

# 10. Biologické oxidace

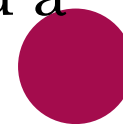
## citrátový a glyoxylátový cyklus

## CITRÁTOVÝ CYKLUS

- Odbourávání většiny substrátů ve druhé fázi aerobního katabolismu končí u Acetylkoenzymu A (AcCoA)
- AcCoA vzniká:
  - 1. Oxidací mastných kyselin lipidů
  - 2. Oxidační dekarboxylací hlavního produktu katabolismu sacharidů – pyruvátu
  - 3. Degradací uhlíkových koster ketogenních aminokyselin
- Vznikem AcCoA dostaneme ze substrátu jen  $\frac{1}{4}$  možné energie, zbytek je uchován v AcCoA
- Tato energie se uvolňuje až v citrátovém (Krebsově) cyklu, kdy se AcCoA mění na  $\text{CO}_2$



- Jedná se o stupňovitý proces
- Děj probíhá dle souhrnné rovnice:  
$$CH_3CO - SCoA + 3H_2O \rightarrow 2CO_2 + CoASH + 8[H]$$
- Zdrojem energie jsou odebrané atomy vodíku, které vstupují do dýchacího řetězce
- Menší část energie se ukládá i do molekuly GTP vloženou substrátovou fosforylací
- Přednostně určen k terminální oxidaci substrátů
- Také hotovost meziproduktů, z nichž vycházejí biosyntetické děje sloužící k výstavbě nové buněčné hmoty
- Je amfibolickým dějem a skutečným středem aerobního metabolismu; je křížovatkou katabolismu a anabolismu



# MECHANISMUS CITRÁTOVÉHO CYKLU

- **1° Kondenzace C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub> molekul**
  - Aldolová kondenzace acetyl-CoA s oxalacetátem za vzniku hydroxykyseliny citronové po hydrolýze thioesterové vazby v CH<sub>3</sub>CO-SCoA a odštěpení CoA-SH – nevratná reakce
  - Katalyzuje enzym citrátsynthasa (regulační enzym celého cyklu), jejím inhibítorem je ATP
  - Dále z citrátu vzniká isocitrát, který je vhodným substrátem pro dehydrogenaci
  - Katalyzuje enzym akonitasa
  - Rovnovážný stav této reakce se ustanovuje při 90% citrátu, 2% cis-akonitátu a 8% isocitrátu



- **2° Přejchod C<sub>6</sub> molekuly na C<sub>5</sub> molekulu za ztráty CO<sub>2</sub>**

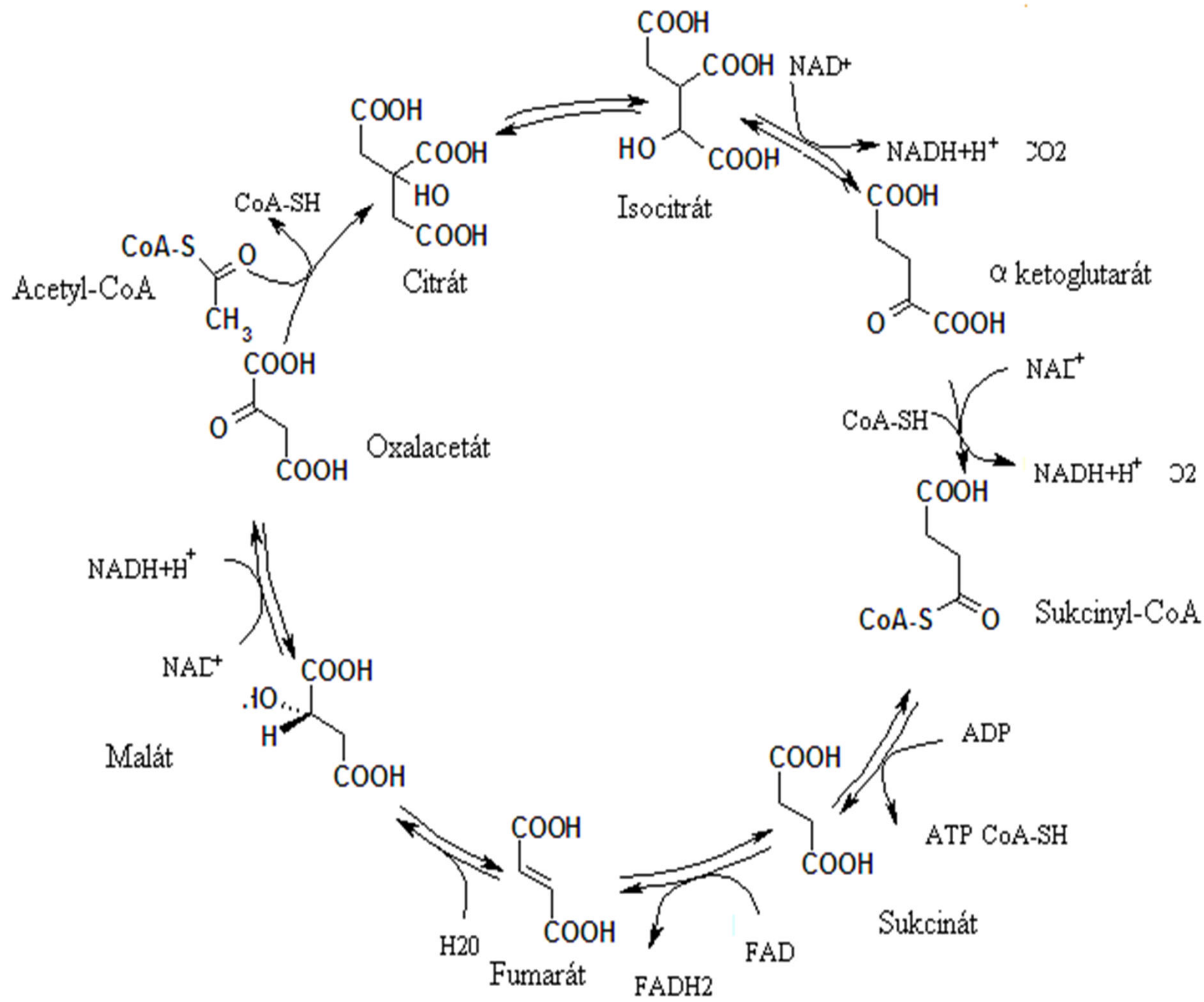
- Dehydrogenace citrátu je prováděna isocitrátdehydrogenasou s koenzymem NAD<sup>+</sup>
- Vzniklá β-ketokyselina je nestabilní a její dekarboxylace probíhá samovolně za vzniku α-ketoglutarátu (2-oxoglutarát)
- Nadbytek ATP vede k inaktivaci enzymu tvorbou dimeru, naopak nadbytek ADP převádí dimer na aktivní tetrametr

- **3° Přejchod C<sub>5</sub> molekuly na C<sub>4</sub> molekulu za ztráty CO<sub>2</sub>**

- α-ketoglutarát je účinkem 2-oxoglutarátdehydrogenasy dekarboxylován a dehydrogenován za vzniku sukcinyl-CoA
- Obdobné jako dekarboxylace a dehydrogenace pyruvátu
- Dva aktivní vodíky jsou přeneseny na NAD<sup>+</sup>, jedná se o nevratnou reakci
- Účinkem vody na sukcinyl-CoA za katalýzy enzymem sukcinyl-CoA-synthetasy proběhne hydrolýza za vzniku sukcinátu a koenzymu A

- Část energie makroergické thioesterové vazby se uloží do molekuly GTP vznikající tzv. substrátovou fosforylací
- Působením nukleosiddifosfátkinasy pak proběhne reakce:  
$$\text{GTP} + \text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{GDP}$$
- **4° Reakce na úrovni C<sub>4</sub> dikarboxylových kyselin**
  - Dehydrogenace sukcinátu na fumarát – provádí sukcinátdehydrogenasa s prosthetickou skupinou FAD
  - Tento enzym je zakotven ve vnitřní mitochondriální membráně a je podstatou komplexu II dýchacího řetězce
  - Fumarát se hydratuje na L-malát - katalyzuje fumaráthydratasa, oligomerní allosterický enzym inhibovaný ATP
  - Dehydrogenace malátu za vzniku oxalacetátu – katalyzuje malátdehydrogenasa s koenzymem NAD<sup>+</sup>
  - Vznikající oxalacetát je tedy cirkulujícím substrátem celého cyklu





## ENERGETICKÁ BILANCE CC

- ATP se získá prostřednictvím dýchacího řetězce
- 3x NADH+H<sup>+</sup>    3 x 3 ATP
- 1x FADH<sub>2</sub>        1 x 2 ATP
- 1x GTP             1 ATP
- 12 ATP



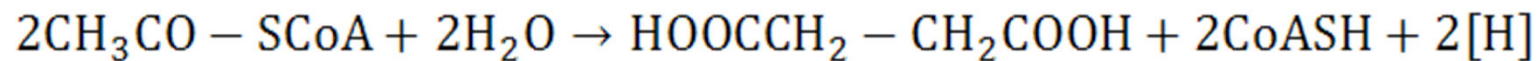
## ANAPLEROTICKÉ REAKCE

- Reakce doplňující vyčerpané metabolity citrátového cyklu reakcemi na citrátovém cyklu nezávislými
- Jedná se o:
  - 1. Karboxylaci  $C_3$  kyselin pomocí karboxybiotinového komplexu, kterou je z pyruvátu vyráběn oxalacetát
  - 2. Reakci fosfoenolpyruvátu s hydrogenuhličitanovým anionem produkující rovněž oxalacetát



## GLYOXYLÁTOVÝ CYKLUS

- Vytvoření cyklického mechanismu doplňování C<sub>4</sub> dikarboxylových kyselin při zabránění ztrátě uhlíku tvorbou CO<sub>2</sub> v CC
- Zavedení dvou nových enzymových reakcí do CC
- Užívá tři z osmi enzymů citrátového cyklu a dva nové – isocitrátlyasu a malátsynthasu



- AcCoA je využit dvěma způsoby:
  - 1. Odbourán na 2 CO<sub>2</sub> za současného vzniku čtyř dvojic [H]
  - 2. Využit k výrobě C<sub>4</sub> dikarboxylových kyselin bez ztráty uhlíku

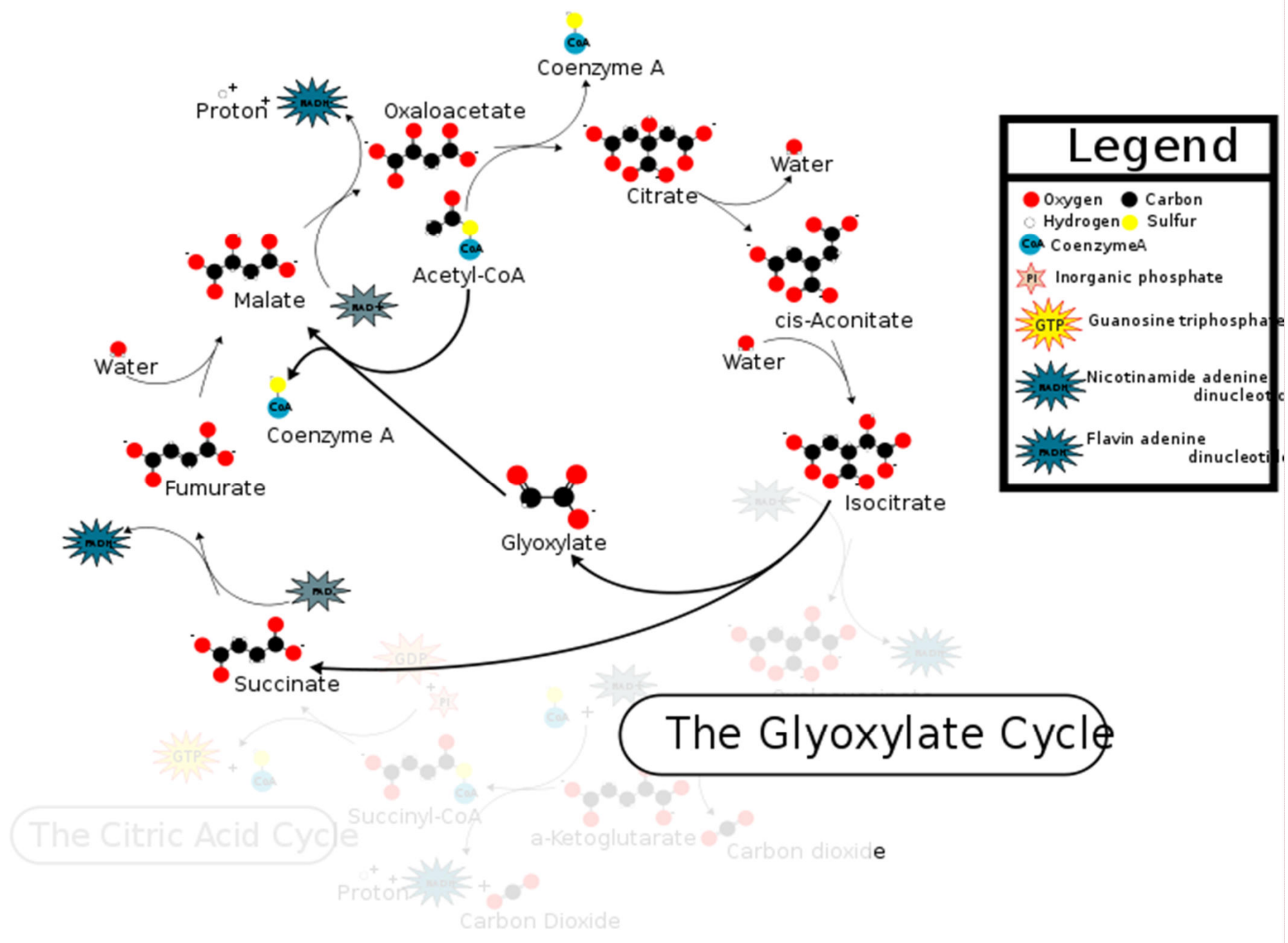


- Druhou cestu používají mikroorganismy rostoucí na substrátech o nízké hmotnosti (acetát, sukcinát) a nebo mikroorganismy zpracovávající mastné kyseliny a n-alkany jako jediný zdroj intermediátů pro syntézu uhlíkových skeletů svých hlavních složek
- Glyoxylátový cyklus je činí nezávislými na karboxylaci pyruvátu a fosfoenolpyruvátu pro tvorbu C<sub>4</sub> dikarboxylových kyselin
- Intenzivně probíhá také v semenech klíčících rostlin
- U prokaryot se enzymy glyoxylátového cyklu nachází v cytoplazmě, u eukaryotních mikrobů a u rostlin ve speciálních organelách, glyoxysomech resp. peroxisomech



# MECHANISMUS GLYOXYLÁTOVÉHO CYKLU

- **1. Začáteční fáze**
  - Stejná jako u CC až po vznik isocitrátu
- **2. Štěpení C<sub>6</sub> molekuly na C<sub>2</sub> a C<sub>4</sub> molekuly**
  - Isocitrát je štěpen za katalýzy isocitrátlyasou (isocitratasou) na glyoxylát a sukcinát
  - Sukcinát představuje výstup z cyklu, může být dále přeměňován prostřednictvím CC, nebo zapojen do dalších reakcí
- **3. Kondenzace dvou C<sub>2</sub> jednotek**
  - Druhá molekula AcCoA kondensuje s glyoxylátem za vzniku malátu (analogickým způsobem probíhá kondensace s oxalacetátem: adicí karboaniontu AcCoA na karbonylový uhlík glyoxylátu)
  - Závěrečná dehydrogenace malátu na oxalacetát je identická jako u citrátového cyklu



### Legend

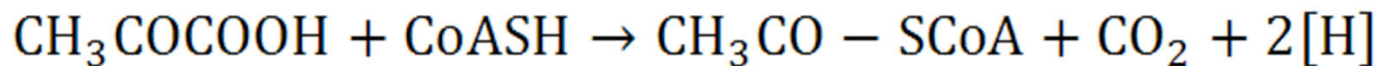
- Oxygen    ● Carbon
- Hydrogen    ● Sulfur
- CoA    Coenzyme A
- ★ Pi    Inorganic phosphate
- ★ GTP    Guanosine triphosphate
- ★ NADH    Nicotinamide adenine dinucleotide
- ★ FADH<sub>2</sub>    Flavin adenine dinucleotide

## The Glyoxylate Cycle

## The Citric Acid Cycle

## VZNIK AC CoA AEROBNÍ DEKARBOXYLACÍ PYRUVÁTU

- Vznik pyruvátu je za aerobních podmínek posledním stupněm glykolytického odbourání glukosy

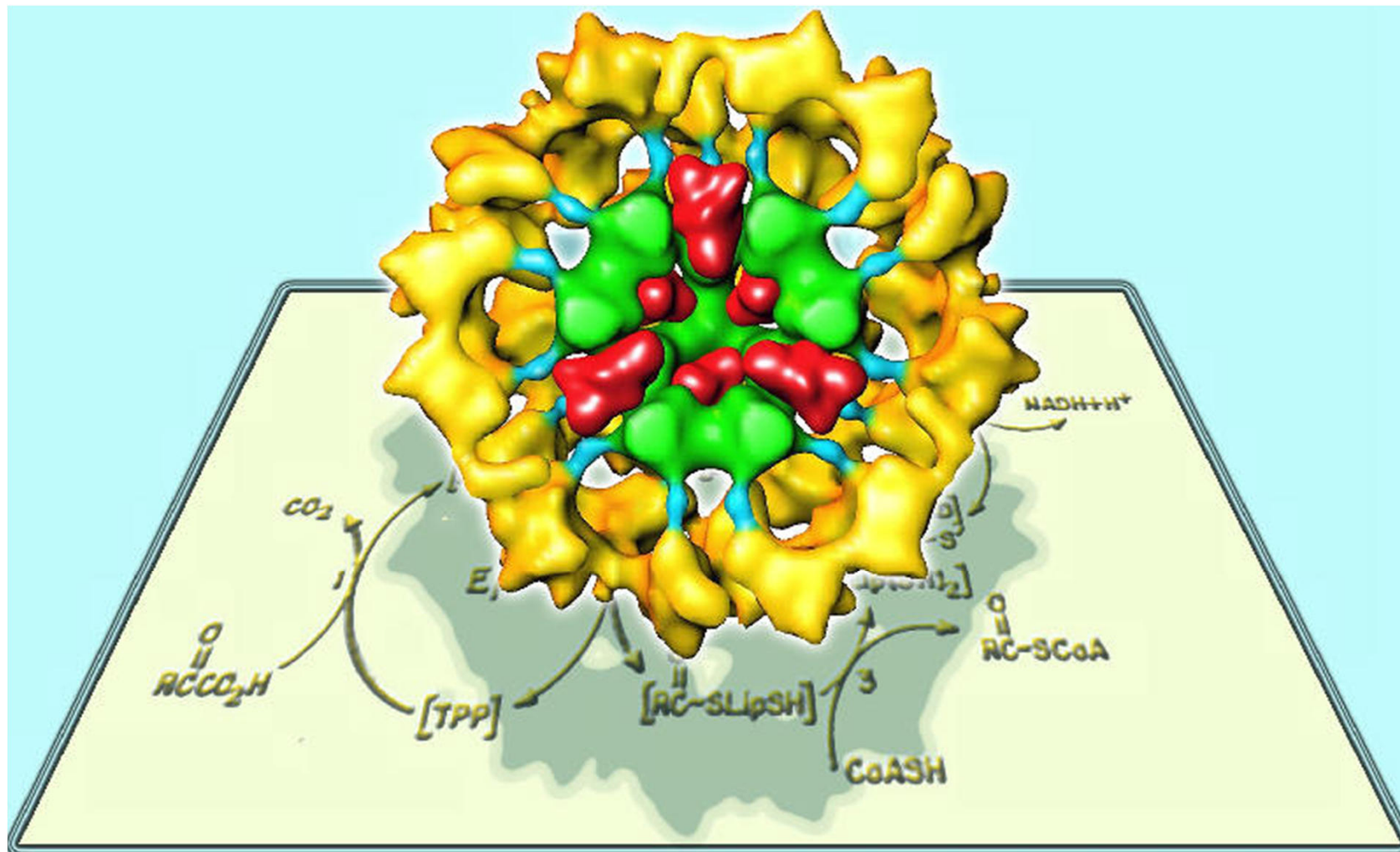


- Pyruvátdehydrogenasový komplex je vázán na vnitřní mitochondriální membránu a tvoří supramolekulovou strukturu o  $M_r 4,6 \cdot 10^6$
- Má tvar krychle a jeho složky mají podjednotkovou strukturu



- Jádro útvaru tvoří osm trojic podjednotek dihydrolipoamidacetyltransferasy situovaných v rozích krychle
- Tím je každá podjednotka ve styku s jednou z podjednotek dvanácti molekul pyruvátdehydrogenasy situovaných na hranách krychle a s dihydrolipoamidehydrogenasou, jejíchž 6 molekul leží uprostřed stran






[http://www.eicn.ucla.edu/system/files/projects\\_pdc.jpg](http://www.eicn.ucla.edu/system/files/projects_pdc.jpg)



## KROKY PŘEMĚNY PYRUVÁTU NA ACCoA

- 1. Pyruvát vzniklý glykolýzou v cytoplazmě je transportován přes vnitřní mitochondriální membránu do matrixu pomocí nosiče výměnou za  $\text{OH}^-$
  - 2. Váže se na pyruvátdehydrogenasu, konkrétně na thiazolové jádro kofaktoru tramíndifosfátu, zde proběhne dekarboxylace za vzniku  $\alpha$ -hydroxyethylthiamindifosfátu
  - 3. Ke vzniklému  $\alpha$ -hydroxyethylderivátu se přiblíží mobilní raménko cyklického lipoamidu dlouhé 1,4 nm a vytvoří  $\text{S}^6$ -acetylhydrolipoamid (kofaktor dihydrolipoamidacetyltransferasy), které přenesse acetylovou skupinu na koenzym A výměnou za vodík. Vzniká acetyl-CoA a dihydrolipoamid
- 

- 4. Vodíky dihydrolipoamidu jsou přeneseny mobilním raménkem k dihydrolipoamiddehydrogenase jejíž kofaktor FAD odebere dva vodíky a obnoví cyklický disulfid lipoamidu
- 5. Vzniklý  $\text{FADH}_2$  je oxidován pomocí  $\text{NAD}^+$ , který přenáší dva vodíky do dýchacího řetězce



## ZDROJE

- Mathews, Ch. K. – Halde, K. E. – Ahern, K. G., *Biochemistry*, 3. vydání, San Francisco, Benjamin Cummings, 1999, 1186 s., ISBN 99-043683
- Voet, D. – Voet, J. G. – Pratt, Ch. W., *Fundamentals of Biochemistry: life at the molecular level*, 2. vydání, USA, Willey, 2006, 1264 s., ISBN 0-471-21495-7

