

# 15. Glukoneogenéza, glykoneogenéza

## Biosyntéza aminokyselin, lipidů a nukleotidů

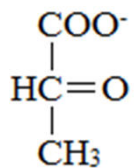
## 15.1 BIOSYNTHEZA SACHARIDŮ

- Je hlavní děj tvorby organické hmoty z  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  (autotrofy + sluneční zář.)
- Heterotrofy tvoří sacharidy z 3C(2C) až 4C molekul z katabolických drah = **glukogenese** též **glukoneogenese** (tvorba glukosy z necukerných zdrojů)
- Navazuje-li na glukoneogenesi tvorba oligo- a polysacharidů = **glykoneogenese**



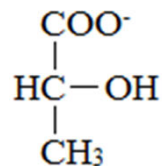
## VÝCHOZÍ 3C(2C) AŽ 4C MOLEKULY PRO GLUKONEOGENESI

- Pyruvát



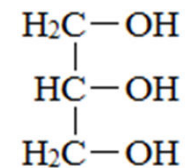
pyruvát

- Laktát



laktát

- Glycerol



glycerol

- meziprodukty c

cyklu (CC)

- u rostlin a některých mikroorganismů s glyoxylátovým cyklem i acetyl-CoA



## 15.1.1 GLUKONEOGENESE - PŘEMĚNA PYRUVÁTU NA GLUKOSU

- Glukoneogenese probíhá hlavně v játrech, ale i v ledvinách (hl. při hladovění), méně ve střevních epiteliích
- Pyruvát tvoří zejména hepatocyty z laktátu (redukcí) a alaninu (transaminací)
  - Coriův cyklus a glukoso-alaninový cyklus mezi játry a svaly
- K přeměně nelze využít celou cestu obrácené glykolysy, 3 její fosforylační reakce jsou **nevratné** :
  - 1) fosfoenolpyruvát → pyruvát
  - 2) fruktosa-6-fosfát → fruktosa-1,6-bisfosfát
  - 3) glukosa → glukosa-6-fosfát



# 1) PYRUVÁT A FOSFOENOLPYRUVÁT

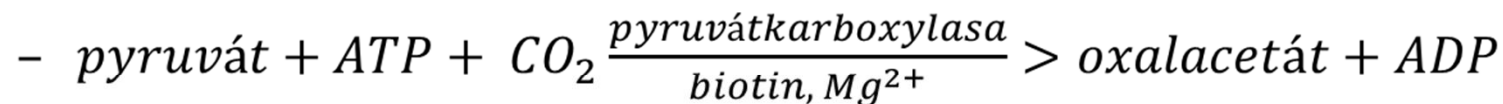
## ○ Glykolysa 1 krok



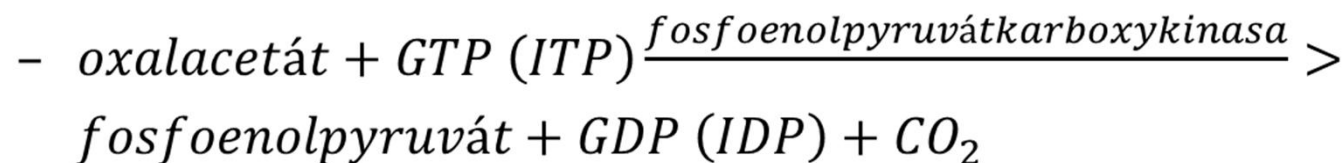
## • Glukoneogenese 2 kroky

## • Z pyruvátu tvorba fosfoenolpyruvátu oklikou přes oxalacetát

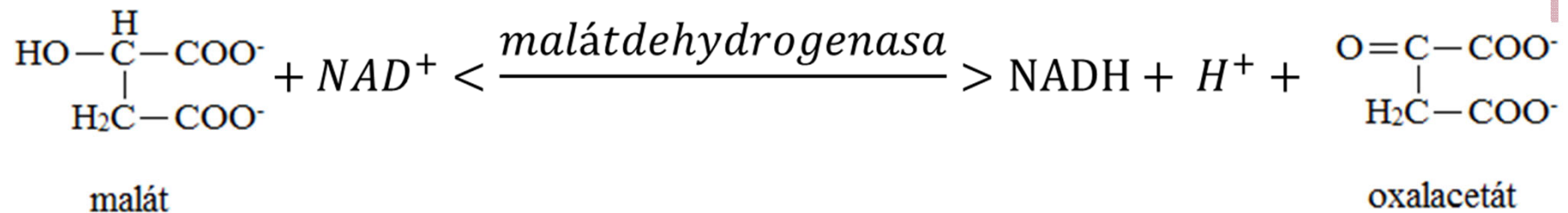
– mitochondrie:



– mitochondrie i cytosol:

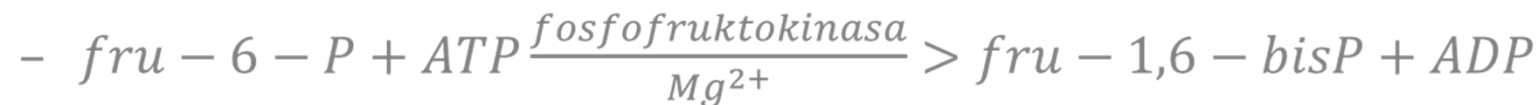


- Oxalacetát z mitochondrií neprostupuje mitochondriální membránou, proto je v mitochondriích hydrogenován na malát
- Malát projde do cytosolu a je zde dehydrogenován zpět na oxalacetát stejným enzymem

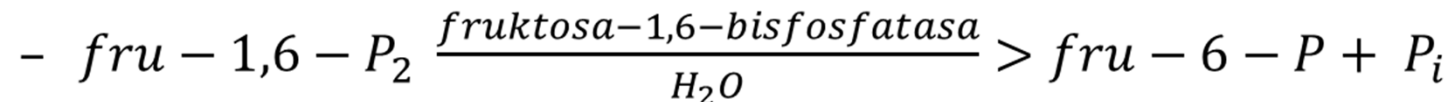


## 2) FRUKTOSA-1,6-BISFOSFÁT A FRUKTOSA-6-FOSFÁT

- Glykolyza:



- Glukoneogeneze:



- **fruktosa-1,6-bisfosfatasa** je klíčový allosterický enzym:

- rozhoduje o rychlosti celé glukoneogeneze
  - tkáň jím vybavená syntetizuje glykogen z pyruvátu i triosafosfátů

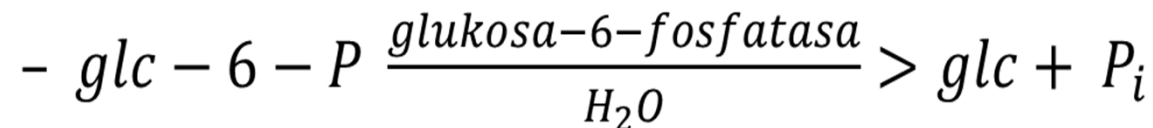


### 3) GLUKOSA-6-FOSFÁT A GLUKOSA

- Glykolyza:



- Glukoneogeneze:



- **glukosa-6-fosfatasa** uděluje tkáni schopnost uvolňovat glukosu do krve, chybí ve svalech, mozku a tukové tkáni



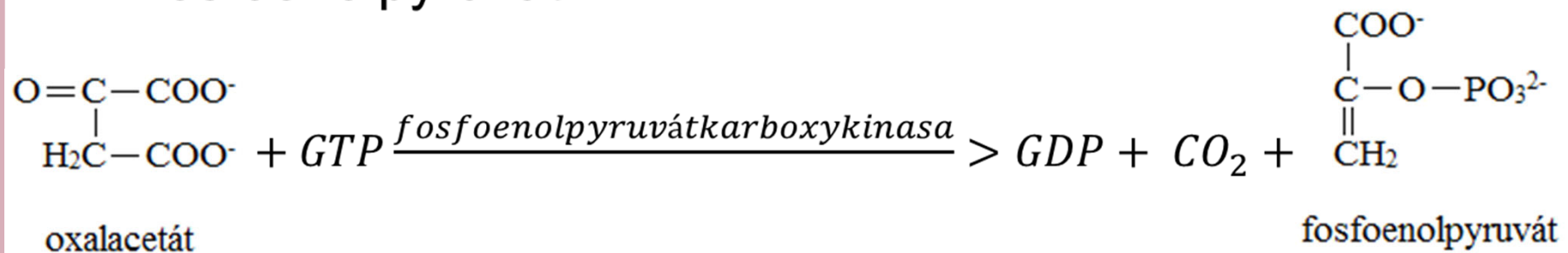
## ENERGETICKÁ BILANCE A ŘÍZENÍ GLUKONEOGENESE

- Pro tvorbu 1 molekuly glukosy je třeba 2 molekul pyruvátu a 12 ATP
  - $2x \text{ pyruvát} + 12x \text{ ATP} = 1 \text{ glc}$
- Glykolysa 1 molekuly glukosy poskytne 8 ATP, glukoneogenese je tedy energeticky dotována
  - $1 \text{ glc} = 8 \text{ ATP}$
- Glukoneogenesi zahajuje **glukagon** a **adrenalin** prostřednictvím **cAMP**



## 15.1.2 BIOSYNTHEZA GLUKOSY Z DALŠÍCH PREKURZORŮ

- Z různých předstupňů **pyruvátu** a **fosfoenolpyruvátu**
- Nejvíce z **meziproduktů citrátového cyklu**, na ty se mění i uhlíkové **kostry glukogenních AMK**
- Meziprodukty CC jsou přeměněny na oxalacetát a ten na fosfoenolpyruvát



## GLUKOSA Z AMINOKYSELIN

- **Glukogenních AMK je 18**  
(všechny kromě Lys a Leu)
- glukogenní i ketogenní jsou 4 AMK  
(Ile, Phe, Trp, Tyr)
- Lys a pravděpodobně i Leu jsou čistě ketogenní
- Obratlovci nemají glyoxylátový cyklus a nemohou tedy použít acetyl-CoA (Lys, Leu) pro glukoneogenesi



## VÝSLEDKY ODBOURÁVÁNÍ AMK

Meziprodukty CC = substráty  
glukoneogenese

→**2-oxoglutarát:** Arg, Glu, Gln, His,  
Pro

→**sukcinyl-CoA:** Ile, Met, Val

→**fumarát:** Asp, Phe, Tyr

→**oxalacetát:** Asp, Asn

→**pyruvát:** Ala, Gly, Cys, Ser, Trp,  
Thr,

→**acetyl-CoA:** Ile, Leu

→**acetoacetát:** Leu, Lys, Phe, Trp, Tyr



## 15.2 BIOSYNTHEZA OLIGO- A POLYSACHARIDŮ

- Škrob
  - zásobní polysacharid (PS) rostlin
  - složen z  $\alpha$ -amylosy (15-20 %) a  $\alpha$ -amylopektinu (80-85 %)
- $\alpha$ -amylosa
  - dlouhý **lineární** řetězec s vazbami  $\alpha$ -D-glukos pouze 1→4
  - helikální struktura (+ jód = modrá b.)
- $\alpha$ -amylopektin
  - velká **rozvětvená** molekula
  - skládá se z jednotek  $\alpha$ -D-glukosy s vazbami 1→4 a 1→6
  - po 20-24 jednotkách glukos s vazbou 1→4 větvení vazbou 1→6
  - globulární struktura (+ jód = červená b.)



## • Glykogen:

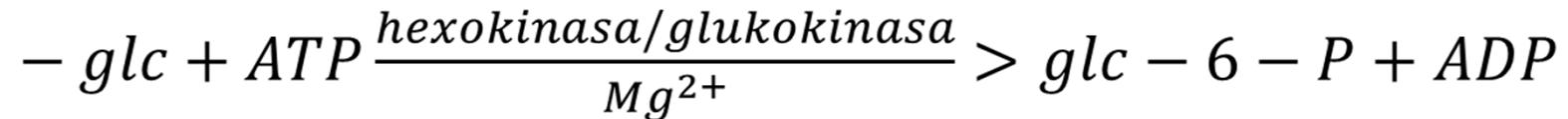
- velmi rozvětvený polysacharid
- přítomen pouze u živočichů
- složen z jednotek  $\alpha$ -D-glukosy s vazbami 1→4 a 1→6
- po 3-7 jedn. glc s vazbou 1→4 větvení vazbou 1→6
- zásobuje tělo glukosou, udržuje tak hladinu krevní glc v normě mezi jídly
- jaterní zásoby glykogenu vyčerpány už za 12-18h hladovění
- svalové zásoby glykogenu se úplně nevyčerpají nikdy



# GLYKOGENESE - TVORBA GLYKOGENU

## 1) GLUKOSA-6-FOSFÁT

- 1. krok společný s glykolysou

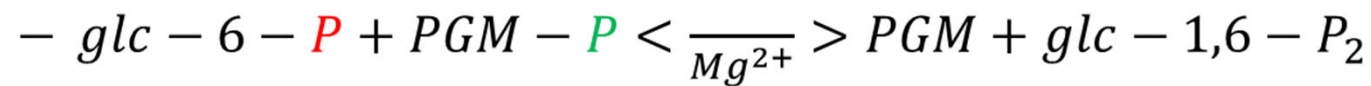


- další kroky jsou již samostatné

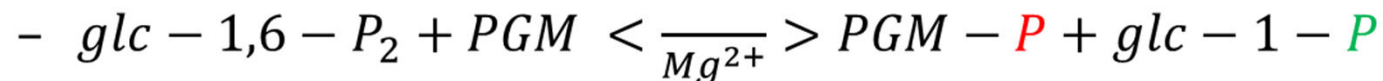


## 2) IZOMERISACE

- *fosfoglukomutasa* (PGM) je nejprve sama přímo fosforylována, pak vstupuje do reakce
- fosforylovaná PGM přenese  $\text{PO}_3^{2-}$  do polohy 1, vznikne meziprodukt  $\text{glc-1,6-P}_2$ , tímto je PGM defosforylována



- následně je PGM opět fosforylována přenosem  $\text{PO}_3^{2-}$  z  $\text{glc-1,6-P}_2$ , tentokrát ovšem z polohy 6



### 3) AKTIVNÍ NUKLEOSID

- přímé navázání molekuly glc-1-P na řetězec glykogenu by bylo příliš energeticky nákladné
- proto se z glc-1-P vytvoří energeticky bohatší molekula – tzv. aktivní nukleosid
  - $UTP + glc - 1 - P < \frac{UDP - glc - pyrofosforylasa}{>} UDP - glc + PP_i$
- reakce je poháněna doprava hydrolysou anorg. pyrofosfátu ( $PP_i$ ) „anorganickou“ fosfatasou
- oba fosfáty  $PP_i$  pochází z UTP
- z makroergického aktivního nukleosidu se snáze přenese glc na řetězec glykogenu (či na jiný poly-/oligo-/sacharid – takto vzniká sacharosa, laktosa, galaktosa...)

## 4) RŮST ŘETĚZCE GLYKOGENU

- *glykogensynthasa* provede vazbu mezi C<sub>(1)</sub> glukosy aktivovaného nukleosidu a O hydroxyly na C<sub>(4)</sub> neredukujícího konce glykogenu
  - $UDP - glc + glykogen(n\ glc) \xrightarrow{glykogensynthasa} UDP + glykogen(n + 1\ glc)$
- *glykogensynthasa* prodlužuje pouze existující řetězec – primer („očko“)
- není-li očko, pak ho *glykogensynthasa* vytvoří vazbou glc na bílkovinu **glykogenin** (na -OH sk. na určitém Tyr)



## GLYKOGENOLÝZA

- vztah glykoneogenese-glykogenolysa analogický vztahu glukoneogenese-glukolysa = nelze postupovat zpět pouhým otočením reakcí!!!
- probíhá vlastní reakční enzymatickou drahou
- štěpení glykogenu zahajuje **fosforolysa** (účast  $\text{H}_3\text{PO}_4$ !)



## 1) FOSFOROLYSA

- *glykogenfosforylasa* působí na neredukujícím konci glykogenu (-OH sk. na C<sub>(4)</sub>)
- rozštěpí vazbu 1→4 a z řetězce glykogenu se odštěpí 1 molekula glc-1-P
  - $glykogen (n\ glc) + H_3PO_4 \xrightarrow{glykogenfosforylasa} glykogen (n - 1\ glc) + glc - 1 - P$
- fosforolytické štěpení se zastaví asi 4 jednotky glc před větvením (glc s vazbou 1→6)
- pro fosforolysu mají svaly a játra rozdílné enzymatické vybavení



## DVA ENZYMY JEDNÉ REAKCE

- **svalová** (dimer) a **jaterní** (monomer) *glykogenfosforylasa* jsou naprosto odlišné enzymy
- oba existují v dané tkáni v dalších dvou formách:
  - *glykogenfosforylasa a* – fosforylovaná
    - *v játrech aktivní forma*
    - *ve svalech aktivní forma*
  - *glykogenfosforylasa b* – defosforylovaná
    - *v játrech neaktivní forma*
    - *ve svalech neaktivní forma, avšak aktivována přít. AMP*
- po fosforolyse pokračuje jiný enzym linearisací v oblasti větvení



## 2) LINEARISACE VĚTVENÍ GLYKOGENU

- fosforolysa je zastavena 4 glc jednotky před větvením
- *$\alpha$ 1,4-transglykosylasa* přenese trimer tří glukos na neredukující konec sousedního lineárního řetězce glykogenu
- na větvení nyní zbyla poslední glc, ta je odštěpena dle nejnovějších poznatků taktéž  *$\alpha$ 1,4-transglykosylasou*
- řetězec je zbaven větvicího bodu, linearisován, a tím připraven na opětovnou fosforolysu *glykogenfosforylasou*



### 3) GLUKOSA Z GLC-1-P

- výsledkem glykogenolysy je glc-1-P, který ještě není uvolněn do krve
- *fosfoglukomutasa* (PGM) opět izomerisuje glc-1-P přes glc-1,2-P<sub>2</sub> na využitelnější glc-6-P
- tkáně vybavené glc-6-fosfatasou (játra, ledviny) defosforylují glc-6-P a uvolní do krve čistou glukosu
- tkáně bez tohoto enzymu (svaly, mozek, tuková tkáň) jsou lakomci a krvi žádnou glc nedají
  - glc-6-P si uschovají v cytosolu svých buněk pro svůj energetický metabolismus a glykolysou ho přemění na laktát
- glc-6-P mimo jiné odčerpává i pentosofosfátový cyklus



## BIOSYNTHEZA AMINOKYSELIN

- Schopnost biosynthesy aminokyselin je u různých organismů různá
- Rostliny dovedou vyrábět všechny aminokyseliny za použití  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  nebo  $\text{NO}_2^-$  jako zdroje dusíku
- Bobovité rostliny v symbióse s určitými bakteriemi dokonce vycházejí z  $\text{N}_2$
- Mikroorganismy se ve schopnosti syntézy aminokyselin zřetelně liší
  - Většina vyžaduje  $\text{NH}_4^+$  jako zdroj dusíku
  - Některé bakterie a houby však jsou stejně jako rostliny schopné využívat i  $\text{NO}_3^-$  a  $\text{NO}_2^-$
  - Existují i mikroorganismy, pro které jsou určité aminokyseliny esenciální



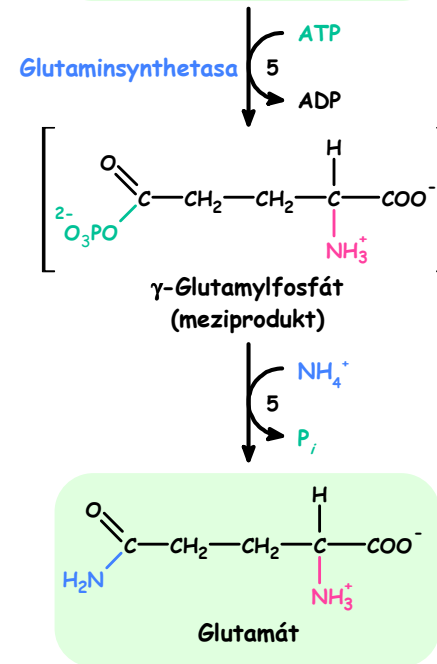
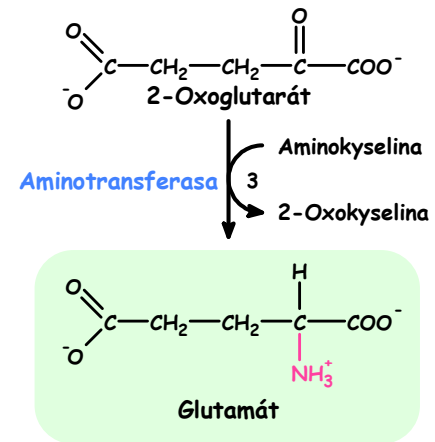
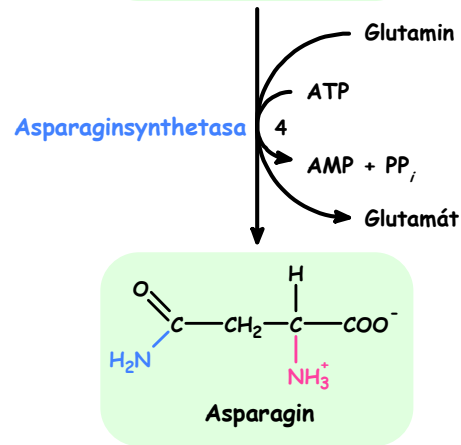
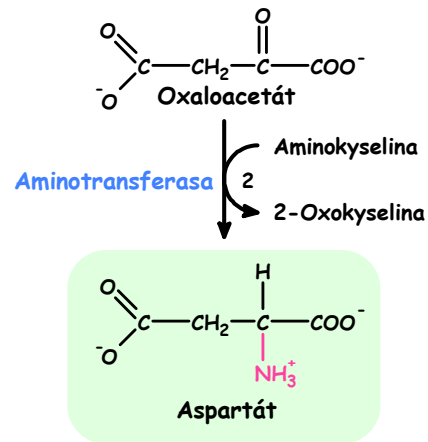
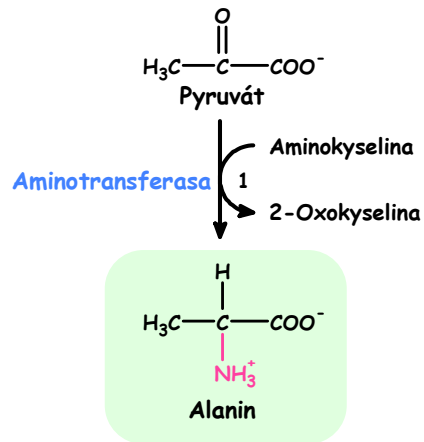
- Živočichové musí používat k výrobě aminokyselin dusík organicky vázaný v aminokyselinách uvolněných hydrolysou bílkovin potravy nebo vlastních tkání
- Řadu kódovaných aminokyselin nedovedou vůbec syntetisovat a musí je získávat potravou nebo štěpením tkáňových bílkovin
  - Říkáme jim **esenciální (nepostradatelné) aminokyseliny**, ostatním pak **neesenciální** nebo **relativně postradatelné**
  - Pro člověka jsou esenciální větvené aminokyseliny **valin, leucin a isoleucin, aromatické fenylalanin a tryptofan, dále threonin, methionin a lysin**
- **Histidin a arginin** jsou postradatelné jen v dospělosti, v době vývoje v dětském věku jsou také esenciální
- Další dvě aminokyseliny jsou „podmíněně postradatelné“ pouze při nedostatku esenciálních aminokyselin, z nichž se tvoří; jsou to **tyrosin**, vznikající z fenylalaninu, a **cystein** syntetisovaný z methioninu



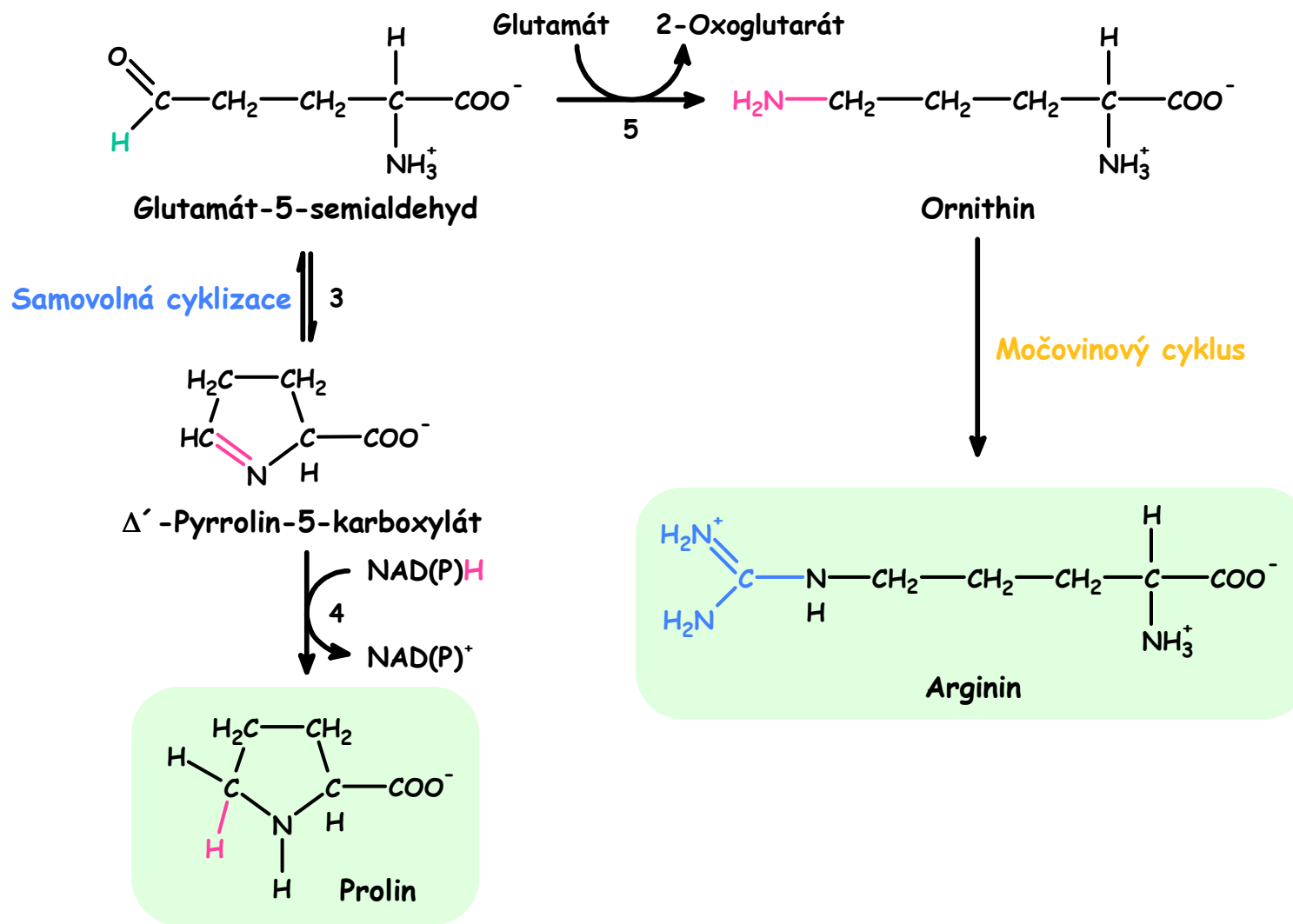
## SYNTHESY NEESENCIÁLNÍCH AMINOKYSELIN

- **Alanin** a **aspartát** jsou vyráběny jednostupňovou přeměnou pyruvátu, resp. Oxalacetátu
- transaminační reakce s pyridoxalfosfátem jako kofaktorem a glutamátem jako zdrojem aminoskupiny nebo o obrácení procesu oxidační deaminace, tj. o redukční aminaci přes aminokyselinu
- **Glutamát** se tvoří redukční aminací z 2-oxoglutarátu, tedy obrácením reakce, která slouží k regeneraci 2-oxoglutarátu při transaminačních reakcích
- Glutamát je dále prekursorem další neesenciální aminokyseliny **prolinu**, který vzniká obrácením jeho odbourávání přes  $\gamma$ -semialdehyd
- Glutamát se dále spolu s aspartátem podílí na biosynthese argininu jako donor aminoskupiny
- Prekursorem **argininu** je nekódovaná aminokyselina ornithin a syntéza je součástí ureosynthetického cyklu
- Uhlíkové skelety aminokyselin pocházejí z **meziproduktů glykolysy, pentosového nebo citrátového cyklu**



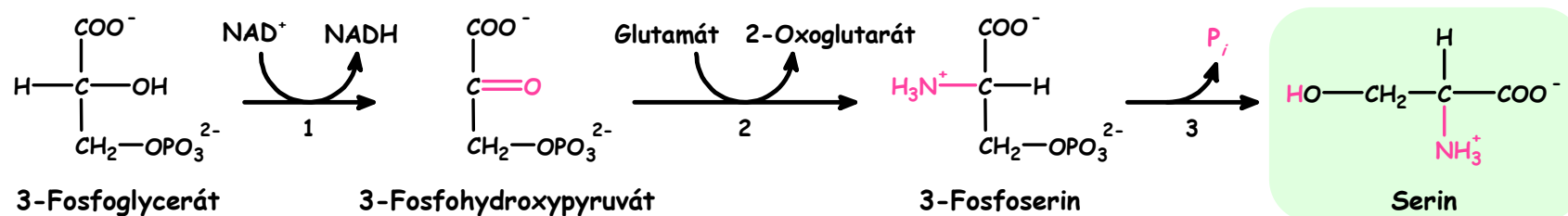


# GLU JE PREKURZOREM PRO, ORN A ARG



## Serin se syntetisuje z 3-fosfoglycerátu, meziproduktu glykolýzy

- Prvním stupněm je oxidace na 3-fosfohydroxypyruvát - tato  $\alpha$ -oxokyselina je pak transaminována na 3-fosfoserin, jehož hydrolysou vzniká serin



- Serin je prekursorem glycinu a cysteinu
- Při synthese **glycinu** se odstraní  $\beta$ -uhlíkový atom postranního řetězce serinu přesunem na tetrahydrofolát, nosič jednouhlíkových jednotek,
  - Serin + tetrahydrofolát  $\leftrightarrow$  glycin + methylenetetrahydrofolát + H<sub>2</sub>O
  - V obráceném směru probíhá tato reakce při odbourávání glycinu
  - Reakce je katalysována serinovou transhydroxymethylasou s PLP jako kofaktorem.

Vazba mezi  $\alpha$ - a  $\beta$ -atomy uhlíku serinu se stabilizuje tvorbou Schiffovy base serinu s PLP

$\beta$ -uhlíkový atom je pak přesunut na tetrahydrofolát

- Glycin může vznikat také z CO<sub>2</sub> a NH<sub>4</sub><sup>+</sup> a methylenetetrahydrofolátu za katalysy glycinsynthasou
  - Obrácením výše uvedené reakce se pak může z takto vyrobeného glycinu tvořit serin



- Serin přechází na **cystein** nahrazením kyslíkového atomu postranního řetězce za atom síry
  - Jeho zdrojem je esenciální aminokyselina methionin, syntetisovaná z asparátu
  - Meziprodukt této synthesy se kondensuje se serinem za vzniku cystathioninu - Ten je deaminován a štěpen na cystein a 2-oxoglutarát, zatímco při synthese methioninu se cystathion štěpí na druhé straně atomu síry a vzniká homocystein a pyruvát
  - Enzymy obou reakčních stupňů jsou lyasy a používají PLP jako kofaktor.



- Prekursory zbývajících esenciálních aminokyselin jsou **pyruvát a aspartát**
- **Threonin a methionin** se tvoří z homoserinu, vznikajícího z aspartátu přes aspartylfosfát a aspartátsemialdehyd
- **Threonin** vzniká **fosforylací homoserinu**, následnou eliminací fosfátu z  $\gamma$ -atomu uhlíku a substitucí  $\beta$ -uhlíku hydroxylovou skupinou
  - Reakce je katalysována PLP-enzymem threoninsynthetasou.
- Při biosynthese **methioninu** se tvoří z homoserinu nejprve o-sukcinyl-homoserin přenosem sukcinylové skupiny ze sukcinyl-CoA
- V dalším stupni nahradí cystein sukcinát, čímž vznikne cystathion
- Ten se hydrolyticky štěpí na homocystein, pyruvát a  $\text{NH}_4^+$
- Protože cystein může být methylován na methionin, je zřejmé, že cystathionin může sloužit jako meziprodukt při přeměně cysteinu na methionin u rostlin a bakterií a při přeměně methiononu na cystein u savců



## ○ Histidin

- Pět atomů ze šesti histidinových má původ v 5-fosforibosyl- $\alpha$ -pyrofosfátu.
- Stejná látka je základem biosyntézy purinových a pyrimidinových bází nukleových kyselin.
- Šestý atom je z ATP Ostatní atomy z ATP se odštěpí jako

5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid, což je také meziprodukt syntézy purinů



# BIOSYNTHEZA LIPIDŮ

## Biosynthesa mastných kyselin

- Vyšší mastné kyseliny vznikají procesem, který se svým spirálovým charakterem velice podobá procesu odbourávání mastných kyselin
- Obrácená redukční spirála má prakticky identické meziprodukty, ovšem jednotlivé reakce provádějí jiné enzymy a do procesu je začleněná karboxylace
- Biosynthesa mastných kyselin je také v buňce lokalizovaná jinde
- Zatímco mastné kyseliny se odbourávají v mitochondriích, probíhá jejich biosynthesa v cytosolu
- Hlavními místy syntézy mastných kyselin jsou tukové tkáně



- **Výchozí látkou** pro biosynthesu mastných kyselin je **acetyl-CoA**, vznikající při odbourávání jiných mastných kyselin, při oxidační dekarboxylaci pyruvátu v rámci aerobního odbourávání sacharidů a z uhlíkových koster některých aminokyselin
- Podíváme-li se na **princip výroby** mastných kyselin vidíme, že jde o redukci acetylu na  $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$  zbytky, tvořící „obratle“ páteře mastné kyseliny
- Vodíky potřebné k redukci poskytuje NADPH získaný v pentosovém cyklu, u fototrofů též ve světlé fázi fotosynthesy
- Jako každý anabolický děj vyžaduje i výroba mastných kyselin energii



- Uhlíkový řetězec mastné kyseliny se tedy buduje stupňovitě z dvouuhlíkových jednotek
- Ty však neposkytuje přímo acetyl-CoA, ale energií bohatší produkt jeho karboxylace, **malonyl-CoA**
- Meziprodukty biosynthesy jsou thioestery bílkoviny označené **ACp** ( Acyl Carrier Protein ) a ne CoA, jako při odbourávání mastných kyselin



- Výchozí materiál, acetyl-CoA, vzniká převážně v mitochondriích
- Membrány mitochondrií však pro něj nejsou propustné
- Přenos acetyl-CoA do cytoslu, kde se odehrává biosynthesa mastných kyselin, se uskutečňuje buď karnitinem, nebo prostřednictvím přeměny na citrát
- Přenos karnitinem probíhá stejným mechanismem jako přenos acylů vyšších mastných kyselin, ale v obráceném směru
- Druhou cestou, kterou se dostává acetyl-CoA do cytosolu, je tvorba citrátu, který vzniká reakcí acetyl-CoA s oxalacetátem za katalýsy citrátsynthasou
- Citrát takto vytvořený přejde mitochondriální membránou do cytosolu a tam se účinkem citrátlyasy rozpadá za účasti ATP a CoA zpět na oxalacetát a acetyl-CoA.



Proces biosynthesy mastných kyselin lze rozdělit do tří fází:

- A. Výroba malonyl-CoA**
- B. Synthesa palmitové kyseliny**
- C. Další přeměny palmitátu**

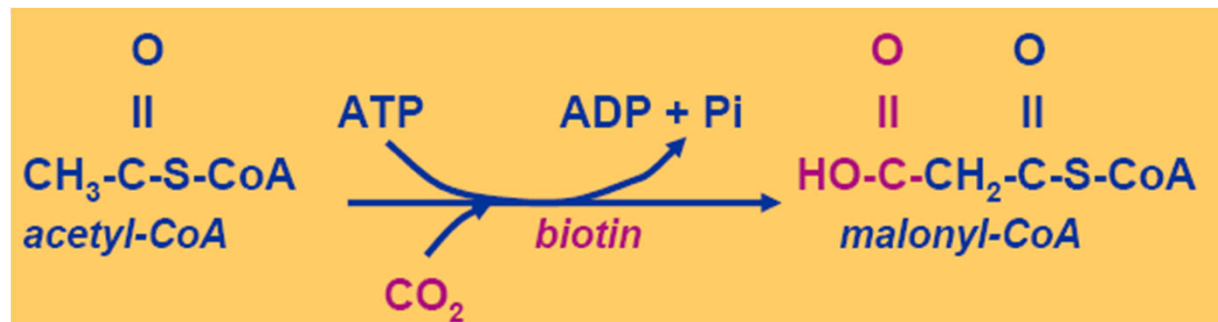
**A. Výroba malonyl-CoA.**

Karboxylace acetyl-CoA na energeticky bohatší malonyl-CoA probíhá na enzymovém komplexu ligasy, acetyl-CoA-karboxylasy, který se skládá ze tří funkčních podjednotek:

- a) **bílkovinného nosiče biotinu** ( BCCP = Biotin Karboxyl Carrier Protein ), který má biotický kofaktor vazaný na jednom ze zbytků lysinu
- b) **biotinkarboxylasy**, která katalysuje za účasti ATP navázání  $\text{CO}_2$  na BCCP, čímž je  $\text{CO}_2$  převeden do aktivované formy
- c) **karboxyltransferasy**, která přenáší  $\text{CO}_2$  z BCCP-biotinu na acetyl-CoA za vzniku malonyl-CoA



Reakci katalysovanou tímto enzymovým komplexem tedy vystihuje schéma



## B. Synthesa palmitové kyseliny

- Sled reakcí, jimiž se z **malonyl-CoA** syntetizuje základní **šestnáctiuhlíkový řetězec palmitové kyseliny**, zajišťuje multienzymový **komplex syntetasy mastných kyselin**
  - Jeho součástí je ACP, jehož prosthetická skupina tvoří **pohyblivé raménko**, které slouží jako nosič substrátů a meziproductů, vznikajících činností jednotlivých enzymů syntetasového komplexu
    - váže je triolovou skupinou ( tzv. centrální SH, cSH )
  - **Malonyl-CoA**, napojená na ACP, podstoupí sled reakcí – **kondensace, první redukce, dehydratace, druhá redukce** – a za odštěpení  $\text{CO}_2$  prodlouží acyl ( v prvním cyklu acetyl ) o  $\text{C}_2$ -jednotku
  - Tento prodloužený acyl se přenese z cSH raménka ACP na triolovou skupinu zbytku cysteinu jednoho z enzymů komplexu,  $\beta$ -oxoacylsyntetasy ( tzv. periférní SH, pSH )
  - Na uvolněnou cSH raménka ACP se připojí další malonylová skupina a proběhne nový sled reakcí

Tyto cykly se opakují, až vznikne palmitový zbytek ( $\text{C}_{16}$ ), který se pak uvolní jako **palmitoyl-CoA**



- U většiny bakterií a v chloroplastech rostlin jsou **ACP a enzymy syntetasy** mastných kyselin diskrétní bílkoviny a jsou nekovalentně spojené v multienzymovou jednotku
- U živočichů jde o disociovatelný dimer, sestávající ze dvou polypeptidových podjednotek, z nichž každá má několik aktivních míst s různým typem enzymové aktivity



SLED REAKCÍ, KTERÝM SE MOLEKULA  
MASTNÉ KYSELINY VŽDY PRODLUŽUJE O DVA  
ATOMY UHLÍKU:

- 1. Transacylace.** První cyklus zahrnuje přenos acetylu z acetyl-CoA - nejprve na cSh a pak transacylací na pSH
  - V dalších cyklech se přenáší z cSH na pSH acyl, který se v průběhu biosynthesy vytvořil
    - Tím se uvolňuje cSH pro vazbu malonylu ( viz 5. reakce )



## 2. Kondensace acylu s malonylem

- Při přiblížení malonylové skupiny k cSH pohyblivého raménka ACP se acyl ( v prvním cyklu acetyl ) uvolní z pSH a napojí na malonyl účinkem tzv. kondensačního enzymu ( 3-oxoacylsynthetasy )
- Ke spojení dochází adicí karbonylového uhlíku acylu na methylový uhlík malonylu za současné dekarboxylace; produktem je 3-oxoacyl



### 3. První redukce

- 3-oxoacylreduktasou za účasti NADPH se redukuje 3-oxoacyl na 3-hydroxyacyl

### 4. Dehydratace

- Účinkem lyasy (3-hydroxyacyldehydratasy, krotonasy) se odštěpí molekula vody a vznikne nenasycený acyl (enoyl)



## 5. Druhá redukce

- Enoyl se redukuje enoylreduktasou pomocí NADPH ( nebo NADH ) na nasycený acyl
- Reakce 3 až 5 probíhají na cSH
- Vzniklý acyl se po ukončení cyklu acyltransferasou přenáší z cSH na pSh a na cSH se váže nový malonyl
- a následuje nový cyklus reakcí 2 až 5
- Jednotlivé cykly se opakují tak dlouho, až se dosáhne požadované délky řetězce
- Pak se proces zastaví allosterickou inhibicí
- Konečným produktem činnosti cytoplazmového multienzymového komplexu syntetasy mastných kyselin je zpravidla **C<sub>16</sub>-kyselina**



## C. Další přeměny palmitátu

- Vyrobená mastná kyselina se uvolní z vazby na ACP a aktivuje se reakcí s CoA za účasti ATP a katalysy thiokinasou
- Vzniklý acyl-CoA se může buď zapojit do syntesy lipidů, nebo se použije na výrobu kyselin s delším řetězcem, nenasycených kyselin nebo hydroxykyselin
- Tyto další úpravy však neprobíhají v cytosolu
- Řetězec se prodlužuje v mitochondriích přímo acetyl-CoA bez použití malonyl-CoA
- Nenasycené mastné kyseliny se pak tvoří specifickými NADP<sup>+</sup>-dyhydrogenasami; jsou stereospecifické a umožňují vznik *cis*-isomerů



## Energetická stránka biosynthesy mastných kyselin

- Na prodloužení řetězce o C<sub>2</sub>-jednotku musí organismus vydat:

1 ATP na činnost biotinkarboxylasy při výrobě malonylu

2 NADPH ----- 6 ATP na dvojstupňovou redukci acetylu na -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-

Na výrobu mastné kyseliny o  $n$  uhlíkových atomech je tedy zapotřebí energie v jednotkách

- $ATP = 7 ( n/2 - 1 )$ .

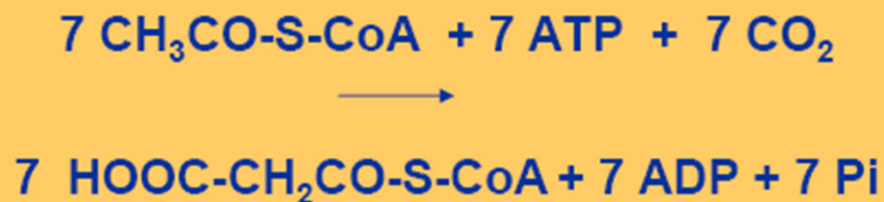
Např. synthesisa palmitové kyseliny stojí organismus 49 ATP.

Pro srovnání – při jejím zpětném odbourávání

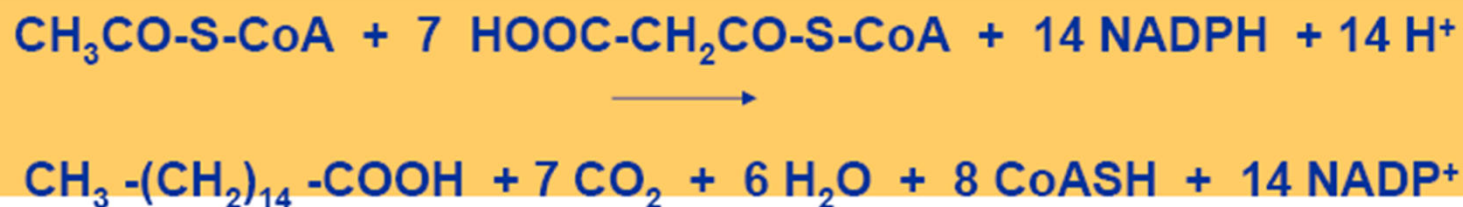
Lynenovou spirálou na acetyl-CoA vzniká jen 5 (8 – 1) ATP – 2ATP = 33 ATP, tedy něco přes 67% energie vynaložené na biosynthesu



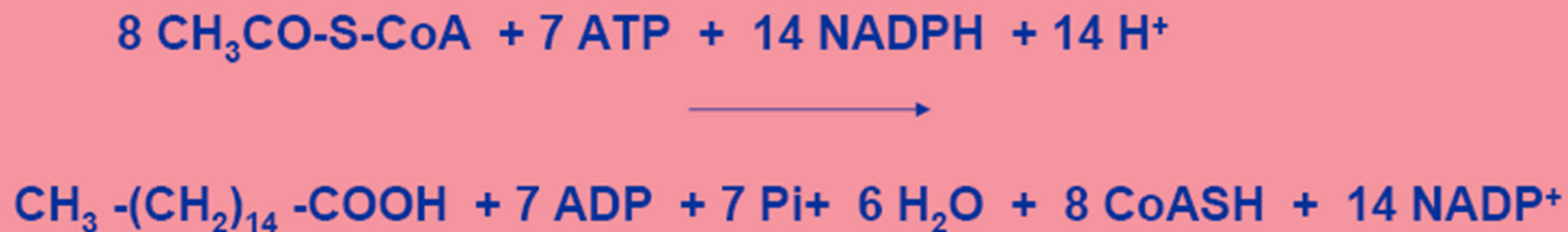
Rovnice pro syntézu malonyl-CoA



Rovnice pro syntézu palmitátu (kondenzační a redukční reakce)



Souhrnná rovnice pro syntézu palmitátu z acetyl-CoA



## BIOSYNTHEZA PURINŮ A PYRIMIDINŮ

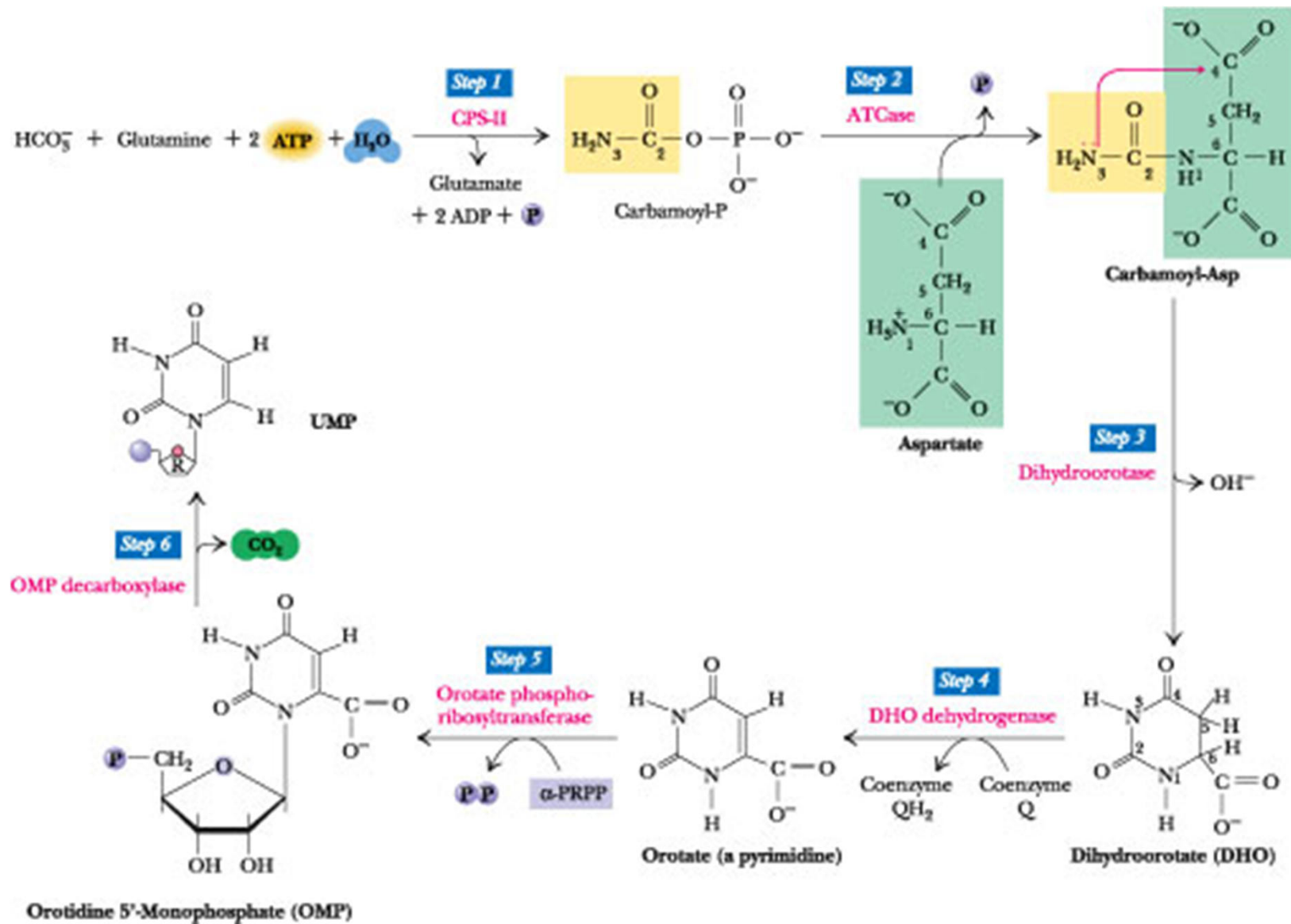
- **Aminokyseliny jsou základ pro tvorbu** všech ostatních biologických sloučenin dusíku, tzn. I dusíkatých složek **nukleotidů**, pyrimidinových i purinových bází
- Vzhledem k základnímu významu těchto látek pro funkci živé hmoty je jejich biosyntéza předpokladem pro růst a vývoj buněk, tkání i organismů a probíhá ve všech jejích formách



## Biosyntesa pyrimidinů

- **Pyrimidinové jádro** vzniká ve formě volné báze z **aspartátu**
- Reakcí této aminokyseliny s **karbamoylfosfátem** vzniká N-karbamoylaspartát, který odštěpením vody tvoří cyklický amid, **dihydroorotát**
- Oxidací tohoto meziprojektu flavoproteinem dihydroorotát oxidasou (EC 1.3.3.1) vzniká pyrimidinové jádro v **orotátu**, tj. karboxyuracilu
- Na tomto stupni reaguje pyrimidin a aktivovanou formou ribosafosfátu, **5-fosforibosyl-1-difosfátem** za vzniku nukleotidu oriditin-5'-fosfátu
- Odštěpením karboxylové skupiny vzniká **uridinmonofosfát (UMP)**, který dvojí reakcí s ATP přechází na UDP a UTP
- Tato látka je koenzymem glykosyltransferás a výchozí substrát pro syntézu RNA, ale také zdroj **cytidintrifosfátu (CTP)**, který se z ní tvoří ligasovou reakcí s glutaminem





- Obě hlavní pyrimidinové složky nukleových kyselin vznikají společnou biosyntetickou cestou
- Biosyntéza probíhá v cytosolu a je tak oddělena od tvorby močoviny probíhající v mitochondriální matrix, ač oba pochody vycházejí z téhož substrátu **karbamoylfosfátu**
- Zdrojem této látky pro syntézu pyrimidinů je **cytosolární karbamoylfosfátsynthasa** (EC 6.3.5.5), lišící se od mitochondriálního enzymu tím, že zdrojem dusíku není amoniak, ale **glutamin**
- Enzym není aktivován N-acetylglutamátem, ale je inhibován produktem celé biosyntetické cesty, UTP
- Tento vztah je příkladem regulace biosyntézy mechanismem **negativní zpětné vazby**
  - při dostatku pyrimidinových nukleotidů v buňce automaticky klesá syntéza výchozího substrátu jejich biosyntézy, karbamoylfosfátu



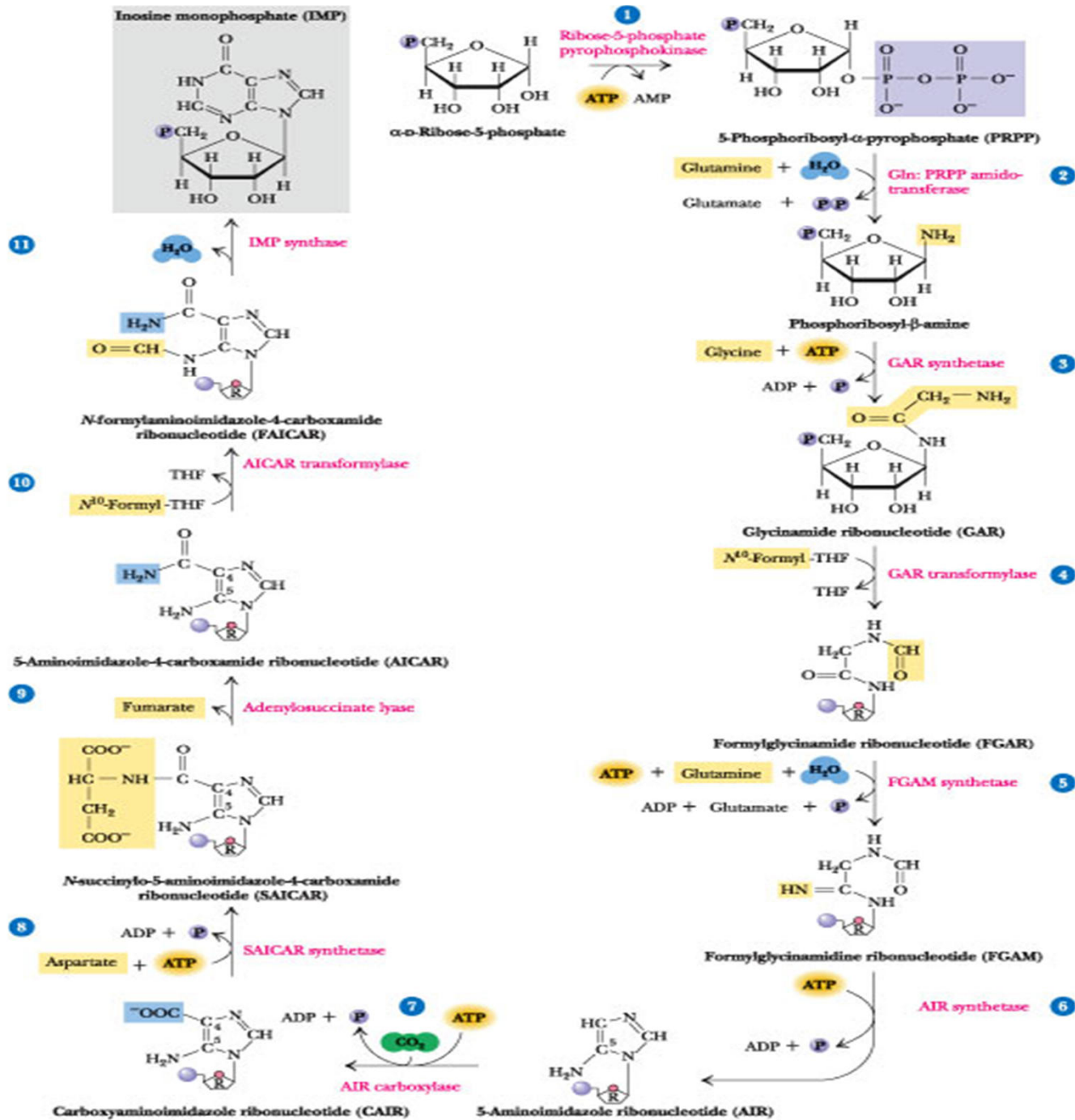
## Biosynthesa purinů

- Na rozdíl od pyrimidinů se **puriny** syntetizují přímo ve formě nukleotidů
- Syntéza purinového jádra začíná tvorbou **5-fosforibosylaminu**, tj. „amonium-5'-nukleotidu“ reakcí glutaminu s 5-fosforibosyl-1-difosfátem
- Tato látka se acyluje glycinem za vzniku **5'-fosforibosylglycinamidu**
- Reakcí s 5,10-methylenetetrahydrofolátem vzniká **5'-fosforibosyl-N-formylglycinamid**, který obsahuje všechny atomy imidazolového jádra purinu
- Přenosem amidového dusíku z **glutaminu** se mění amidová skupina na amidinovou v **5'-fosforibosyl-N-formylglycinamidinu**
- nově zavedená aminoskupina je základ pro pyrimidinový kruh purinu
- V dalším kroku se ligasovou reakcí uzavírá imidazolový kruh na **5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol**, který se dále **karboxyluje**  $\text{CO}_2$  **bez účasti** známých karboxylačních koenzymů na **5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxylát**
- V dalším reakčním stupni reakce se tvoří z karboxylu amid mechanismem analogickým tvorbě argininu z citrullinu
- zdrojem dusíku je **aspartát**, který se mění na fumarát



- **Formylací** aminoskupiny 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxamidu 10-formyltetrahydrofolátem vzniklý **5'-fosforibosyl-5-formamidoimidazol-4-karboxamid** obsahuje všechny atomy purinového jádra, které se pak uzavírá dehydratací za vzniku **inosin-5'-fosfátu (IMP)**
- Tato látka je výchozím substrátem pro syntézu obou významných purinových nukleotidů
- Náhradou kyslíku aminoskupinou z **aspartátu** (stejným mechanismem jako při tvorbě 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxamidu) vzniká **AMP**
- Pro tvorbu **GMP** je nutná dehydrogenace IMP  $\text{NAD}^+$  na **xanthosin-5'-fosfát (XMP)**, v němž se pak nahrazuje karbonylový kyslík v poloze 6 aminoskupinou z glutaminu ligasovou reakcí





- Purinové jádro vzniká tedy jako „**mozaika**“ částí procházejících z různých zdrojů
- Rozhodující úlohu při jeho tvorbě má **tetrahydrofolátový systém** přenosu  $C_1$ -látek, který je proto nezbytnou složkou všech forem živé hmoty
- Protože efektivní funkce systému syntetizujícího puriny je esenciální pro rychle rostoucí a množící se buňky, jsou na ní mnohem více závislé buňky nádorové než normální somatické buňky
- Proto je jednou ze strategií v léčbě nádorových onemocnění blokáda tvorby purinů, např. antimetabolity kyseliny listové, které jsou mnohem toxičtější pro nádorové než pro somatické buňky



## LITERATURA

- 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

