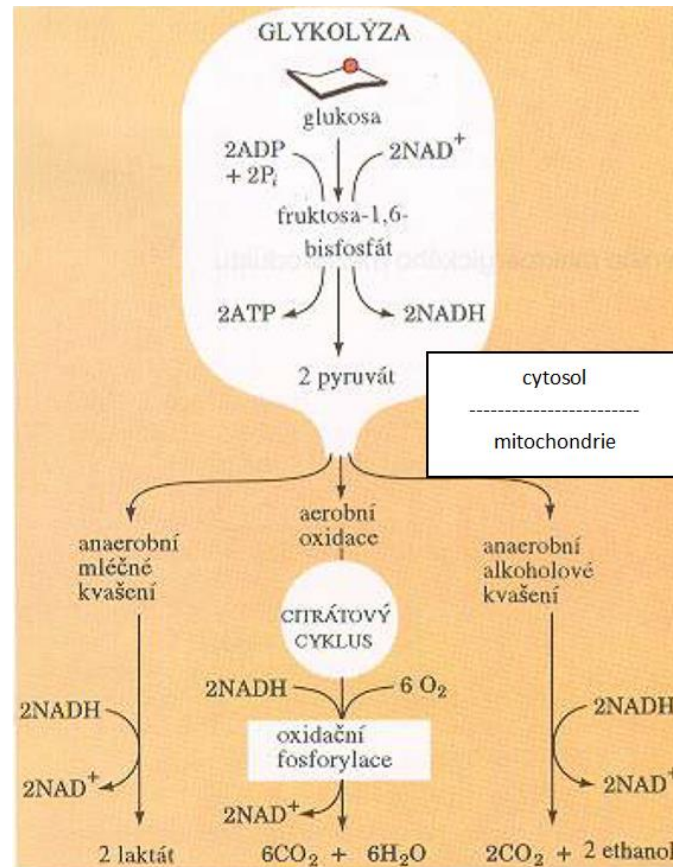


Aerobní odbourávání cukrů+elektronový transportní řetězec

Dochází k němu v procesu jménem aerobní respirace. Skládá se z kroků:

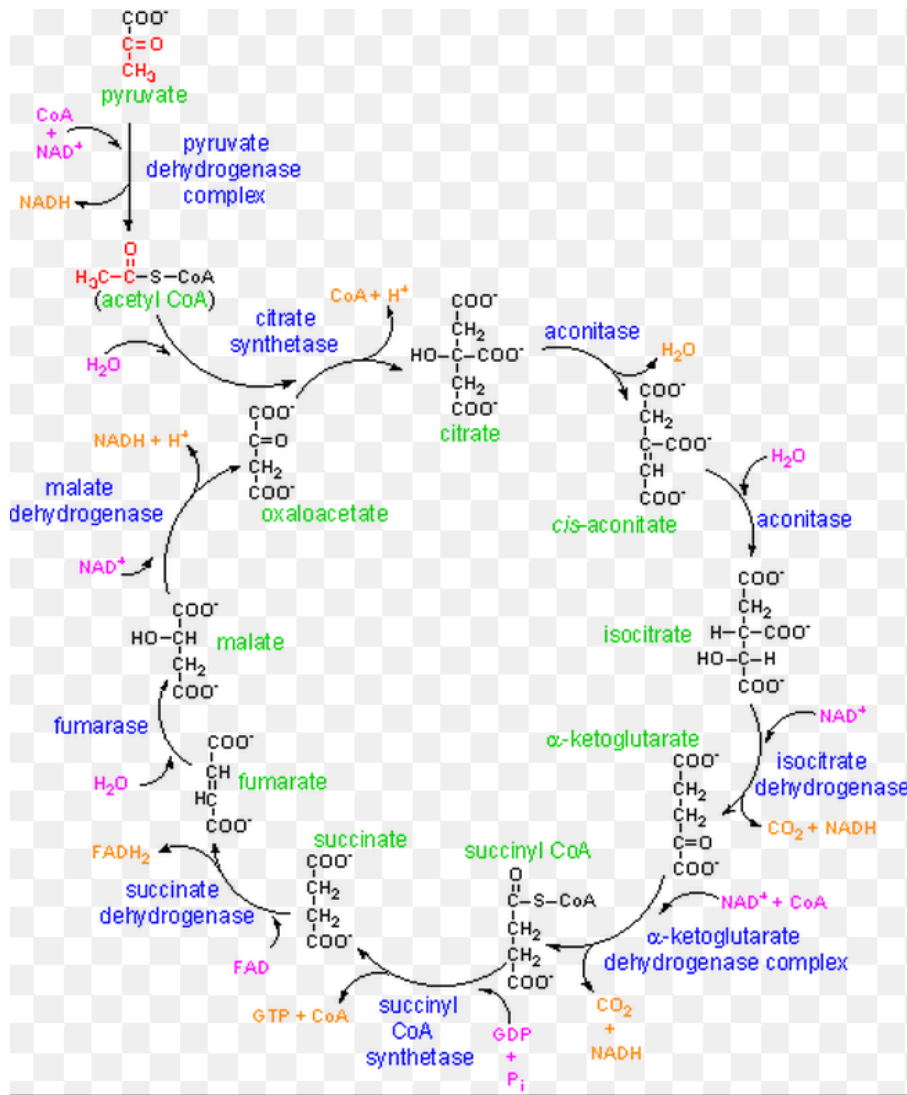
- K1) Glykolýza
- K2) oxidativní dekarboxylace pyruvátu
- K3) Krebsův cyklus
- K4) oxidativní fosforylace (e⁻-transportní řetězec)

Přehledové schéma:



Glykolýza je zpracována v otázce od Kuby, zde se budeme věnovat zbylým krokům.

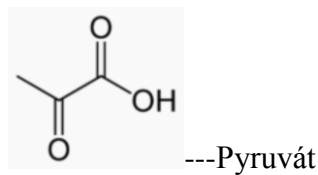
Schéma kroků K2 a K3:



Jak je vidět, Krebsův cyklus má 8 kroků, které katalyzuje 8 enzymů.

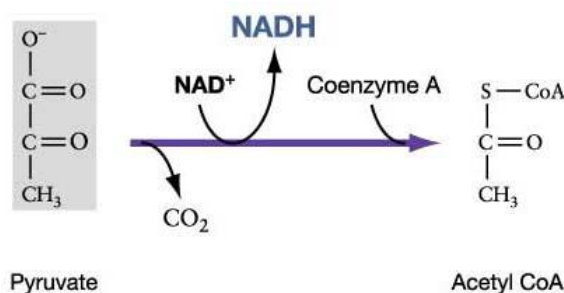
K2) oxidativní dekarboxylace pyruvátu

1) Z 1 molekuly glukózy vypadnou po glykolýze 2 pyruváty (od kyseliny pyrohroznové)



Glykolýza probíhá v cytosolu, její produkt pyruvát se pak transportuje do mitochondrií. Kroky K2 a K3 probíhají v mitochondriální matrix.

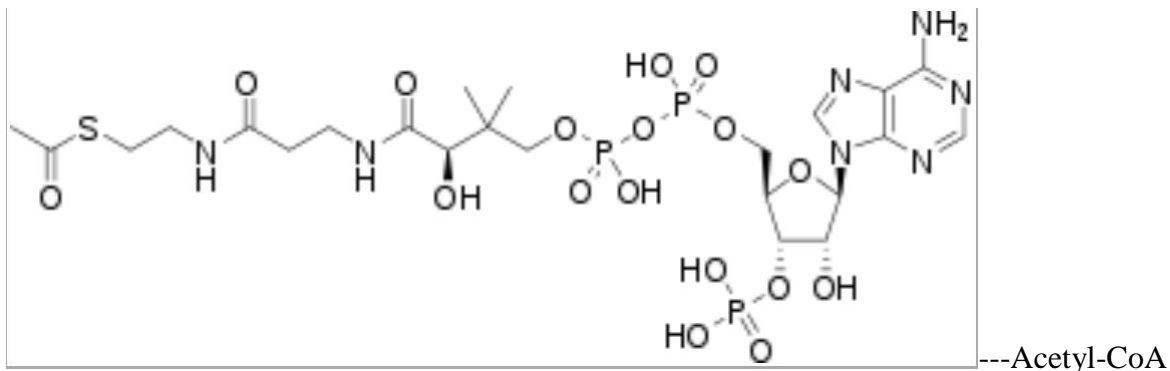
2) Pyruvát se oxiduje (dekarboxyluje) na Acetyl Koenzym A



Reakce je katalyzována obrovským komplexem pyruvátdehydrogenázou (je 2 x větší než ribozom), který má kubickou symetrii.

-Tuto reakci umí zablokovat arzén, což je důvodem jeho toxicity.

-Acetyl CoA je centrální metabolický produkt nejen degradace sacharidů, ale i lipidů a bílkovin



(ta důležitá acetylová skupina je nejvíc vlevo, její thioesterová vazba je makroergická)

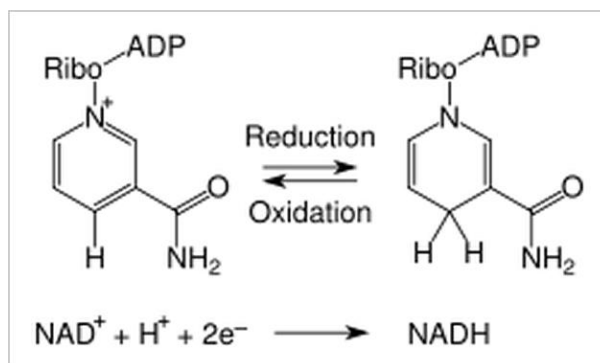
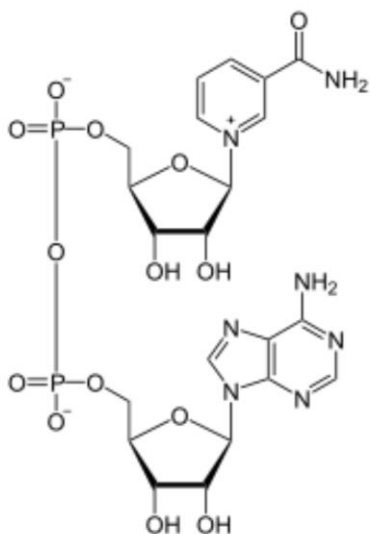
K3) Krebsův cyklus

3) AcetylCoA předává acetylovou skupinu oxalacetátu v Krebsově cyklu, vzniká citrát

4) citrát --> isocitrát

5) isocitrát --> 2-oxoglutarát

- 2-oxoglutarát může být v tomto místě cyklu doplněn také přeměnou aminokyseliny glutamátu
- při reakci se uvolní CO₂ a přemění se NAD⁺ -->NADH



(vzorec NAD⁺ - všimněme si, kam se váže proton)

6) 2-oxoglutarát --> sukcinyl-CoA

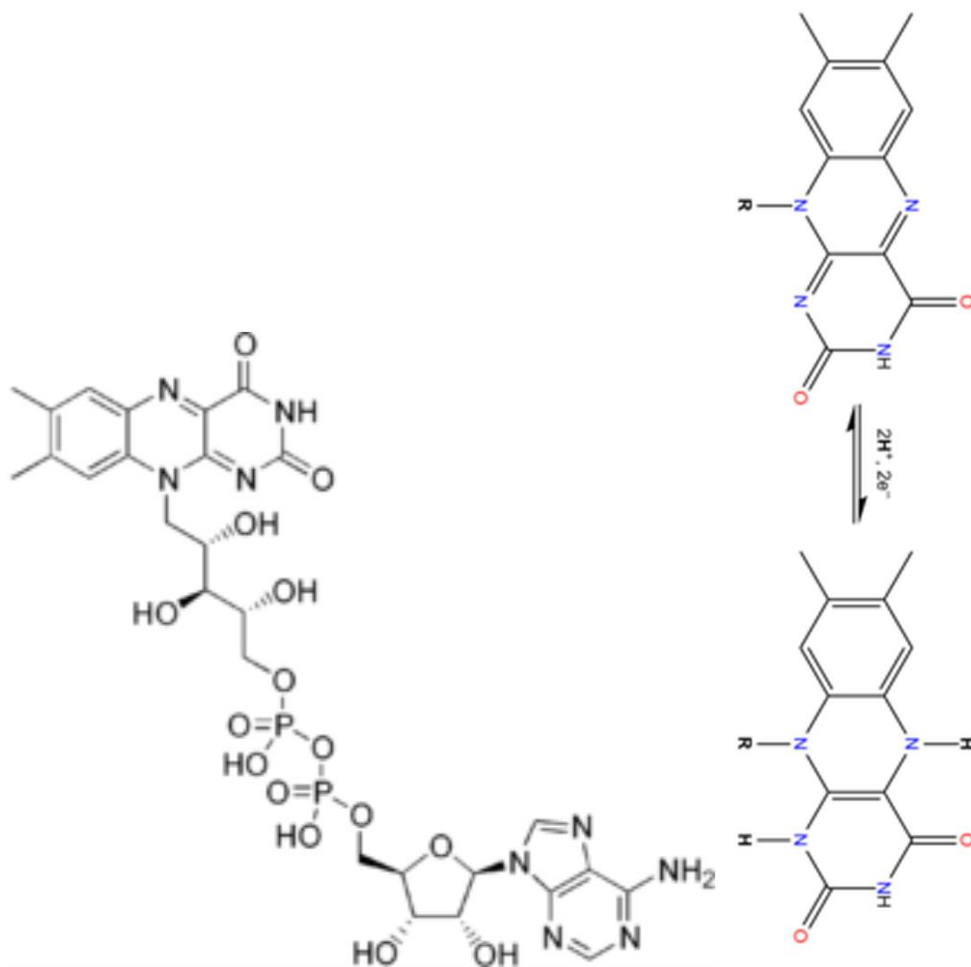
- a. sukcinyl-CoA je v tomto místě cyklu doplňován z oxidace mastných kyselin s lichým počtem uhlíků
- b. může být doplněn taky štěpením aminokyselin
- c. při reakci se uvolní CO₂ a přemění se NAD⁺ -->NADH
- d. sukcinyl-CoA může opustit cyklus a vstoupit do syntézy porfyriu

7) *sukcinyl-CoA --> sukcinát*

- a. přeměna GDP na GTP

8) *sukcinát --> fumarát*

- a. dochází k přeměně FAD --> FADH₂



(vzorec FAD. Všimněte si, kam se váží ty dva protony – na ten flavin)

9) *fumarát --> L-malát*

10) *L-malát --> oxaloacetát*

- a. oxaloacetát je produktem cyklu a zároveň substrátem pro další příchozí AcetylCoA, cyklus se tedy uzavírá.
- b. oxaloacetát se při nadbytku redukuje zpět na malát (nutné k transportu přes membránu mitochondrie), transportován do cytosolu a tam vstupuje do glukoneogeneze
- c. při nedostatku oxaloacetátu se doplní přímo z pyruvátu enzymem pyruvátkarboxylázou

Shrnutí: Pyruvát se za uvolnění CO₂ oxiduje na AcCoA (kde udělá tu acetylovou skupinu), acetylová skupina se pak v Krebsově cyklu oxiduje na 2 CO₂. **To je úplný konec glukózy**. Zároveň se během cyklu tvoří 1 GTP a redukční ekvivalenty 3x NADH a 1x FADH₂, které pak vstupují do kroku K4 – oxidativní fosforylace.

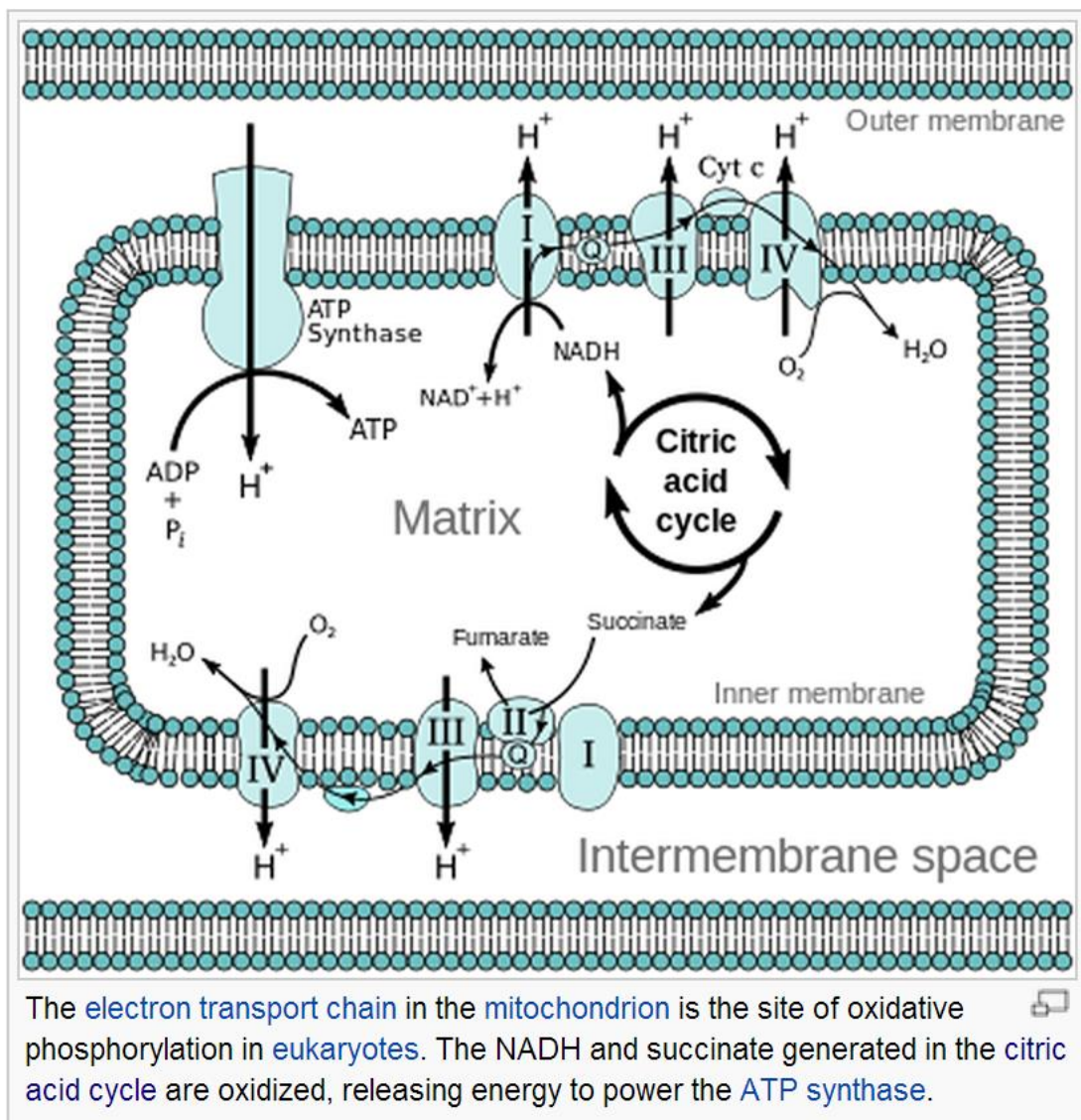
Krebsův cyklus je regulován množstvím zpětných vazeb (typicky produkt inhibuje enzym, který jej produkuje).

K4) oxidativní fosforylace (e⁻-transportní řetězec)

NADH (a FADH₂) vytvořené v Krebsově cyklu se oxidují odevzdáním svých elektronů transportnímu řetězci, který je využije k tvorbě H⁺ gradientu, který pak ATP syntáza využije k syntéze ATP.

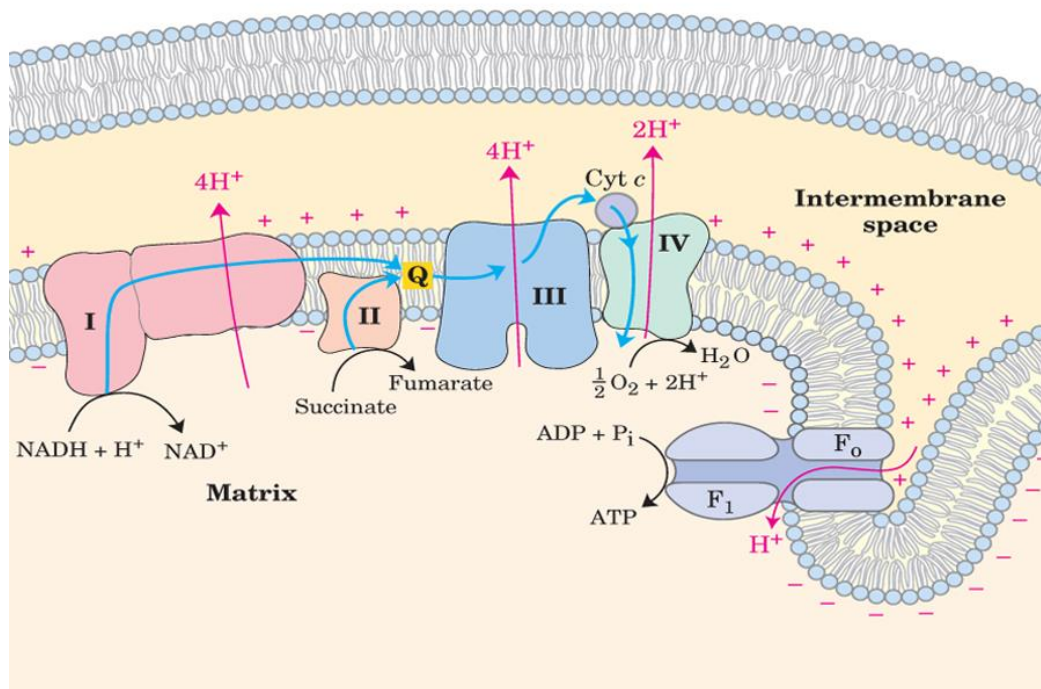
Zde leží odpověď na otázku, proč je celý proces označován jako „aerobní“: **kyslík slouží jako finální akceptor elektronů**.

Přehledové schéma mitochondrie:

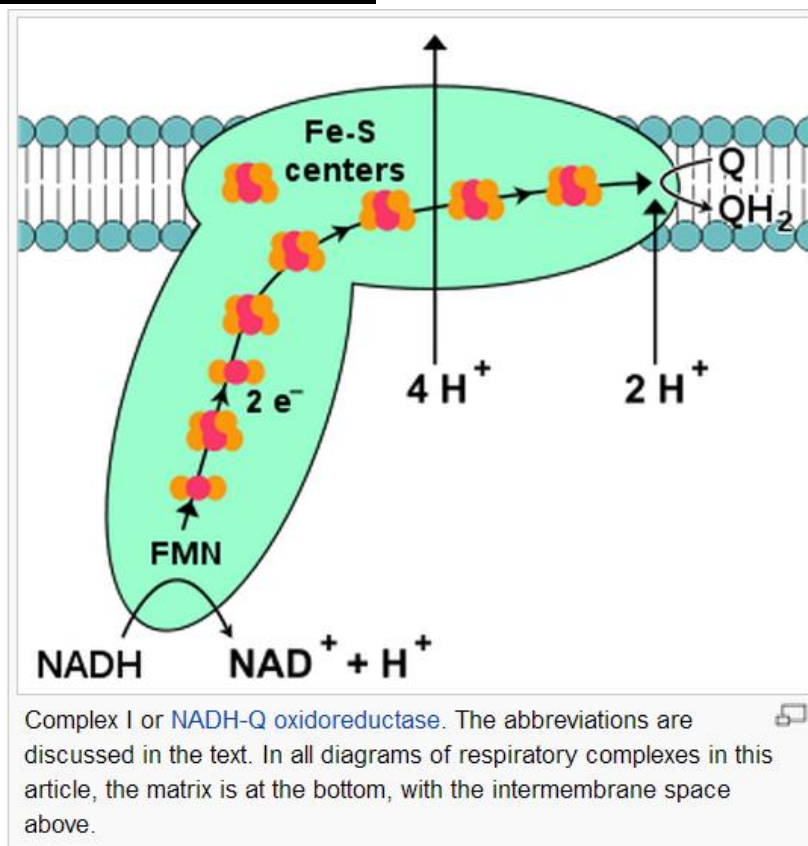


Transportní řetězec se skládá ze **4 velkých proteinových komplexů**, zásadní roli pak hraje ještě **koenzym Q** a **cytochrom c**. Pátým velkým proteinovým komplexem je **ATP-syntáza** (ta však nepřenáší elektrony, takže se většinou uvádí zvlášť).

Detailnější schéma transportního řetězce:

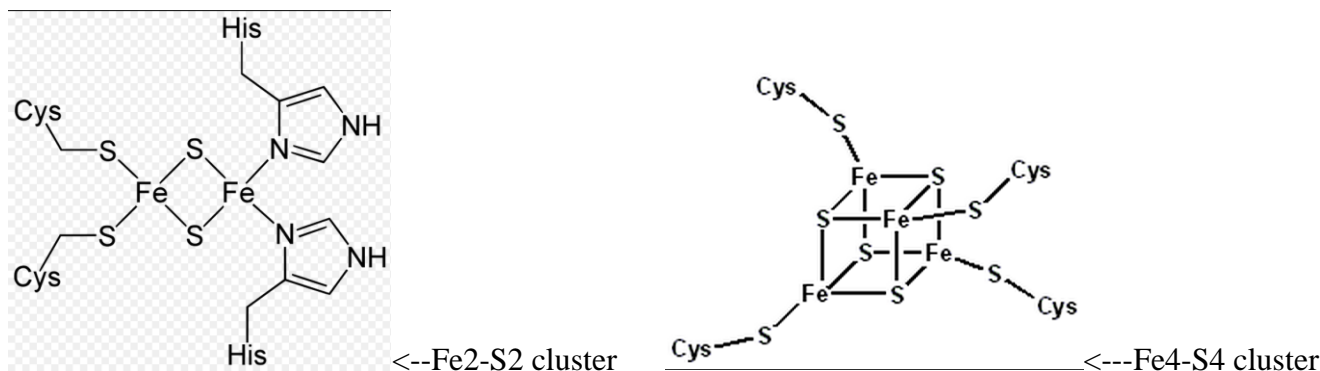


Komplex I (NADH-koenzym Q oxidoreduktáza)

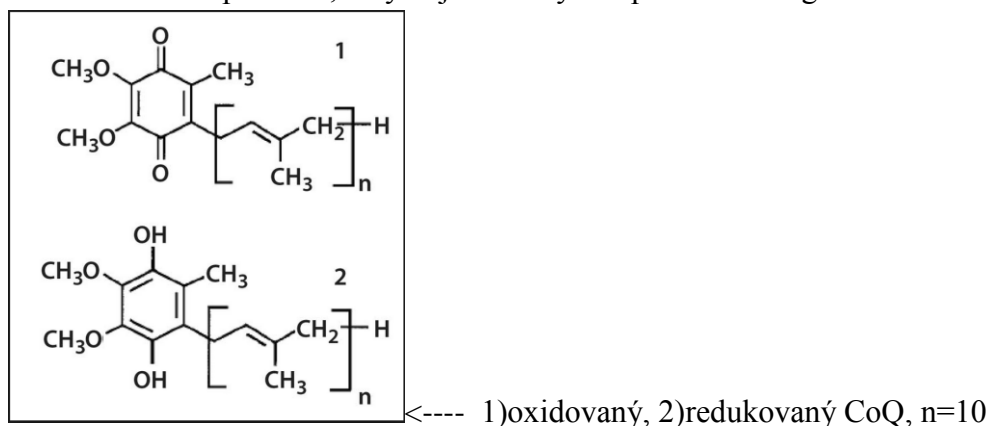


NADH předá 2 elektrony molekule FMN (flavin mononukleotid), ty se pak dále přenáší přes řadu Fe-S center.

Přítomny jsou dva druhy:

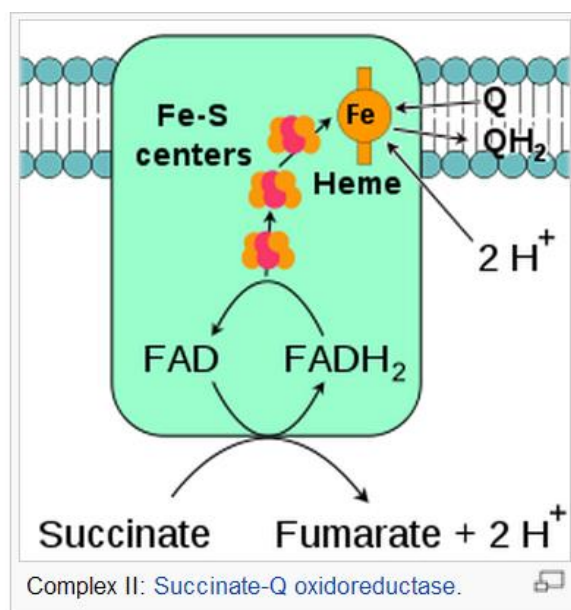


Elektrony se přenesou až na molekulu koenzymu Q₁₀. Uvolněná energie se využije na transport 4 H⁺ z matrix do mezimembránového prostoru, tedy dojde ke zvýšení protonového gradientu.



Koenzym Q je silně hydrofobní, takže se v membráně může pohodlně pohybovat a fungovat jako *fyzický* přenašeč elektronů (ne jen přeskokováním po chemických vazbách) – ty přenáší na **Komplex III (!! nikoli II)**.

Komplex II (sukcinát-Q oxidoreduktáza)



Komplex II se přímo účastní Krebsova cyklu, kde oxiduje sukcinát na fumarát za současné redukce FAD na FADH₂. Elektrony z FADH₂ jsou pak přenášeny na Koenzym Q, který redukuje. Ten je pak přenesen ke Komplexu III. Komplex II tedy nenásleduje v řetězci za Komplexem I, je nezávislým vstupním místem

do řetězce. Protože při jeho činnosti nevzniká tolik energie jako při oxidaci NADH, nefunguje jako protonový přenašeč.

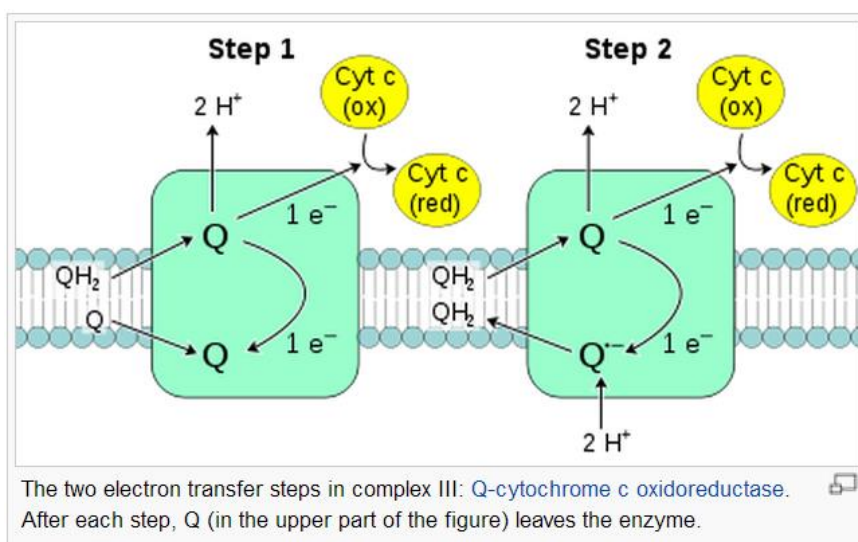
ETF dehydrogenáza (electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase)

Další, poněkud opomíjený vstup do transportního řetězce. Redukuje koenzym Q elektrony obdrženy v matrix od flavoproteinů, které hrají roli při oxidaci mastných kyselin. Lze jej nalézt u prokaryot i eukaryot, obsahuje flavin a Fe-S cluster.

Komplex III (Q-cytochrom c oxidoreduktáza)

Dimer obsahující jeden Fe₂-S₂ cluster, 1 cytochrom-c1 a 2 cytochromy-b.

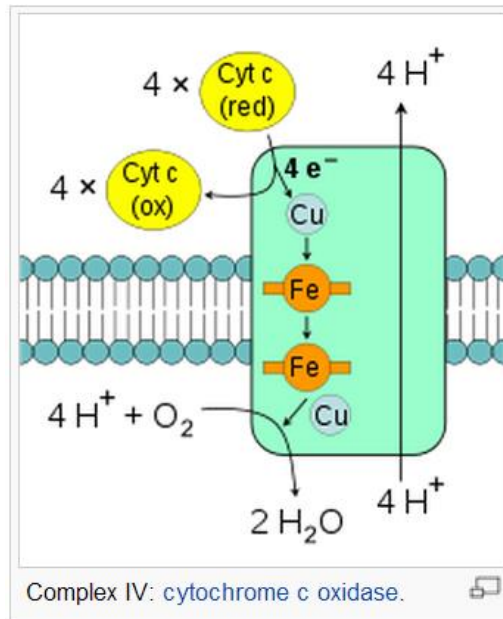
Komplex III oxiduje jeden koenzym Q, získanými elektrony pak redukuje dva **cytochromy-c** (ale neumí to najednou, nýbrž jen postupně v tzv. „Q-cykladu“ – což je však ve skutečnosti vychytávka, protože se tak přetransportuje dvakrát víc protonů). Při reakci dojde k transportu 4 H⁺.



Cytochrom-c je malý protein obsahující hemovou skupinu s atomem železa, které umí přecházet mezi stavy +II a +III. Nachází se v intermembránovém prostoru mitochondrií, kde se volně asociuje s některými membránovými proteiny. Jeho uvolnění do cytosolu spouští apoptózu.

Po redukci komplexem III cytochrom transportuje získaný elektron do Komplexu IV (cytochrom-c-oxidáza).

Komplex IV (cytochrom-c oxidáza)

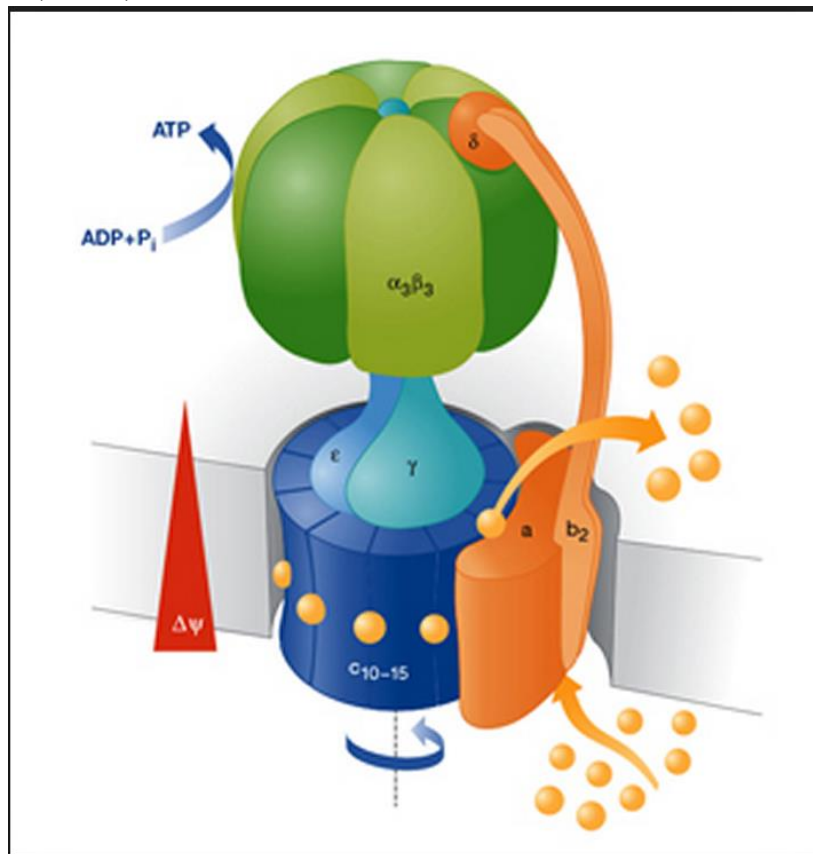


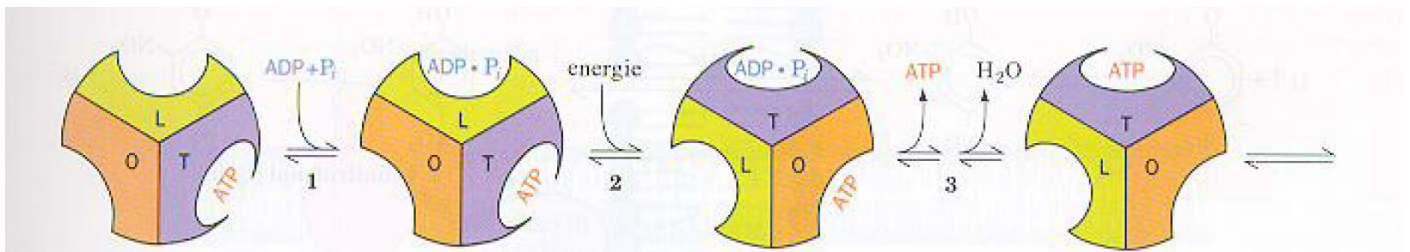
Jedná se o mimořádně složitý komplex, obsahující Cu- a Fe- centra. 4 elektrony získané oxidací cytochromů předá jejich finálním akceptorům, molekule O_2 . Transportuje přitom $4 H^+$.

Činnost Komplexu IV je blokována kyanidy -->jedovatost.

Komplex V (ATP-syntáza)

Tento enzym má v membráně ukotvenou podjednotku označovanou jako F_0 („rotor“, na obrázku modře), kterým z mezimembránového prostoru do vnitřku mitochondrie protékají vodíkové ionty. V matrix se nachází F_1 podjednotka (zeleně), na níž se váže $ADP+P_i$.





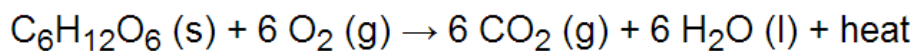
Obr. 20-29

Energeticky závislý mechanismus vazebných změn pro syntézu ATP ATP-synthasou. F₁ má tři chemicky shodné, ale konformací se lišící, navzájem interagující podjednotky: O, otevřená konformace, má velmi nízkou afinitu k ligandům a je katalyticky neaktivní; L váže volně ligandy a je rovněž katalyticky inaktivní, T váže ligandy pevně a je katalyticky aktivní. Syntéza ATP probíhá ve třech krocích: (1) vazba ADP a P_i k L-místu; (2) energeticky závislá konformační změna přeměnění vazebná místa L na T, T na O a O na L; (3) syntéza ATP v místě T a uvolnění ATP z místa O. Enzym se po dalších dvou cyklech tohoto sledu vrací do svého původního stavu.

Průchod 3-4 protonů rotorem ho otočí dostatečně na to, aby „nahromaděné napětí“ způsobilo konformační změny F₁ podjednotky vedoucí k syntéze ADP+P → ATP. Napětí se tím uvolní a cyklus se opakuje.

Celková bilance

Včetně glykolýzy:



$$\Delta G = -2880 \text{ kJ per mole of C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$$

Z 1 glukózy se vytvoří celkem 38 ATP, každá molekula má energii asi 40 kJ/mol => účinnost celé respirace je asi 40%.

Pár elektronů, z nichž 1 vstoupil do transportního řetězce přes komplex I a druhý přes komplex II, přenesou 10 protonů (7:3) a redukují jeden atom kyslíku (4 elektrony tedy redukují jednu **molekulu** kyslíku).