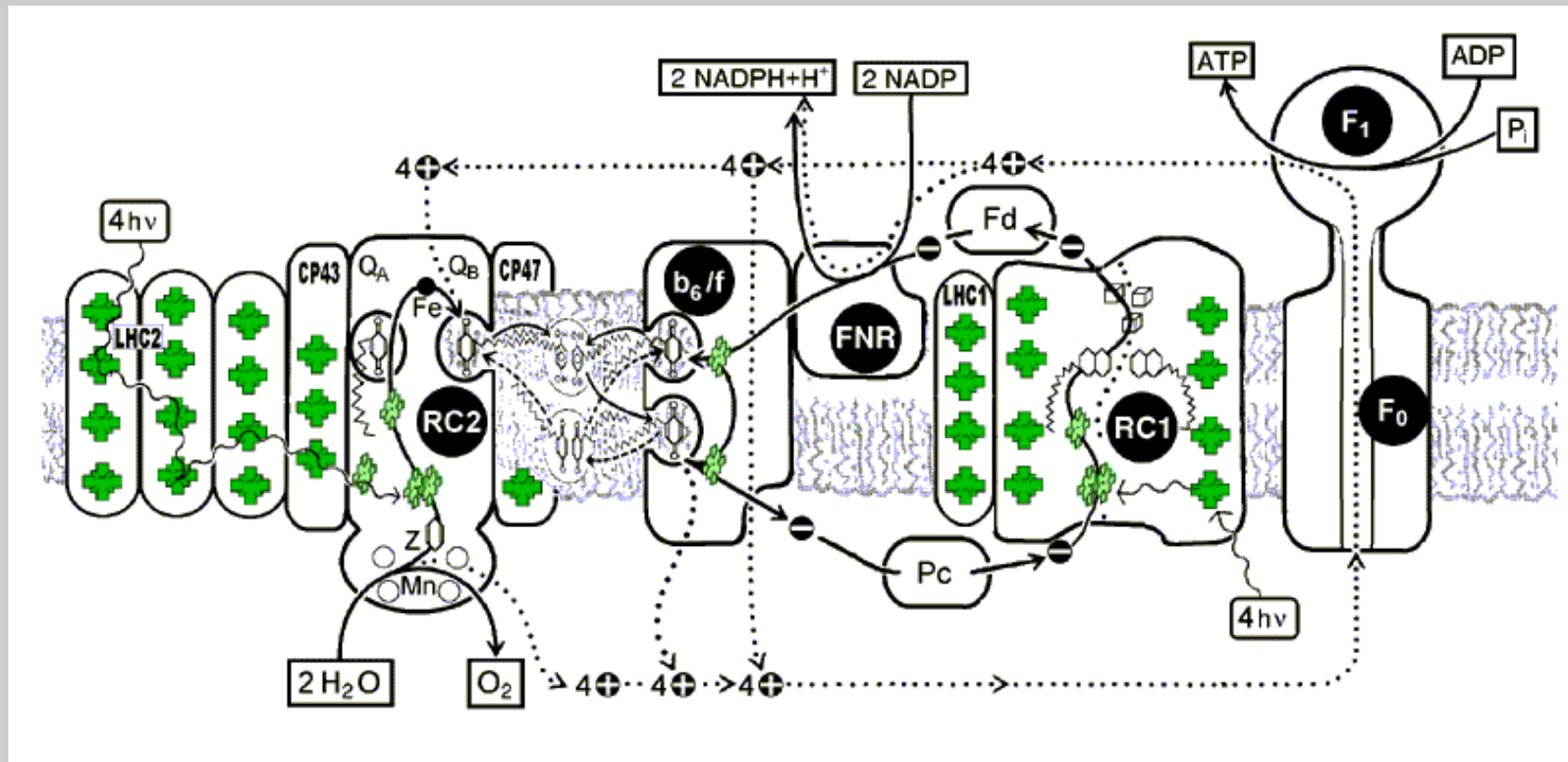
Prostor
thylakoidu



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



Stroma



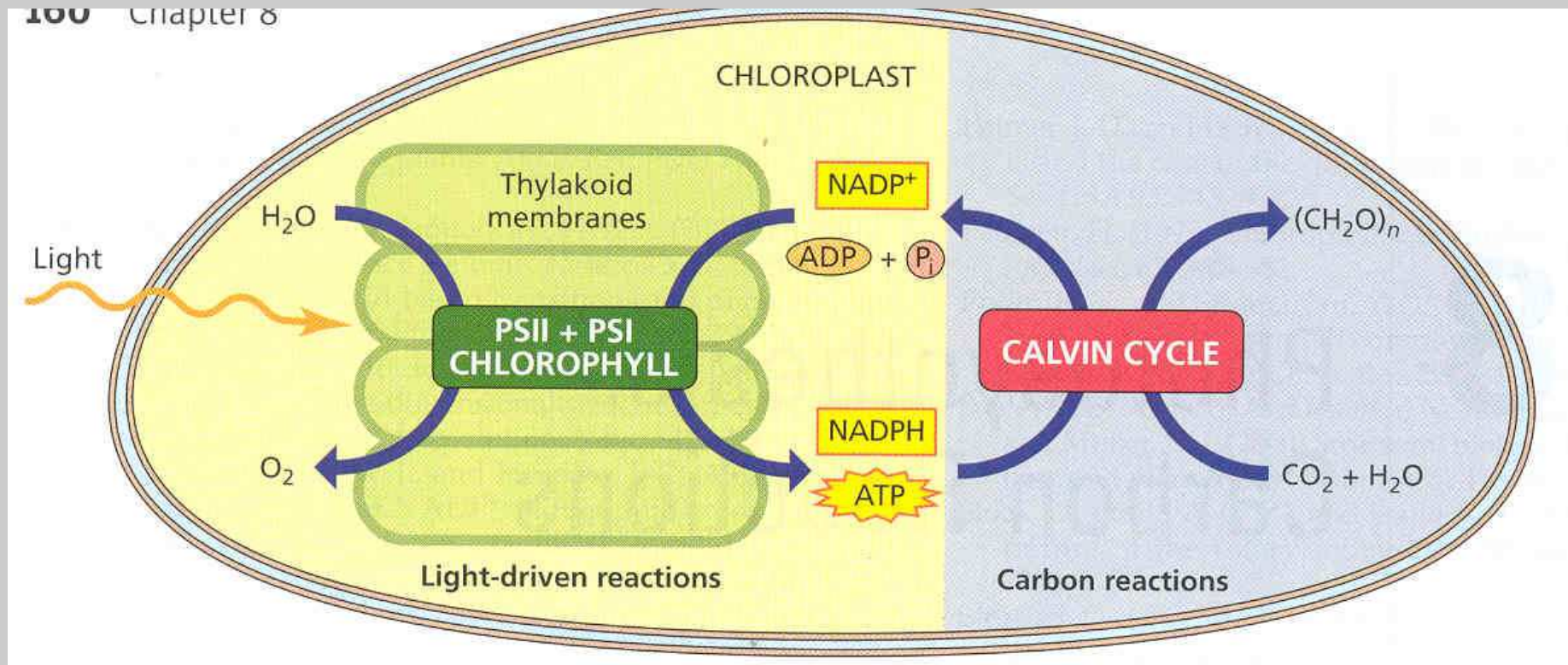
Thylakoid

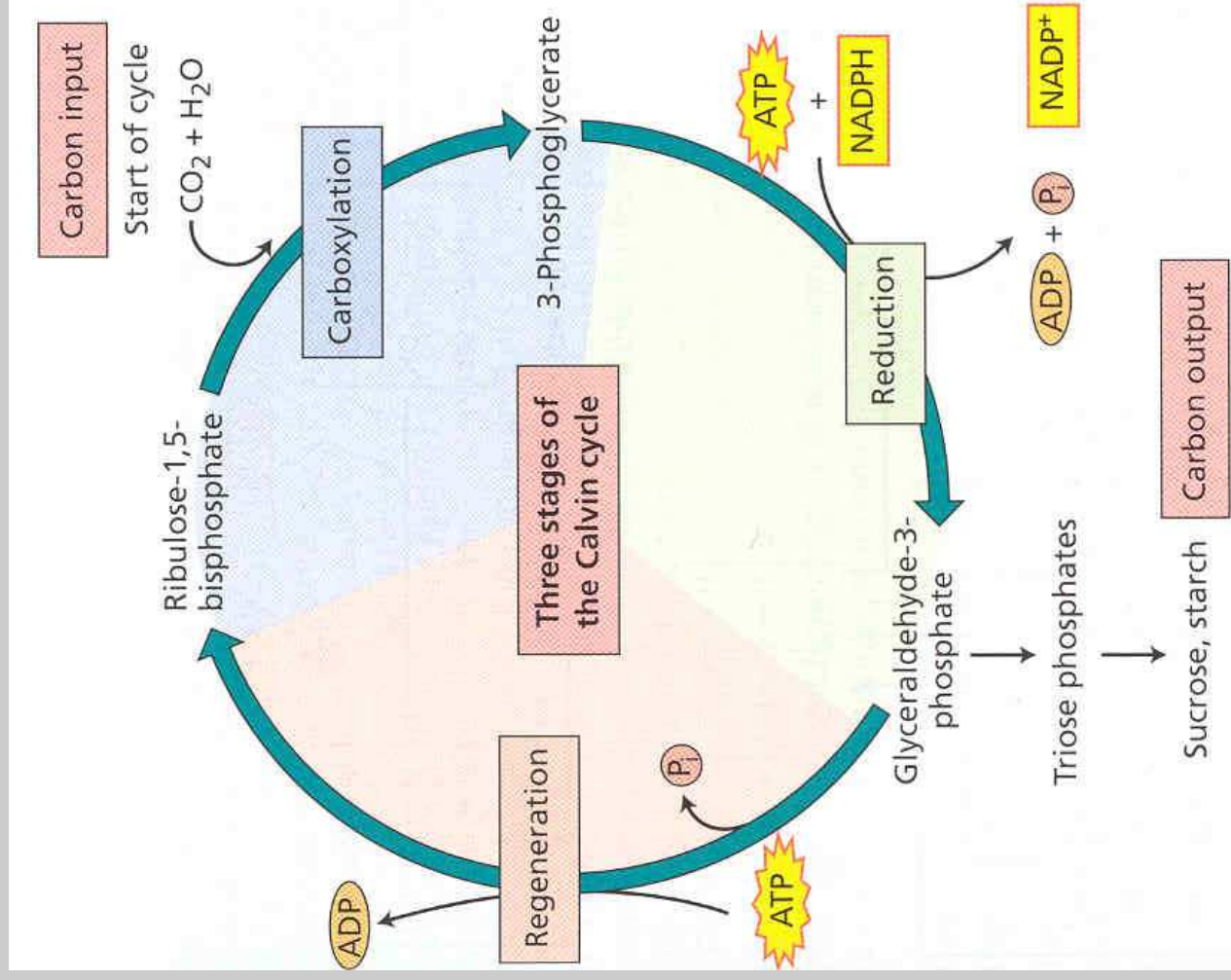
Z-schéma světelné fáze fotosyntézy

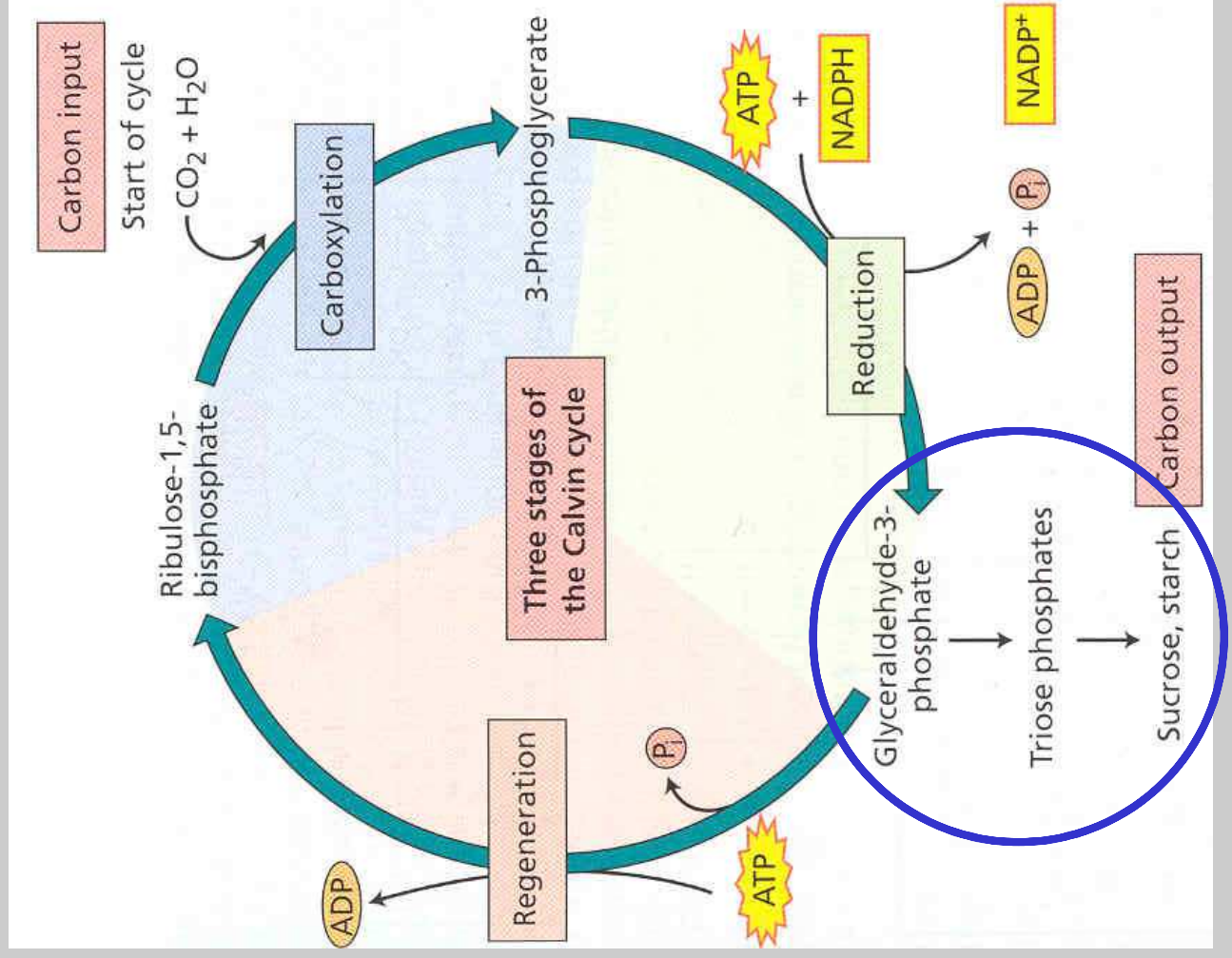
- Elektrony mohou dosáhnout na ferredoxin-NADP⁺ reduktasu (FNR), která katalyzuje redukci NADP⁺.
- Oxidace vody a tok elektronů přes Q cyklus generuje transmembránový protonový gradient s vyšší koncentrací protonů na straně thylakoidní dutiny (lumen - uvnitř). Energie gradientu se uplatňuje při tvorbě ATP.
- Různé prosthetické 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 redukovaný 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 přenášejí 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 -amylosa, je syntetizována v stromatu chloroplastu jako dočasná skladovatelná forma glukosy.
- **α -Amylosa** je také syntetizována jako dlouhodobá skladovatelná forma v jiných částech rostlin jako jsou listy, semena a kořeny.
- **Celulosa** tvořena dlouhými řetězci $\beta(1 \rightarrow 4)$ -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: ribulosabifosfátkarboxylasa-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.

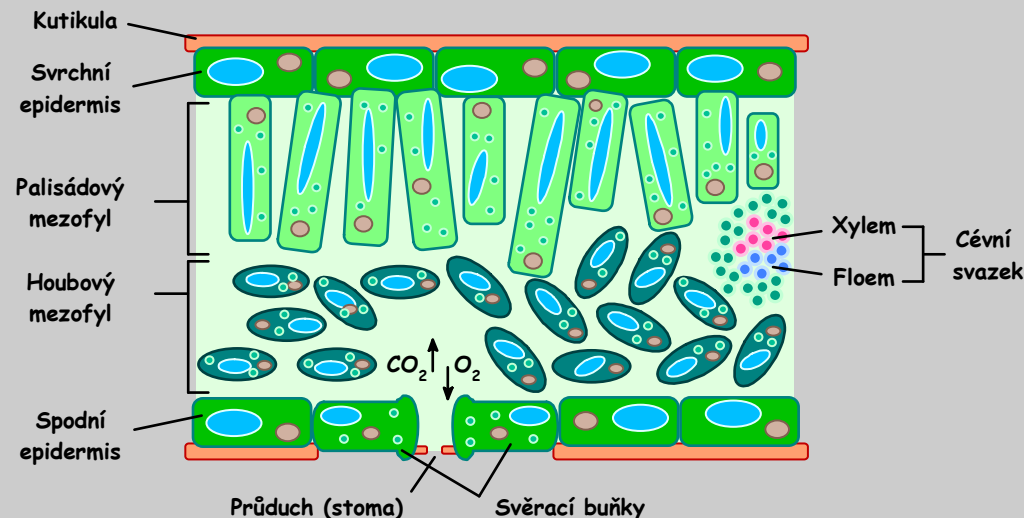
Co je důsledkem oxygenační aktivity Rubisco ?

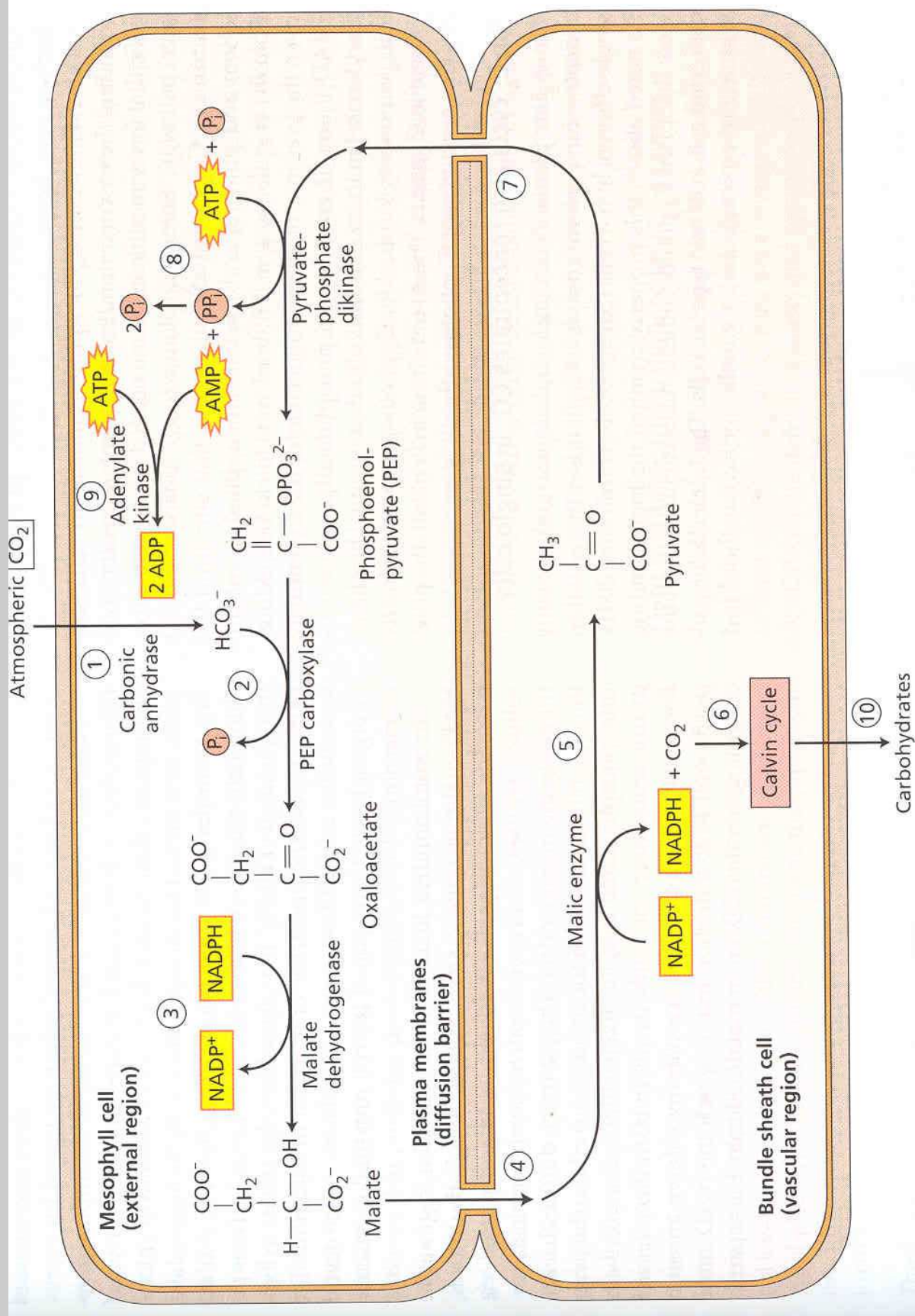
Fotorespirace je devastující
proces jehož výsledkem je
neužitečná spotřeba světlem
vytvořeného NADPH a ATP !!!

CO_2 koncentrační
mechanismy
rostlin C_4

Rostliny C_4 koncentrují na povrchu listu CO_2 .

- Řada rostlin se evolučně přizpůsobila kolísání koncentrace O_2 a CO_2 tak, že koncentrují ve fotosyntetických buňkách CO_2 a zabráňují 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 ribulosabifosfátkarboxylasa !!



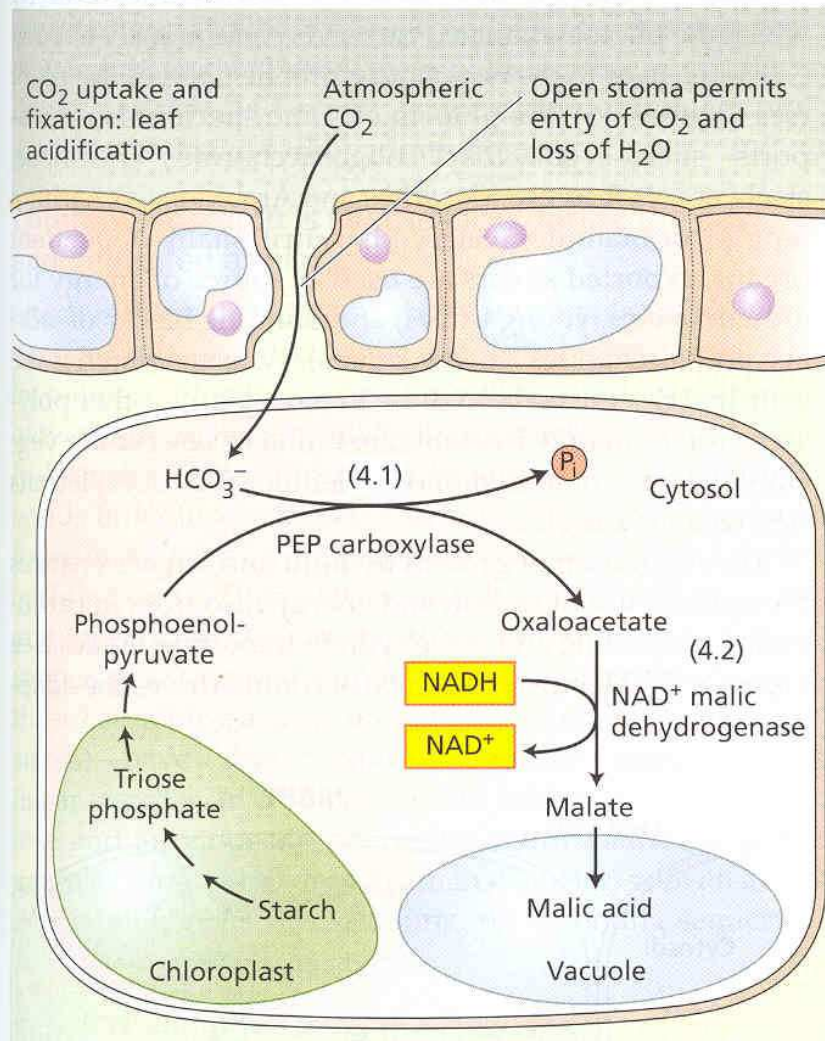


Cyklus C_4 - M. Hatch a R. Slack (1960)

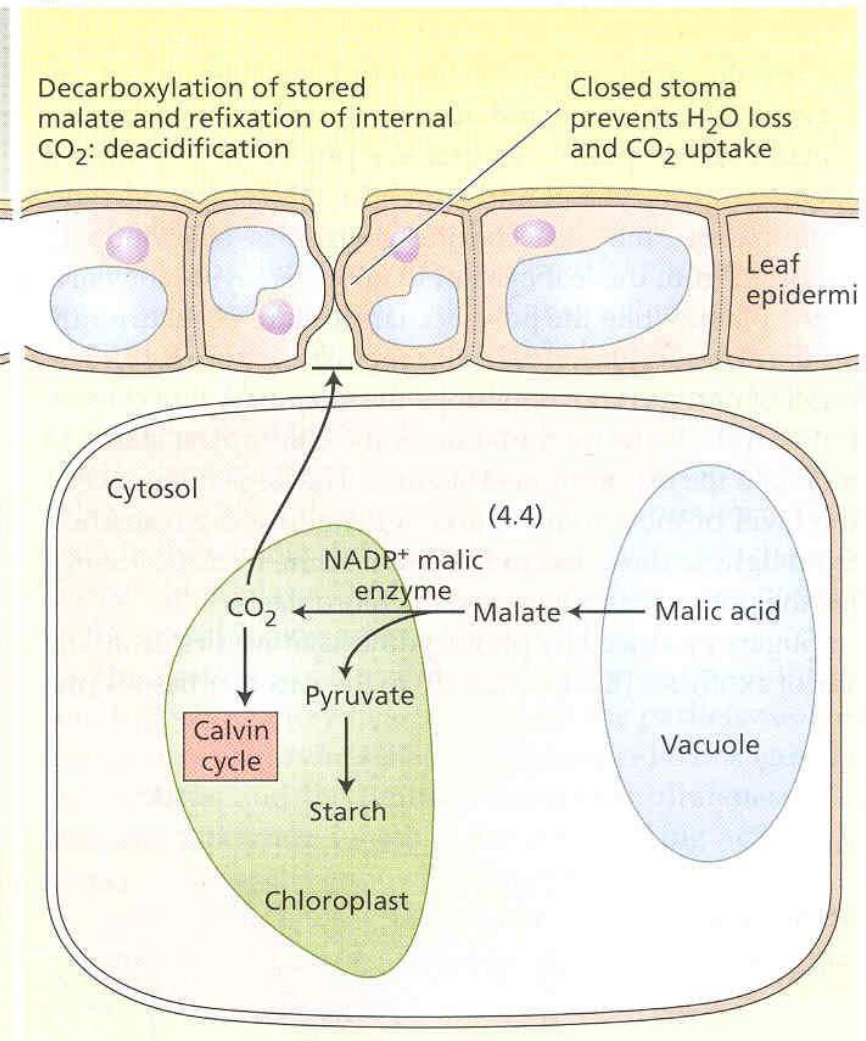
- V mesofylu reaguje vstupující CO_2 ve formě HCO_3^- s fosfoenolpyruvátem za tvorby oxaloacetátu (čtyři uhlíky, proto C_4). Oxaloacetát je redukován NADPH na malát, který je transportován do buněk cévních svazků, kde je oxidativně dekarboxylován na CO_2 , pyruvát a NADPH. Takto koncentrovaný CO_2 vstupuje do Calvinova cyklu.
- Pyruvát je transportován zpět do mesofylu, kde je fosforylován za katalýzy **pyruvát-fosfátdikinasy** za tvorby fosfoeneolpyruvátu. Při aktivaci přechází ATP na AMP + PP_i . PP_i je posléze hydrolyzován všudepřítomnou pyrofosfatasou na $2 \times P_i$.
- Oxid uhličitý je koncentrován v buňkách cévních svazků na úkor spotřeby 2 ATP / CO_2 .
- Fotosyntéza C_4 rostlin spotřebovává celkem 5 ATP na rozdíl od C_3 rostlin, které spotřebují 3 ATP.

Rostliny CAM

Dark: Stomata opened



Light: Stomata closed



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.