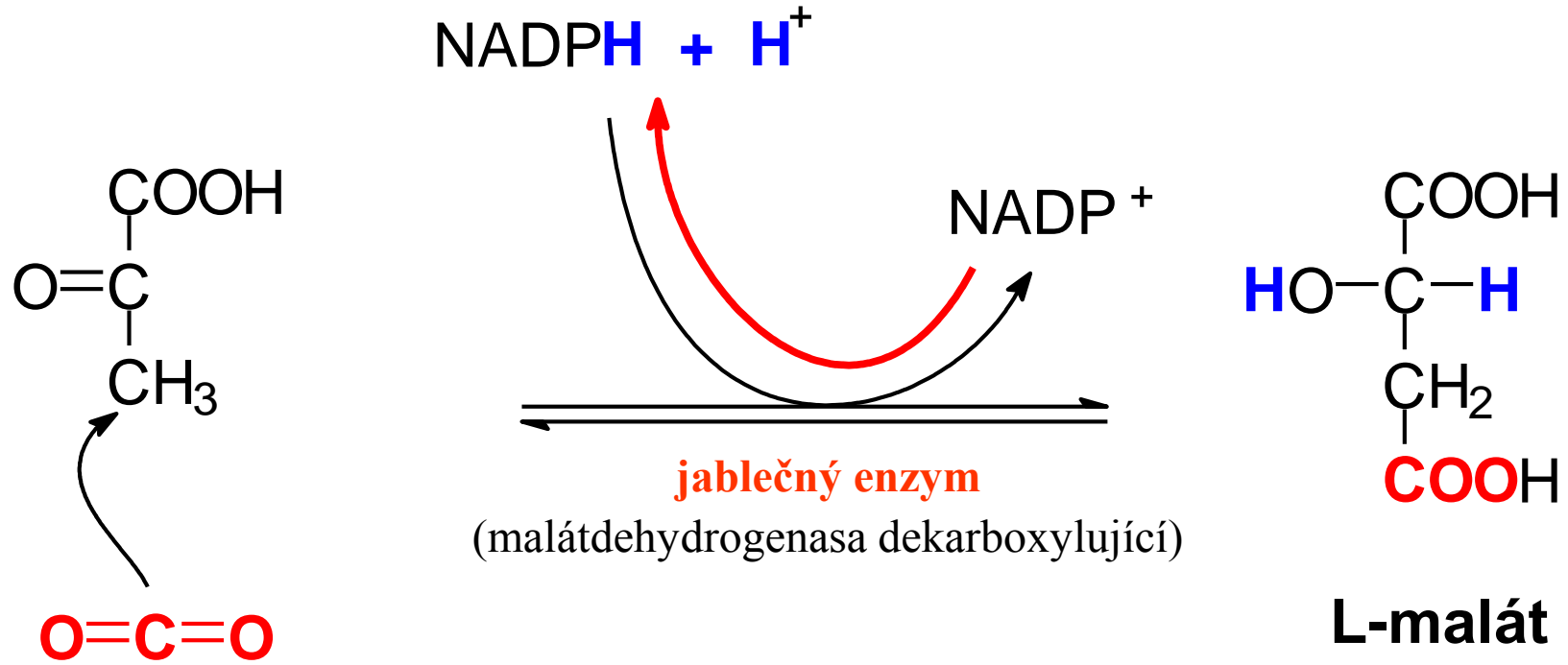


Anaplerotické reakce CC

Z řec. *ana* - opět, znovu, zpět, *pleros* - plný, naplněný

- **doplňují** výchozí **oxalacetát** a další meziprodukty CC
 - karboxylace pyruvátu → oxalacetát (pyruvátkarboxyláza, biotin)
 - (redukční karboxylace pyruvátu → malát, význam pro tvorbu NADPH +H⁺)
 - transaminace aspartátu → oxalacetát
-
- katabolismus Phe, Tyr → **fumarát**
 - Asp (synt. močoviny, purinů) → fumarát
 - katabolismus Val, Ile, Met → **sukcinyl-CoA**
 - transaminace glutamátu → **2-oxoglutarát**

Redukční karboxylace pyruvátu

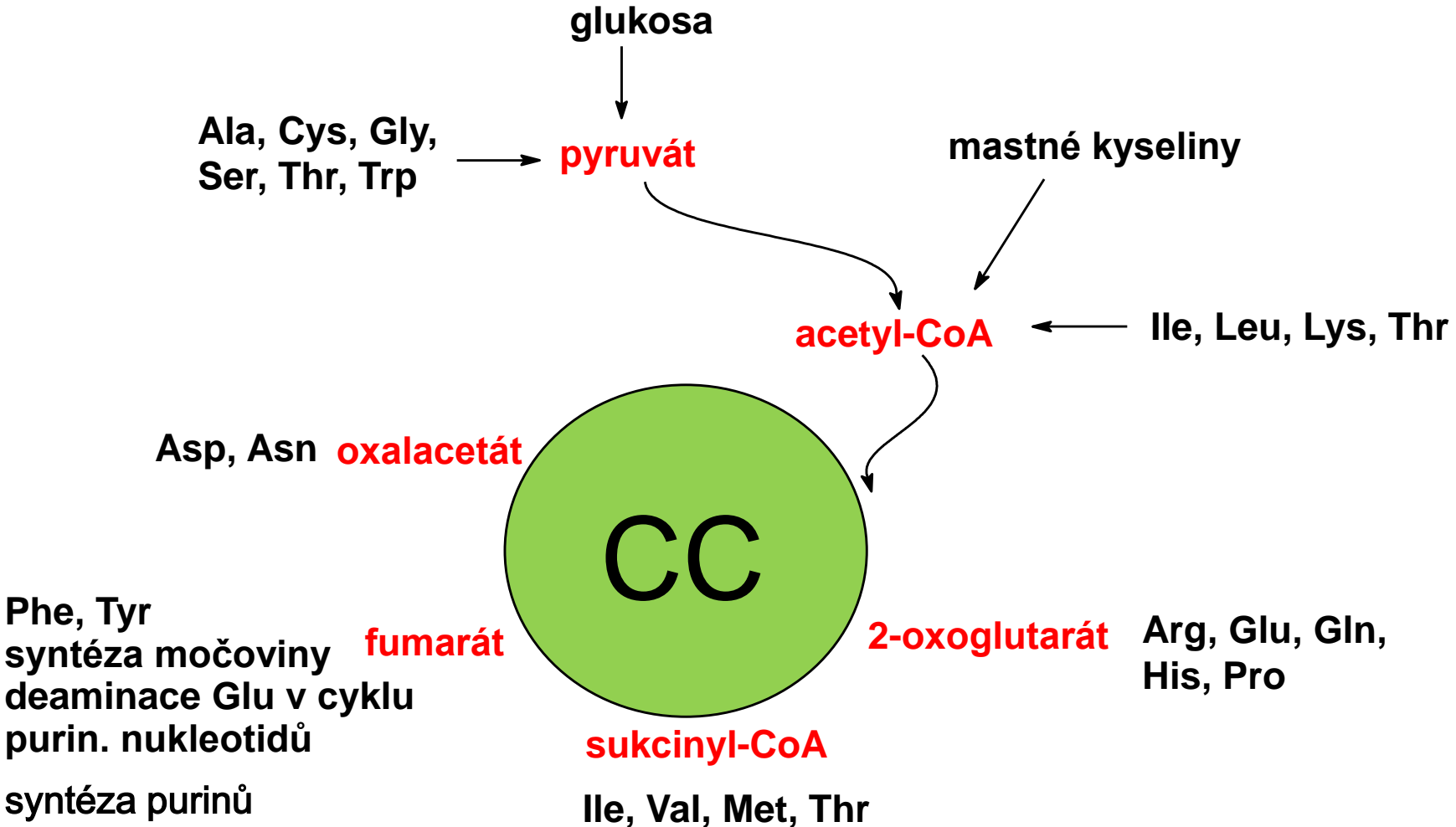


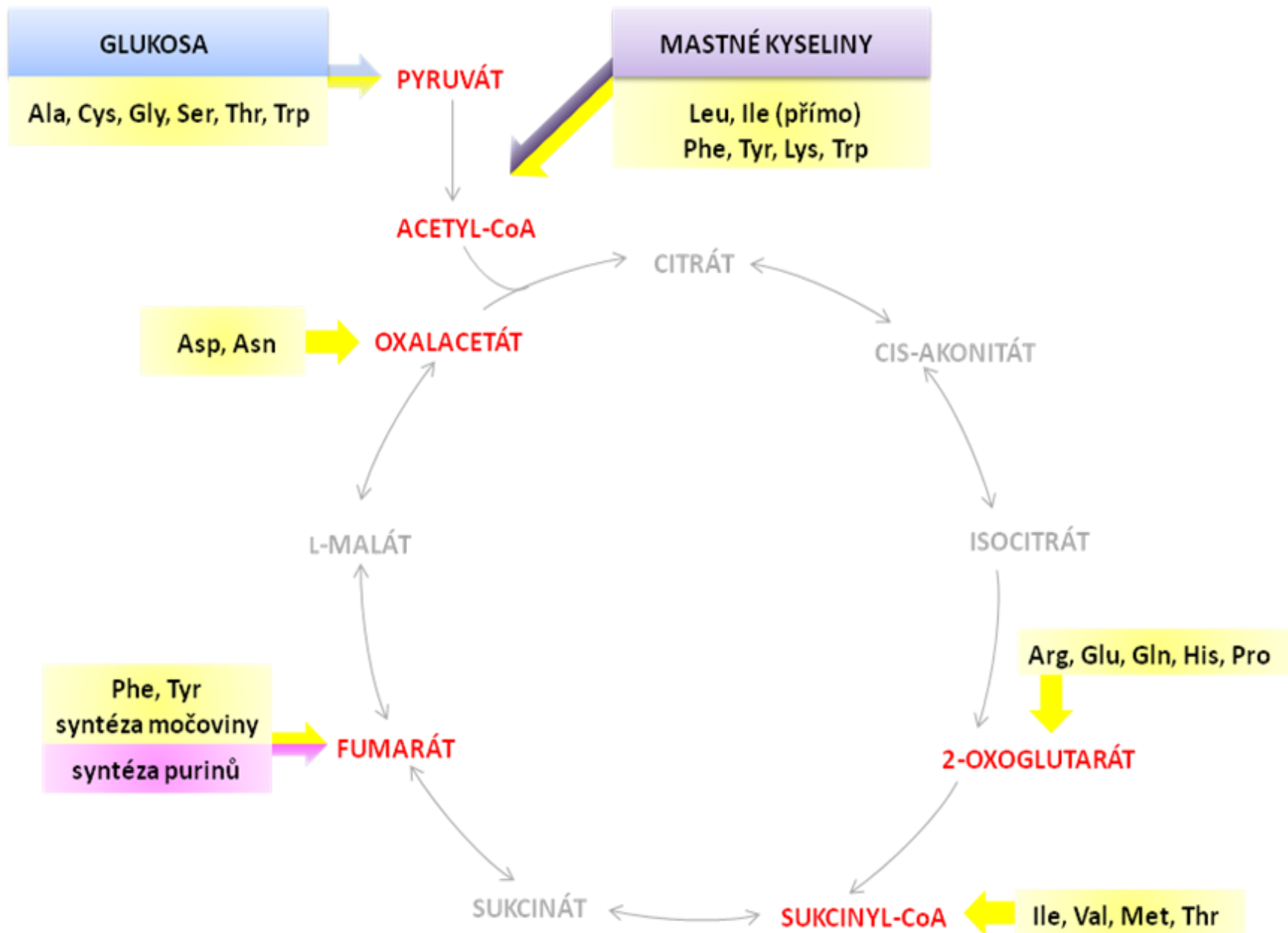
Reakce má význam spíše v opačném směru jako zdroj **NADPH** pro syntézy

CC má amfibolický charakter

- terminální dráha katabolická:
oxidace acetyl-CoA na CO_2 (katabolismus acetyl-CoA)
- obsahuje meziprodukty **pro anabolické děje:**
glukoneogeneze, transaminace a další

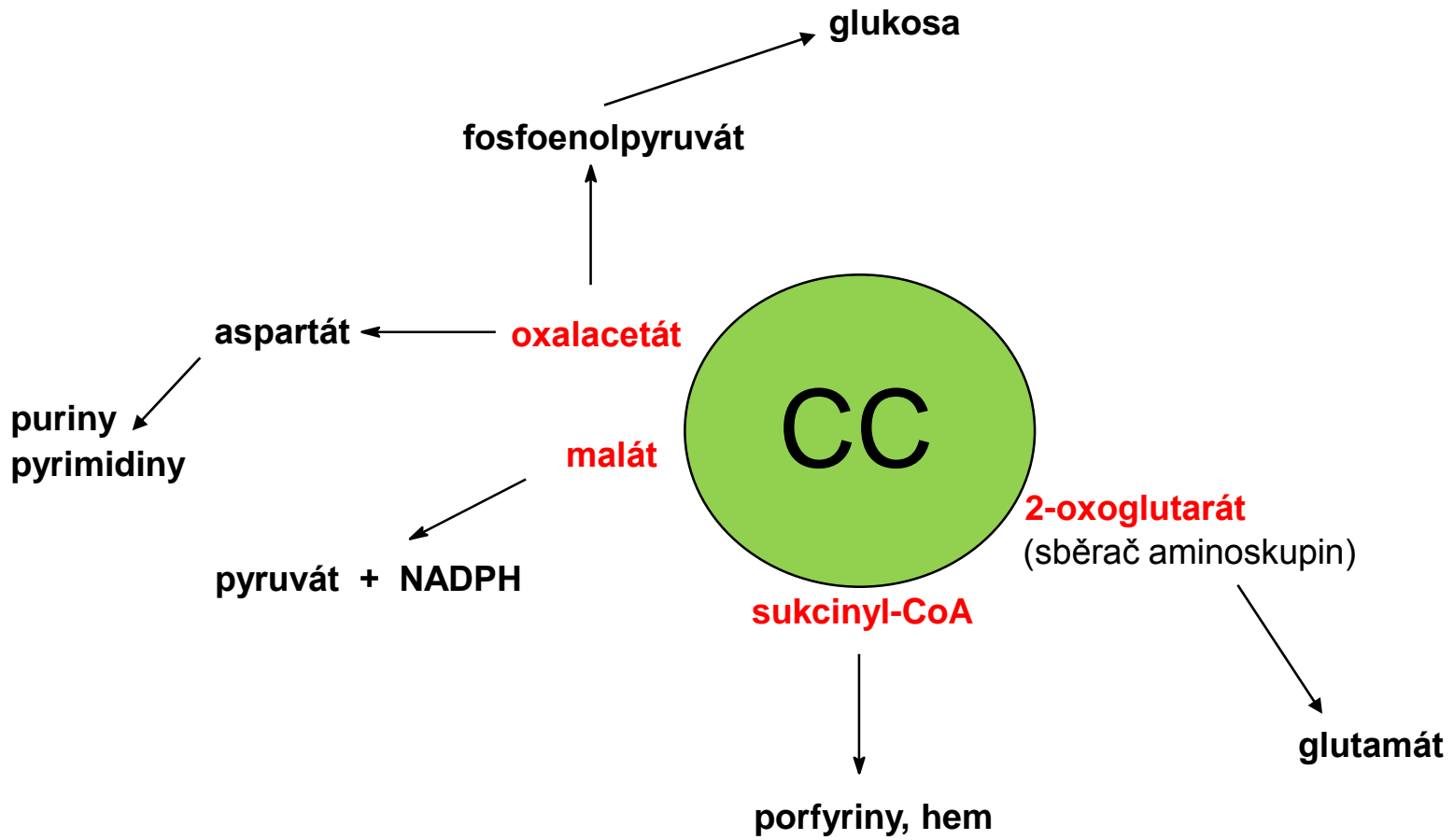
Katabolické děje - vstupy do CC



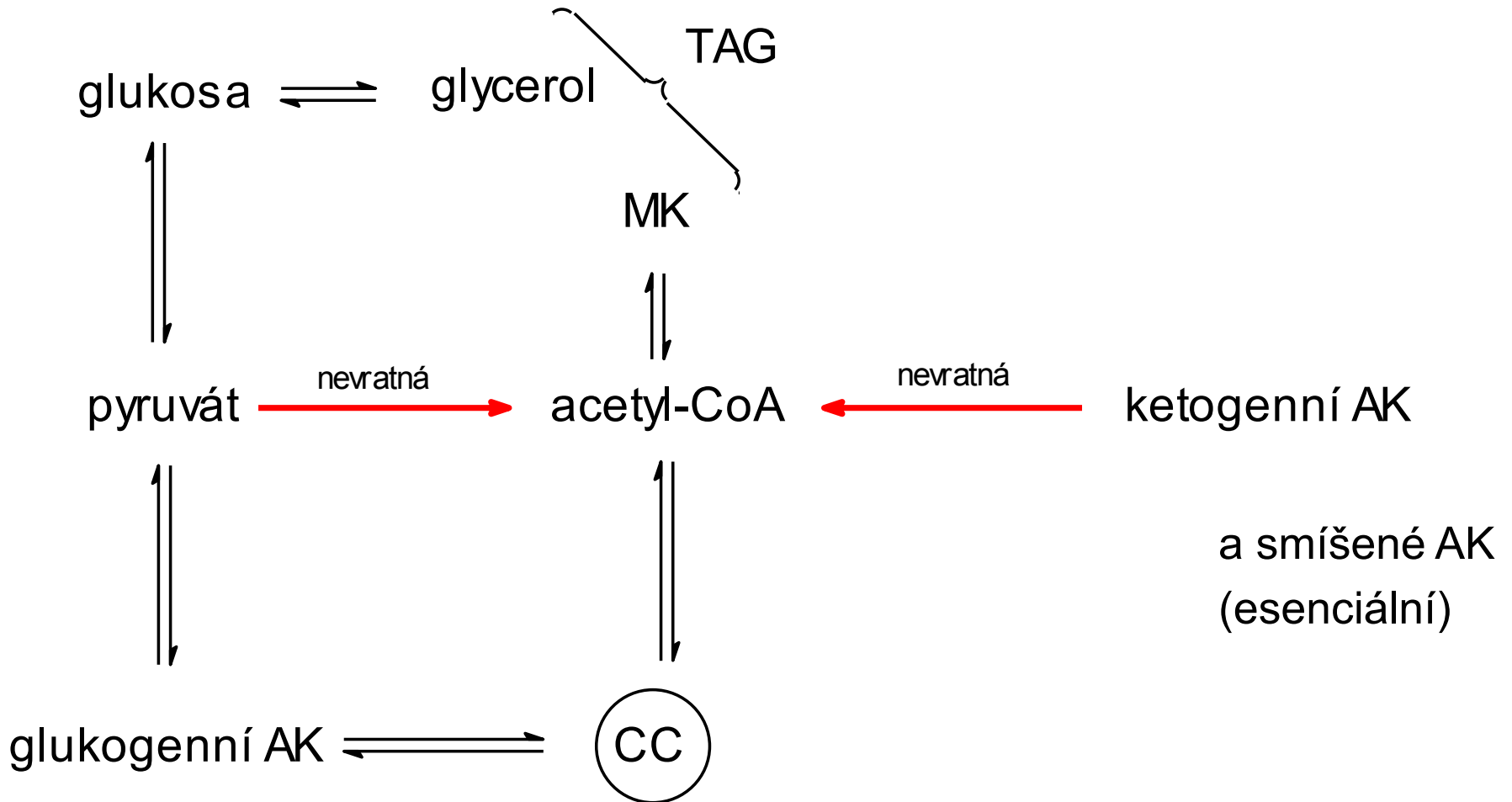


NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 238.

Anabolické děje - výstupy z CC

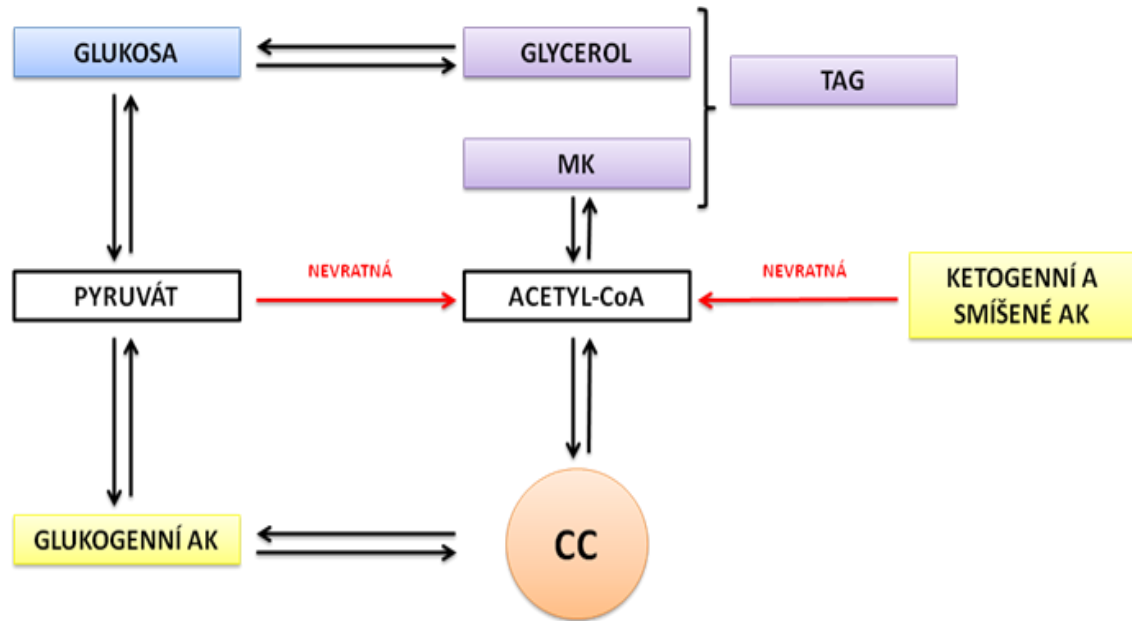


Vzájemné přeměny živin



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 240.

Vzájemné přeměny živin



sacharidy → tuky

tuky ~~→~~ sacharidy

glukogenní AK → sacharidy

sacharidy (pyruvát, CC) → C skelet neesenc. AK

AK - - - - -> tuky (při nadbytku proteinů)

tuky ~~→~~ AK

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 240.

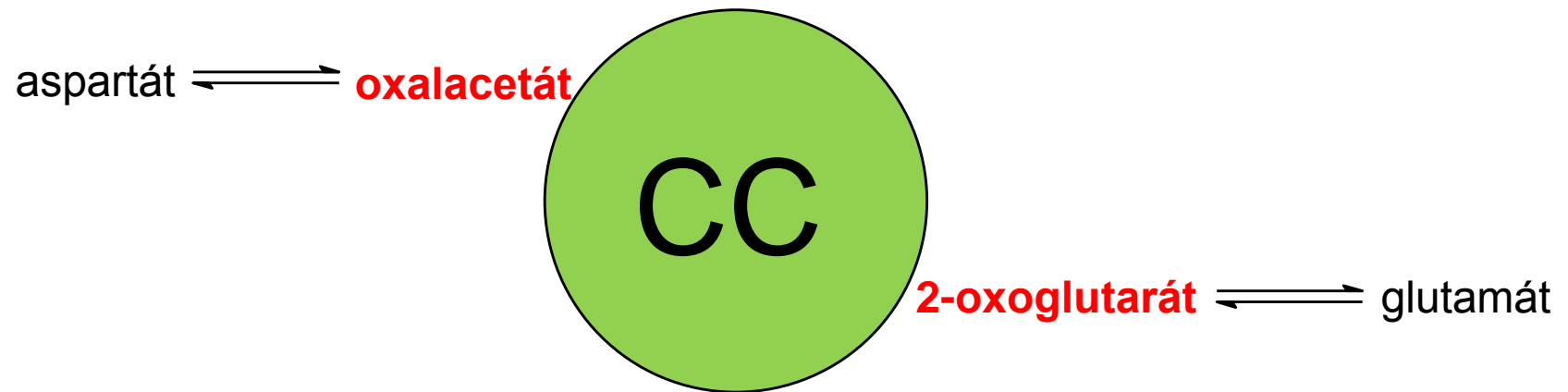
Tři otázky pro pozorného studenta



- (1) Které meziprodukty CC poskytnou transaminací AK?
- (2) Jak může být CC napojen na syntézu lipidů?
- (3) Který z enzymů CC není lokalizován v matrix mitochondrie?

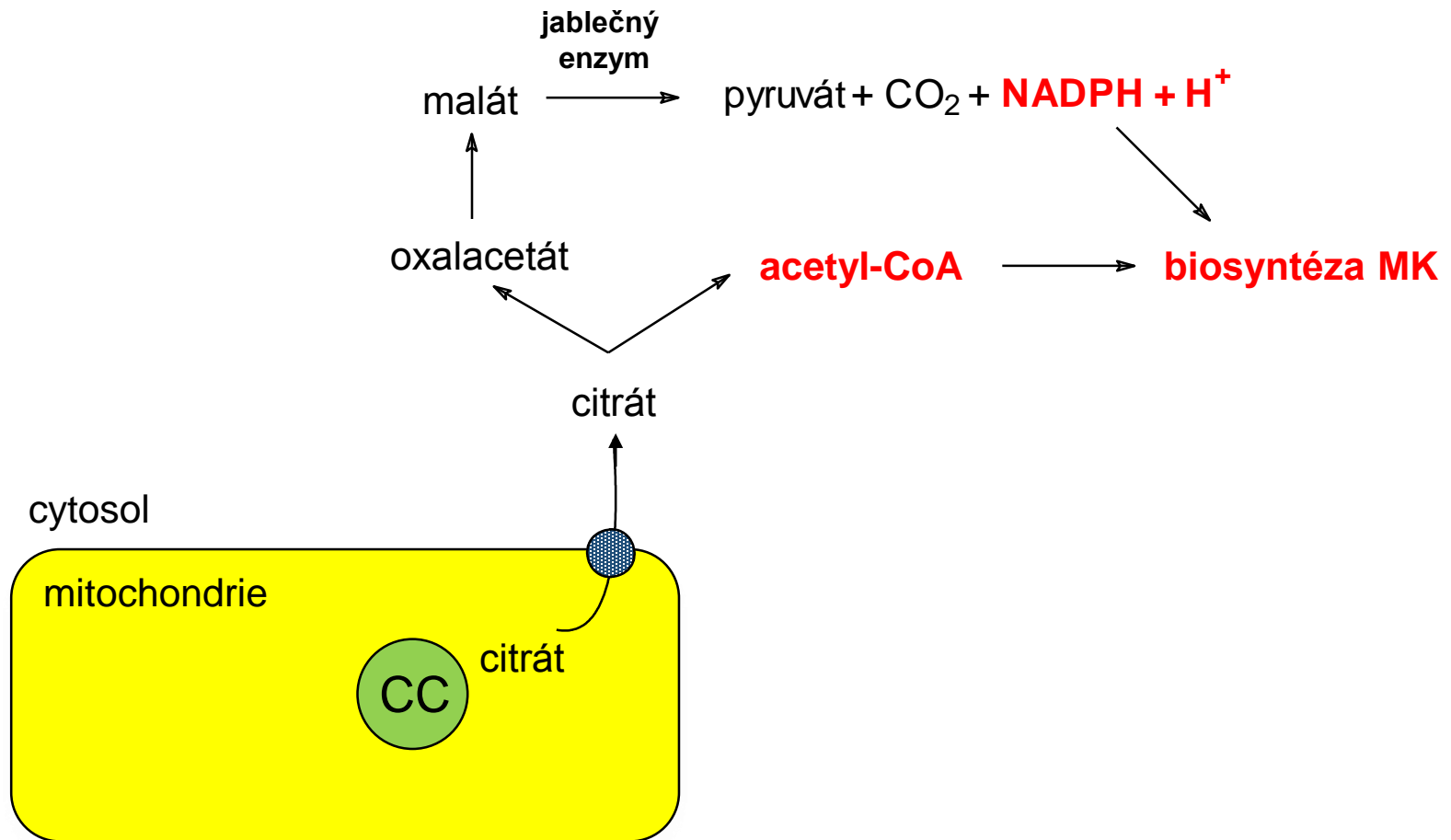
Které meziprodukty CC poskytnou
transaminací AK?

(1) Transaminace 2-oxokyselin



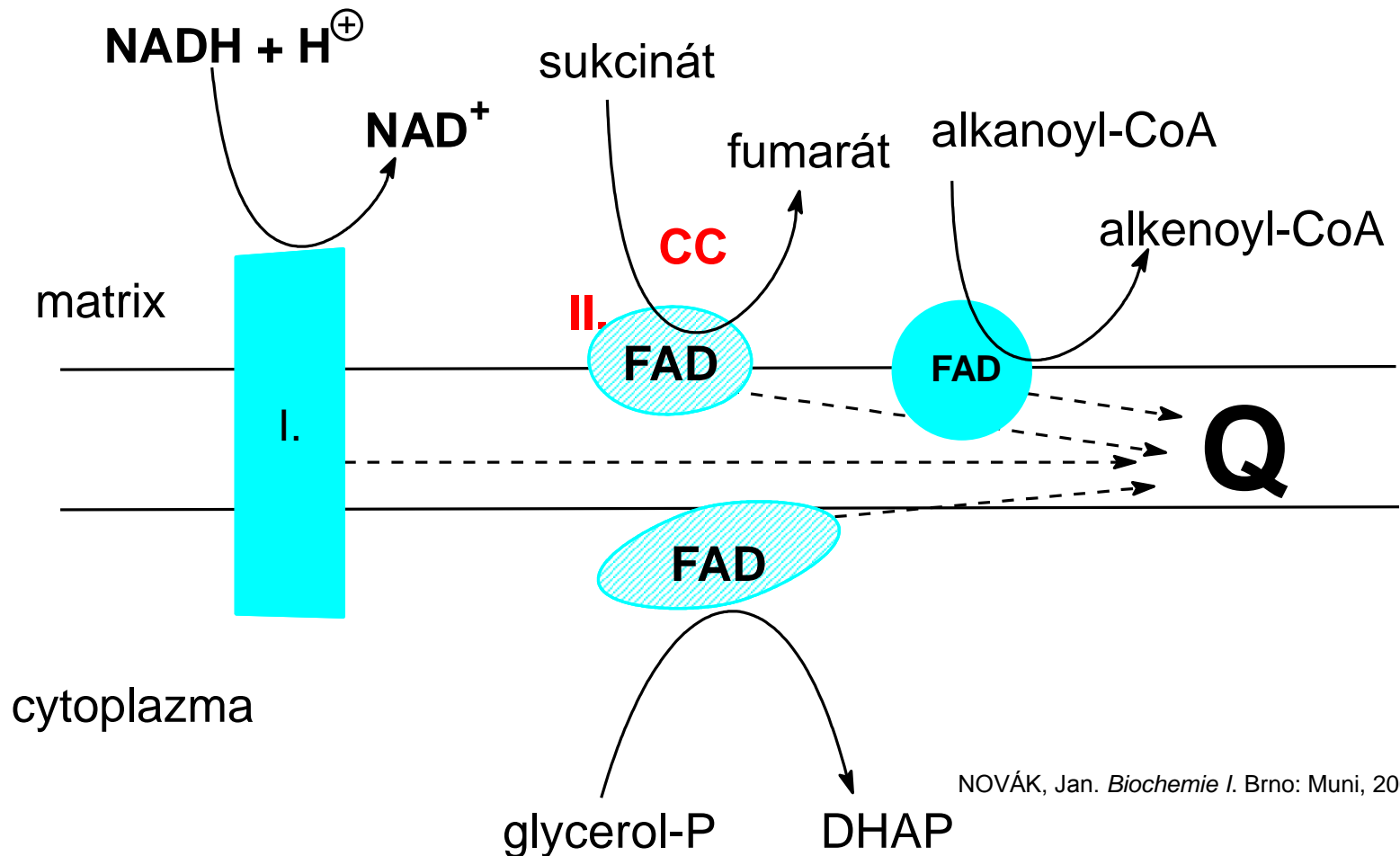
Jak může být CC napojen na syntézu lipidů?

(2) Citrát přejde do cytosolu



Který z enzymů CC není lokalizován v matrix mitochondrie?

(3) Sukcinátdehydrogenasa je součástí DŘ ve vnitřní mitochondriální membráně



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 249.

Orgánová lokalizace buněčných dějů

Děj	Játra	CNS	Ledviny	Sval	Tuk. t.	Ery
CC	+	+	+	+	+	-
β -oxidace MK	++	-	+	++	-	-
Syntéza MK	+++	\pm	\pm	\pm	+++	-
Ketogeneze	+	-	-	-	-	-
Oxidace KL*	-	+	+	++	+	-
Glykolýza	+	+++	+	++	+	+++
Glukoneogeneze	+++	-	+	-	-	-

* KL = ketolátky

Intracelulární lokalizace metabolických dějů

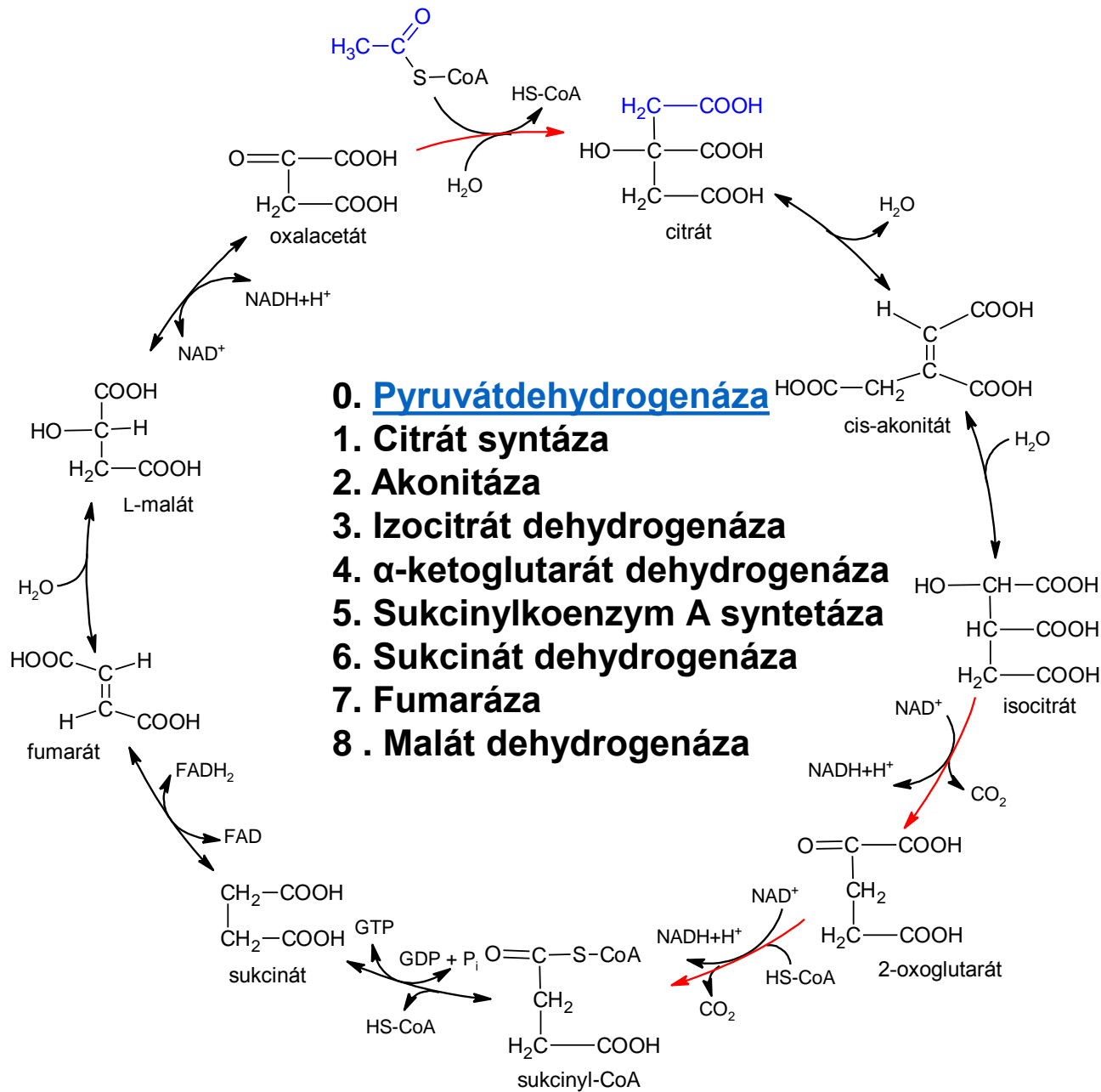
Jádro	replikace DNA, syntéza RNA (transkripce DNA)
Mitochondrie	oxidační dekarboxylace pyruvátu, CC, DŘ, β -oxidace MK, synt. ketolátek, močoviny, hemu, Gln, AST reakce
Ribosomy	syntéza proteinů (translace mRNA)
Hrubé ER	syntéza proteinů
Hladké ER	synt. lipidů, chol., desaturace MK, hydroxylace xenobiotik
Lysosomy	nespecifické hydrolytické degradace různých látek
Buň. membr.	transport molekul a iontů, přenos informace do buňky (receptory)
Golgiho ap.	glykosylace proteinů, třídění a export proteinů
Peroxisomy	tvorba a degradace H_2O_2
Cytosol	glykolýza, glukoneogeneze, glykogen $\uparrow\downarrow$, pentos. cykl., synt. MK, transaminace, synt. močoviny, močové kys., hemu; ALT r., EtOH

Vliv insulinu

Játra	↑ Fosforylace glukosy	Tuková tkáň	↑ Vstup glukosy
	↑ Glykolýza		↑ Glykolýza
	↓ Glukoneogeneze		↑ Pentosový cyklus
	↑ Syntéza glykogenu		↑ Oxid. dekarboxylace pyruvátu
	↓ Glykogenolýza		↑ Hydrolýza TG v lipoproteinech
	↑ Syntéza mastných kys.		↑ Syntéza TG
	↑ Pentosový cyklus		↓ Lipolýza
Svaly	↑ Vstup glukosy		
	↑ Glykolýza		
	↑ Syntéza glykogenu		
	↓ Glykogenolýza		
	↑ Syntéza proteinů		

Vliv glukagonu (ne ve svalech)

Játra	↓ Glykolýza
	↑ Glukoneogeneze
	↓ Syntéza glykogenu
	↑ Glykogenolýza
	↓ Syntéza mastných kyselin
	↑ Oxidation mastných kyselin
Adipocyty	↑ Lipolýza



0. Pyruvátdehydrogenáza

1. Citrát syntáza

2. Akonitáza

3. Izocitrát dehydrogenáza

4. α -ketoglutarát dehydrogenáza

5. Sukcinylkoenzym A syntetáza

6. Sukcinát dehydrogenáza

7. Fumaráza

8. Malát dehydrogenáza

1. [Pyruvátdehydrogenáza](#) Pyruvát dehydrogenáza, **Pyruvát dehydrogenázový komplex** je komplex tří [enzymů](#) uvnitř [mitochondrie](#): pyruvát dehydrogenázy, dihydrolipoyltransacetylázy a dihydrolipoyldehydrogenázy. Komplex pracuje jako celek v přítomnosti koenzymů [TPP](#), [NAD⁺](#), [lipoátu](#) ve formě lipoamidu, [FAD](#) a [koenzymu A](#). Pyruvát dehydrogenáza katalyzuje oxidativní dekarboxylaci [pyruvátu](#) s navázáním acetylu na TPP, dihydrolipoyltransacetyláza katalyzuje přenesení acetylu z TPP přes lipoamid na koenzym A a dihydrolipoyldehydrogenáza regeneruje lipoamid pomocí FAD, z něhož vzniká FADH₂, které regeneruje zase pomocí NAD⁺, z něhož vzniká NADH + H⁺. Enzym je inhibován arsenem v oxidačním stavu As(III) (arseničnany,...), který blokuje lipoamid.

2. Citrát syntáza

Katalyzuje přenesení acetylu z acetyl-S·CoA na oxalacetát za vzniku [citrátu](#).

3. Akonitáza

Katalyzuje přesmyk citrátu na izocitrát přes cis-akonitát. Její aktivní centrum tvoří kuboidní klastř čtyř atomů síry a čtyř atomů železa, vázaného přes síru z postranních řetězců cysteinu. Tento enzym je stereospecifický s ohledem na **prochirální** vlastnosti citrátu. (To se dá prokázat značením pyruvátu pomocí uhlíku ¹⁴C.) Inhibuje ho (2R,3R)2-fluorocitrát.

4. Izocitrát dehydrogenáza

Provádí oxidativní dekarboxylaci karboxylové skupiny na terciárním uhlíku izocitrátu za současné dehydrogenace hydroxy skupiny, přičemž se mění NAD⁺ na NADH + H⁺. Tento enzym využívá **manganaté** či hořečnaté **ionty** jako **koenzym**.

5. α-ketoglutarát dehydrogenáza

Katalyzuje oxidativní dekarboxylaci za současného navázání α-keto uhlíku na koenzym A. Vzniká tak sukcinyl-S·CoA a NADH + H⁺ z NAD⁺.

6. Sukcinylkoenzym A syntetáza

Provádí přesně opačnou reakci, než podle které se jmenuje. Katalyzuje hydrolýzu sukcinylkoenzymu A za současné **fosforylace na substrátové úrovni**, tedy vzniká přímo GTP z GDP (a ne až v dýchacím řetězci).

7. Sukcinát dehydrogenáza

Provádí dehydrogenaci sukcinátu. Vzniká FADH₂ z FAD. Dehydrogenace je vysoce stereospecifická a vzniká pouze fumarát a ne maleinát. Enzym je kompetitivně inhibován malonátem, který je o uhlík kratší než sukcinát, a proto nemůže dojít k dehydrogenaci.

8. Fumaráza

Katalyzuje alkalickou hydrataci fumarátu za vzniku malátu. OH⁻ provádí nukleofilní atak na uhlík, který díky rezonanci π-elektronů získal parciální kladný náboj, čímž vzniká karbanion, na který se naváže H⁺.

9. Malát dehydrogenáza

Katalyzuje dehydrogenaci malátu na oxalacetát, čímž se substrát celého cyklu regeneruje. Tento enzym také může být zapojen v [malátovém člunku](#).

0. Pyruvátdehydrogenáza
1. Citrát syntáza
2. Akonitáza
3. Izocitrát dehydrogenáza
4. α -ketoglutarát dehydrogenáza
5. Sukcinylkoenzym A syntetáza
6. Sukcinát dehydrogenáza
7. Fumaráza
- 8 . Malát dehydrogenáza

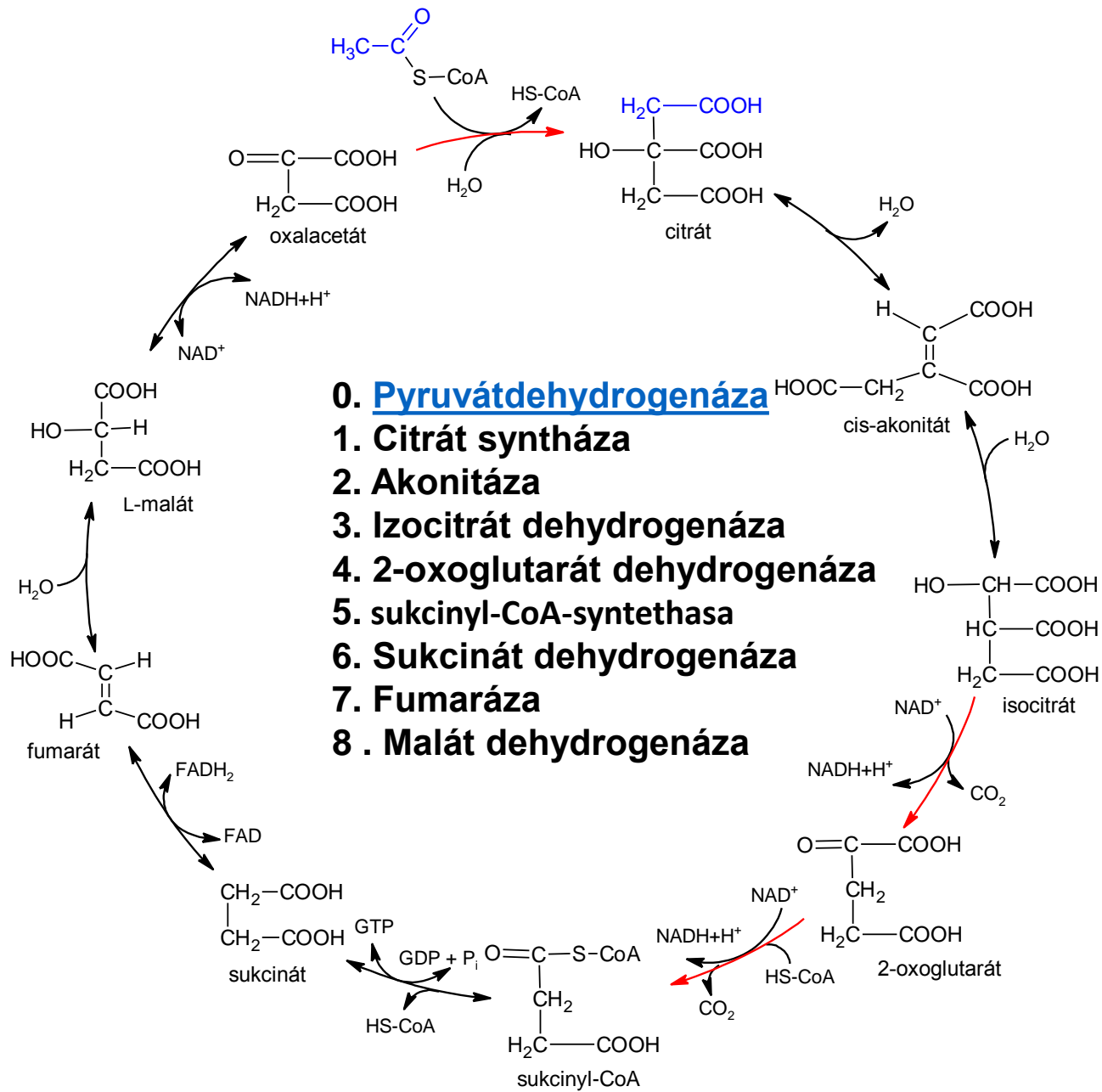
Enzymy klíčové pro regulaci CC a jejich inhibitory/aktivátory

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 alosterický inhibitor

^b zpětnovazebný inhibitor (inhibice produktem)

^c alosterický aktivátor



0. Pyruvátdehydrogenáza

1. Citrát syntháza

2. Akonitáza

3. Izocitrát dehydrogenáza

4. 2-oxoglutarát dehydrogenáza

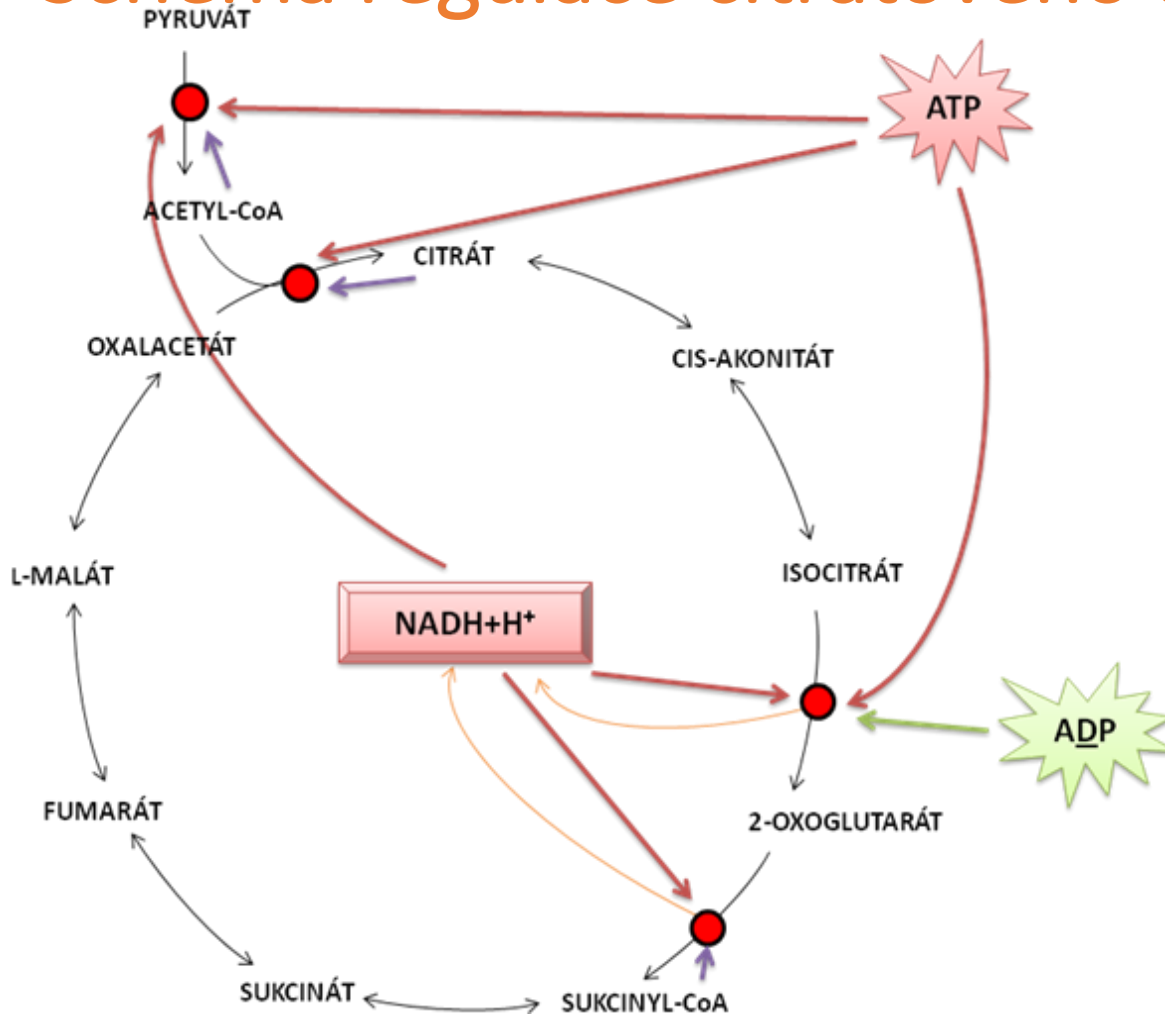
5. sukcinyl-CoA-syntethasa

6. Sukcinát dehydrogenáza

7. Fumaráza

8. Malát dehydrogenáza

Schéma regulace citrátového cyklu

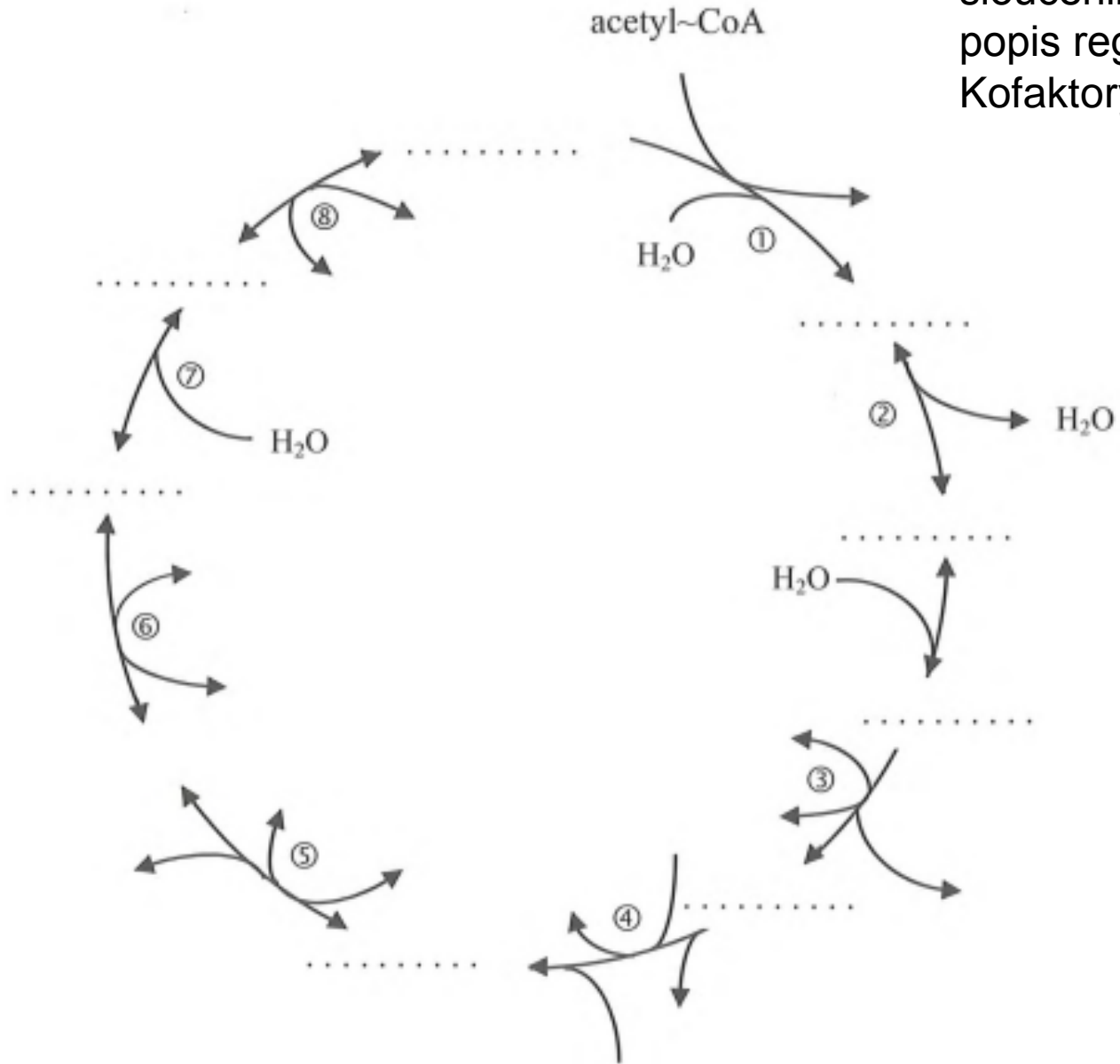


NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 238.

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

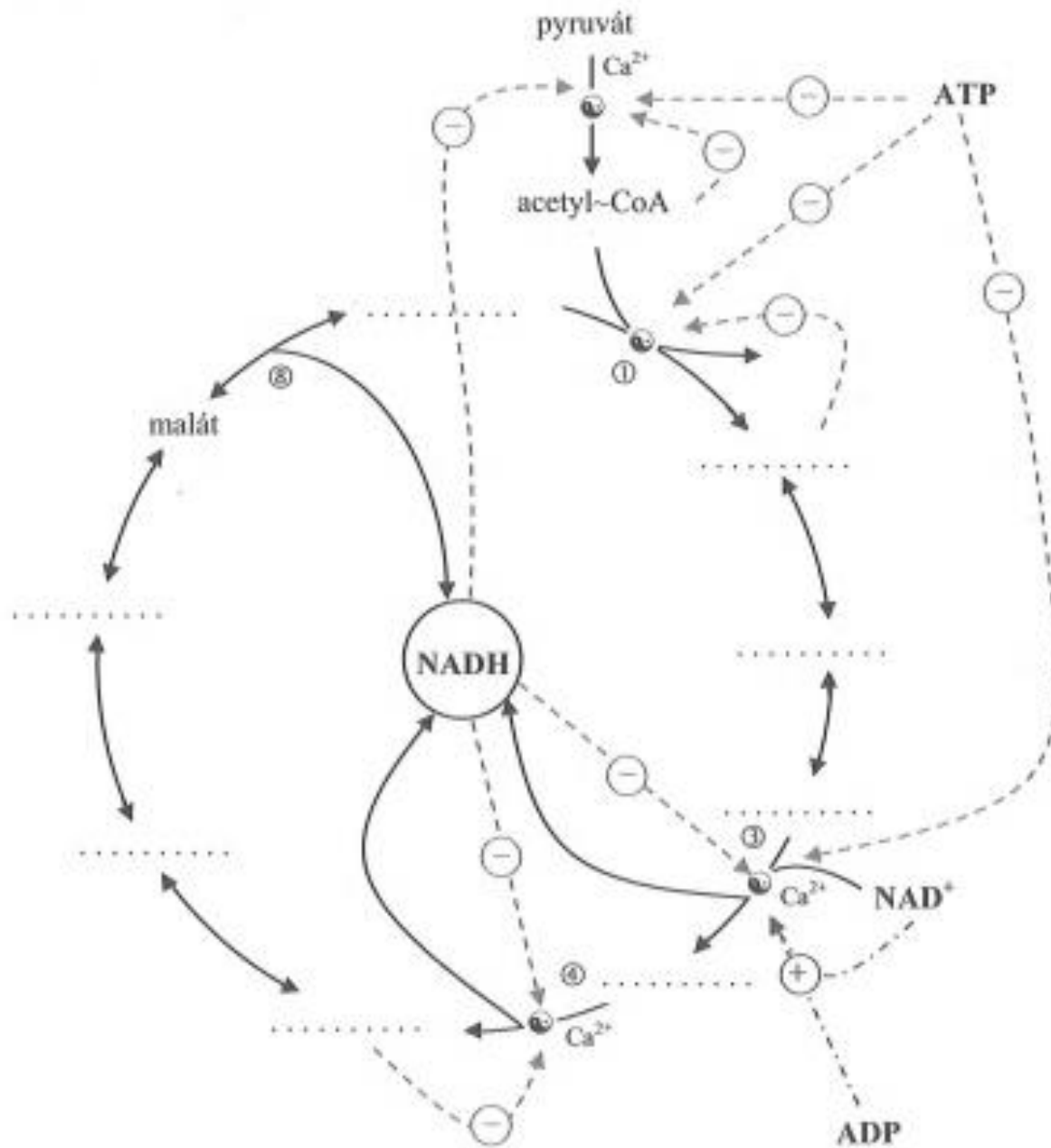
Průběh citrátového cyklu

Jména a struktury
sloučenin, enzymy,
popis regulací,
Kofaktory...



Regulace citrátového cyklu

Jména a struktury
sloučenin,
enzymy, popis
regulací



1. [Pyruvátdehydrogenáza](#) Pyruvát dehydrogenáza, **Pyruvát dehydrogenázový komplex** je komplex tří [enzymů](#) uvnitř [mitochondrie](#): pyruvát dehydrogenázy, dihydrolipoyltransacetylázy a dihydrolipoyldehydrogenázy. Komplex pracuje jako celek v přítomnosti koenzymů [TPP](#), [NAD⁺](#), [lipoátu](#) ve formě lipoamidu, [FAD](#) a [koenzymu A](#). Pyruvát dehydrogenáza katalyzuje oxidativní dekarboxylaci [pyruvátu](#) s navázáním acetylu na TPP, dihydrolipoyltransacetyláza katalyzuje přenesení acetylu z TPP přes lipoamid na koenzym A a dihydrolipoyldehydrogenáza regeneruje lipoamid pomocí FAD, z něhož vzniká FADH₂, které regeneruje zase pomocí NAD⁺, z něhož vzniká NADH + H⁺. Enzym je inhibován arsenem v oxidačním stavu As(III) (arseničnany,...), který blokuje lipoamid.

2. Citrát syntáza

Katalyzuje přenesení acetylu z acetyl-S·CoA na oxalacetát za vzniku [citrátu](#).

3. Akonitáza

Katalyzuje přesmyk citrátu na izocitrát přes cis-akonitát. Její aktivní centrum tvoří kuboidní klastř čtyř atomů síry a čtyř atomů železa, vázaného přes síru z postranních řetězců cysteinu. Tento enzym je stereospecifický s ohledem na **prochirální** vlastnosti citrátu. (To se dá prokázat značením pyruvátu pomocí uhlíku ¹⁴C.) Inhibuje ho (2R,3R)2-fluorocitrát.

4. Izocitrát dehydrogenáza

Provádí oxidativní dekarboxylaci karboxylové skupiny na terciárním uhlíku izocitrátu za současné dehydrogenace hydroxy skupiny, přičemž se mění NAD⁺ na NADH + H⁺. Tento enzym využívá **manganaté** či hořečnaté **ionty** jako **koenzym**.

5. α-ketoglutarát dehydrogenáza

Katalyzuje oxidativní dekarboxylaci za současného navázání α-keto uhlíku na koenzym A. Vzniká tak sukcinyl-S·CoA a NADH + H⁺ z NAD⁺.

6. Sukcinylkoenzym A syntetáza

Provádí přesně opačnou reakci, než podle které se jmenuje. Katalyzuje hydrolýzu sukcinylkoenzymu A za současné **fosforylace na substrátové úrovni**, tedy vzniká přímo GTP z GDP (a ne až v dýchacím řetězci).

7. Sukcinát dehydrogenáza

Provádí dehydrogenaci sukcinátu. Vzniká FADH₂ z FAD. Dehydrogenace je vysoce stereospecifická a vzniká pouze fumarát a ne maleinát. Enzym je kompetitivně inhibován malonátem, který je o uhlík kratší než sukcinát, a proto nemůže dojít k dehydrogenaci.

8. Fumaráza

Katalyzuje alkalickou hydrataci fumarátu za vzniku malátu. OH⁻ provádí nukleofilní atak na uhlík, který díky rezonanci π-elektronů získal parciální kladný náboj, čímž vzniká karbanion, na který se naváže H⁺.

9. Malát dehydrogenáza

Katalyzuje dehydrogenaci malátu na oxalacetát, čímž se substrát celého cyklu regeneruje. Tento enzym také může být zapojen v [malátovém člunku](#).