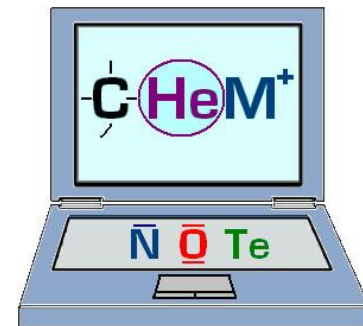




Evropský sociální fond
Praha & EU: Investujeme do vaší budoucnosti



Citrátový a glyoxylátový cyklus

Buněčná respirace

I. Fáze

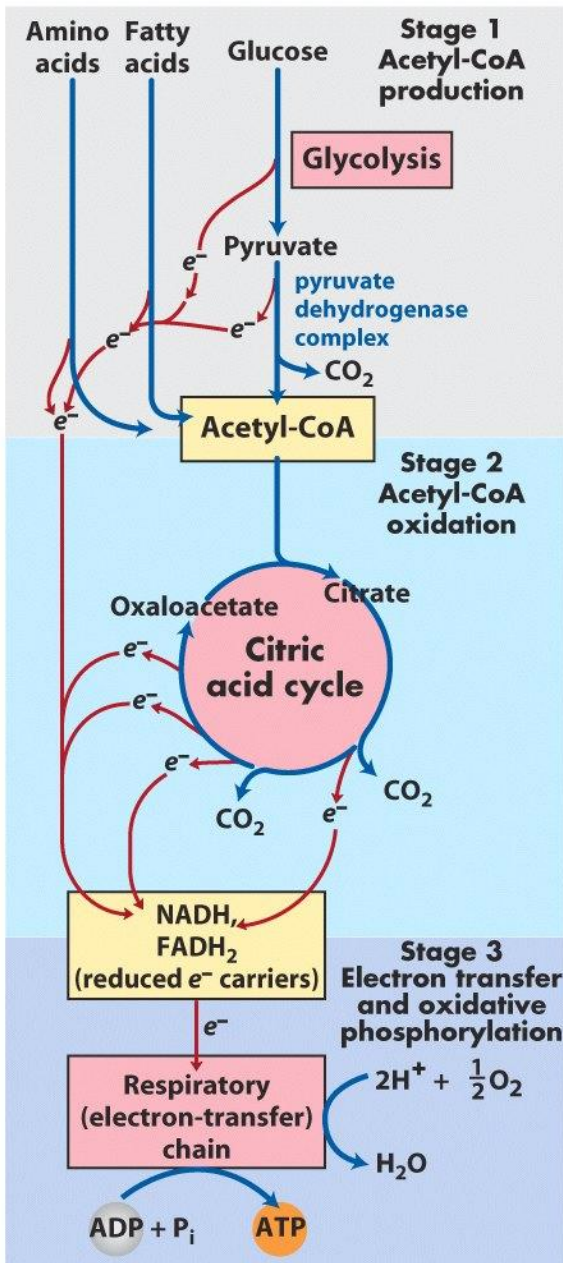
Energeticky bohaté látky jako glukosa, mastné kyseliny a některé aminokyseliny jsou oxidovány za vzniku dvouuhlíkových fragmentů (acetylová skupina acetylCoA)

II. Fáze

Acetylové skupiny jsou oxidovány v Krebsově cyklu, vzniká z nich oxid uhličitý, uvolněná energie je ukládána do NADH_2 a FADH_2

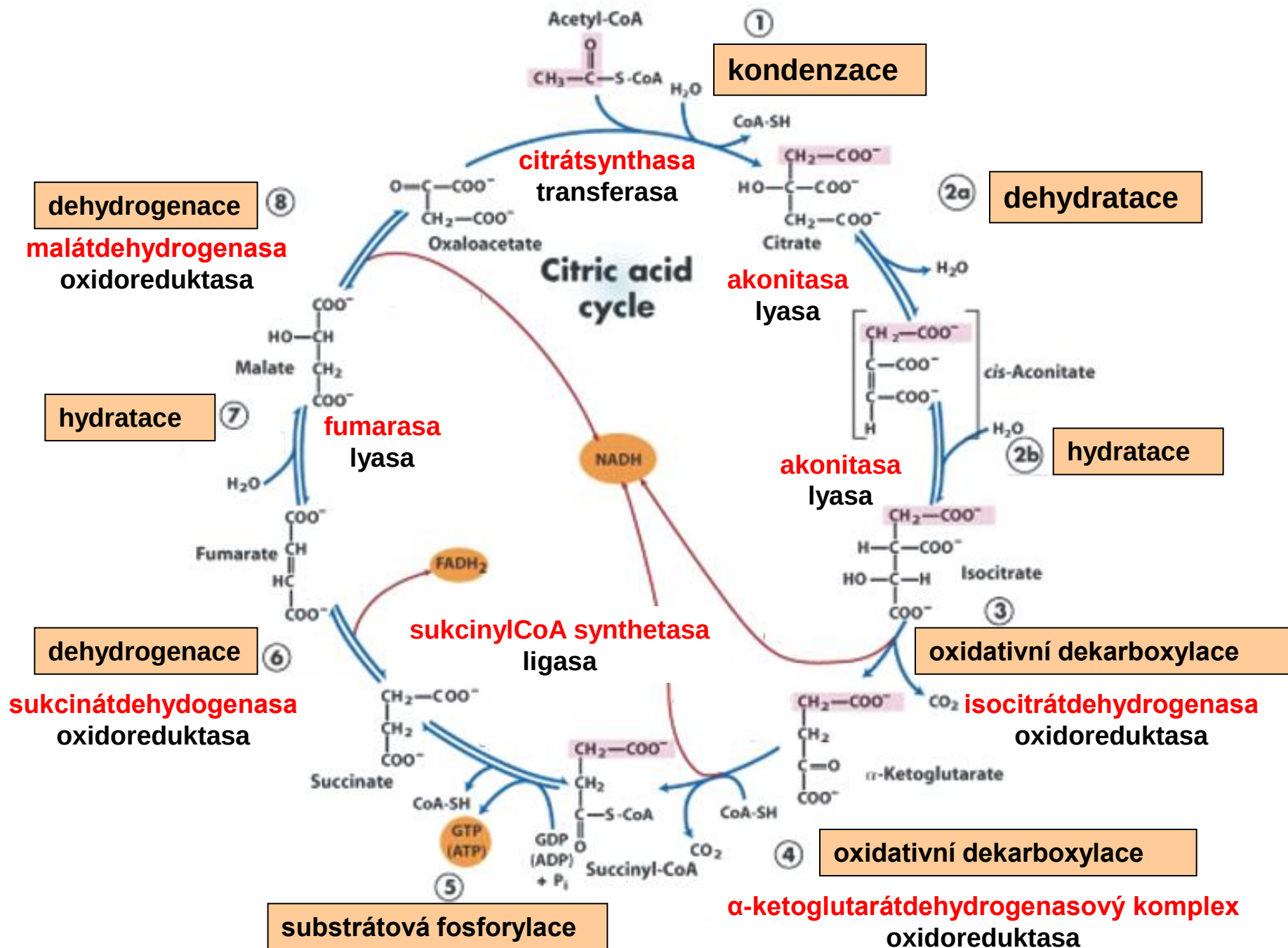
III. Fáze

Redukované koenzymy jsou regenerovány, elektrony jsou přenášeny na kyslík, energie uvolněná na řetězci přenašečů je ukládána do ATP (přes PMF)



Citrátový cyklus

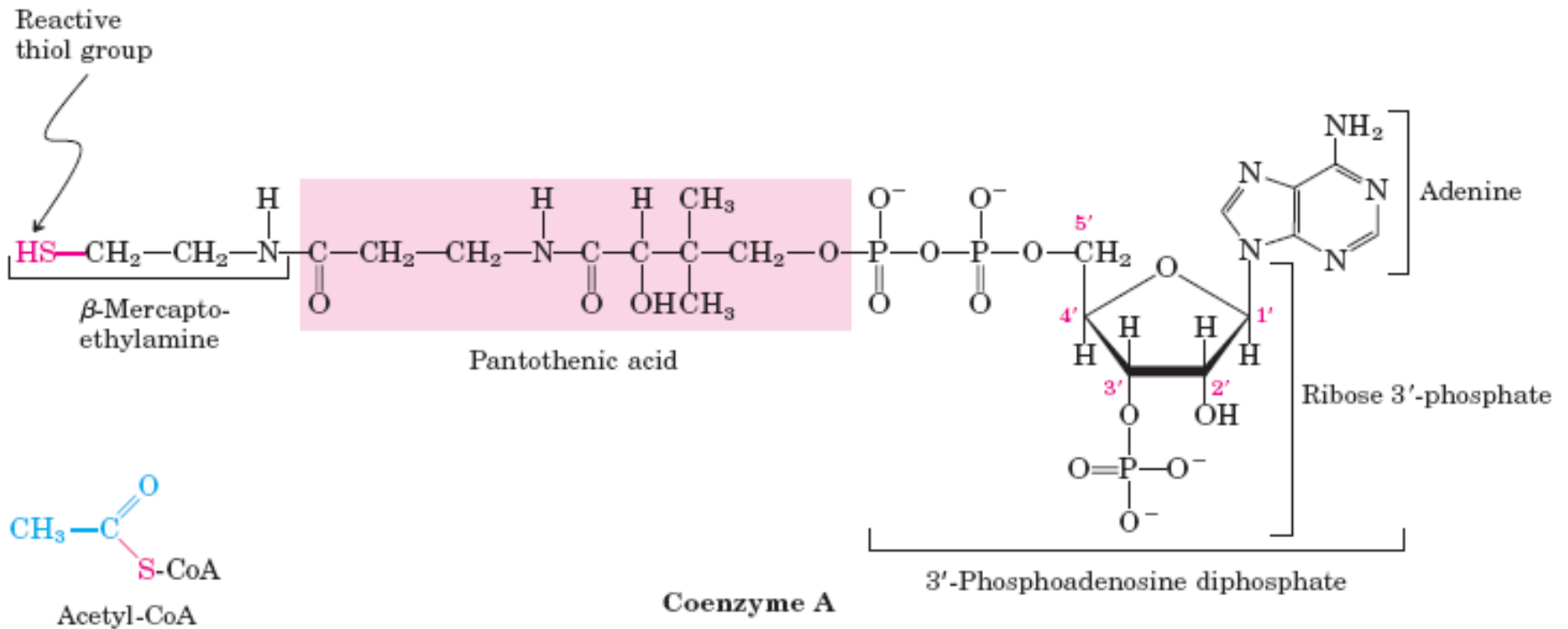
- amfibolický děj zodpovědný za oxidaci většiny cukrů, mastných kyselin i aminokyselin
- původce mnoha prekursorů
- probíhá v mitochondriích
 - 7 z 8 enzymů je v mitochondriální matrix, jen sukcinát dehydrogenasa je ve vnitřní mit. membráně - je to proto, že NADH může volně difundovat, takže se snadno do vnitřní mit. membrány dostane a tam je oxidativní fosforylace, FAD je silně vázán na svou dehydrogenasu a proto je ta dehydrogenasa rovnou v té membráně.
- klíčovým spojovacím článkem je acetylCoA
- $3 \text{ NAD}^+ + \text{FAD} + \text{GDP} + \text{P}_i + \text{acetyl CoA} \rightarrow 3 \text{ NADH} + \text{FADH}_2 + \text{GTP} + \text{CoA} + 2\text{CO}_2$



	triviální název	třída	prostetická skupina (koenzymy)	regulace
1.	pyruvátdehydrogenasa (E1 : pyruvátdekarboxylasa, E2: dihydrolipoyltransacetylasa, E3: dihydrolipoyldehydrogenasa)	(multienzymový komplex)	TPP, lipoyl, FAD, (NAD ⁺ , CoA)	(+) CoA, NAD ⁺ , Ca ²⁺ (-) AcCoA, NADH, mastné kyseliny
2.	Citrátsynthasa	transferasa	-	(+) ADP (-) NADH, sukcinyl-CoA, citrát, ATP
3.	Akonitasa	lyasa	Fe-S	
4.	Isocitrátdehydrogenasa	oxidoreduktasa	(NAD ⁺)	(+) Ca ²⁺ , ADP (-) ATP
5.	2-oxoglutarátdehydrogenasa (podobně jako 1.)	(multienzymový komplex)	TPP, lipoyl, FAD, (NAD ⁺ , CoA)	(+) Ca ²⁺ (-) sukcinyl-CoA, NADH
6.	sukcinyl-CoA synthasa	ligasa	(GDP/GTP)	
7.	Sukcinátdehydrogenasa	oxidoreduktasa	FAD, (ubichinol)	
8.	Fumarasa	lyasa	-	
9.	Malátdehydrogenasa	oxidoreduktasa	(NAD ⁺)	

PŘEDPOKLÁDÁ SE VAŠE ZNALOST NÁZVŮ ENZYMŮ + ENZYMŮVÝCH TŘÍD

Acetyl CoA



PŘEDPOKLÁDÁ SE ZNALOST VZORCŮ KOFAKTORŮ (acetylCoA, lipoát, NAD, FAD)

Metabolické zdroje acetylCoA

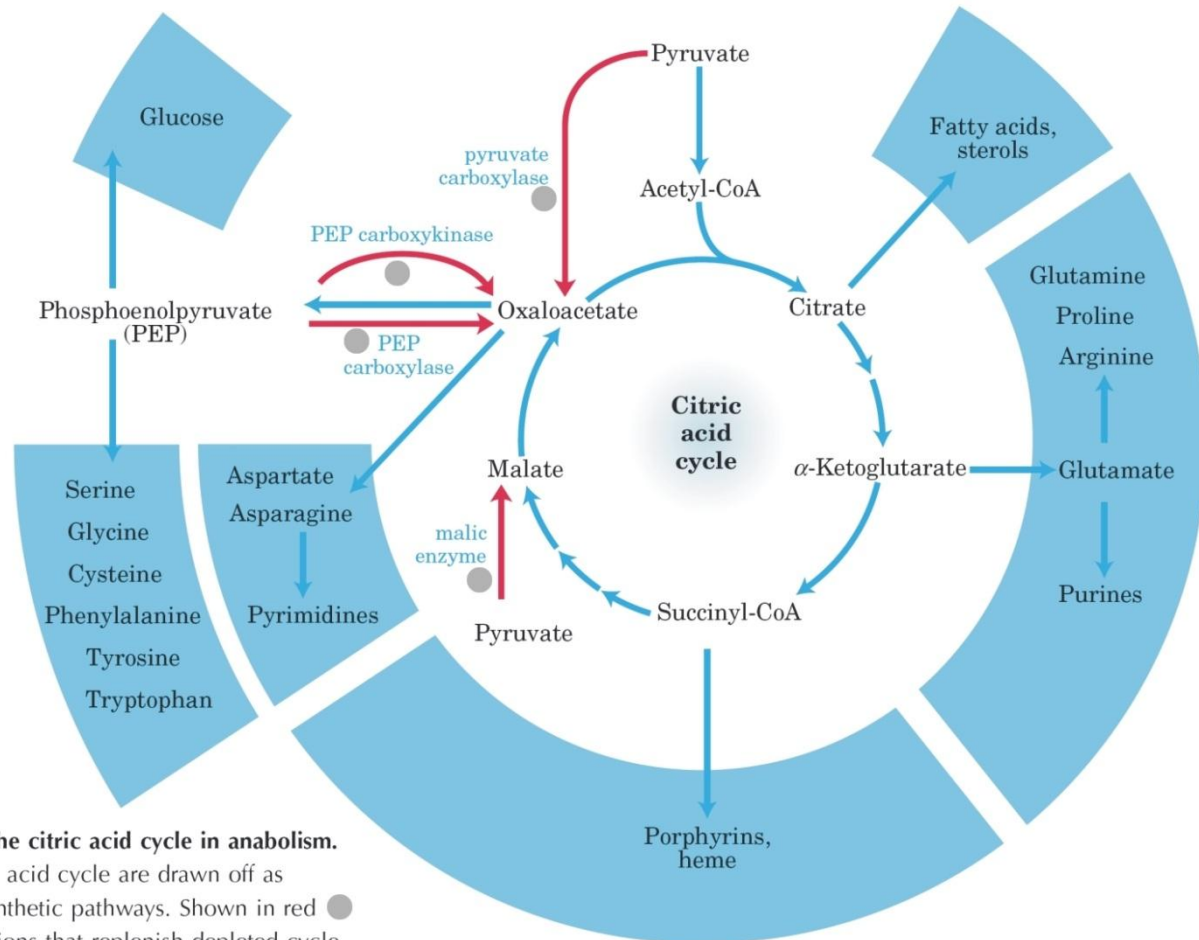
- bezprostředním prekursorem je pyruvát
- vzniká působením multienzymového komplexu pyruvátdehydrogenasy (PDH) oxidační dekarboxylací v pěti krocích, jsou-li aerobní podmínky, při anaerobních podmínkách je NADH vzniklý v glykolýze regenerován redukcí pyruvátu na laktát či ethanol
- regulace je naprosto klíčová, neboť dekarboxylace je nevratná a savci nemají jinou dráhu pro syntézu acetylCoA z pyruvátu
- inhibice produktem (reversibilní reakce po dekarboxylaci v komplexu)
- inhibice fosforylací pyruvátdekarboxylasy (aktivátory kinasy – AcCoA, NADH)
- PDH – tři různé enzymy, pět kofaktorů (4 z nich odvozené od vitamínů) (thiamin pyrofosfát, FAD, CoA, NAD, lipoát, multienzymový komplex, ve kterém intermediáty neopouštějí komplex (substrate channeling) – lokální koncentrace substrátu E2 je velmi vysoká, navíc ochrana aktivované acetylové skupiny před jinými enzymy, pro něž je substrátem
- pyruvát dehydrogenasa (E1), dihydrolipoyl transacetylasy (E2), dihydrolipoyl dehydrogenasa (E3), množství jedn. podjednotek se liší druh od druhu (skot např. 60x E2)
- mutace v genech pro PDH či dieta neobsahující THIAMIN znamená velký problém hl. pro mozek (E z aerobního odbourávání glukosy), nelze oxidovat pyruvát, onemocnění beriberi (bílá loupaná rýže, slupky s thiaminem nejsou)
- Thiaminpyrofosfát náchylný k reakci např. se rtuť, arsenitanům.....po WWI vyvinuli 2,3 dimerkaptopropanol BAL (british anti-lewisit)



Amfibolická povaha CC

- základ je katabolismus, který nesmí být porušen, takže spotřebované intermediáty musí být doplňovány
- glukoneogenese (využívá malát transportovaný přes mitochondriální membránu)
- biosynt. lipidů (MK i cholesterolu) – jsou to procesy v cytosolu a vyžadují acetylCoA. Ten vzniká v mitochondriích a není transportován. Cytosolický acetylCoA tedy vzniká štěpením citrátu, který transportován být může.
- biosynt. AK (2-oxoglutarát k syntéze glutamátu; 2-oxoglutarát a oxalacetát pro syntézu glutamátu a aspartátu)
- syntéza porfyrinu využívá sukcinylCoA

Amfibolická povaha citrátového cyklu



Role of the citric acid cycle in anabolism.

Intermediates of the citric acid cycle are drawn off as precursors in many biosynthetic pathways. Shown in red ● are four anaplerotic reactions that replenish depleted cycle intermediates

Anaplerotické reakce doplňující meziprodukty citrátového cyklu

1. produkce oxalacetátu – pyruvátkarboxylasa, PEP karboxykinasa, PEP karboxylasa



2. produkce malátu – jablečný enzym



Regulace aktivity – proč ?

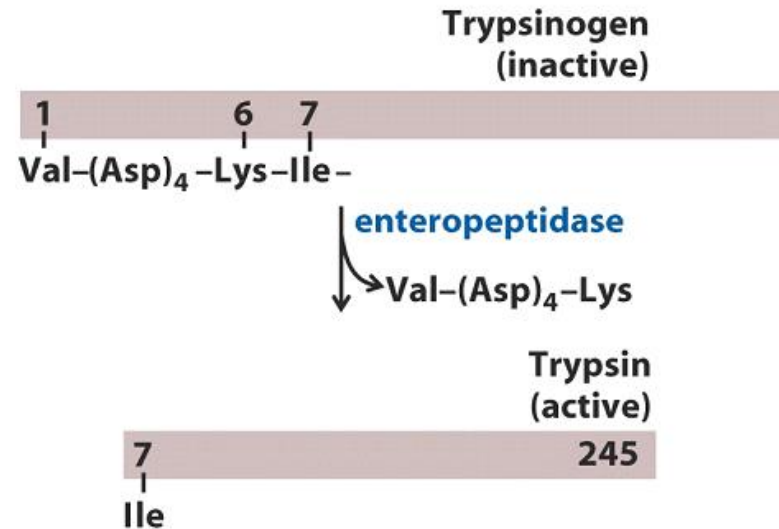
- Zajišťuje efektivní využívání zdrojů a tím přežití buňky (urychlení podstatných dějů a zpomalení dějů méně nutných v daném okamžiku).
- Každá dráha zahrnuje jeden či více regulačních enzymů.
- Aktivita regulačních enzymů je snižována či zvyšována podle aktuální potřeby organismu.
- Rychlost jimi katalyzované reakce ovlivňuje rychlost průběhu celého metabolického děje.
- Většinou je regulována první reakce dráhy. (NEJVÝHODNĚJŠÍ)
- Často i regulace některých dalších reakcí.

Regulace obecně

- Regulace na úrovni transkripce a translace (přepis genů, životnost mRNA, počet kopií, životnost proteinu)
- Proteolytická aktivace
- U enzymů regulace aktivity – kovalentní modifikace a allosterická regulace

Proteolytická aktivace

- vyštěpení peptidového segmentu z neaktivního zymogenu
- nevratná !!!



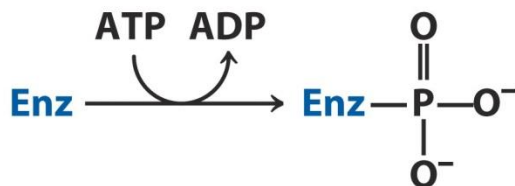
Regulace kovalentní modifikací

- kovalentní vazba – reversibilní!!!
- nejčastější typy modifikací : **fosforylace**, adenylace, karboxylace, acetylace, uridylace, ADP-ribosylace, methylace, sulfatace, myristoylace . .
- obvykle připojuje speciální enzym, např: kinasy x fosfatasy
- důsledkem může být změna konformace, ale např. u fosforylace je zásadní i vliv nabitých skupin

Covalent modification (target residues)

Phosphorylation

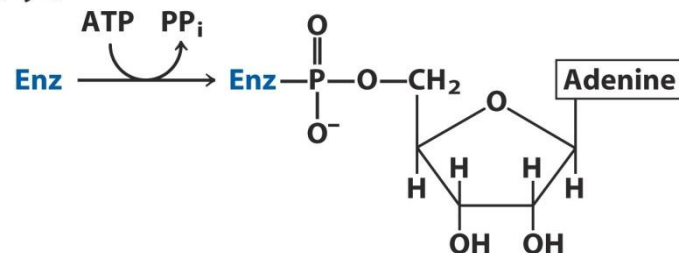
(Tyr, Ser, Thr, His)



Covalent modification (target residues)

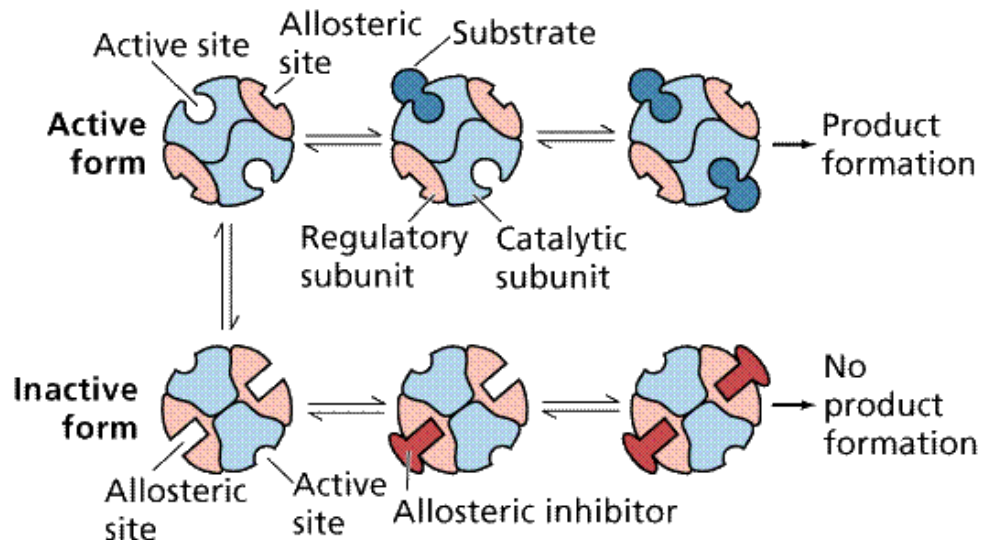
Adenylation

(Tyr)



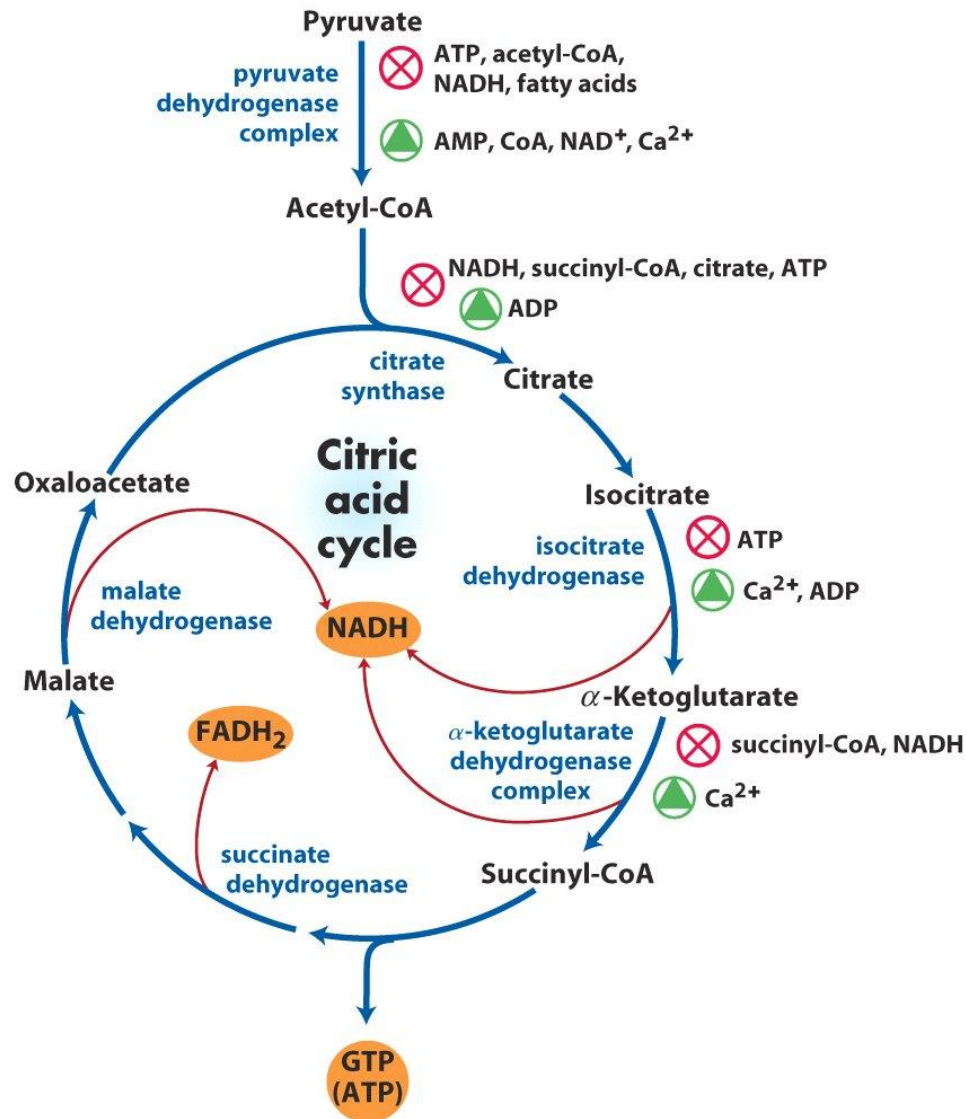
Allosterická regulace

- reversibilní vazba regulačních molekul
- allosterické efektory – malé metabolity či kofaktory (inhibitory x stimulátory)
- konformační změny vedou k přechodu enzymu z méně aktivní formy na aktivnější či naopak
- enzym má kromě aktivního centra ještě místo pro vazbu allosterického efektoru
- často inhibice konečným produktem dráhy (inhibice zpětnou vazbou)
- Allosterická regulace homotropní a heterotropní



Regulace citrátového cyklu

- obecně regulováno dostupností substrátu, inhibicí produktem a kompetitivní zpětněvazebnou inhibicí dalšími intermediáty
- **citrátsynthasa** – dostupnost substrátu (acetylCoA a oxalacetát jsou v mitochondriích v daleko menší míře než stačí k saturaci citrátsynthasy)
- **isocitrátdehydrogenasa** – inaktivace fosforylací nezvykle v aktivním místě a ne v allosterickém (jak tomu většinou bývá)
- **2-oxoglutarátdehydrogenasa** – inhibicí produktem (sukcinylCoA a NADH)
- ADP, ATP a Ca^{2+} ionty jsou allosterické regulátory
- PDH inhibován ATP, acetylCoA a NADH (inhibice produktem), regulován allostericky a reversibilní fosforylací
- fosfatásová deficiencie => PDH stále fosforylována a neaktivní, GLU jde na laktosu a laktosová acidosa poškozuje mnoho orgánů



Glyoxylátový cyklus

- ROSTLINY na rozdíl od živočichů mají systém čistého převodu acetylCoA na glukosu glyoxylátovou drahou
- enzymy jsou v mitochondriích a glyoxysomech
 - oxalacetát v mit. převeden transaminací na aspartát a transportován do glyoxysomu, kde je deaminován zpět na oxalacetát
 - oxalacetát je pak kondensován s acetylCoA na citrát, ten isomeruje na isocitrát
 - isocitrátlyasa štěpí isocitrát na sukcinát a glyoxylát
 - sukcinát transportován do mit. kde je citrátovým cyklem přeměněn na oxalacetát
- sumárně tedy vychází změna acetylCoA na glyoxylát (CC je acetylCoA na dvě CO_2)
 - glyoxylát kondenzuje s druhou molekulou acetylCoA na malát (malátsynthasa)
 - cytosolická malátdehydrogenasa oxiduje malát na oxalacetát
- isocitrátlyasa a malátsynthasa (JEN V ROSTLINÁCH) umožňují rašícím semenům převést zásobní triacylglyceroly na glukosu tímto mechanismem (přes acetylCoA)

Glyoxylátový cyklus

