

Citrátový cyklus

Doporučený poměr živin

Živina	Procento příjmu energie/den
Škroboviny	55 – 60 %
Tuky	≤ 30 %
Bílkoviny	10 -15 %

SAFA ≈ 5 %

MUFA ≈ 20 % *

PUFA ≈ 5 %

* 67 % tuků

Esenciální MK: linolová, α -linolenová

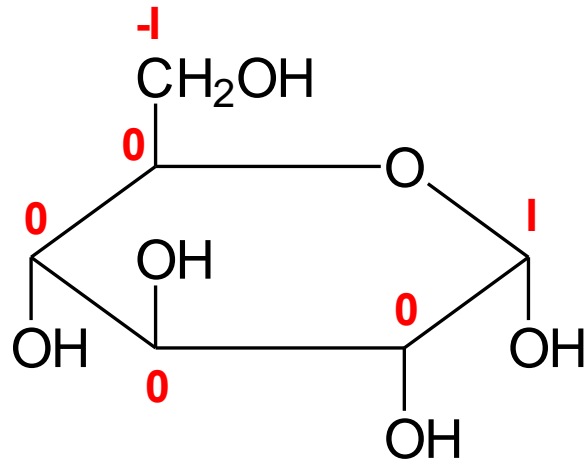
Podmíněně esenc. MK: arachidonová

Esenciální AK: Phe, Trp, Val, Leu, Ile, Met, Thr, Lys

Podmíněně esenc. AK: His, Arg (dětství), Ala, Gln (metab. stres)

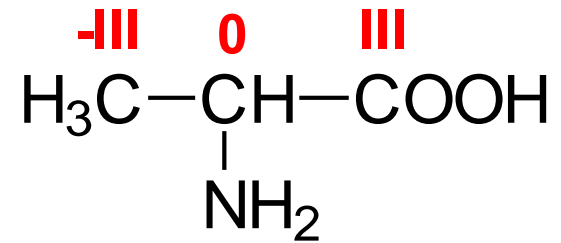
Živiny jsou redukované formy uhlíku

protože v nich převažují nízká oxidační čísla uhlíku



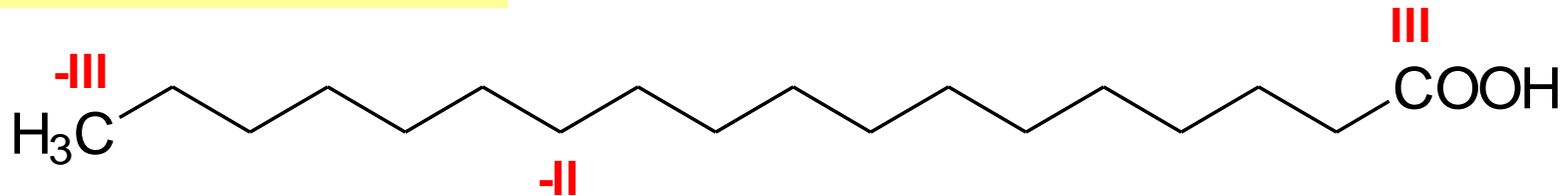
glukosa: 6,7 % H

Průměrné ox.č. C = 0,0



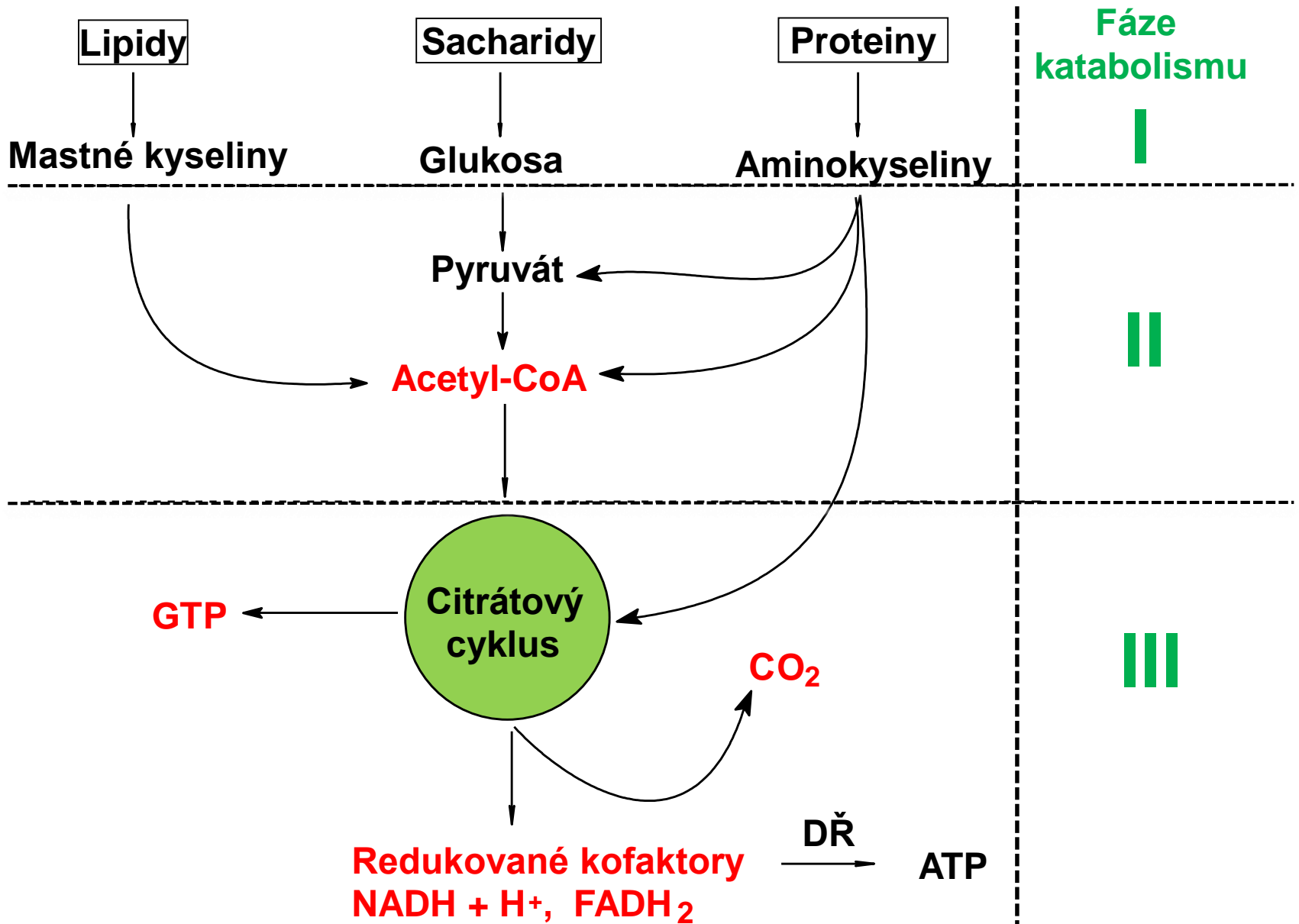
alanin: 7,9 % H

Průměrné ox. č. C = 0,0



stearová kyselina: 12,8 % H

Průměrné ox. č. C = -1,8 \Rightarrow uhlík je nejvíce redukovaný



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 230.

Tři fáze katabolismu živin

I. Hydrolýza složitých molekul (biopolymerů) na zákl. stavební jednotky probíhá v trávicím traktu - **žádný zisk energie**

II. Postupná oxidace glukosy, AK na amfibolické meziprodukty - pyruvát, acetyl-CoA (mohou být pro syntézu) získá se jen **malé množství ATP** (glykolýza)

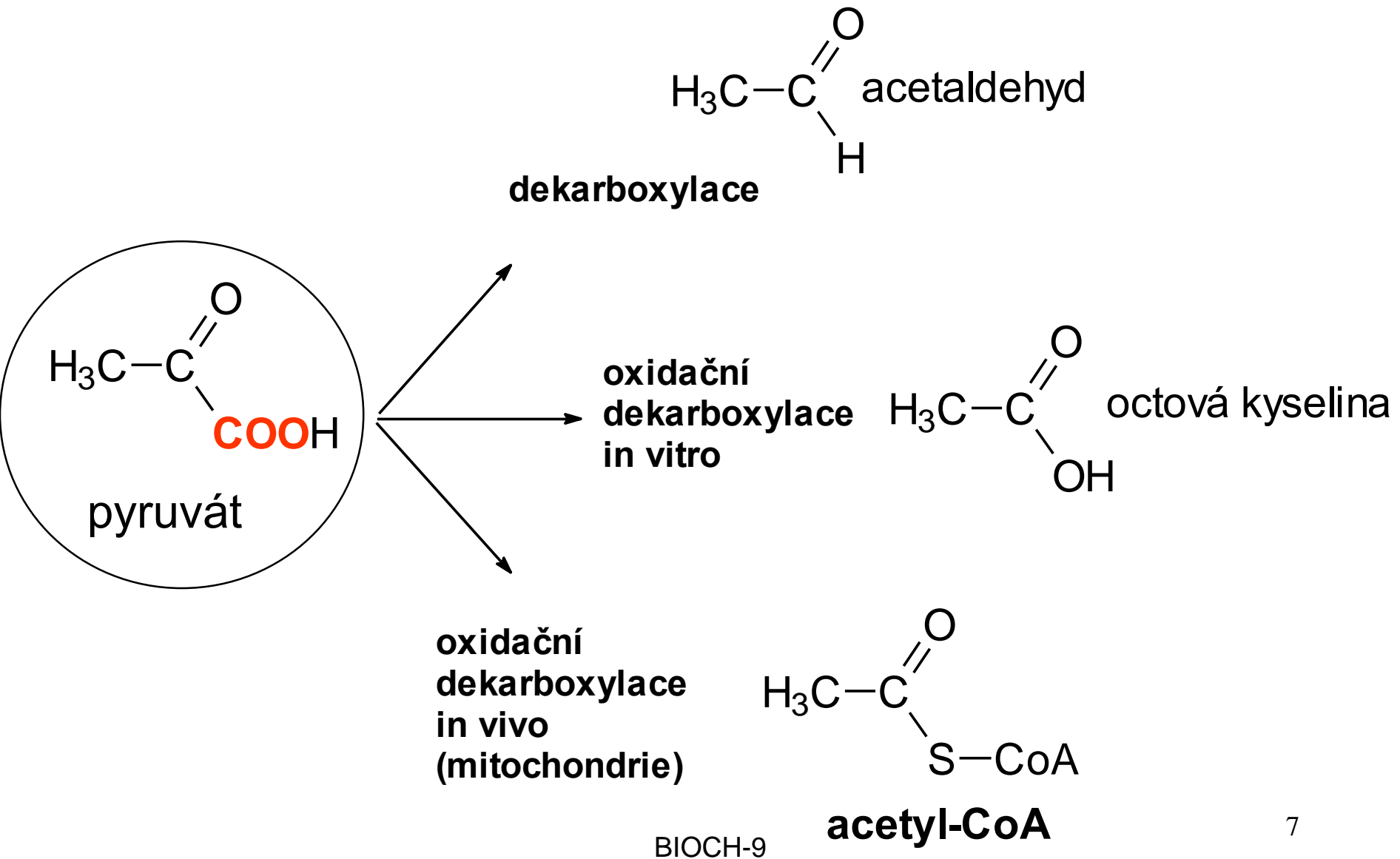
beta oxidace MK – acetyl-CoA + **redukované kofaktory**

III. Oxidace acetyl-CoA (CC) + reduk. kofaktorů (DŘ) - **největší zisk energie**

Acetyl-CoA vzniká různým způsobem

- oxidační dekarboxylací pyruvátu
- β -oxidací MK
- katabolismem některých AK

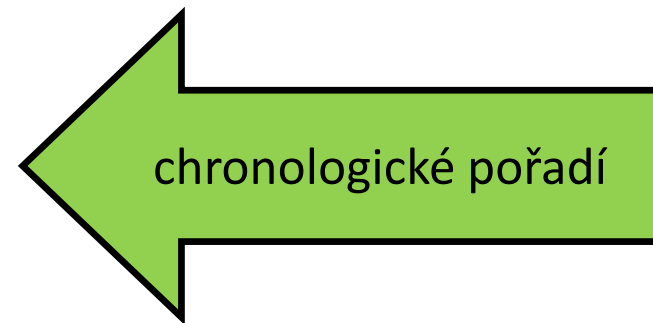
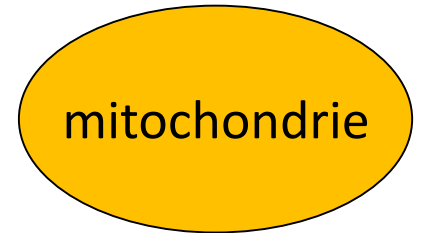
Různé způsoby dekarboxylace pyruvátu



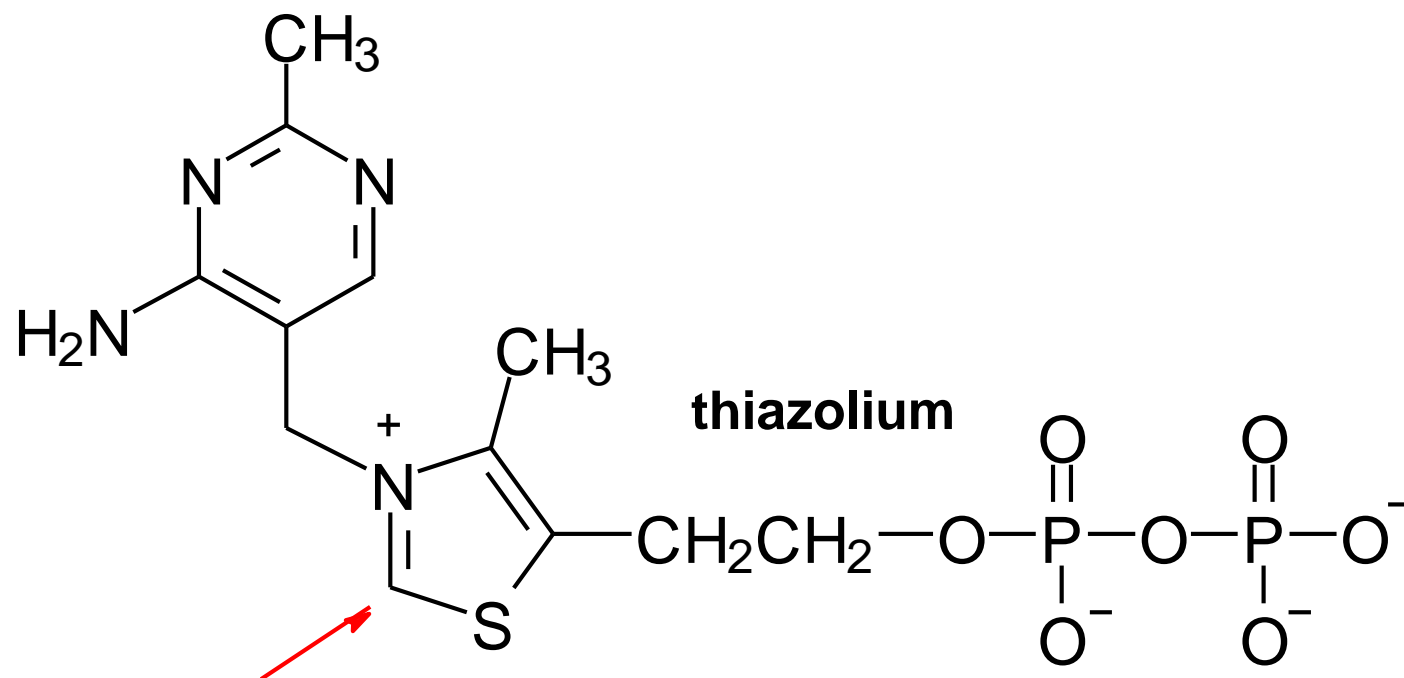
Oxidační dekarboxylaci pyruvátu katalyzuje pyruvátdehydrogenasový komplex:

3 enzymy a 5 kofaktorů

1. Thiamindifosfát
2. Lipoát
3. Koenzym A
4. FAD
5. NAD⁺

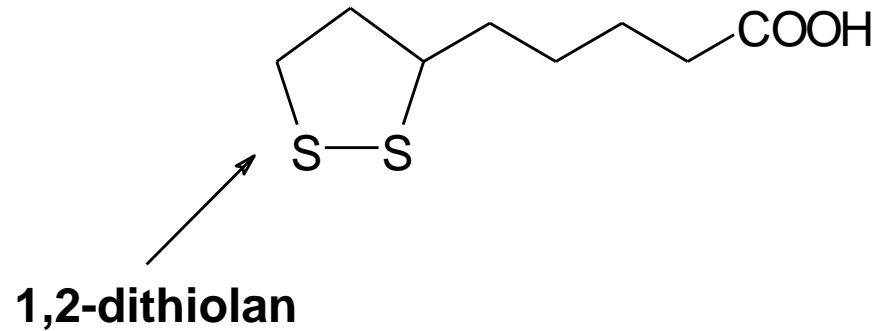


Thiamindifosfát



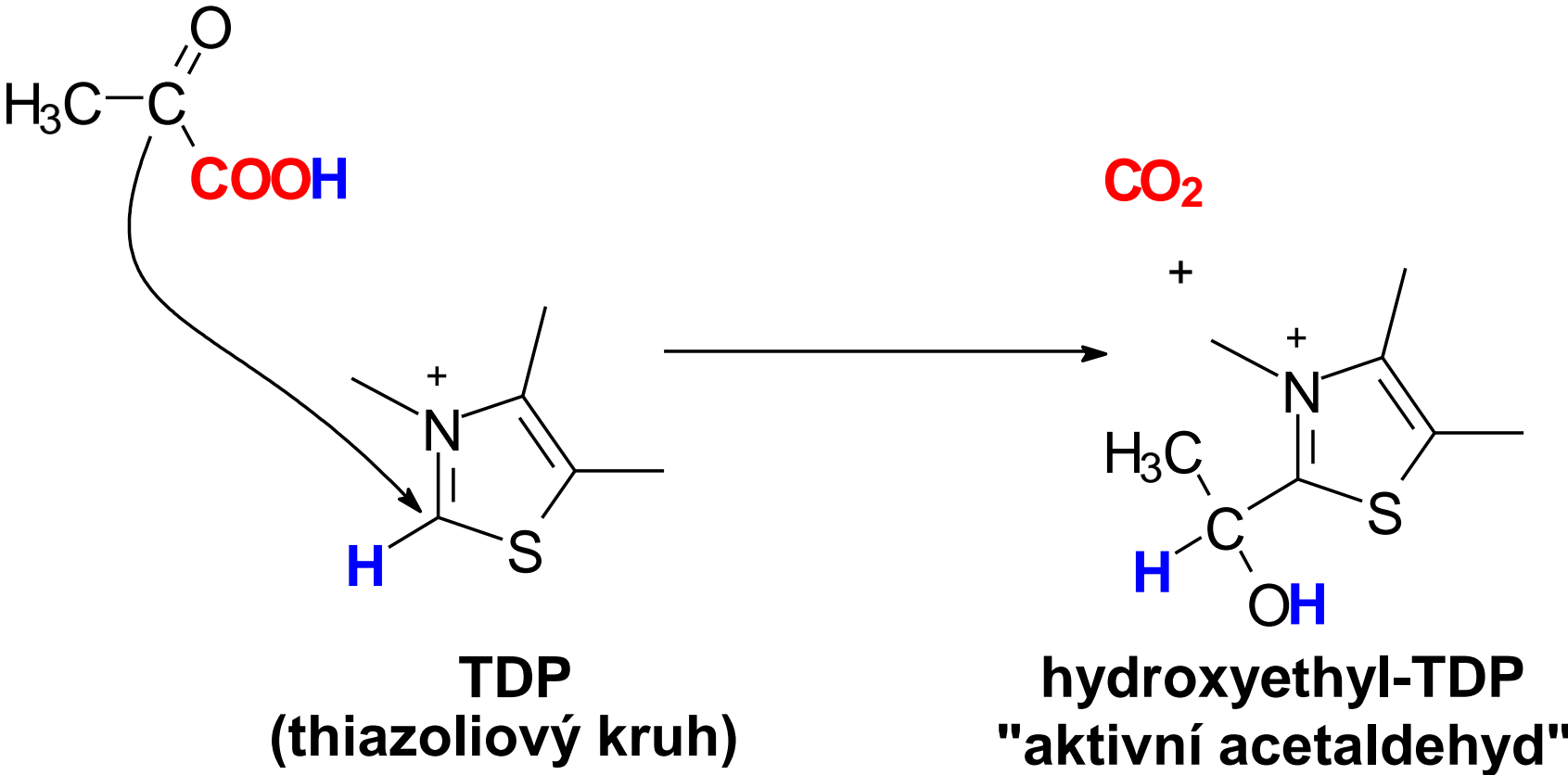
reaktivní atom C
váže "aktivní acetaldehyd"

Lipoát



- cyklický disulfid
- přijetím 2H vznikne dihydrolipoát s dvěma -SH skupinami
- součást komplexní oxidační dekarboxylace 2-oxokyselin (pyruvát, 2-oxoglutarát, 2-oxokyseliny z Val, Leu, Ile)

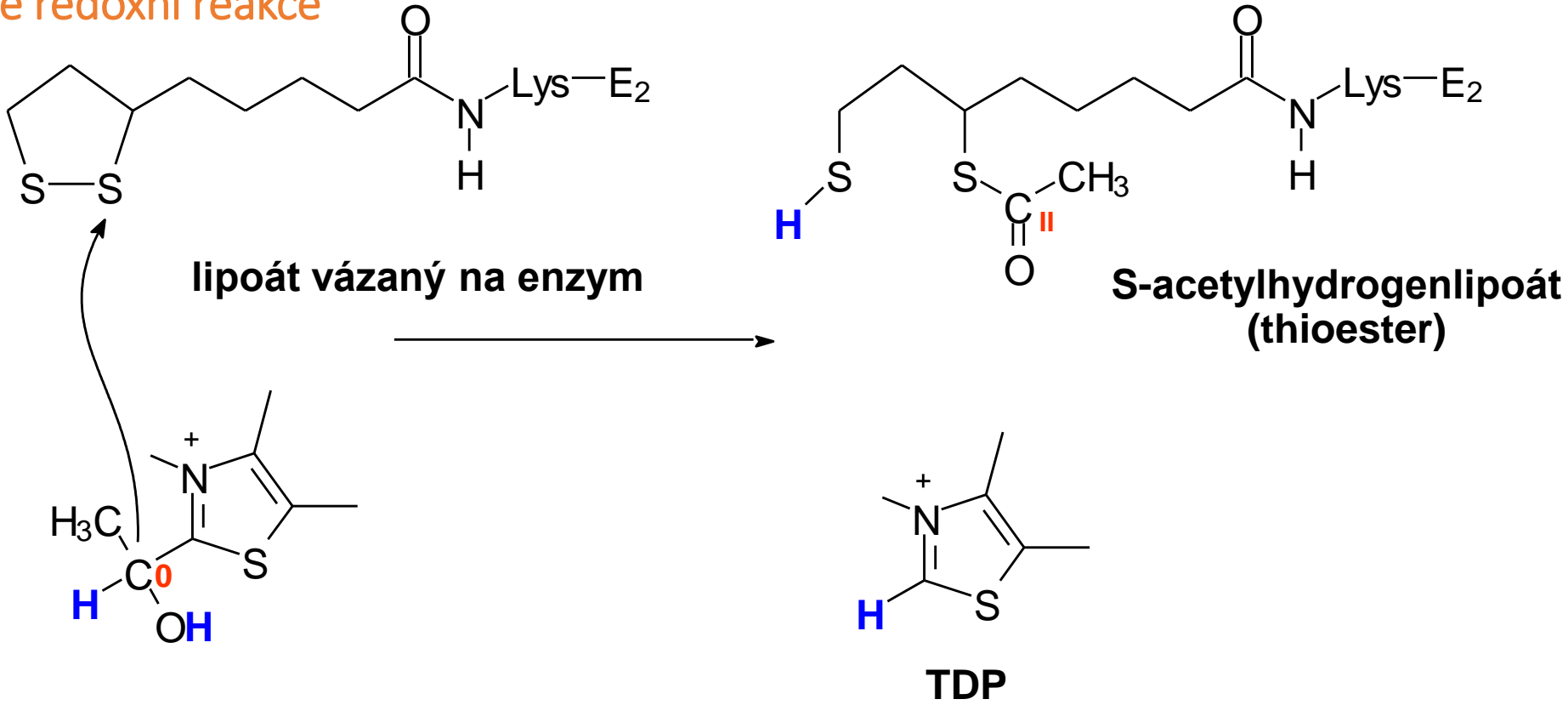
(1) Dekarboxylace pyruvátu



NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 231.

(2) Transfer acetylu na lipoát

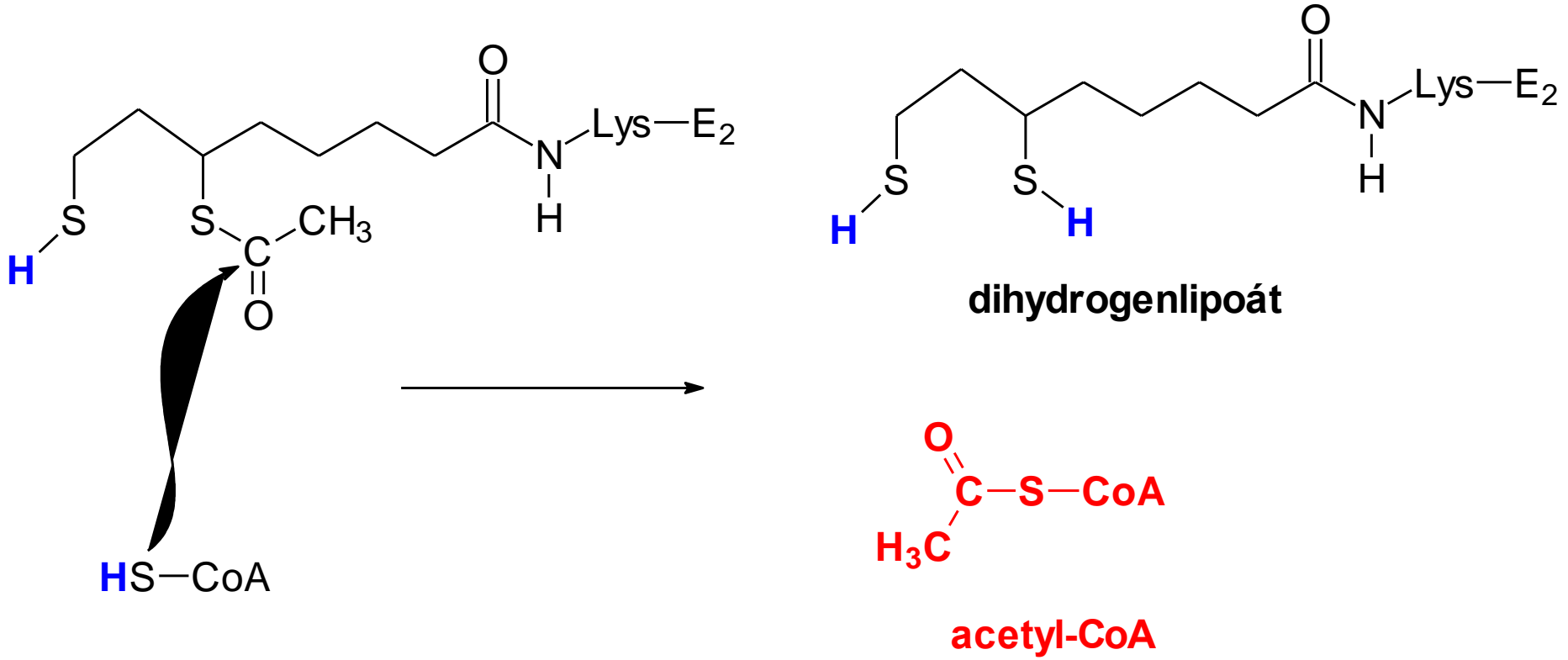
je redoxní reakce



- hydroxyethylová skupina se při transferu dehydrogenuje na thioester
- jeden atom H redukuje atom síry lipoátu na -SH skupinu
- druhý atom H se opět naváže na TDP

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 231.

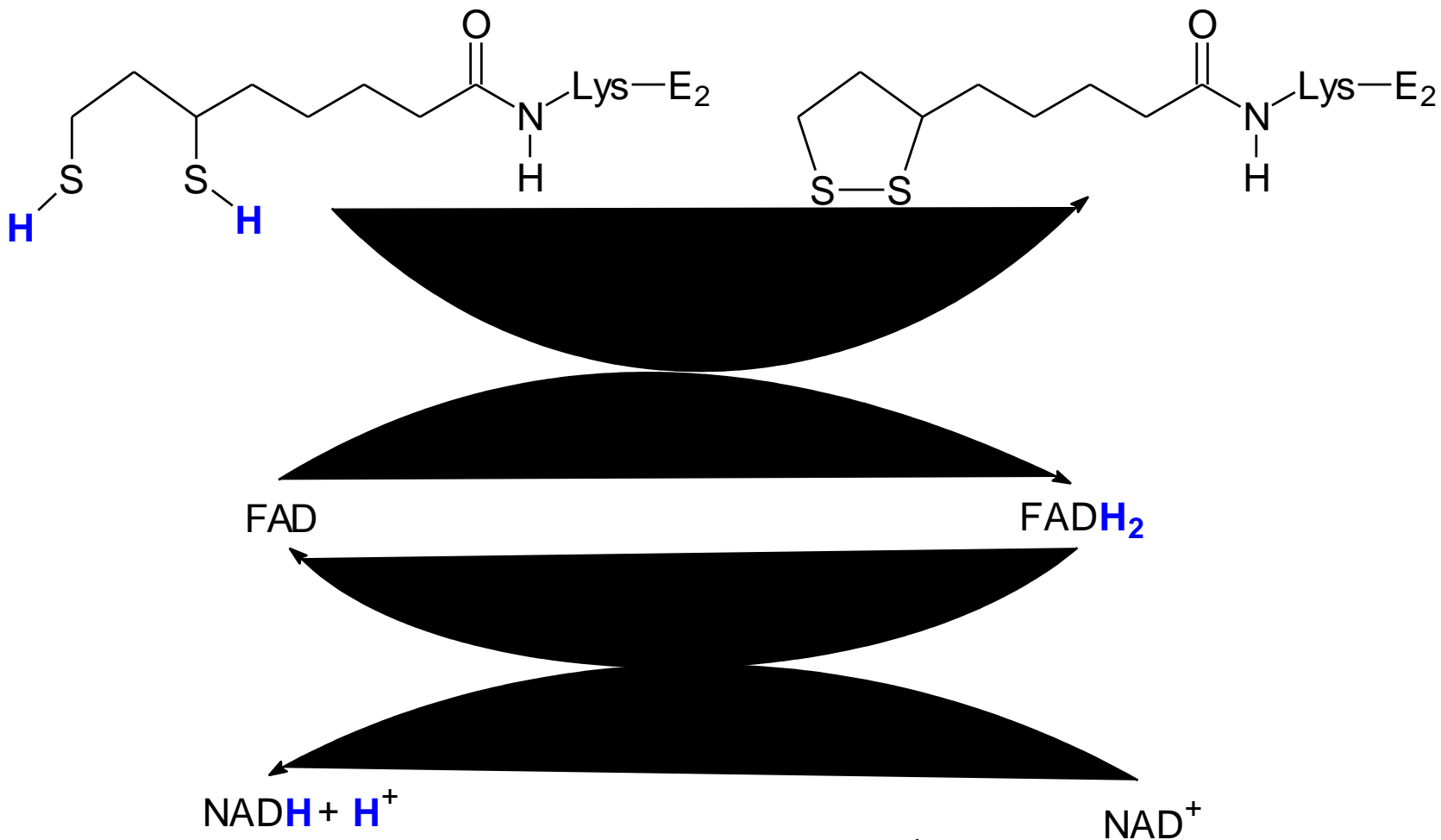
(3) Transfer acetylu na koenzym A



makroergní sloučenina

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 230.

(4) Postupný transfer 2H na NAD⁺

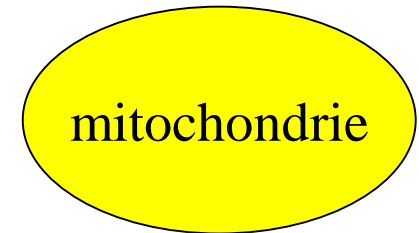


Pyruvátdehydrogenasa je inhibována
konečnými produkty:

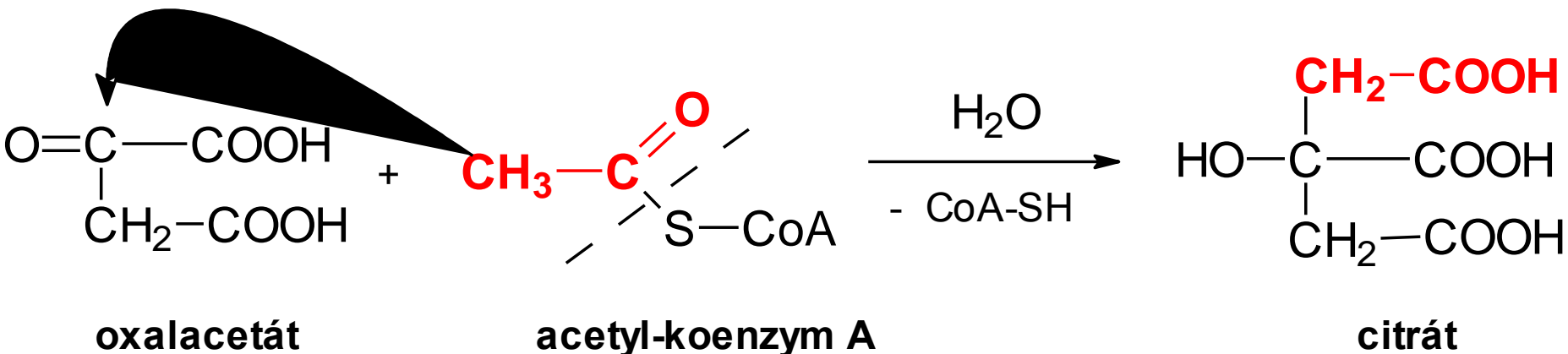
acetyl-CoA + NADH

Citrátový cyklus

- terminální metabolická dráha
- tři typy produktů:
- CO_2 → vydychá se
- redukované kofaktory → DŘ
- GTP → ATP



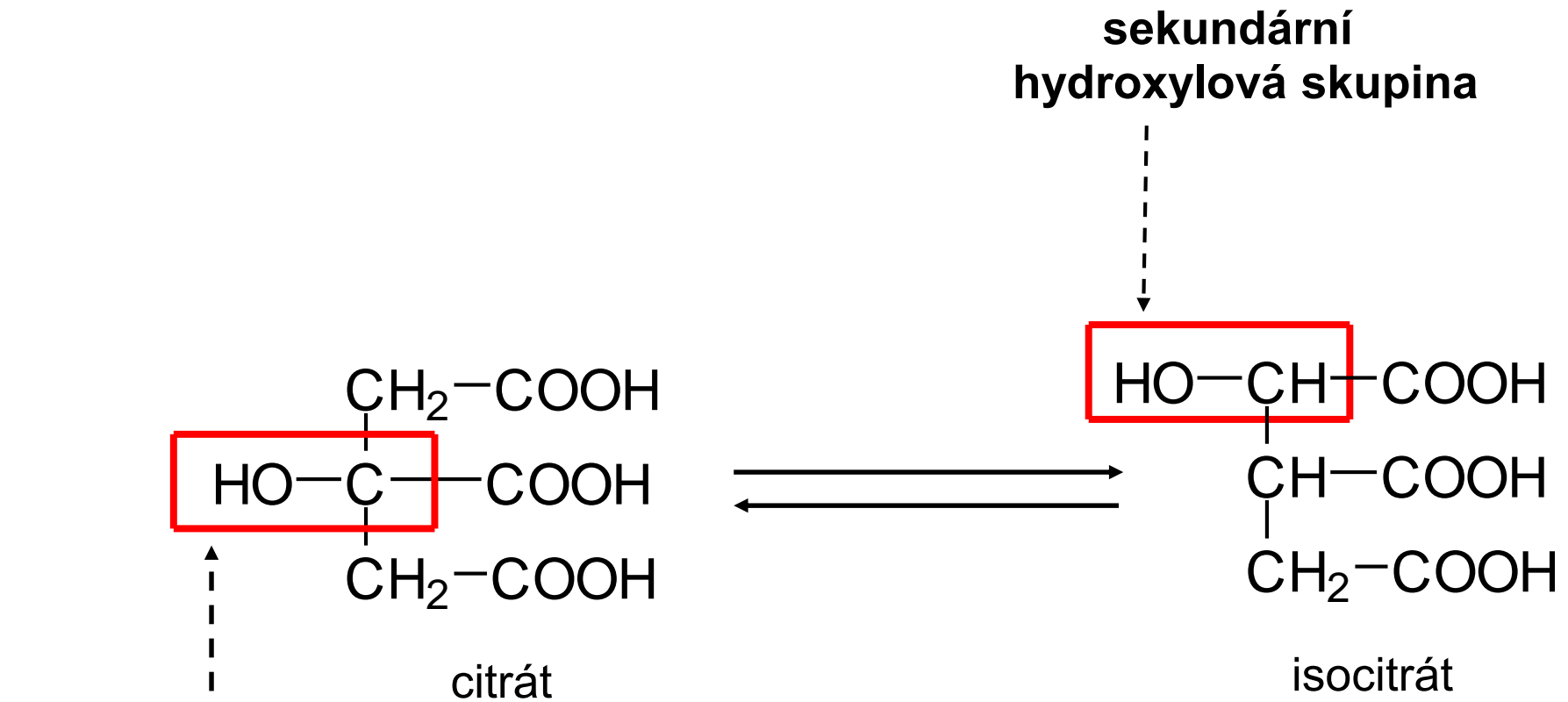
(1) Oxalacetát + Acetyl-CoA



Typ reakce: kondenzace Enzym: citrátsynthasa
 Kofaktor: koenzym A Poznámka: **nevratná**

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 233.

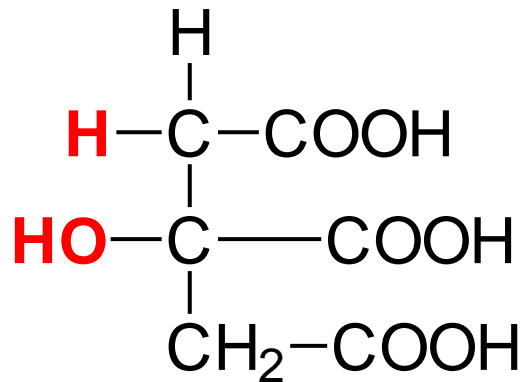
(2) Citrát → Isocitrát



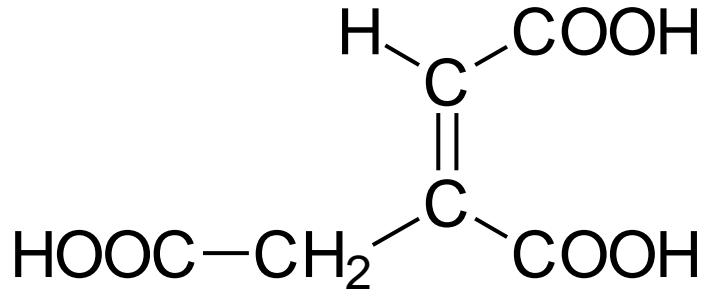
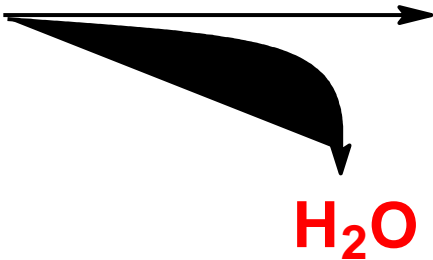
Typ reakce: izomerace Enzym: akonitasa Kofaktor: Fe-S
 Poznámka: ve skutečnosti dvě reakce, meziprodukt cis-akonitát

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 233. 19

(2a) Dehydratace citrátu



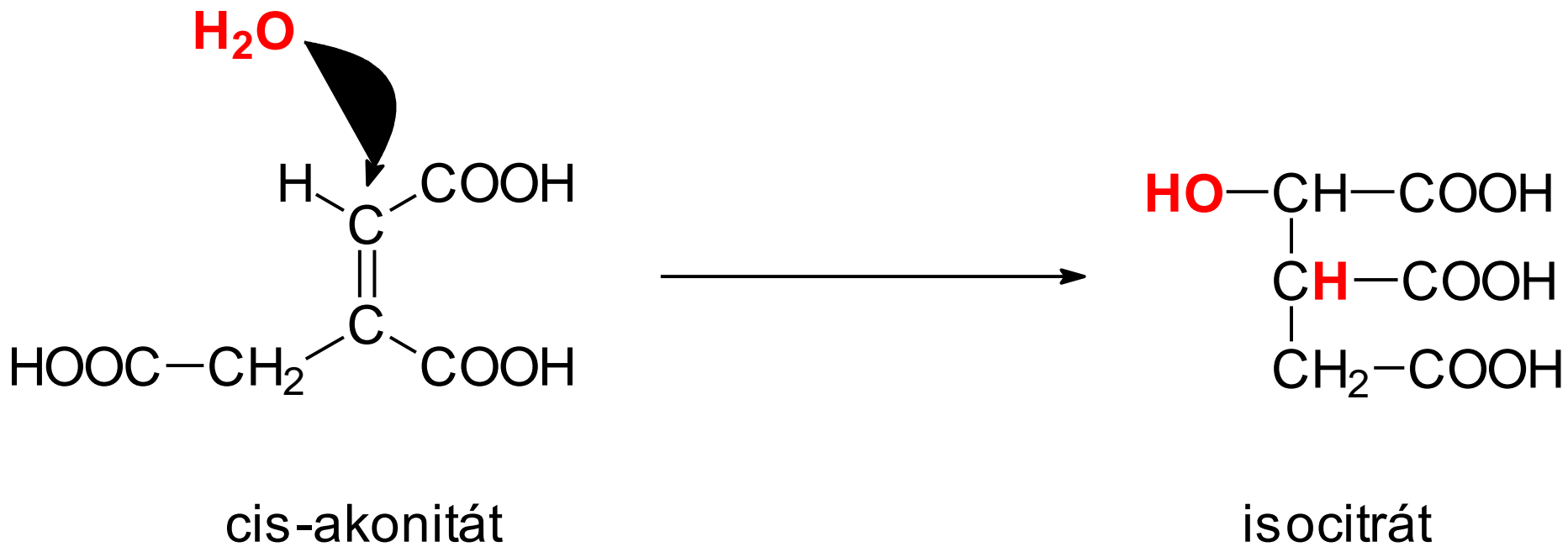
citrát



cis-akonitát

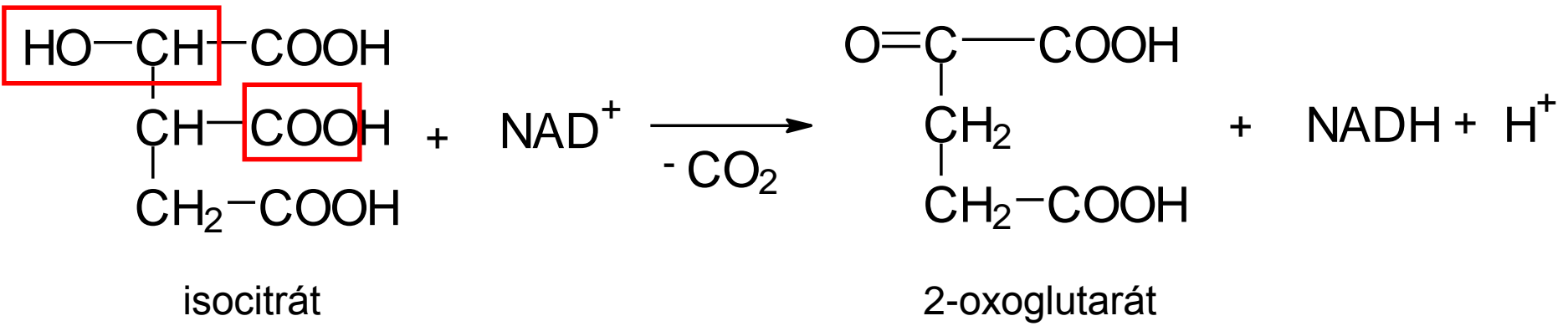
NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 233.

(2b) Hydratace cis-akonitátu



NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 233.

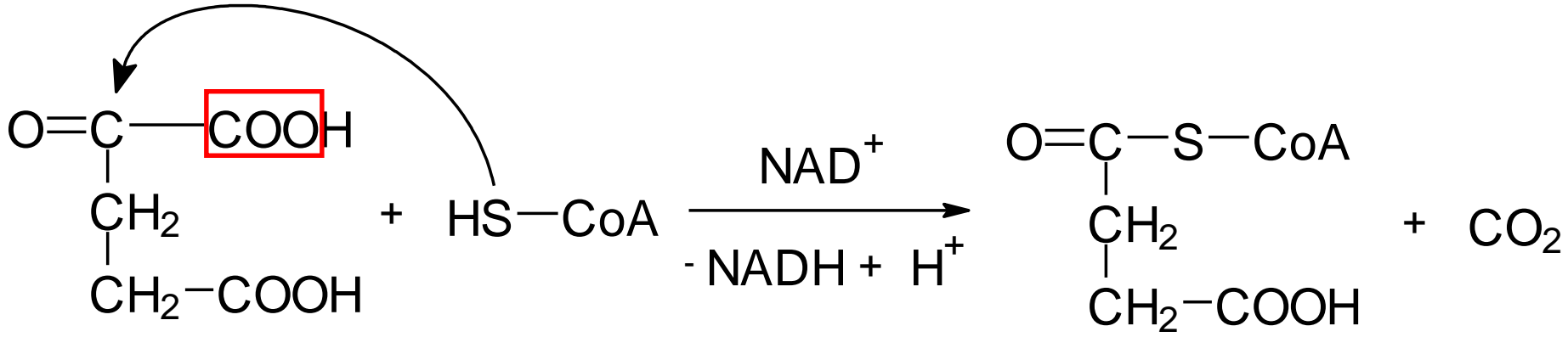
(3) Isocitrát → 2-oxoglutarát



Typ reakce: dehydrogenace + dekarboxylace Enzym: isocitrátdehydrogenasa
Kofaktor: NAD⁺ Poznámka: **nevratná**

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 234.

(4) 2-Oxoglutarát → sukcinyl-CoA



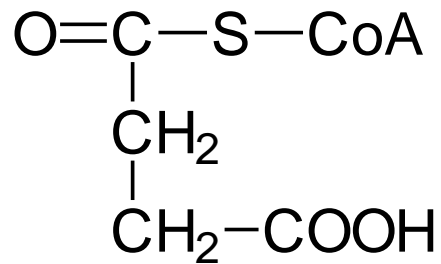
2-oxoglutarát

**sukcinyl-koenzym A
thioester
makroergní meziprodukt**

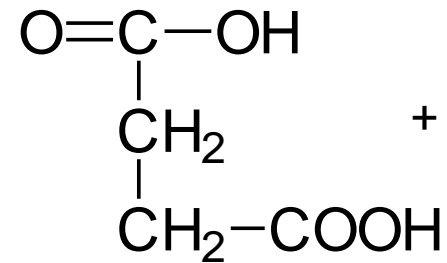
Typ reakce: oxidační dekarboxylace Enzym: 2-oxoglutarátdehydrogenasa
Kofaktory: TDP, lipoát, CoA, FAD, NAD⁺
Poznámka: *nevratná*, mechanismus podobný oxid. dekarboxylaci pyruvátu

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 234.

(5) Sukcinyl-CoA + GDP + P_i



sukcinyl-koenzym A



sukcinát

guanosintrifosfát

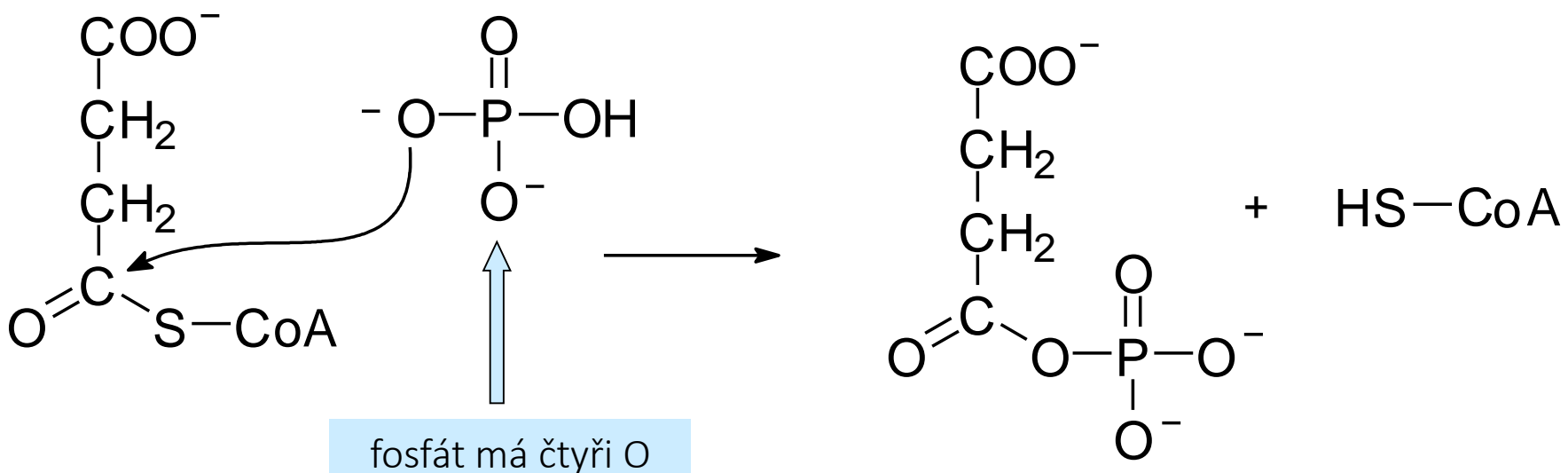
Typ reakce: substrátová fosforylace

Enzym: sukcinyl-CoA-synthasa Kofaktor: koenzym A

GTP vzniká třístupňovou reakcí

Chemická energie makroergního sukcinyl-CoA je postupně transformována do dvou makroergních meziproduktů a nakonec do makroergního GTP (Passing a hot potato)

(5a) Adice fosfátu na sukcinyl-CoA



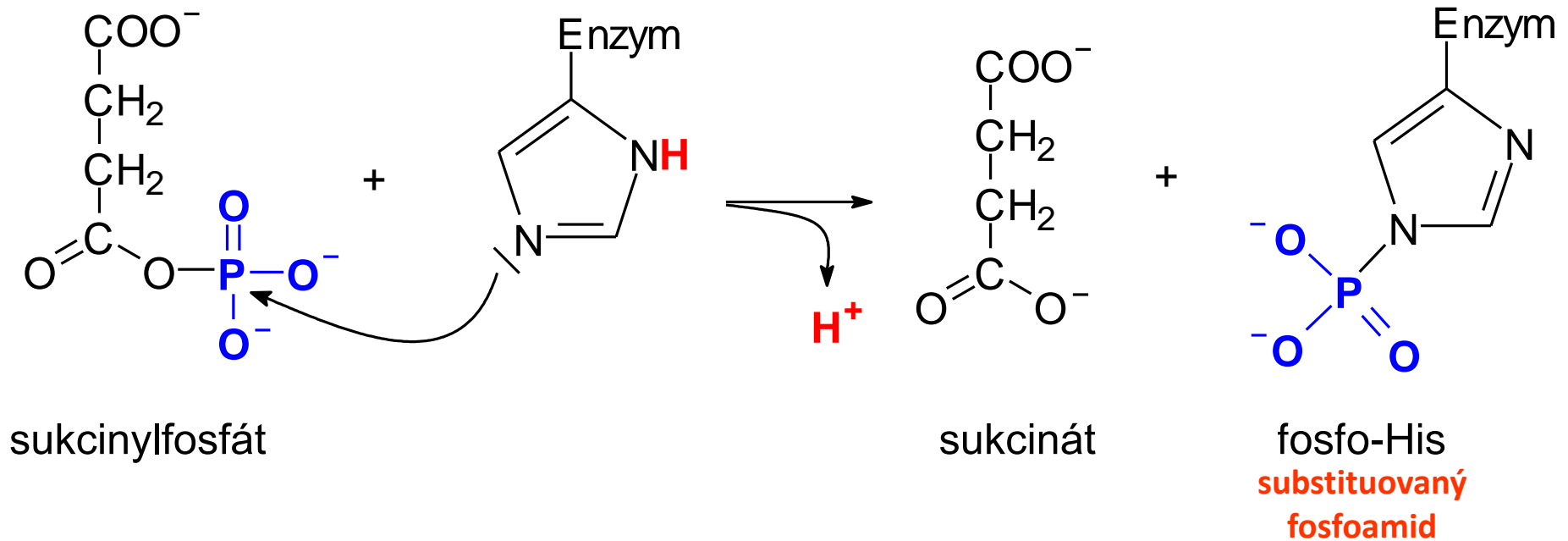
sukcinyl-CoA

sukcinylfosfát

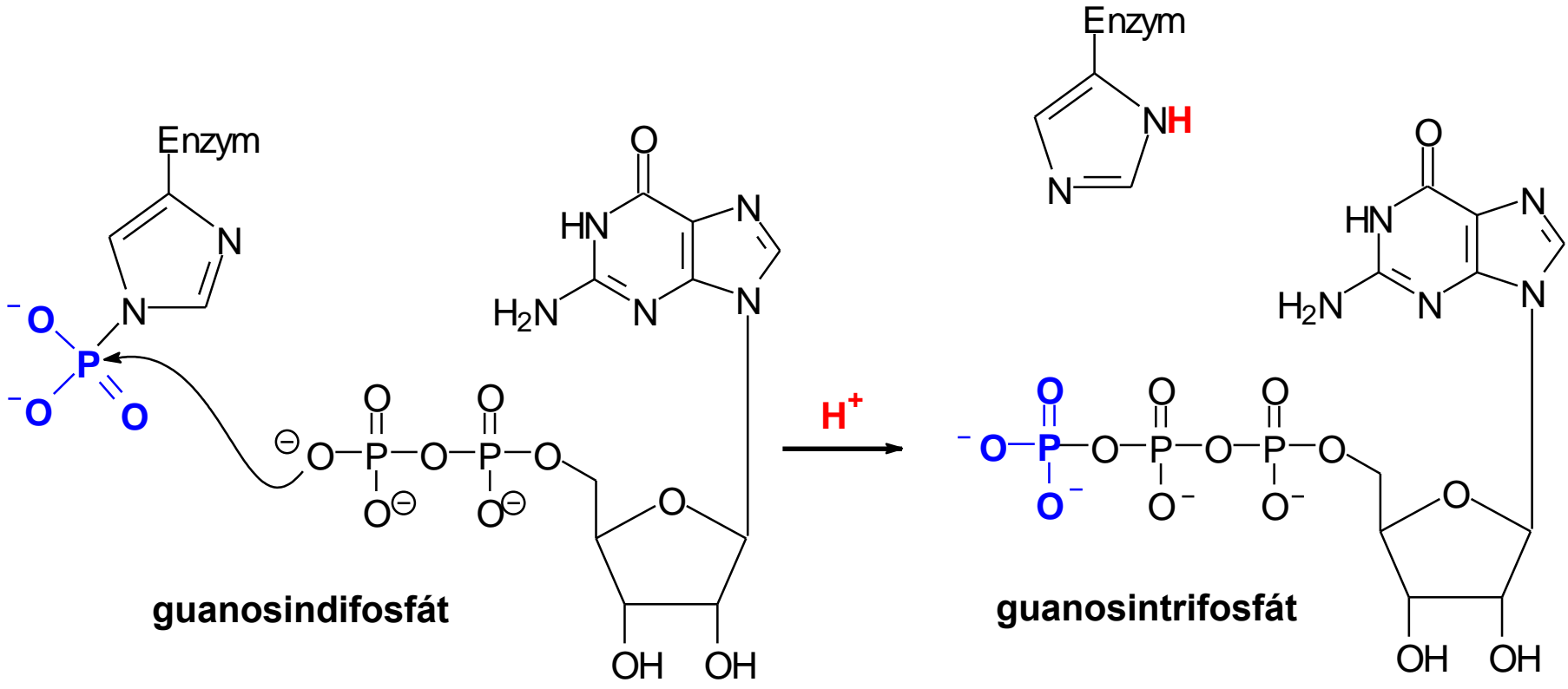
smíšený anhydrid karboxylové
a fosforečné kyseliny

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 235.

(5b) Fosforylace His v aktivním místě enzymu

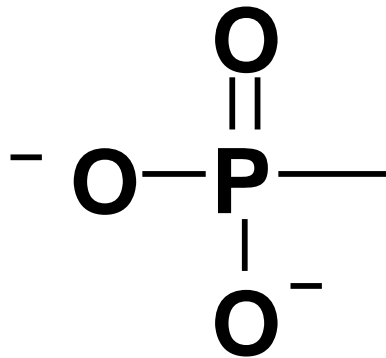


(5c) Fosforylace GDP



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 235.

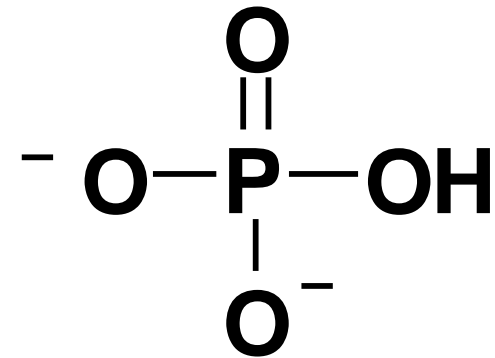
Rozlišujte!



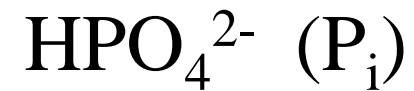
fosforyl



skupina neschopná existence



fosfát

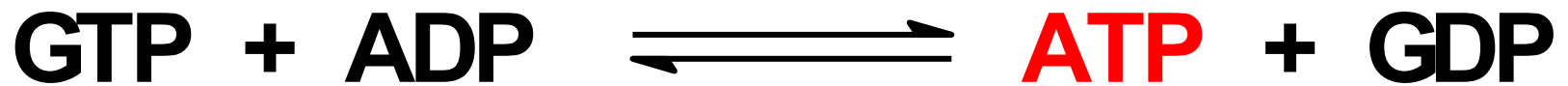


anorganický fosfát

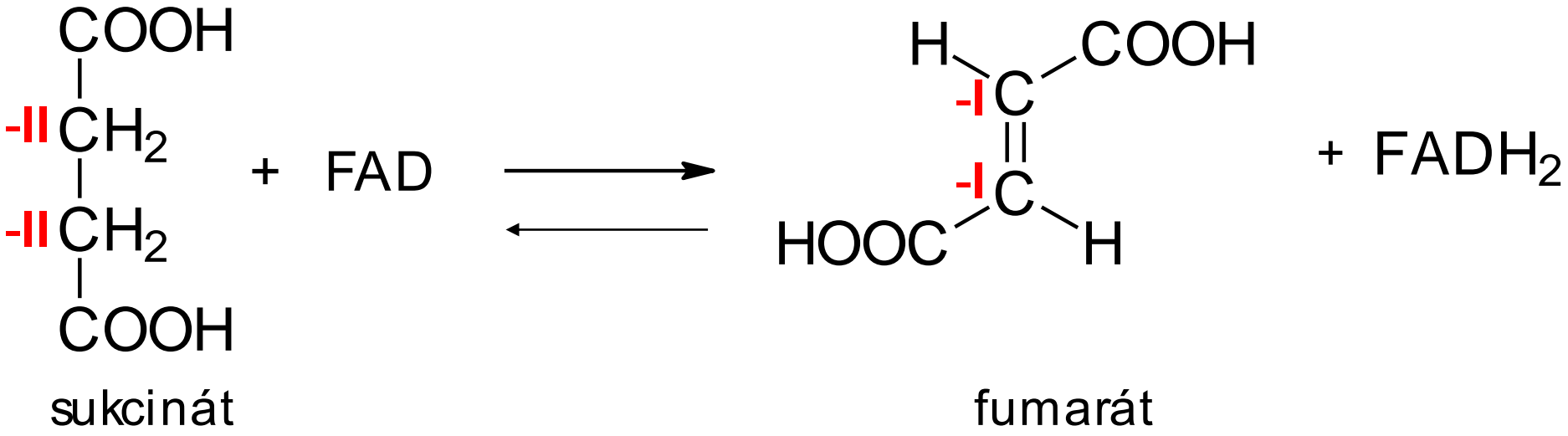
sloučenina reálně existující

GTP rychle konvertuje na ATP

nukleosid-difosfátkinasa



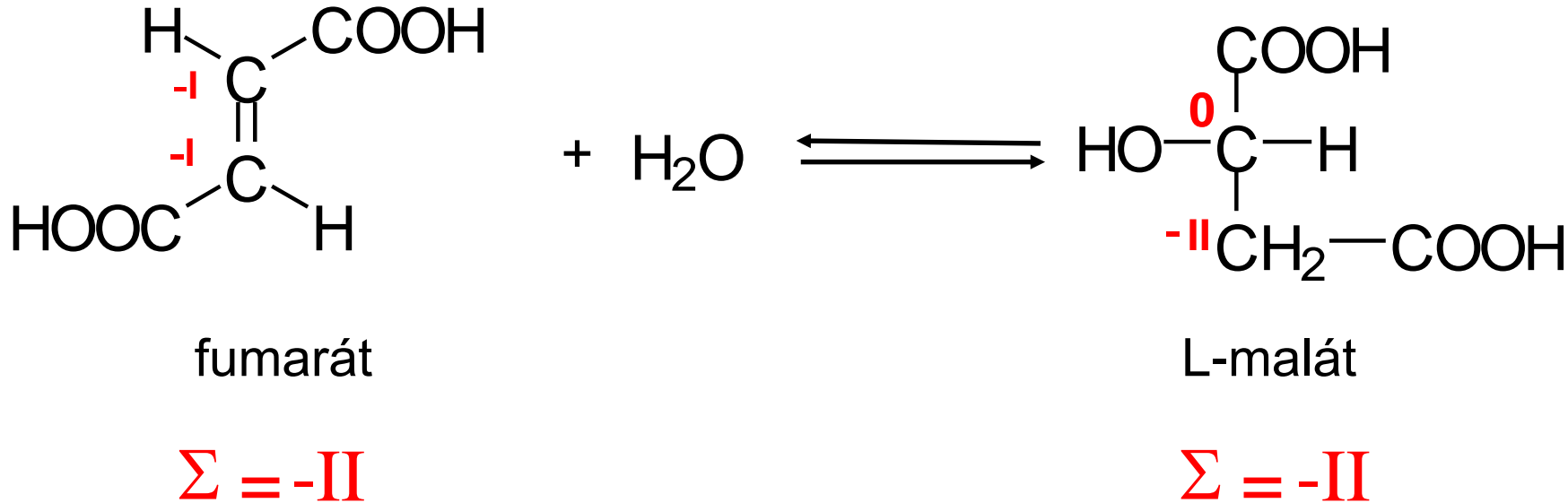
(6) Sukcinát → fumarát



Typ reakce: dehydrogenace (-CH₂-CH₂- vazby)
Enzym: sukcinátdehydrogenasa Kofaktor: FAD

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 236.

(7) Fumarát → L-malát



Typ reakce: hydratace Enzym: fumarasa Kofaktor: žádný
 Poznámky: 1) adice vody na dvojnou vazbu je **stereospecifická**
 2) hydratace není redoxní reakce

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 236.

Rozlišujte!

Hydratace:

adice vody na dvojnou vazbu

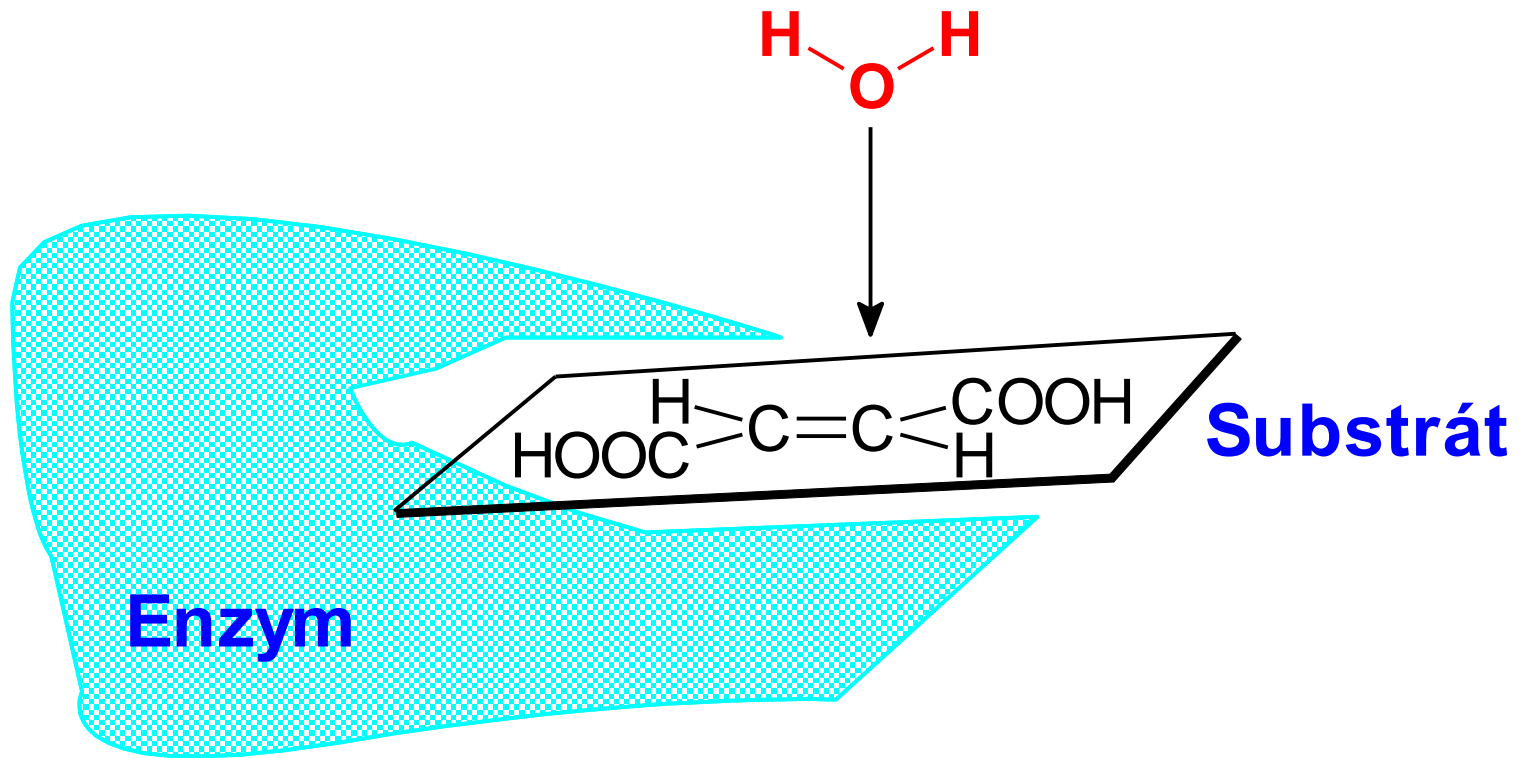


Hydrolýza:

štěpení různých vazeb (C-O, C-N) vlivem H₂O

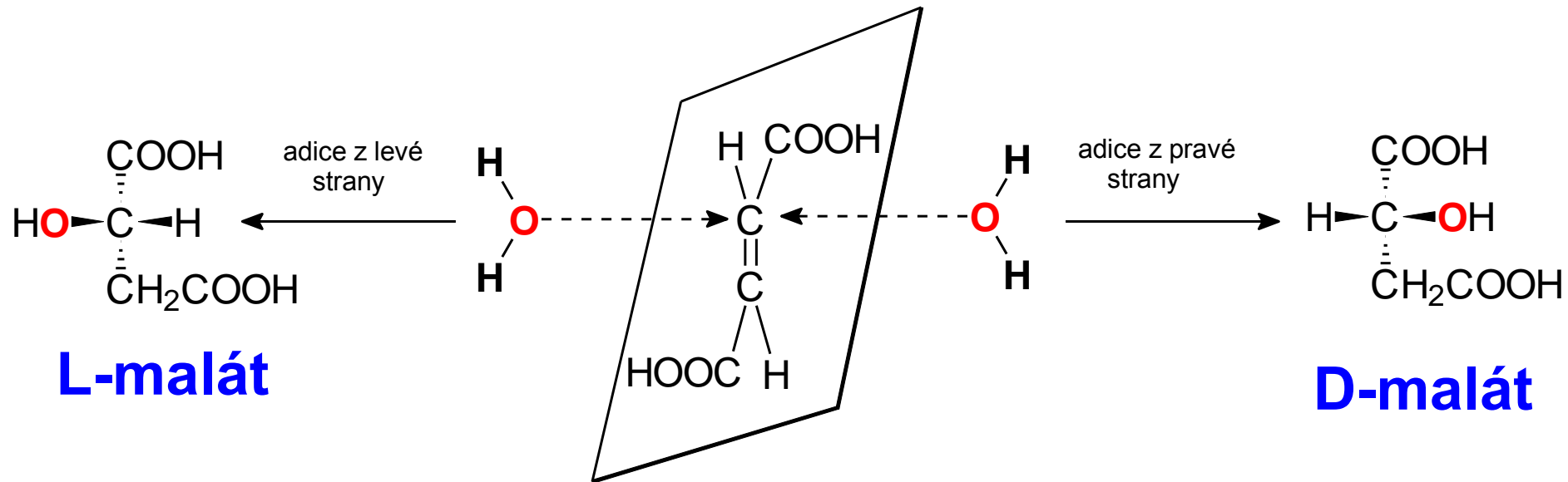


Hydratace fumarátu *in vivo*

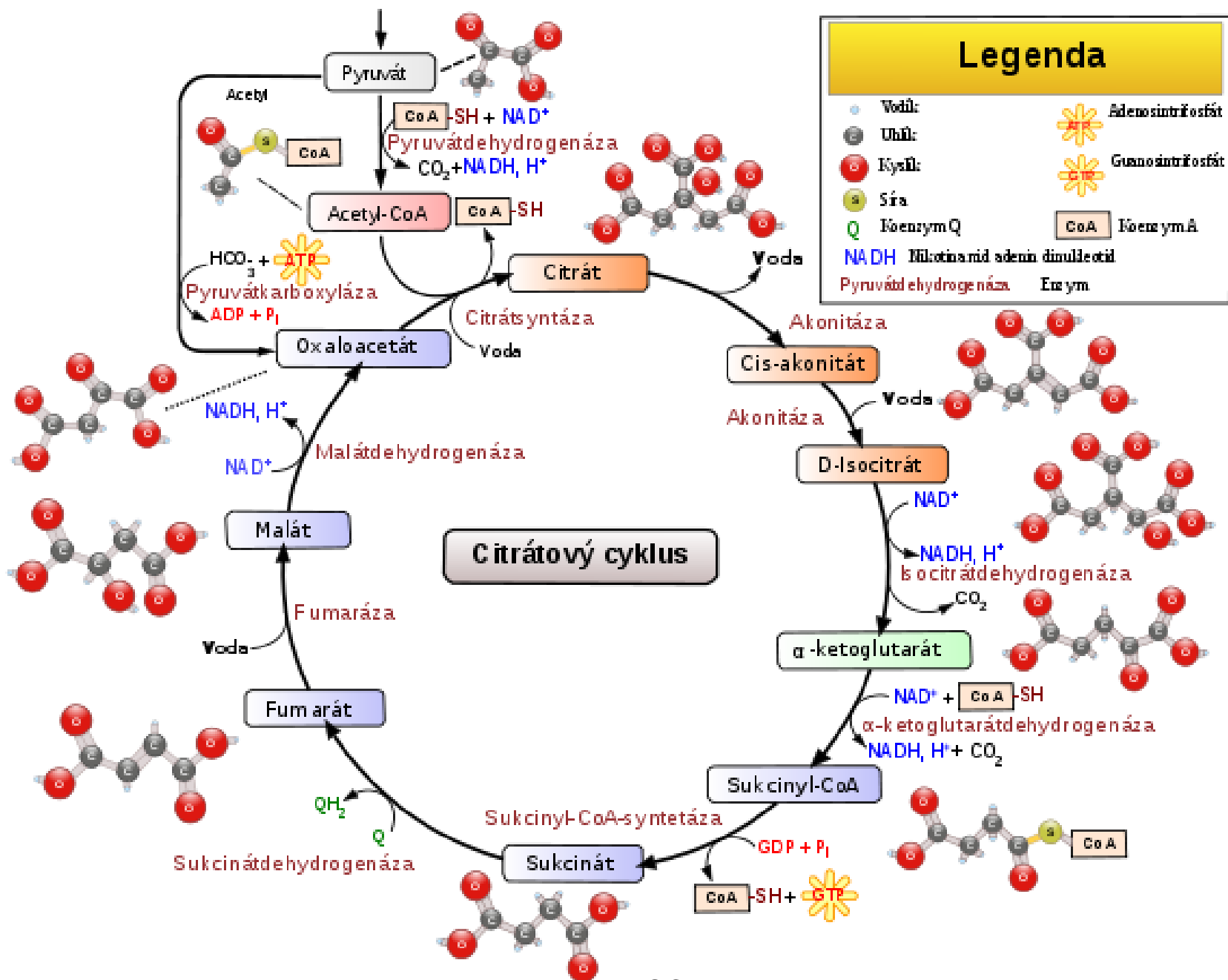


Vznikne pouze jeden enantiomer (L-malát)

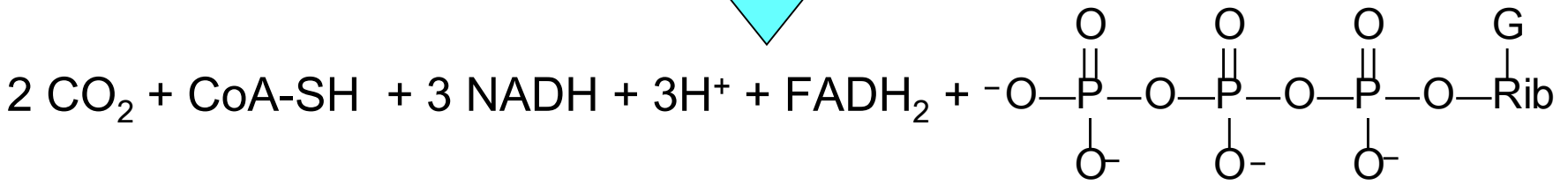
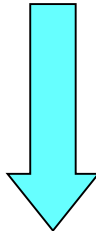
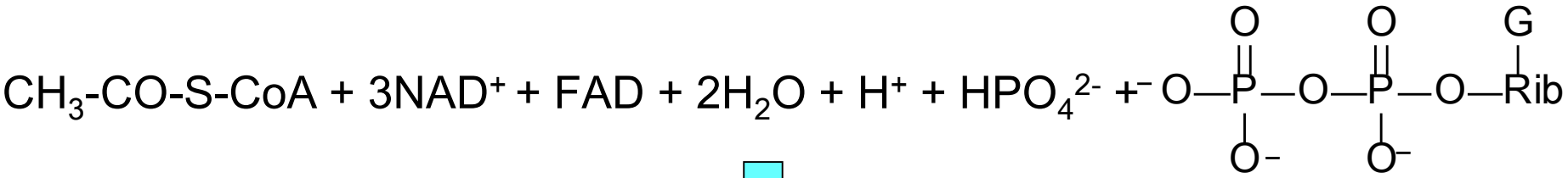
Hydratace fumarátu *in vitro*



Vznikne racemický D,L-malát



Látková bilance citrátového cyklu



- dva atomy uhlíku jsou kompletně oxidovány na 2 CO₂
- uvolní se přitom 8 atomů vodíku ve formě čtyř redukovaných kofaktorů (3 × NADH+H⁺, 1 × FADH₂)

Energetická bilance CC

Vznik v CC

1 × GTP

3 × NADH + H⁺

1 × FADH₂

Ekvivalent ATP (DŘ)

1

9

2

Celkem 12 ATP

Reakce	GTP / Redukované kofaktory	Ekvivalent ATP
isocitrát → 2-oxoglutarát	1 NADH+H ⁺	3 ATP
2-oxoglutarát → sukcinyl-CoA	1 NADH+H ⁺	3 ATP
sukcinyl-CoA → sukcinát	1 GTP	1 ATP
sukcinát → fumarát	1 FADH ₂	2 ATP
L-malát → oxalacetát	1 NADH+H ⁺	3 ATP
CELKEM		12 ATP

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 237.

Obecné vlivy na regulaci citrátového cyklu

- energetický stav buňky rozhoduje o průběhu CC
- poměr ATP/ADP a $\text{NADH}+\text{H}^+/\text{NAD}^+$
- allosterická inhibice
- inhibice produktem
- CC může probíhat jen za **aerobních podmínek** (pokud nemá buňka dostatek kyslíku je CC zastaven, $\text{NADH}+\text{H}^+$ inhibuje), hypoxie způsobuje zástavu

Enzymy klíčové pro regulaci CC a jejich inhibitory/aktivátory

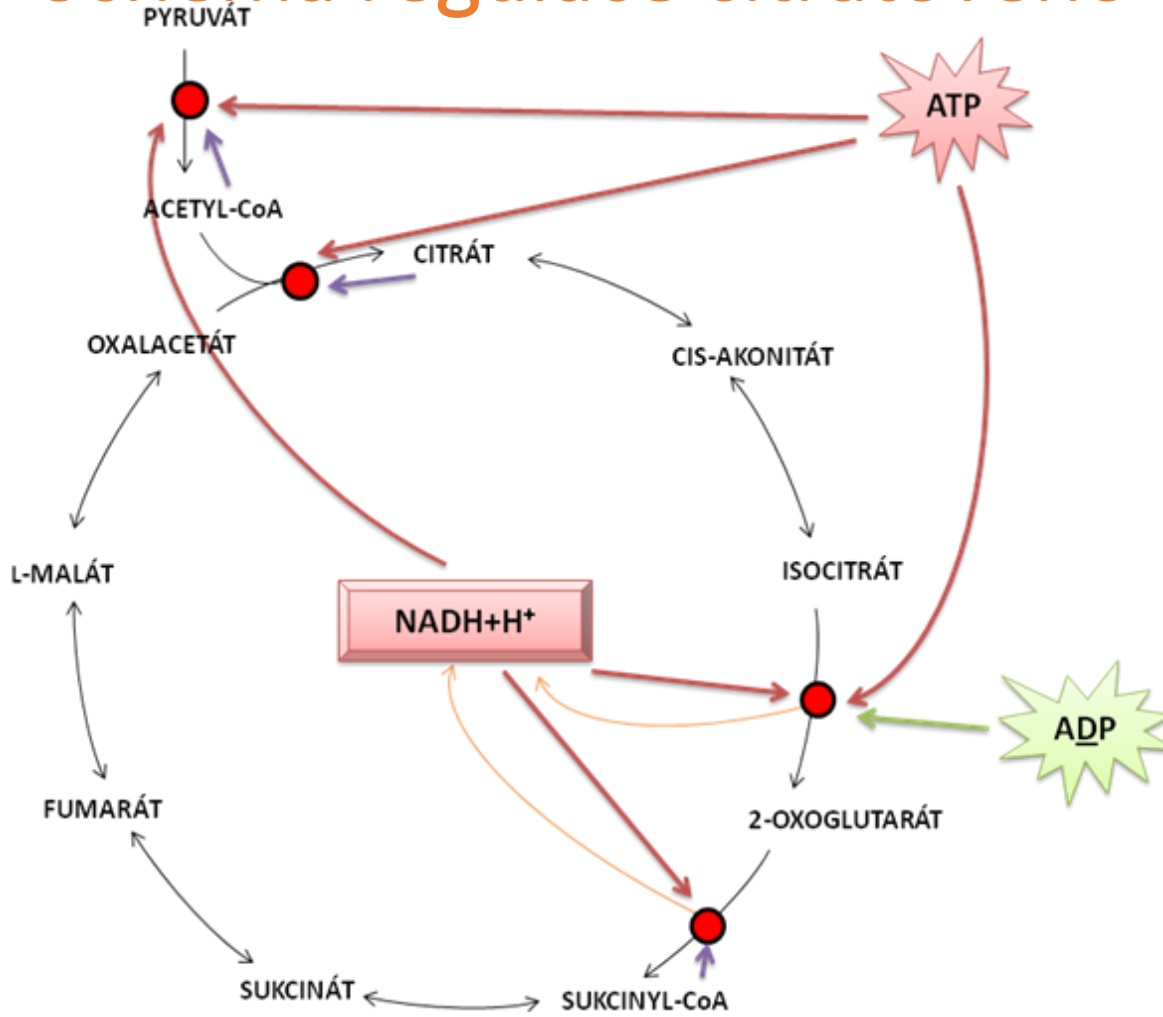
Enzym	ATP ^a	NADH ^a	Jiný vliv
Pyruvátdehydrogenasa	-	-	- acetyl-CoA (inh. prod.)
Citrátsynthasa	-		- citrát (inhibice produktem)
Isocitrátdehydrogenasa	-	-	+ ADP (alosterická aktivace)
2-OG-dehydrogenasa		-	- sukcinyl-CoA (inh. prod.)

^a allosterický inhibitor

^b zpětnovazebný inhibitor (inhibice produktem)

^c allosterický aktivátor

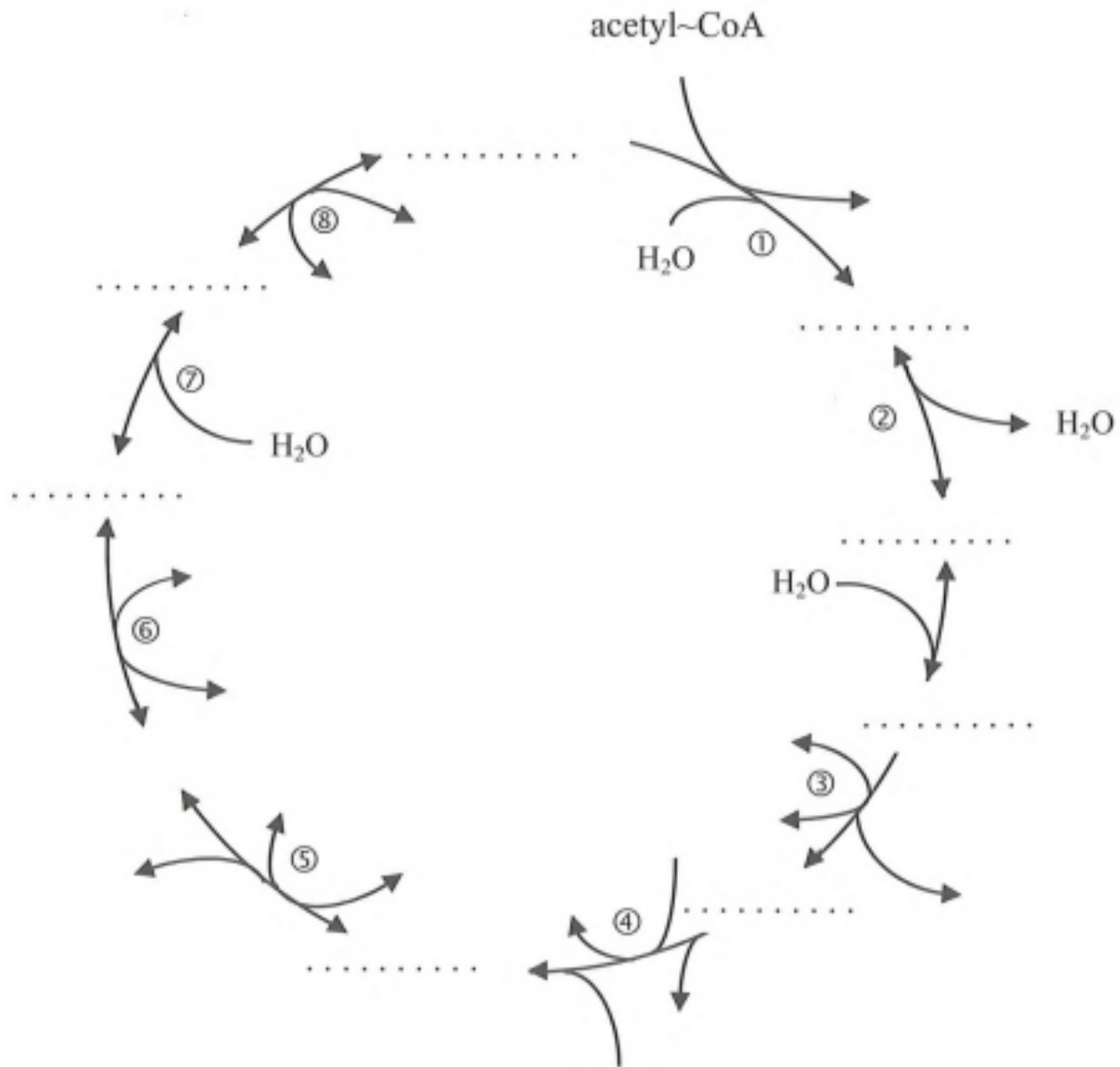
Schéma regulace citrátového cyklu



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 238.

- **Popis:**
- **červenými tečkami** jsou označeny reakce, o jejichž regulaci se zajímáme
- **červené šipky** naznačují **alosterickou inhibici**, která je zajištěna ATP a $\text{NADH}+\text{H}^+$ (**oranžové šipky** naznačují, které reakce $\text{NADH}+\text{H}^+$ produkují)
- **fialové šipky** naznačují **inhibici produktem**
- **zelená šipka** naznačuje **alosterickou aktivaci** pomocí ADP

Průběh citrátového cyklu



Regulace citrátového cyklu

