



Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

Ústav lékařské biochemie a laboratorní diagnostiky

Krebsův cyklus

Krebsův cyklus = citrátový cyklus (CC) = cyklus trikarboxylových kyselin (TCA)

Citrátový cyklus jako univerzální metabolický mlýn, nejdůležitější zdroj redukovaných koenzymů. Funkce acetyl koenzymu A. Meziprodukty a enzymy citrátového cyklu. Místa produkce redukovaných koenzymů. Energetická bilance - získ energie substrátovou fosforylací a oxidativní fosforylací. Regulace citrátového cyklu. Anaplerotické děje.

Citrátový cyklus - katabolické a anabolické rysy.

Oxidativní dekarboxylace

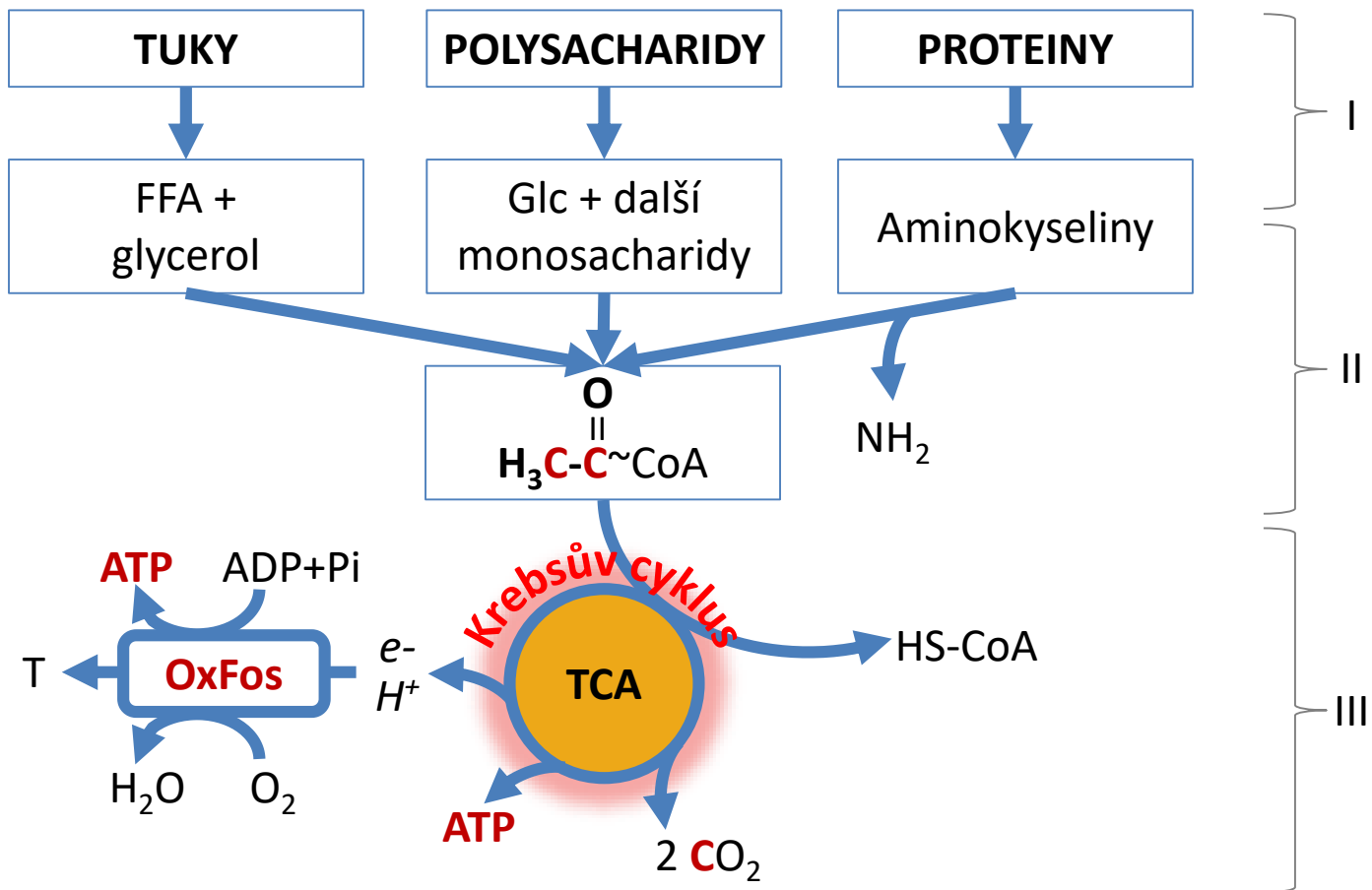
Spojnice mezi metabolismem glukózy a CC; terminální osud pyruvátu a jeho konverze na Ac~CoA.

Prof. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.

Metabolismus

Konverze živin za účelem syntézy nových, pro organismus nezbytných sloučenin a **zisk energie**

Živiny:

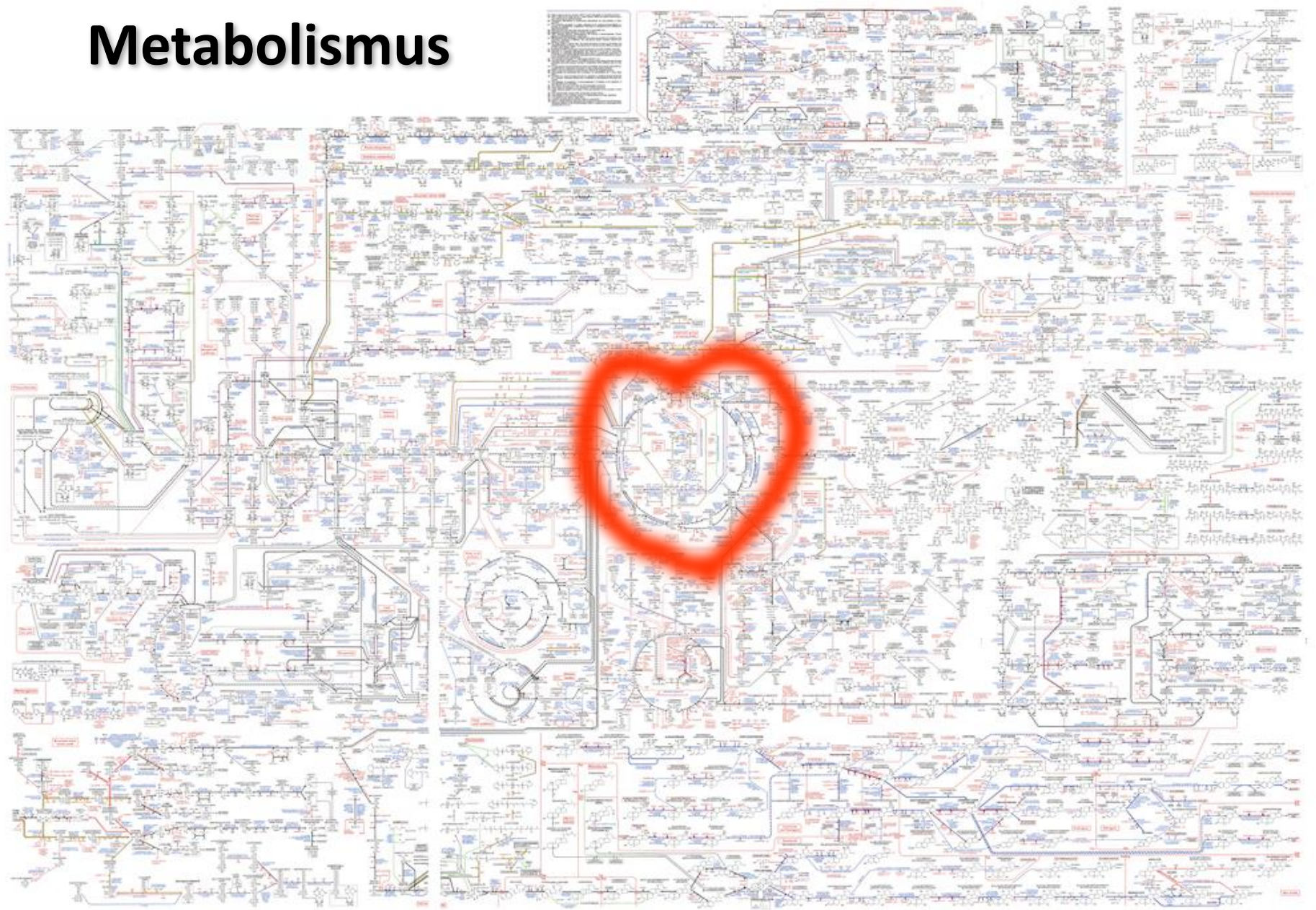


Krebsův cyklus

Univerzální metabolický mlýn

- Společná cesta **konečné oxidace** metabolismu sacharidů, lipidů a aminokyselin

Metabolismus



Krebsův (citrátový) cyklus (trikarboxylových kyselin)

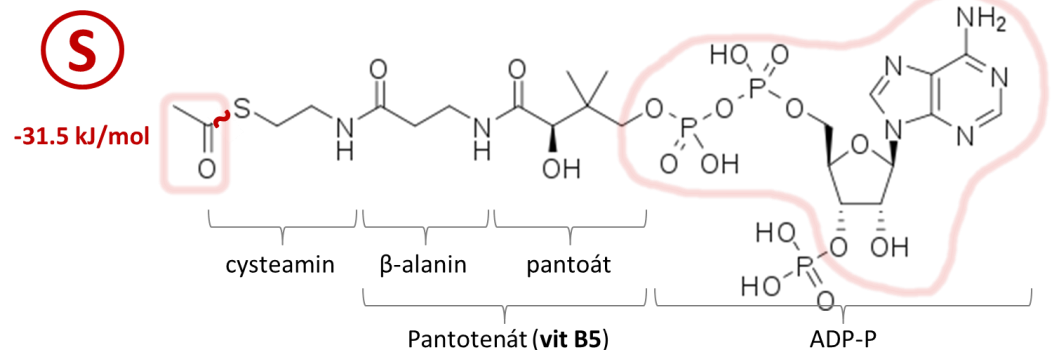
Univerzální metabolický mlýn

- Společná cesta **konečné oxidace** metabolismu sacharidů, lipidů a aminokyselin
 - Většina živin vstupuje do CC v podobě **Ac~CoA**
 - Vstupy/výstupy CC: katabolický i anabolický = **amfibolický charakter**
- Hlavní **zdroj redoxních ekvivalentů (NAD/FAD) pro dýchací řetězec**

V přenosu a transformaci E hrají zásadní roli

makroergní sloučeniny:

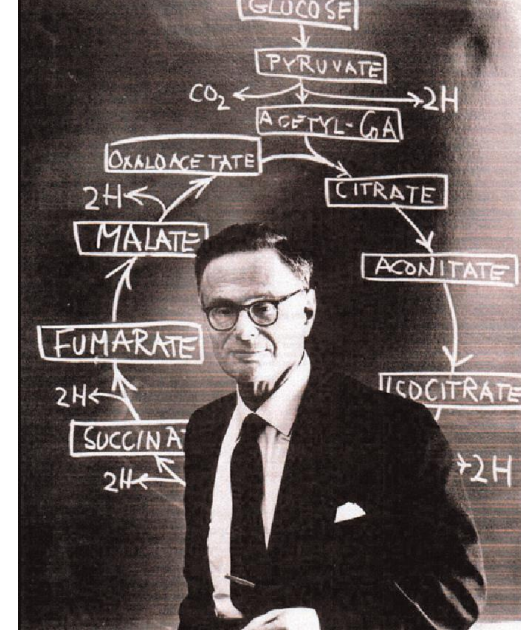
- Thioestery: Ac~CoA



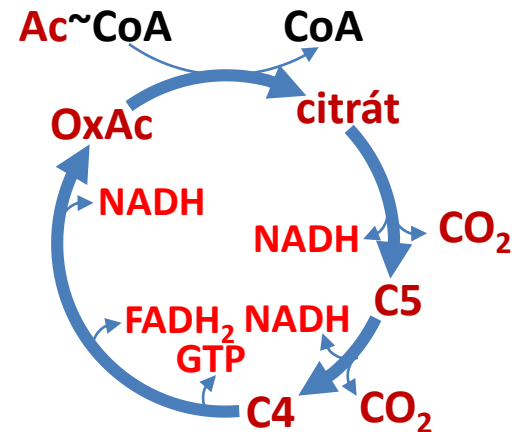
Krebsův cyklus

Cyklický charakter

- Úplná oxidace acetátu z Ac~CoA
 - oxidační dekarboxylací pyruvátu (z glykolýzy)
 - β -oxidací mastných kyselin
- Ac + oxalacetátem $\rightarrow$ citrát
- Přeměn: hl oxidace (dH) a dekarboxylacemi



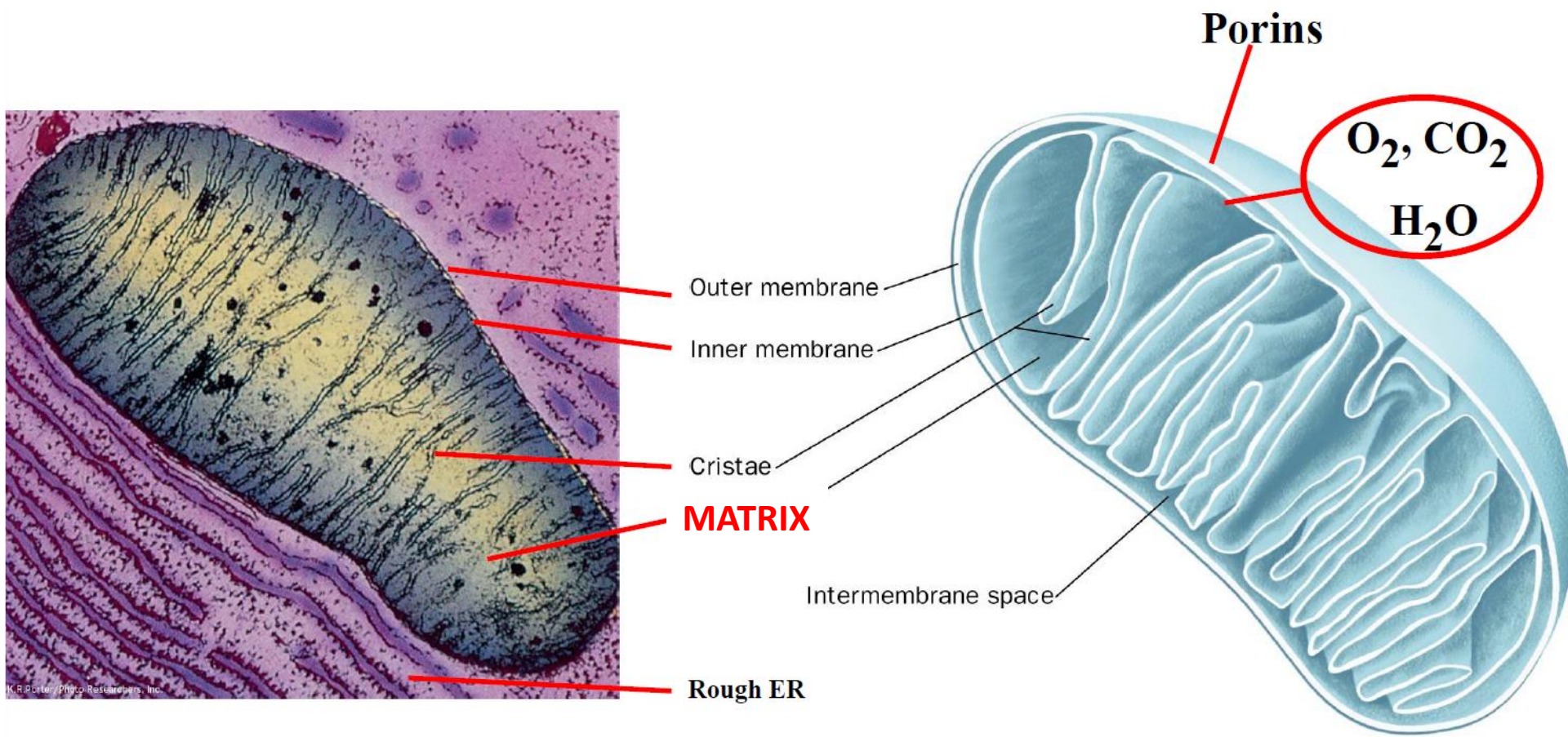
Hans Adolf Krebs
(1900-1981)
NC 1953

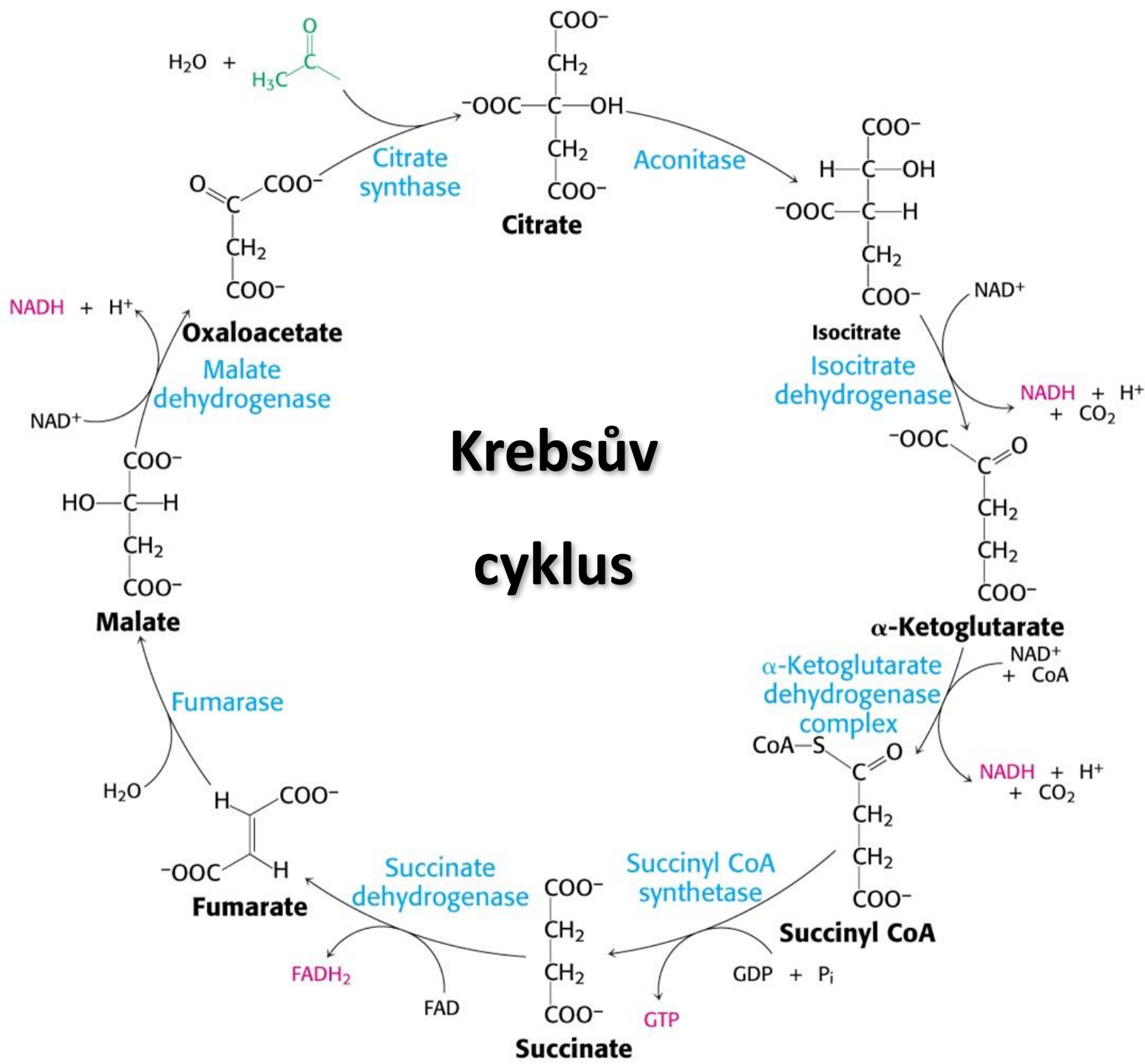


Mitochondrie: sídlo energetického metabolismu

Matrix: CC

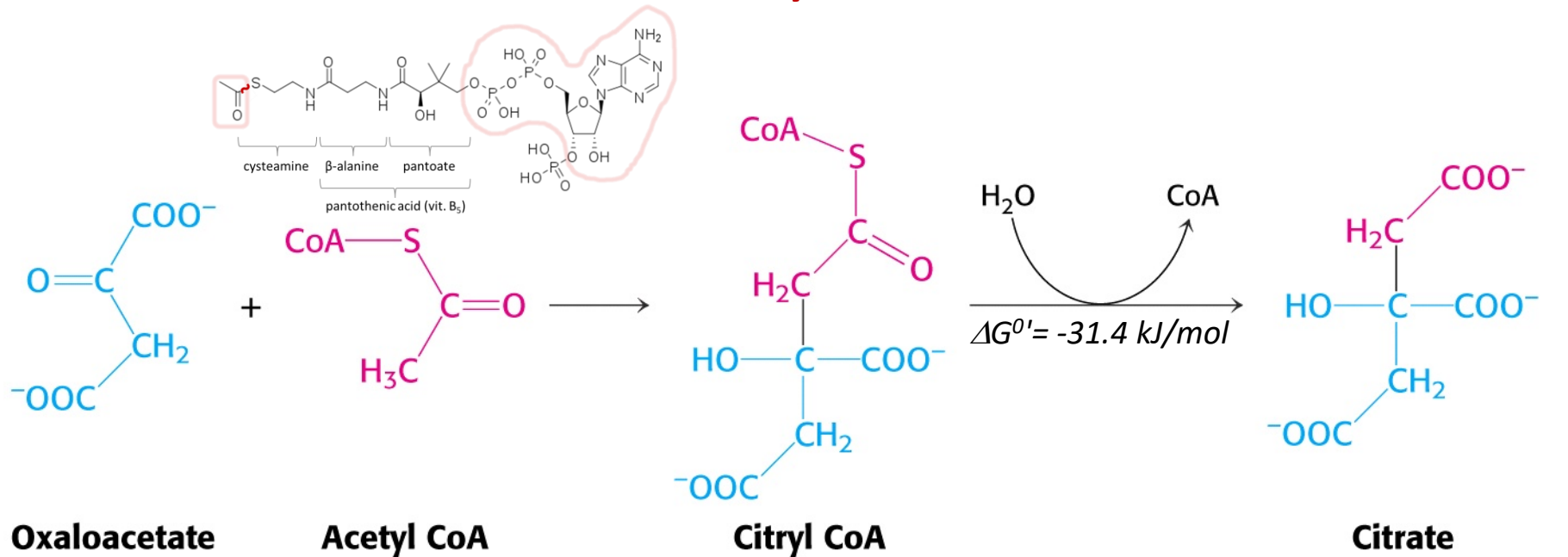
- Vznik redukčních ekvivalentů je blízko k místu jejich využití v DŘ





Krebsův cyklus

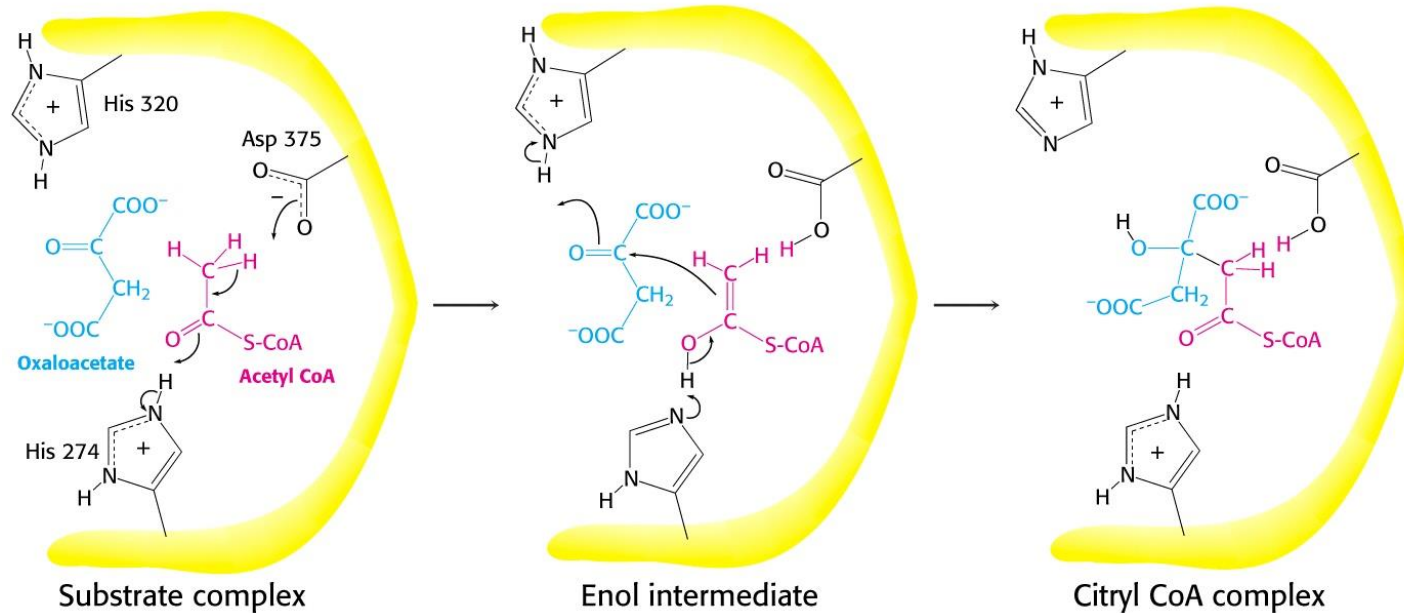
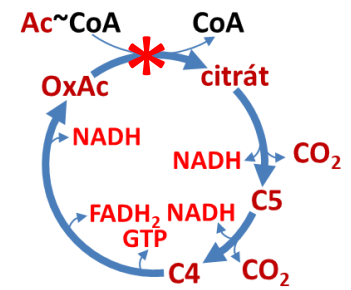
Citrát syntáza



Aldolová kondenzace

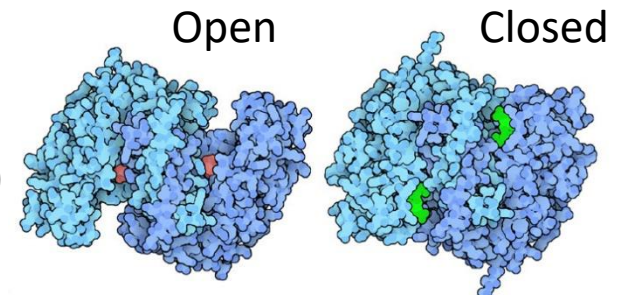
Krebsův cyklus

Citrát syntáza



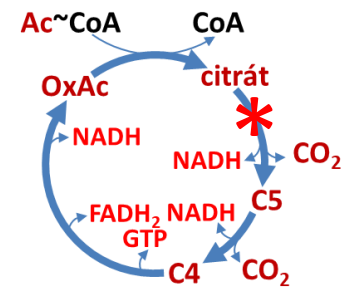
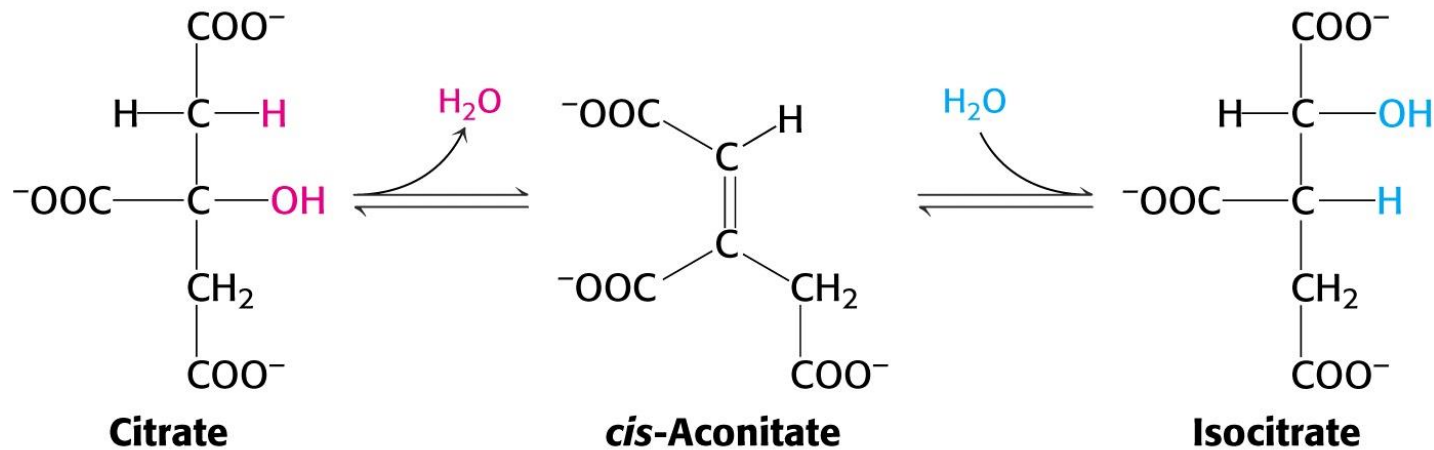
Uspořádaný mechanismus v následných krocích:

1. vazba oxalacetátu
2. vazba acetylCoA
3. formování hydrolytického místa (induced fit)
4. hydrolýza citryl~SCoA (nikoliv acetyl~SCoA)



Krebsův cyklus

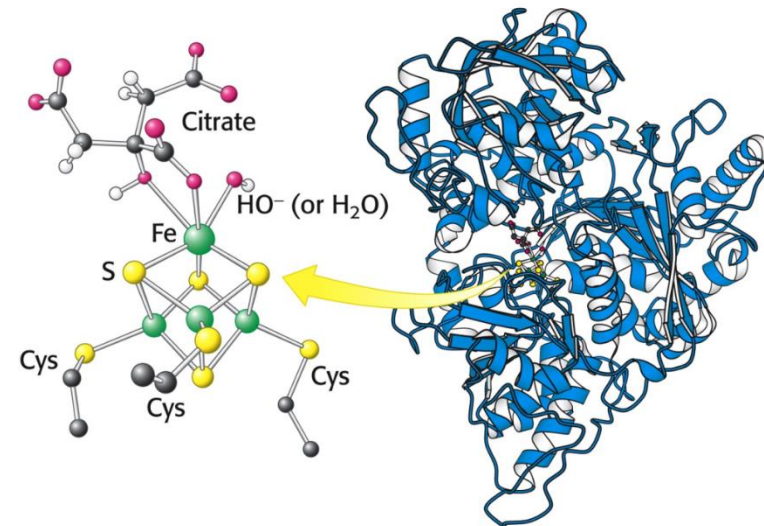
Cis-akonitáza



Izomerace citrátu

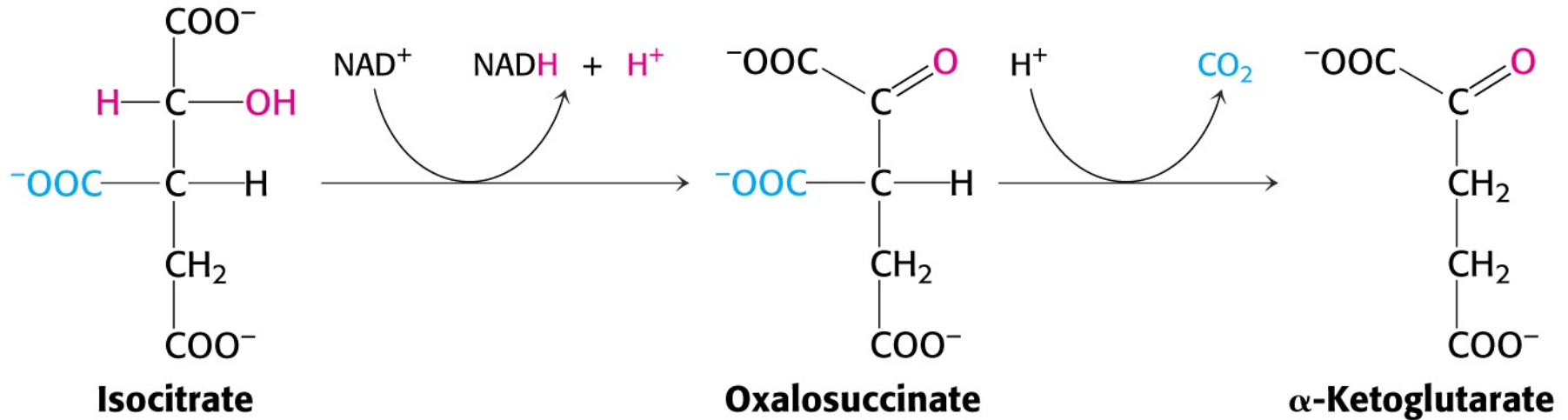
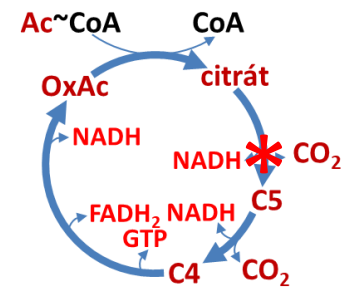
Fe-S protein (klastr 4Fe4S)

Podílí se na (de)hydrataci



Krebsův cyklus

Isocitrát dehydrogenáza

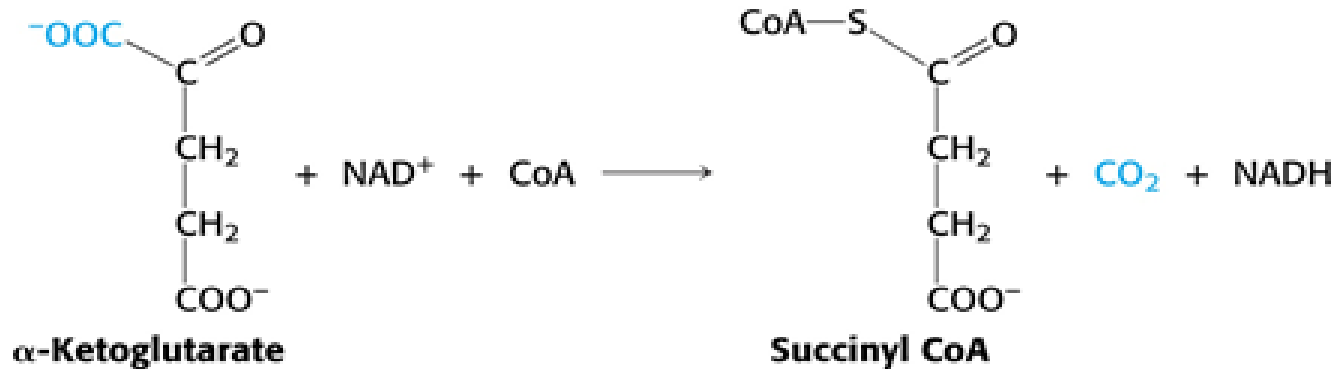
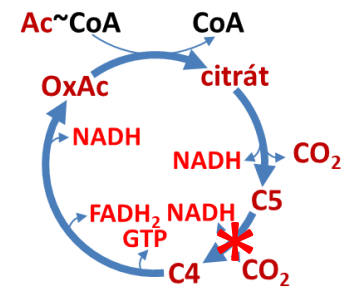


Dvoustupňová přeměna

1. Oxidace (dehydrogenace)
 2. dekarboxylace β -karboxylu
- **Produkce 1. $\text{NADH} + \text{H}^+$**

Krebsův cyklus

α – ketoglutarátdehydrogenáza

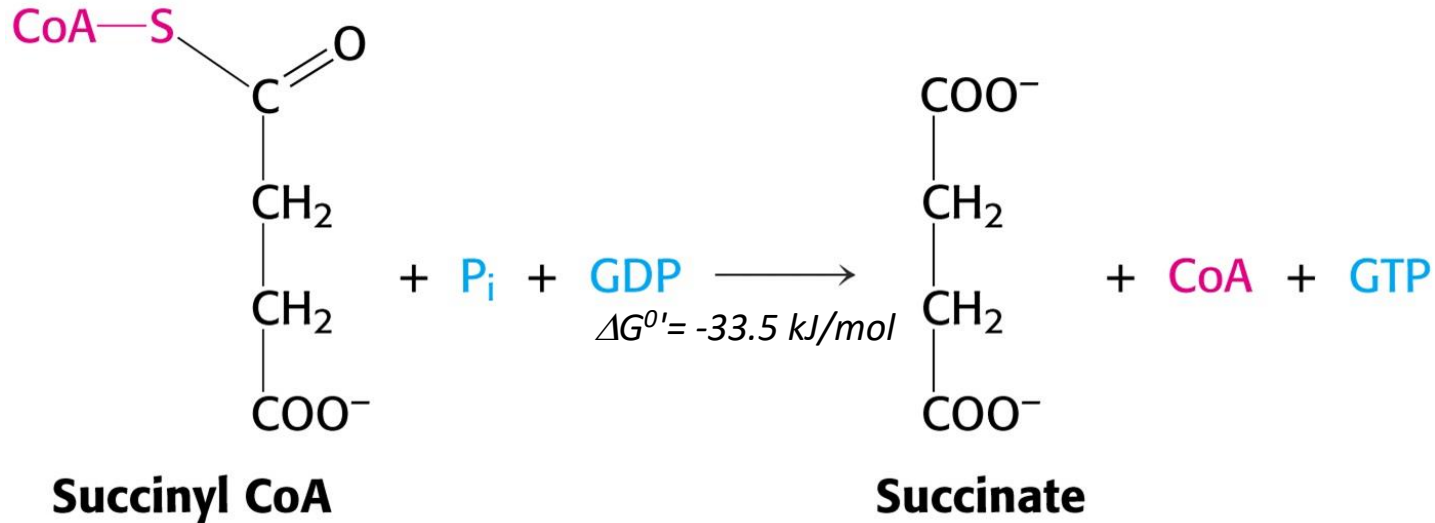
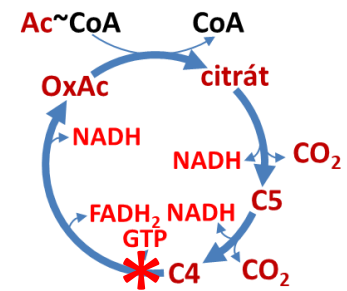


Multienzymový komplex – analog pyruvát dH

- Lipoamid dH stejná
- **Produkce 2. NADH + H⁺**
- **2. dekarboxylace**

Krebsův cyklus

Sukcinyl~CoA syntetáza



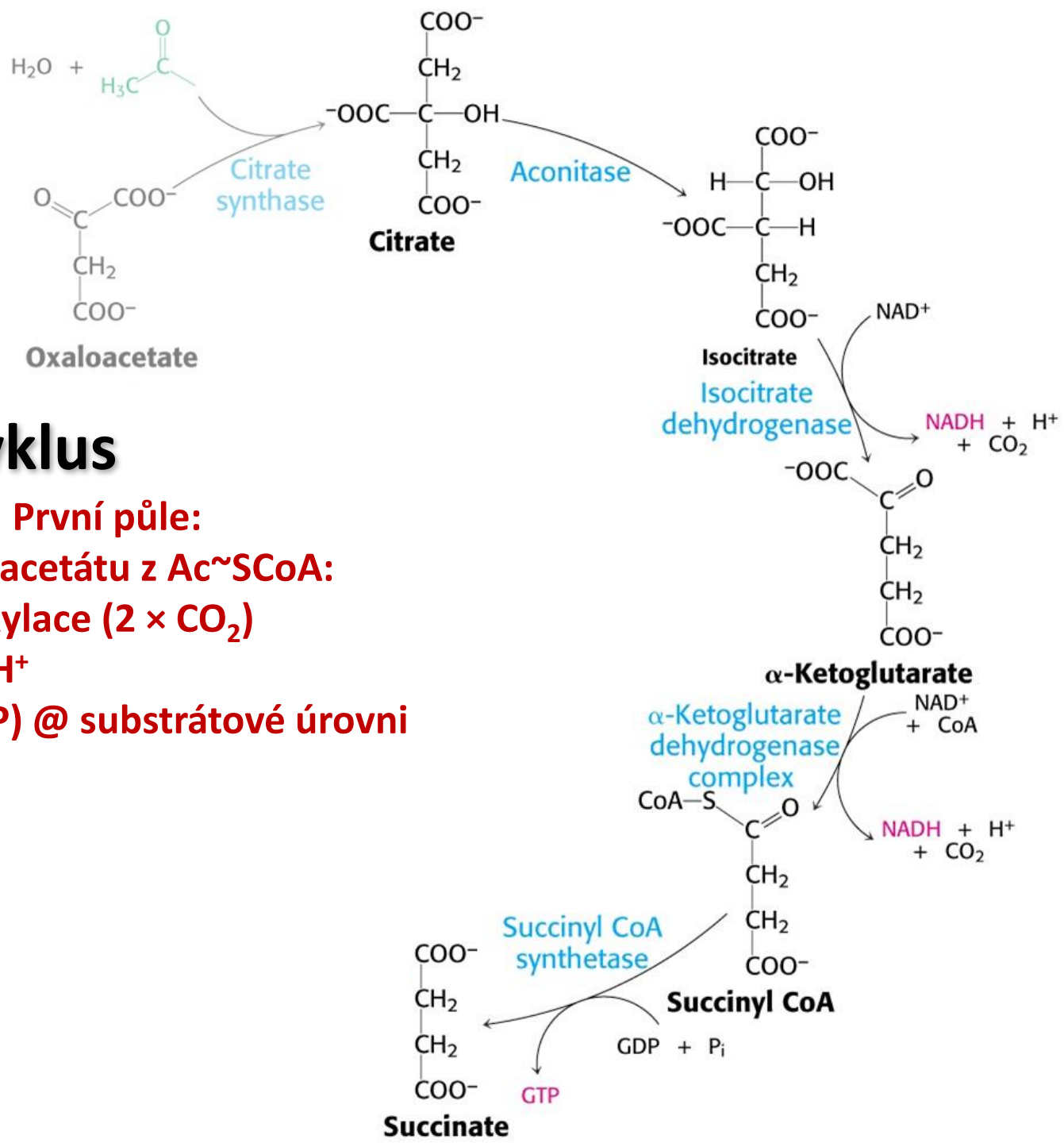
Substrátová fosforylace (jediná v mitochondrii)

nucleotide kinase

GTP = ekvivalent ATP: $\text{GTP} + \text{ADP} \rightleftharpoons \text{GDP} + \text{ATP}$

2 lidské izoformy:

- SUCLA2 – tvořící ATP (srdeční/příčně pruhovaný sval)
- SUCLG2 – tvořící GTP (játra)



Krebsův cyklus

První půle:

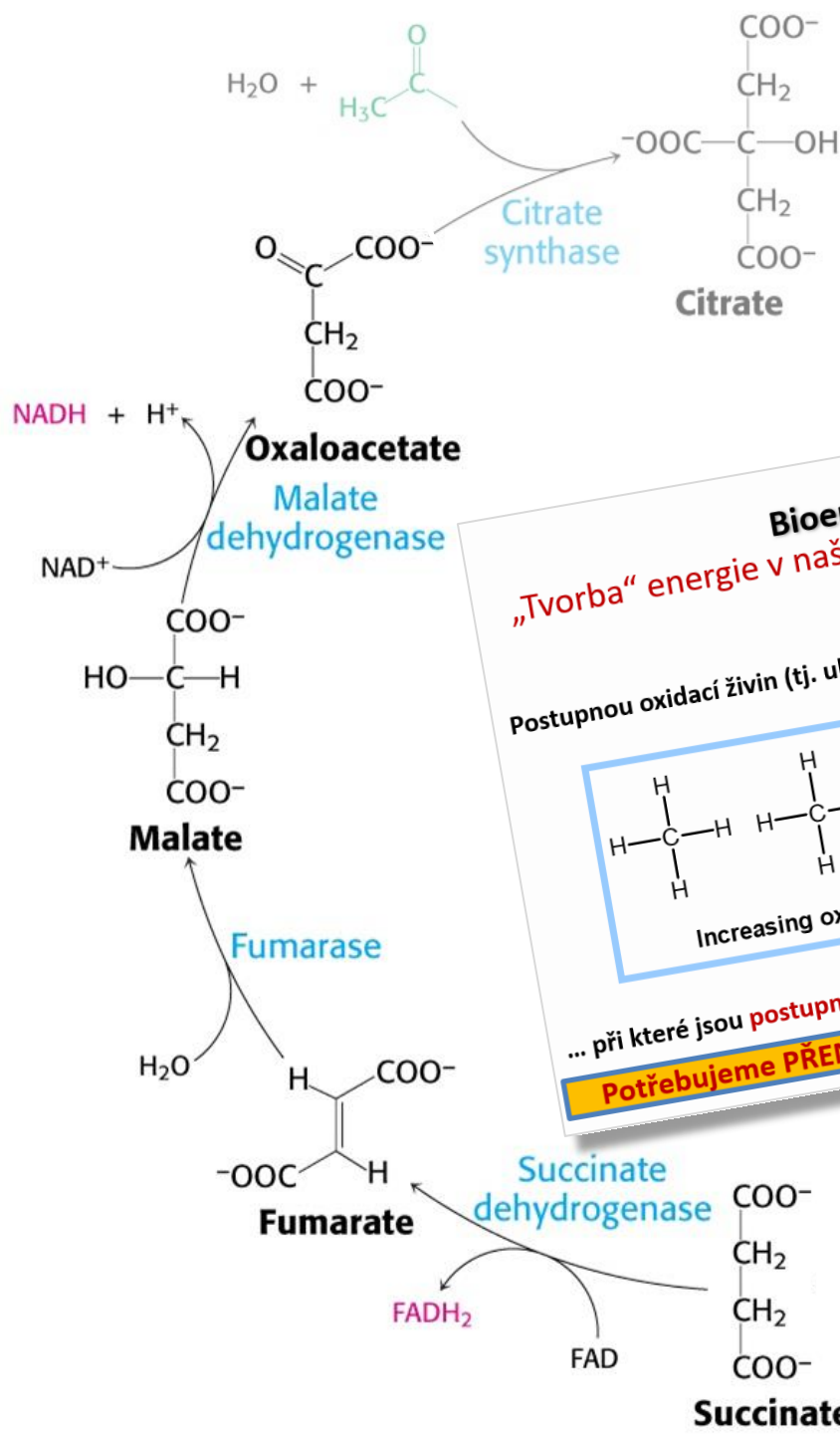
Úplná oxidace acetátu z Ac~SCoA:

- 2 × dekarboxylace (2 × CO₂)
- 2 × NADH+H⁺
- 1 × ATP(GTP) @ substrátové úrovni

Krebsův cyklus

Druhá půle:

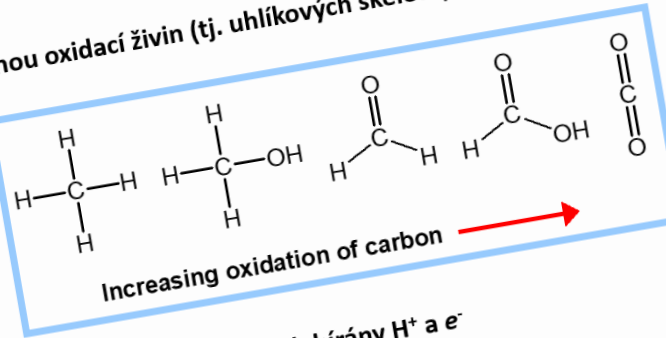
Postupná oxidace dikarboxylových
kyselin a regenerace OxAc



Bioenergetika

„Tvorba“ energie v našem organismu = tvorba ATP

Postupnou oxidací živin (tj. uhlíkových skeletů):

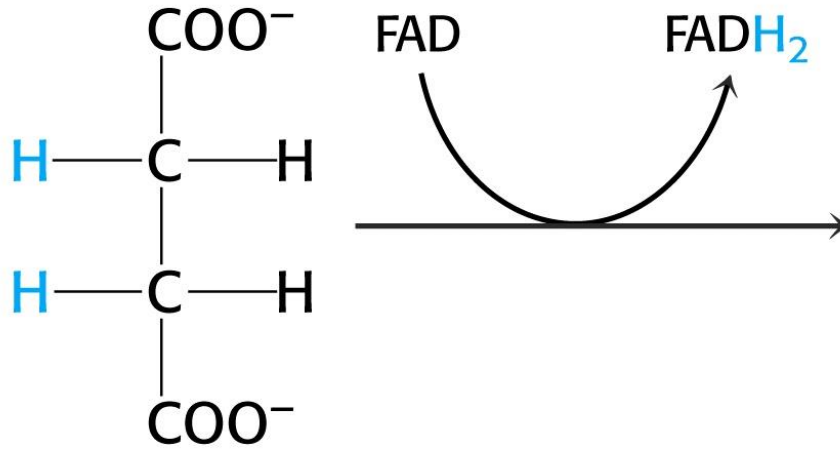
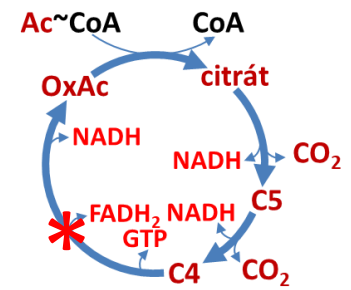


... při které jsou postupně odebírány H^+ a e^-

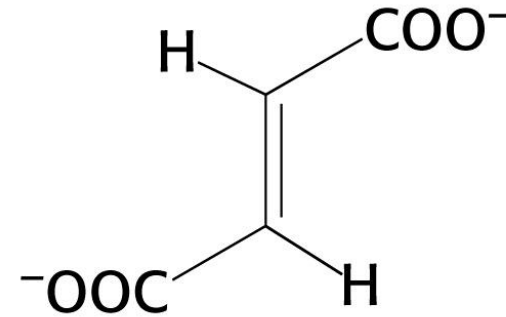
Potřebujeme PŘENAŠEČE

Krebsův cyklus

Sukcinátdehydrogenáza



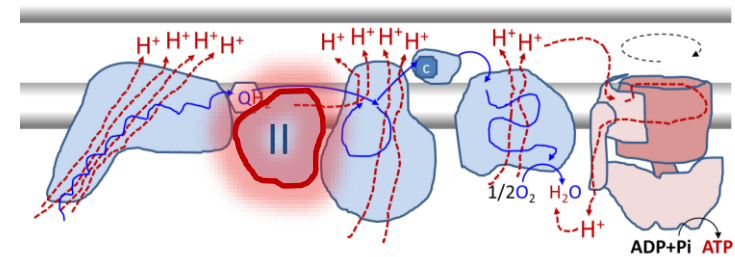
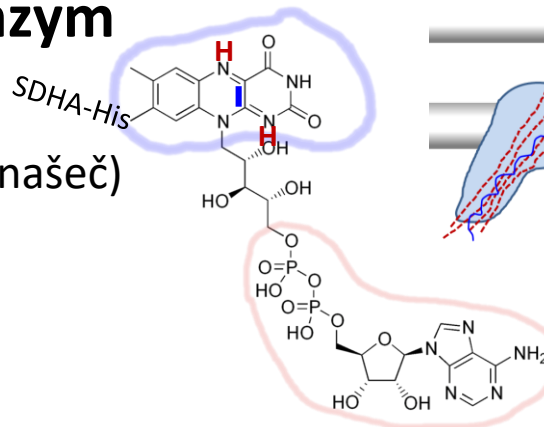
Succinate



Fumarate

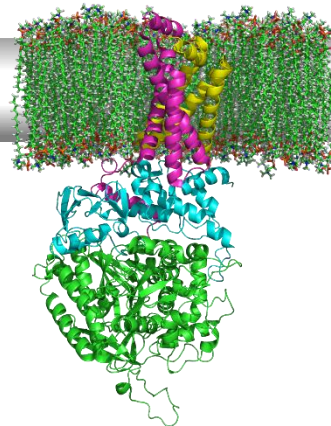
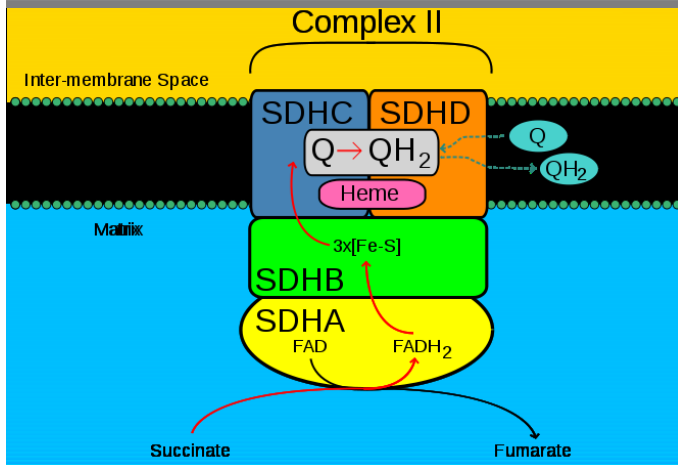
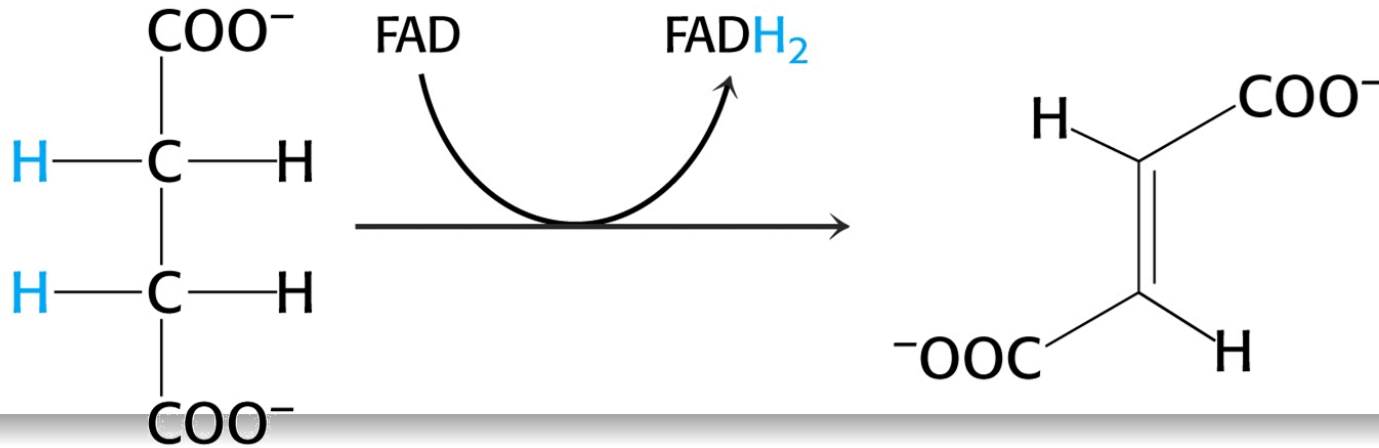
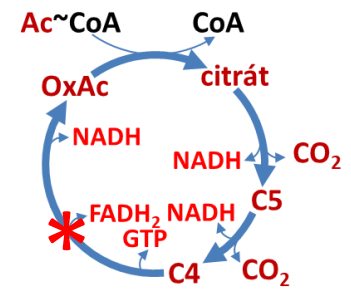
Membránově vázaný enzym

- Součást DŘ (komplex II)
- Jediná redukce FADH_2 (3. přenašeč)



Krebsův cyklus

Sukcinátdehydrogenáza

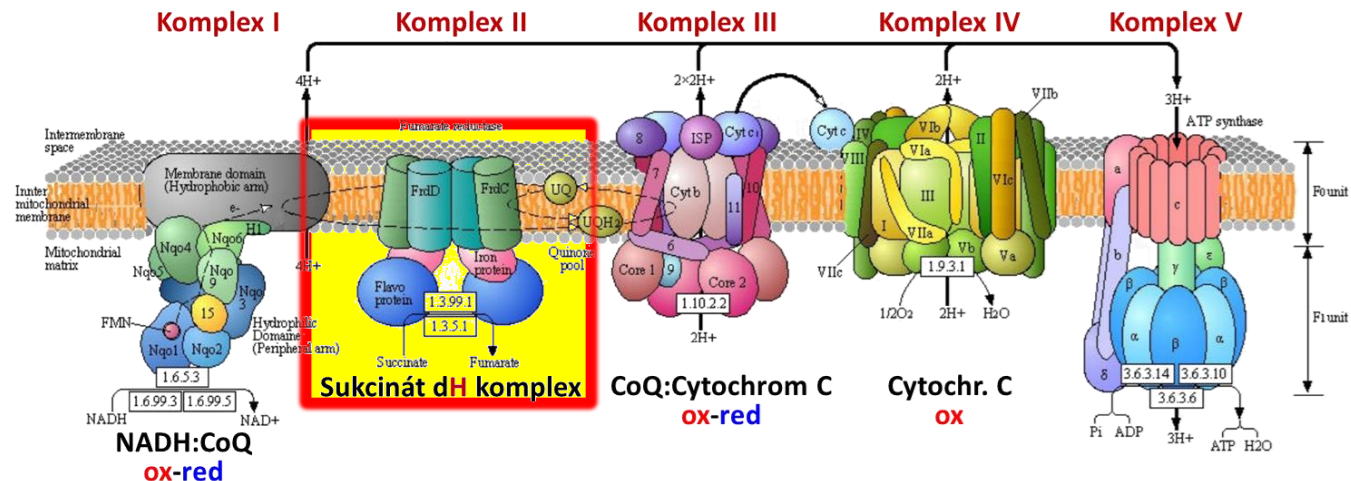
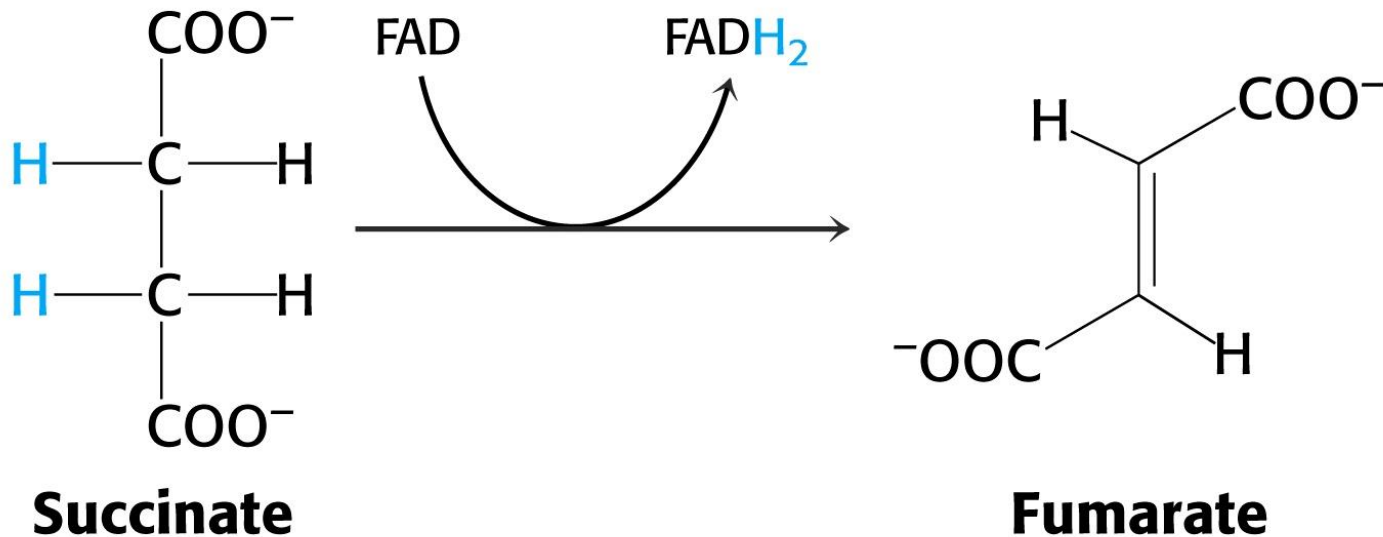
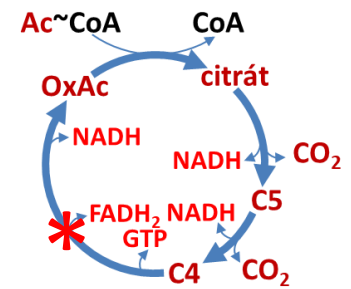


SDH: 4 podjednotky (SDHA-D)

- 2 membránové
- 2 katalytické

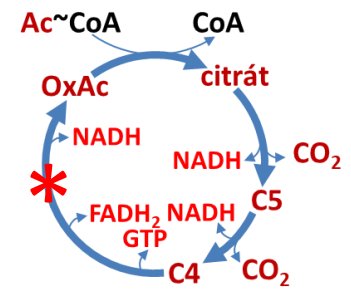
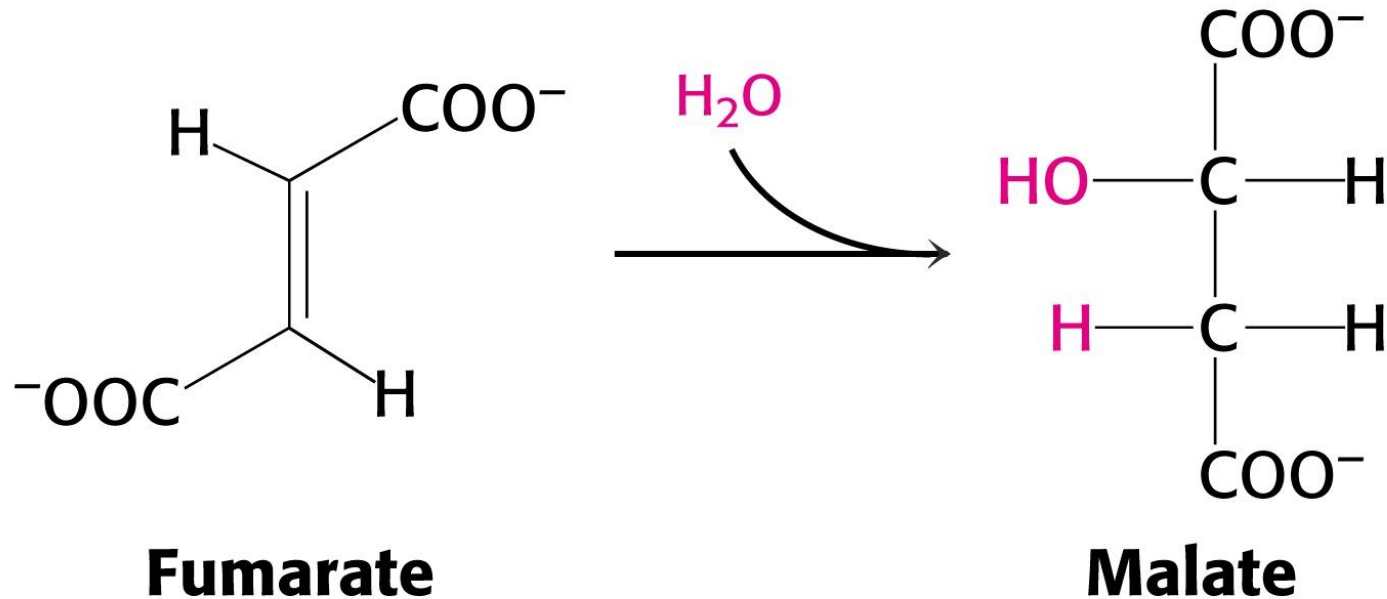
Krebsův cyklus

Sukcinátdehydrogenáza



Krebsův cyklus

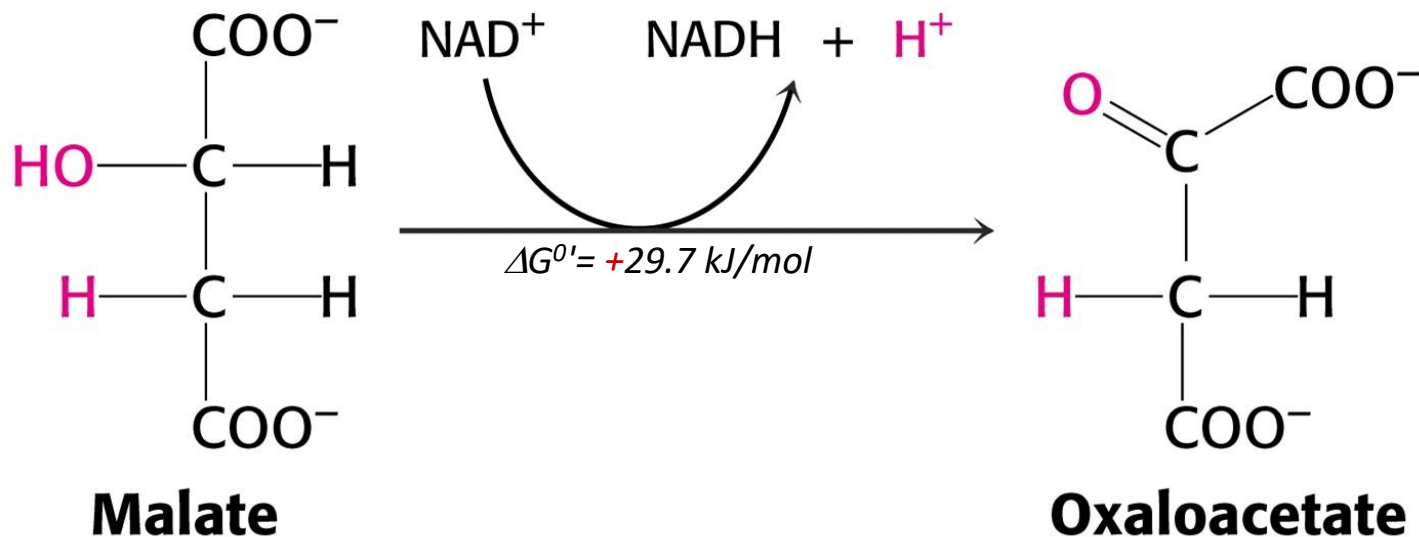
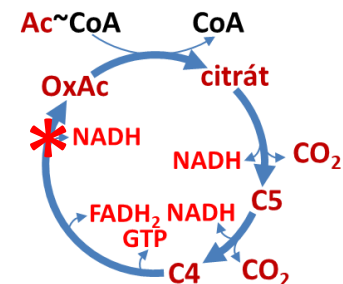
Fumaráza



- Adice vody, lyáza
- Stereospecifická – L-malát

Krebsův cyklus

Malátdehydrogenáza

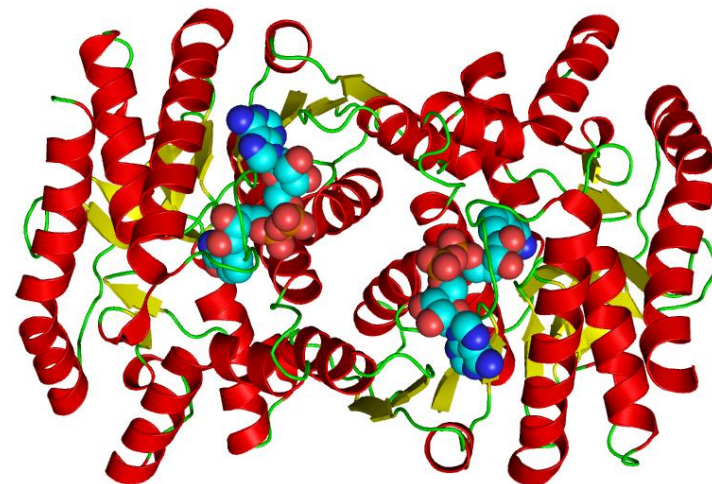


Homodimer

- Glykoprotein

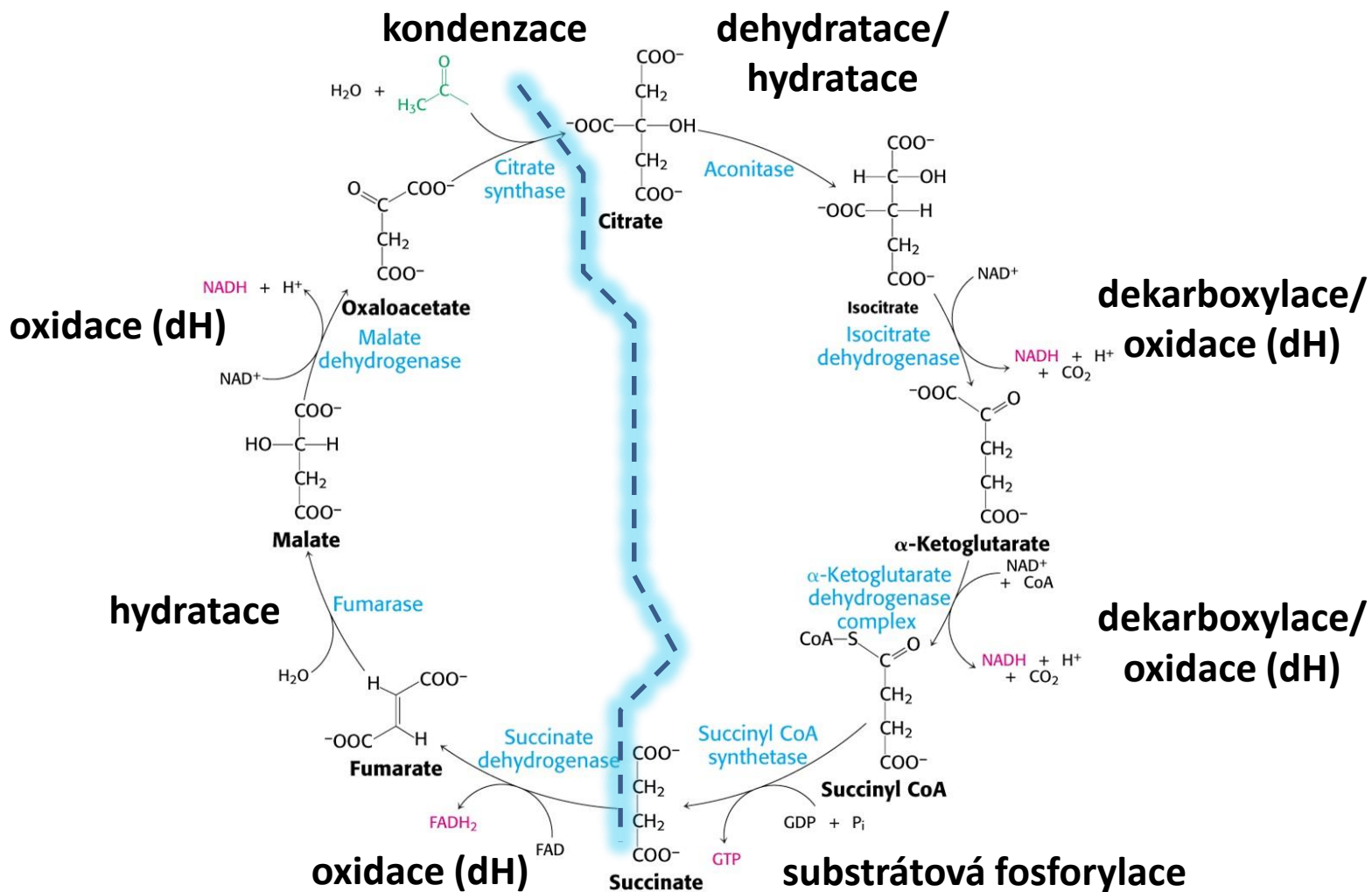
Mitochondriální/cytoplasmatická

- Fylogeneticky odlišné
- Prokaryontní předek (s ostatními dH – třeba EtOH dH)



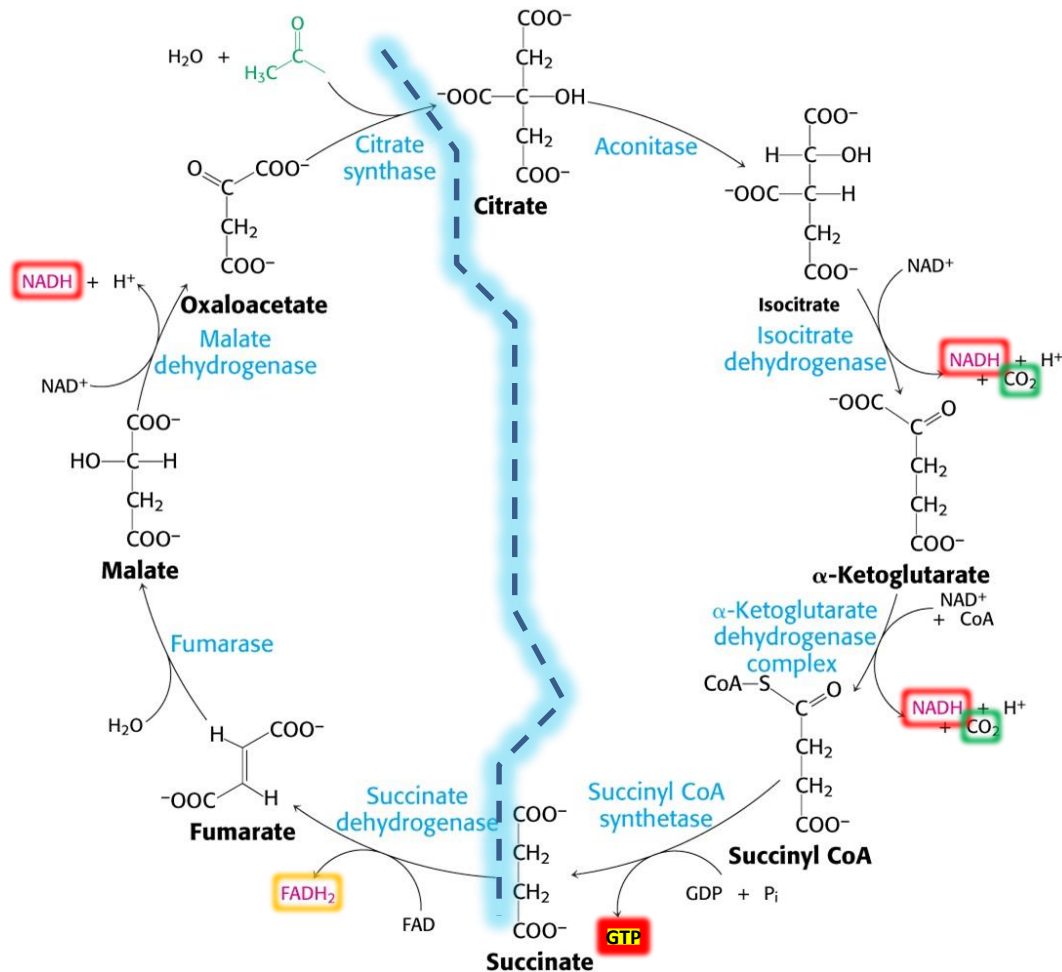
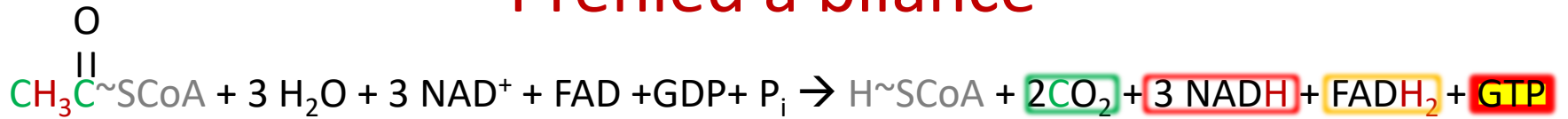
Krebsův cyklus

Přehled a bilance



Krebsův cyklus

Přehled a bilance

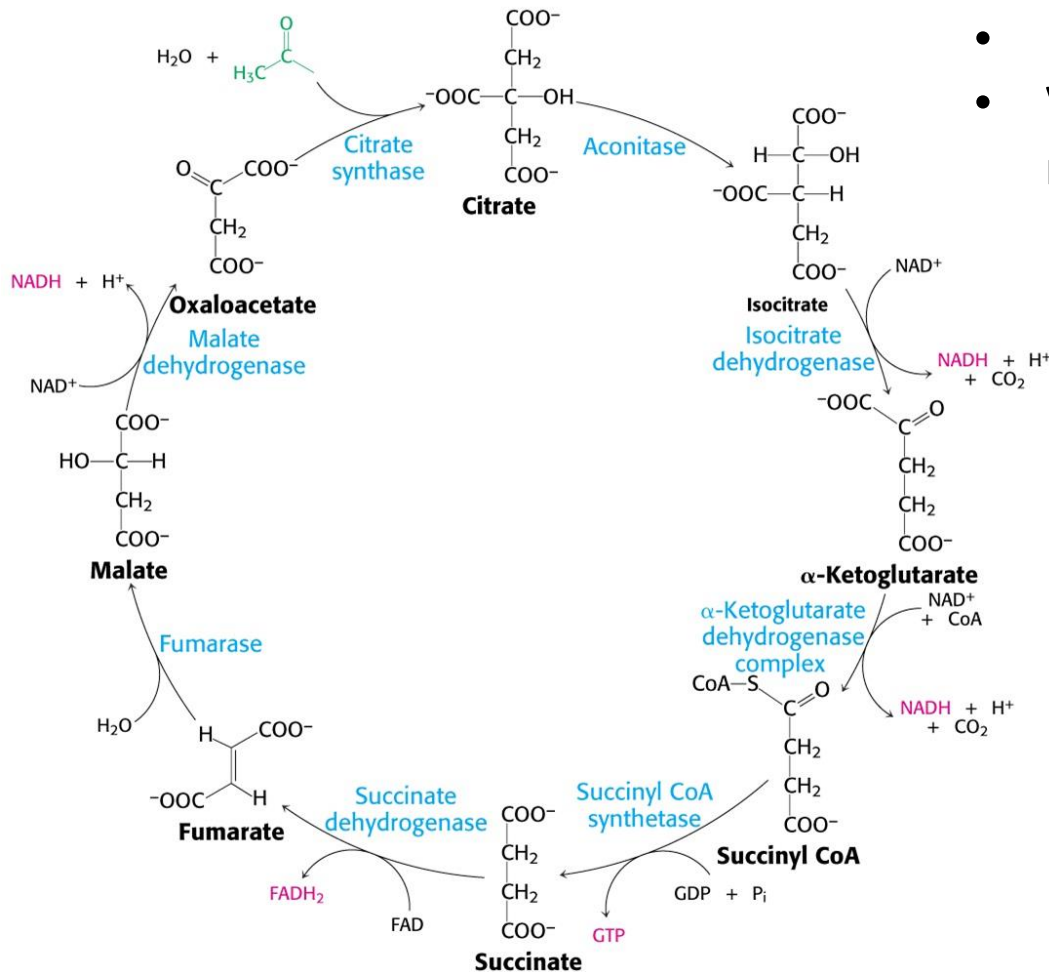


Krebsův cyklus

Regulace

Hlavní regulační zásahy:

- Nabídka substrátů
- Inhibice produkty
- Vliv [intermediátů] pro další metabolismy

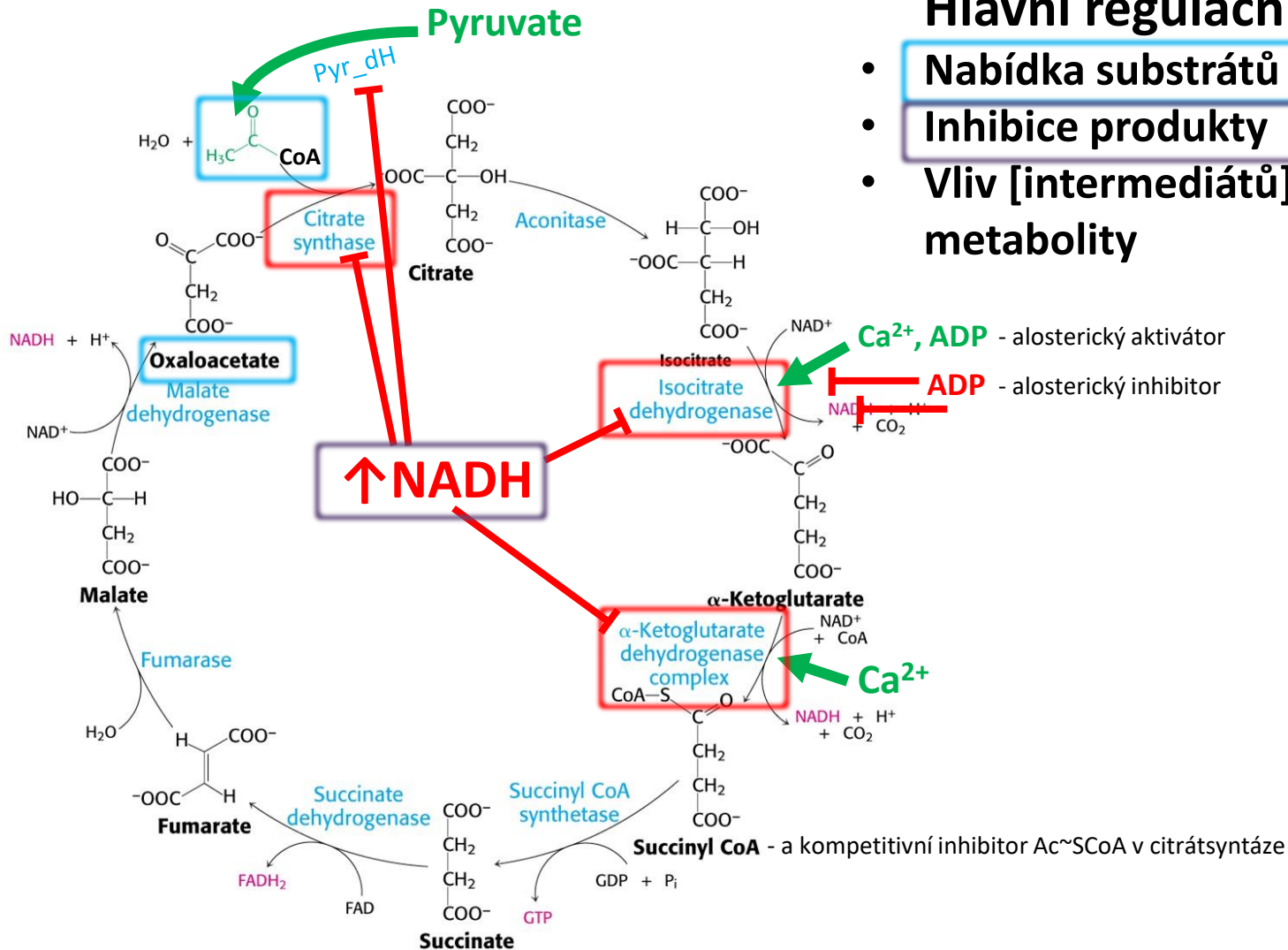


Krebsův cyklus

Regulace

Hlavní regulační zásahy:

- Nabídka substrátů
- Inhibice produkty
- Vliv [intermediátů] pro další metabolismy

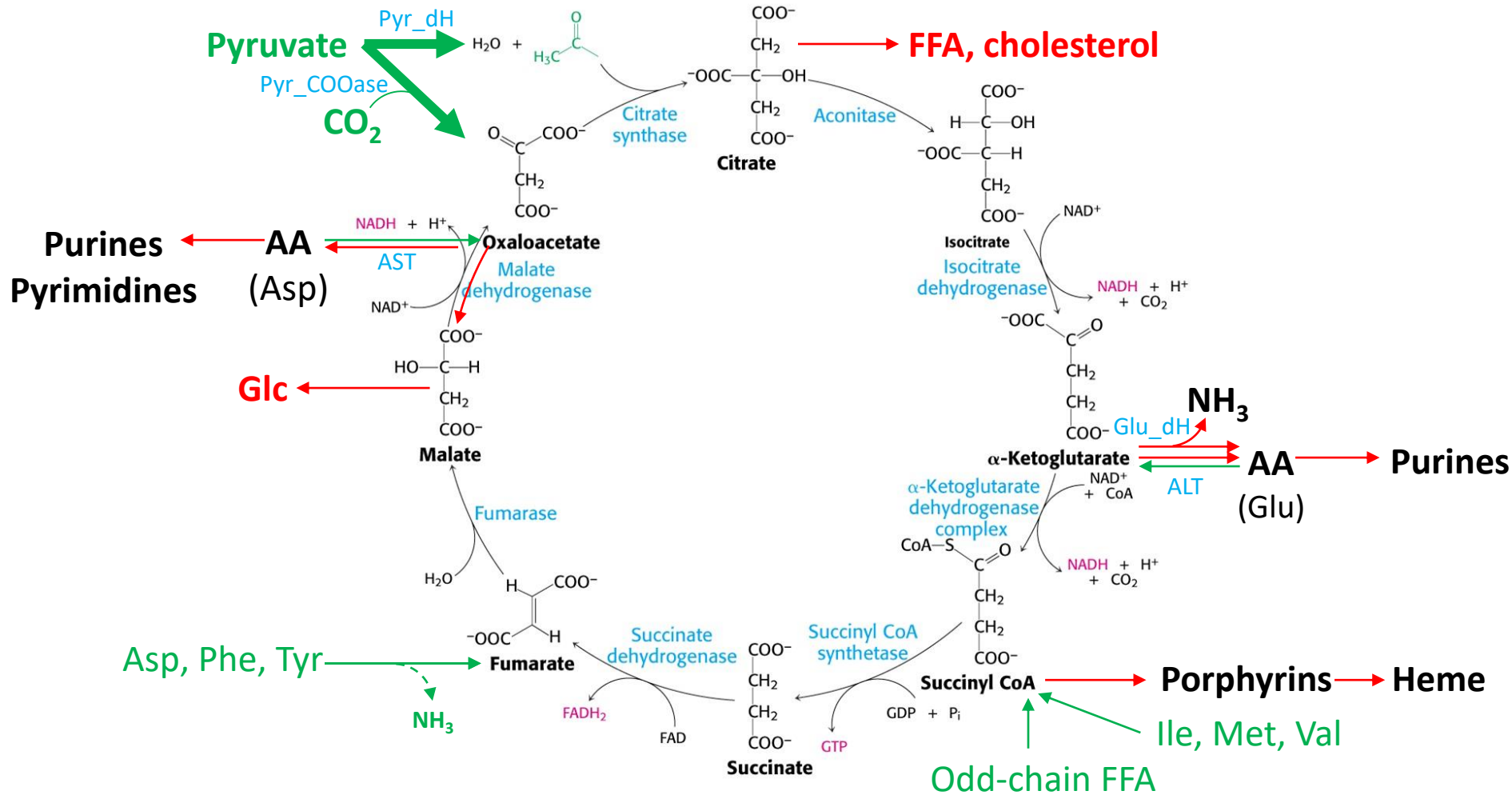


Amfibolický charakter CC:

Kataplerotické
Anaplerotické reakce

odčerpávajú intermediáty

doplňují intermediáty



Citrátový cyklus

- **Ústřední biochemický děj** *(proto se jej naučíme ve vzorcích)*
- **Spojnice metabolismu živin**
- **Cyklický pochod v mitochondriální matrix**
- **Úplná oxidace 1 Ac~CoA/otáčku**
- **Vznik redukovaných ekvivalentů:**
 - **$3 \times \text{NADH}$ ($= 3 \times 2.5 \text{ ATP}$) + FADH_2 ($= 1.5 \text{ ATP}$) = 9 ATP**
- **Vznik substrátového ATP (GTP)**

Citrátový cyklus

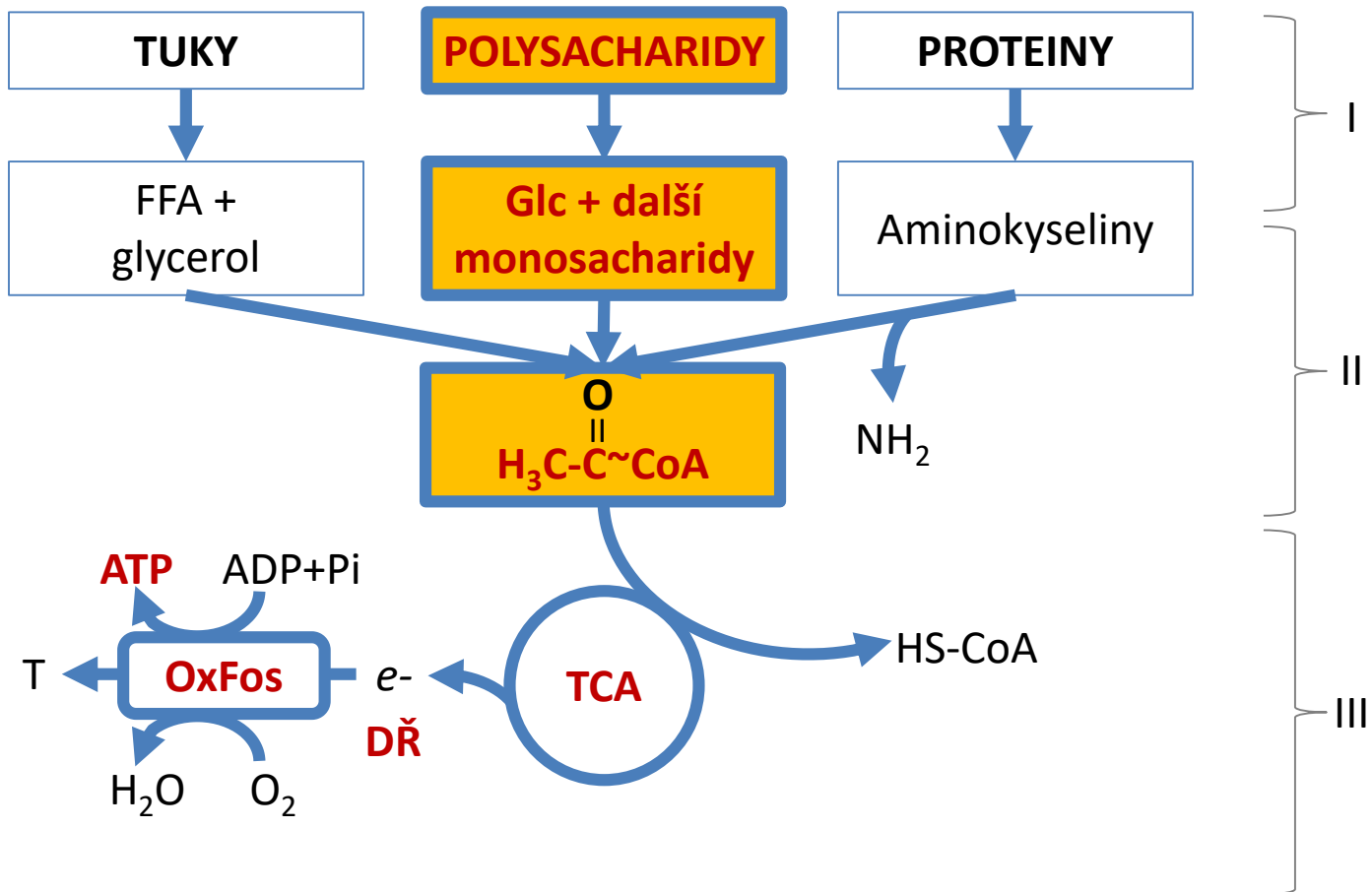
- Ústřední biochemický děj
- Spojnice metabolismu živin
- Cyklický pochod v mitochondriální matrix
- Úplná oxidace 1 Ac~CoA/otáčku
- Vznik redukovaných ekvivalentů:
 - $3 \times \text{NADH} (= 3 \times 2.5 \text{ ATP}) + \text{FADH}_2 (= 1.5 \text{ ATP}) = 9 \text{ ATP}$
- Vznik substrátového ATP (GTP)

Další ? : kde získáme Ac~CoA a jak jej dopravíme do mitochondrie?

Metabolismus sacharidů

Sacharidy, resp. **GLUKÓZA**, je nejvýznamnější složkou živin.

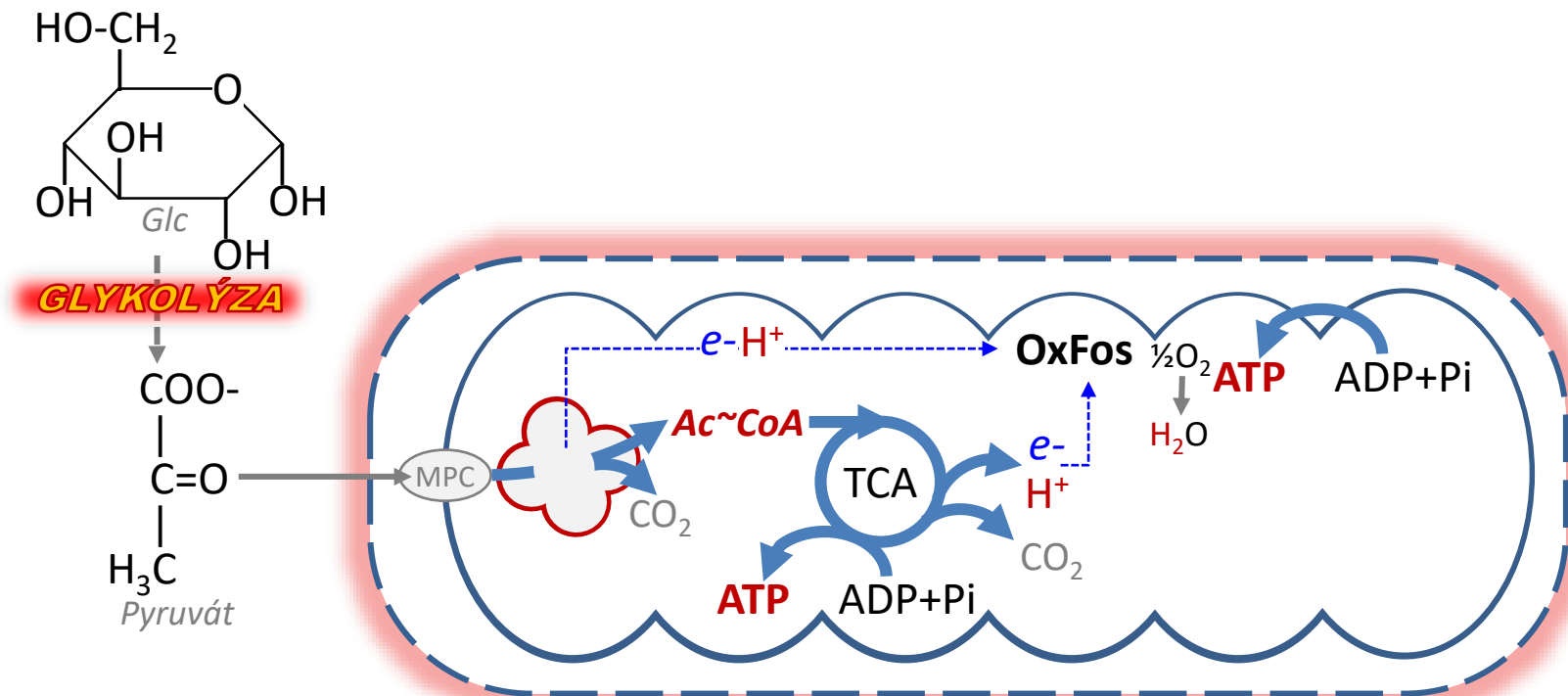
Živiny:



Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

- Pyruvát – do mitochondrie přímo** (MPC – mitochondrial pyruvate carrier)
- Dekarboxylace pyruvátu za vzniku Ac~SCoA** (spojnice glykolýzy s Krebsovým cyklem): **pyruvátdehydrogenázový komplex**

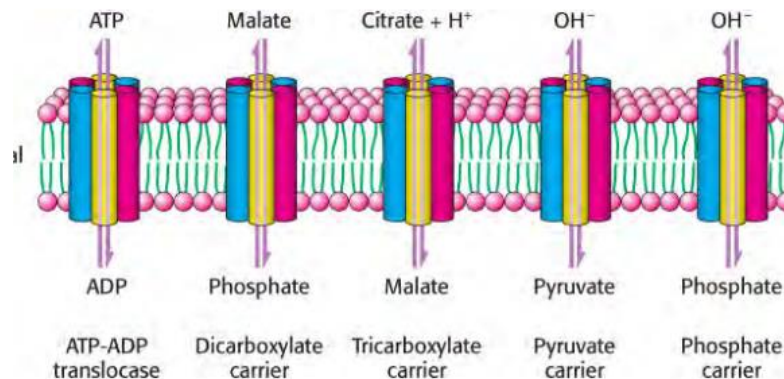


Glykolýza

Přenos produktů glykolýzy do mitochondrie

- Pyruvát – do mitochondrie přímo** (přes IMM antiport s OH^- pomocí MPC – mitochondrial pyruvate carrier)

Other transporters with similar structures transport ions and metabolites

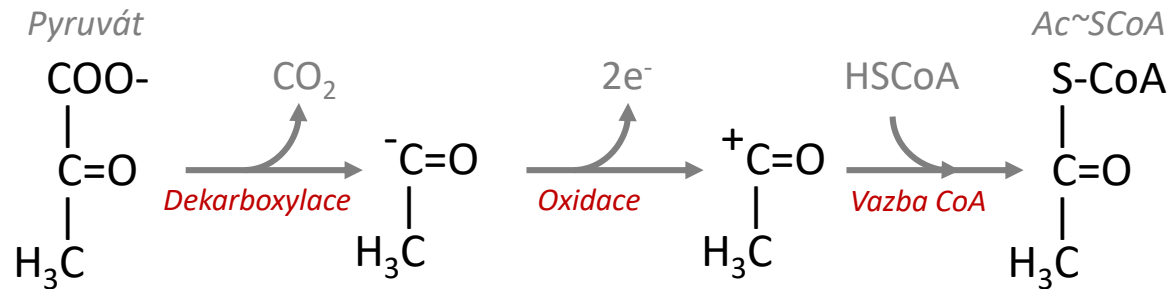


- Cytoplasmatické $\text{NADH} + \text{H}^+$ - do mitochondrie ve formě e^- přes „člunky“**

Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

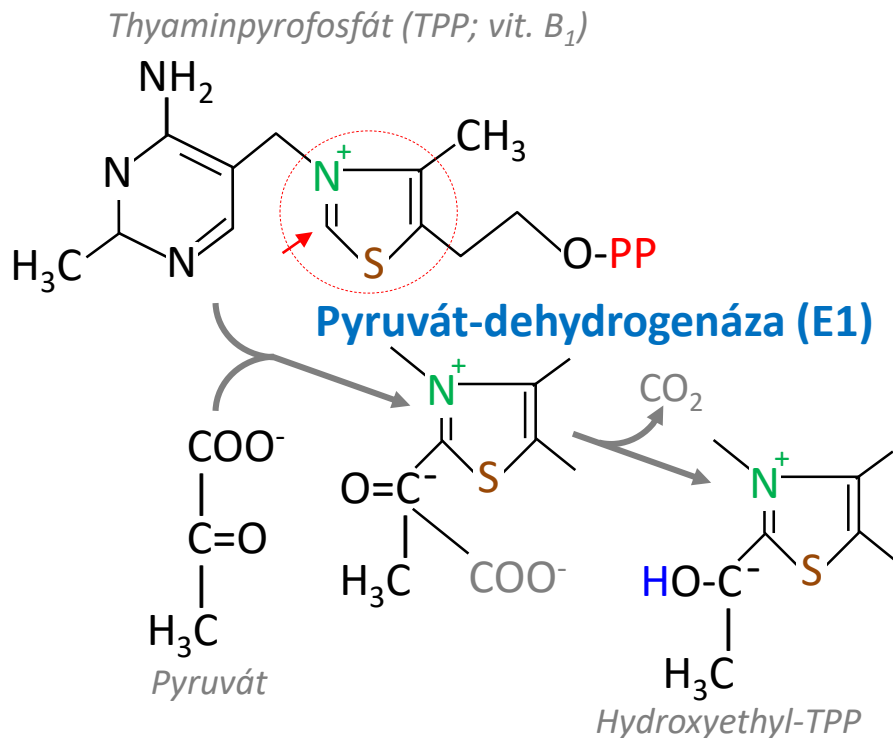
- **pyruvátdehydrogenázový komplex**
 - multienzymový komplex
 - matrix
 - série spřažených reakcí (oxidativní dekarboxylace):



Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

- **pyruvátdehydrogenázový komplex**
 - matrix
 - série spřažených reakcí (oxidativní dekarboxylace):

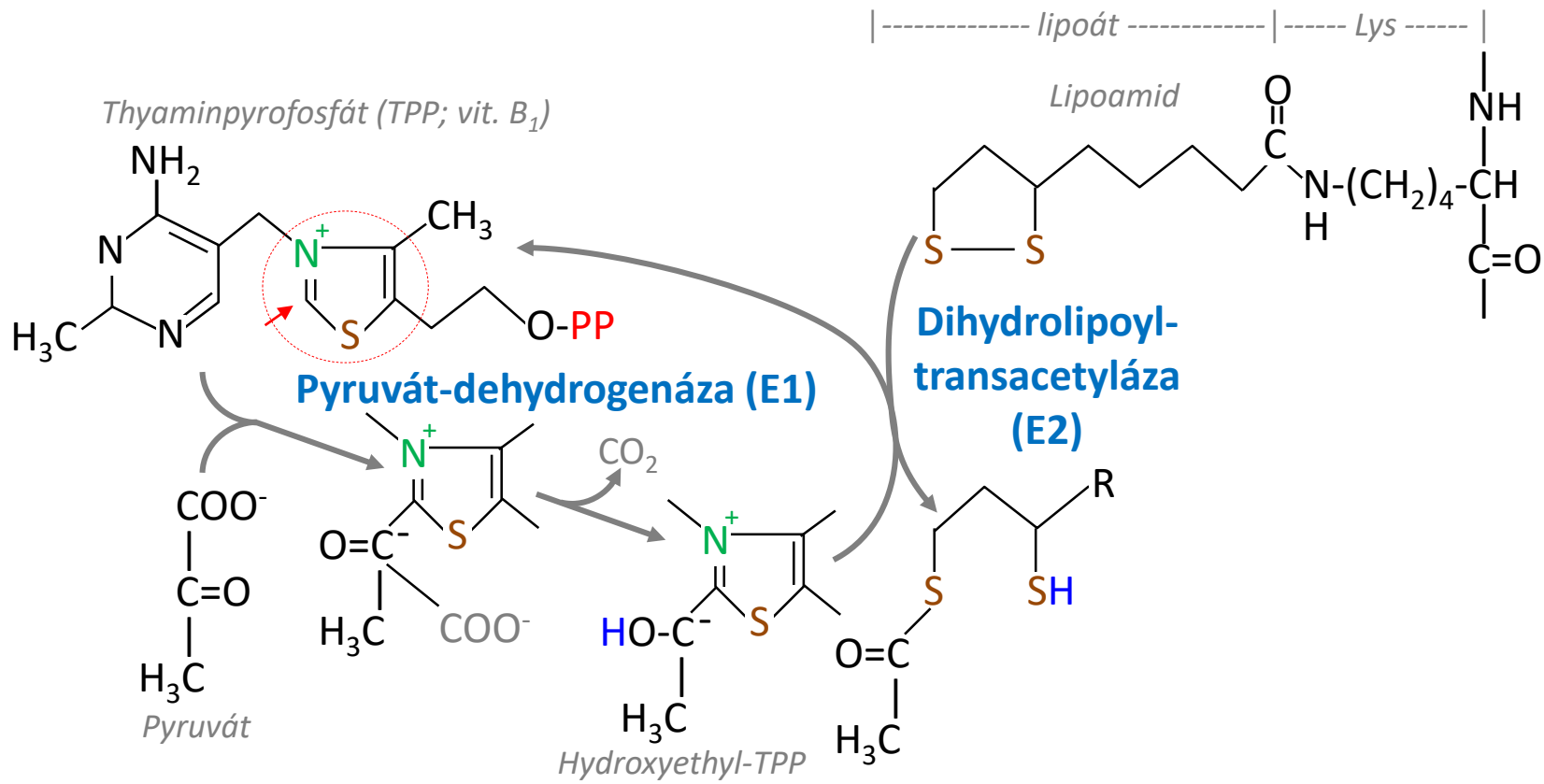


Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

- pyruvátdehydrogenázový komplex**

- matrix
- série spřažených reakcí (oxidativní dekarboxylace):

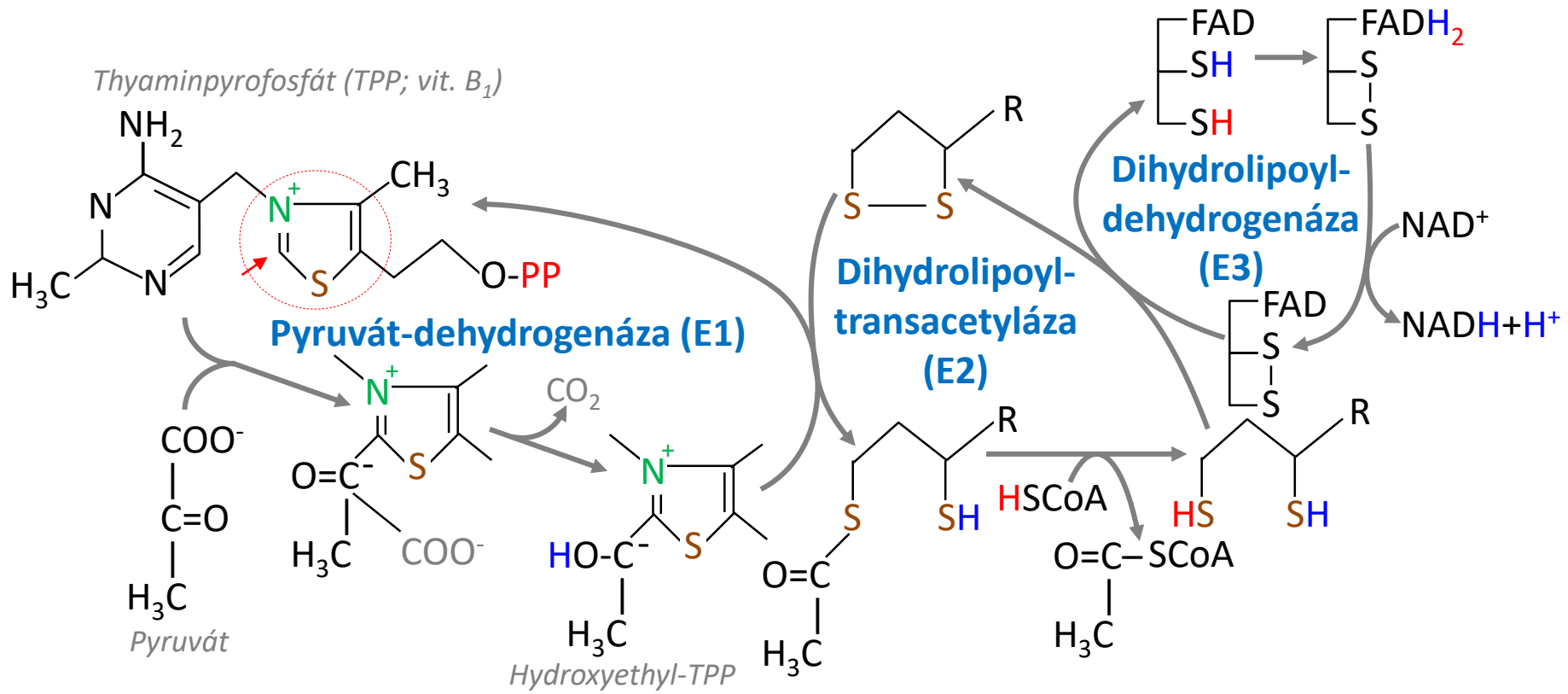


Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

- pyruvátdehydrogenázový komplex**

- matrix
- série spřažených reakcí (oxidativní dekarboxylace):

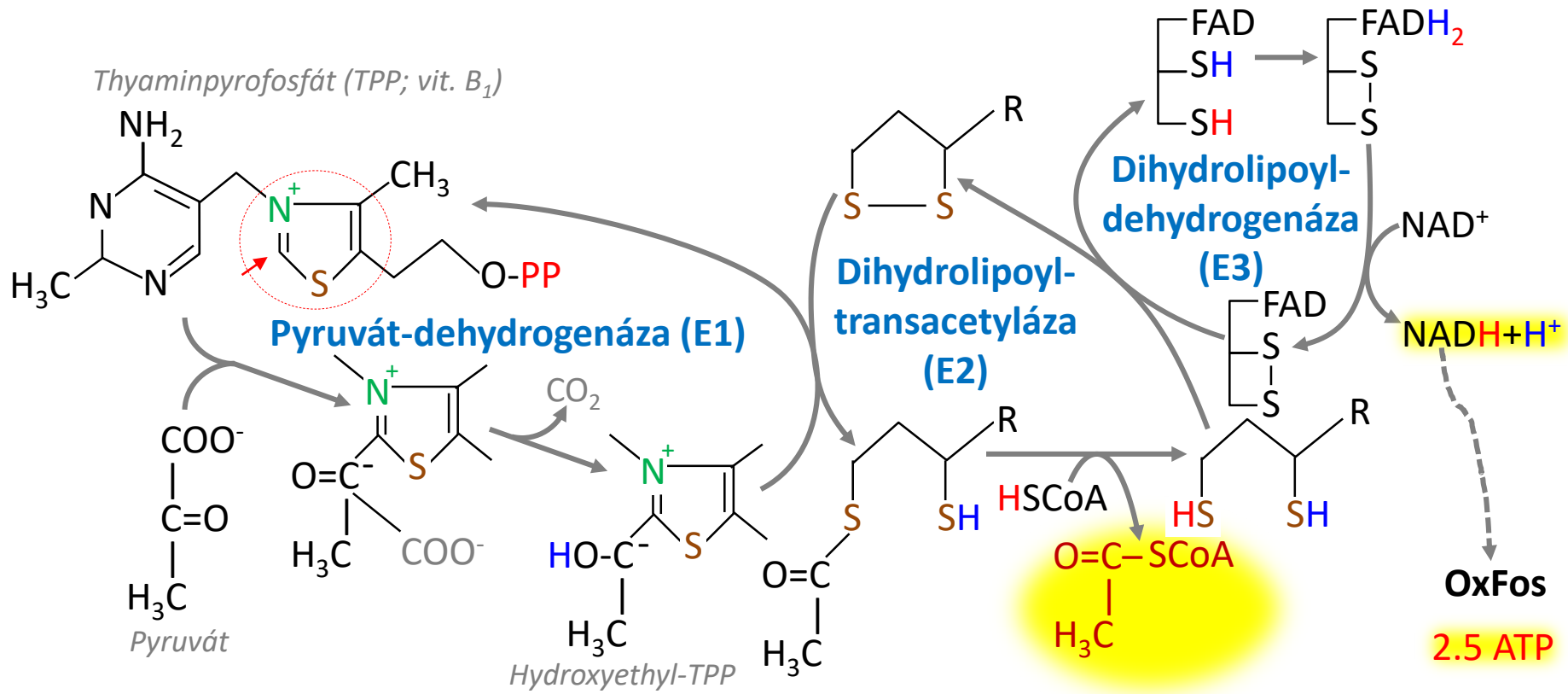


Osud pyruvátu v mitochondrii

Dekarboxylace pyruvátu za vzniku AcCoA

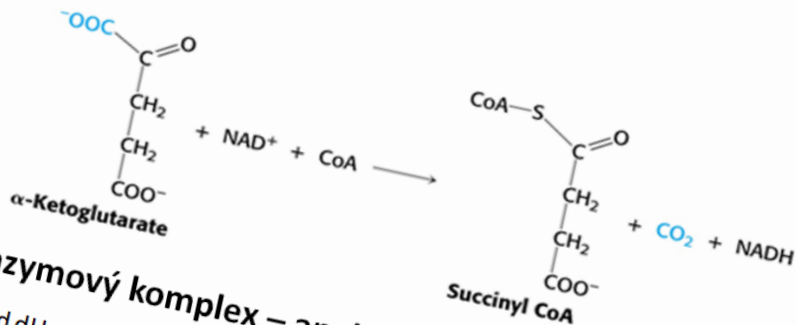
- pyruvátdehydrogenázový komplex**

- matrix
- série spřažených reakcí (oxidativní dekarboxylace):



Krebsův cyklus

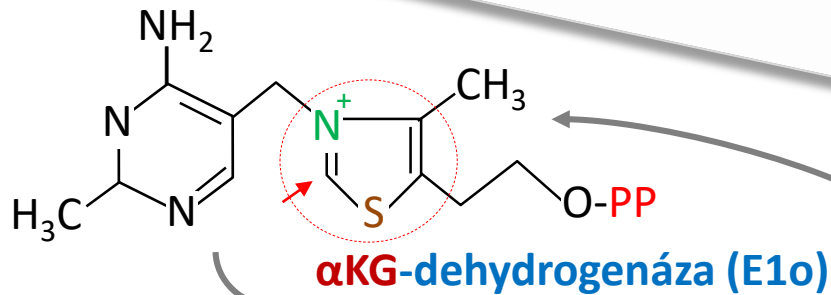
α -ketoglutarátdehydrogenáza



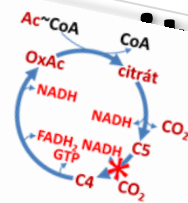
Multienzymový komplex – analog pyruvát dH

- Lipoamid dH stejná
- Produkce 2. $\text{NADH} + \text{H}^+$
- 2. dekarboxylace

Thyaminpyrofosfát



α -ketoglutarát

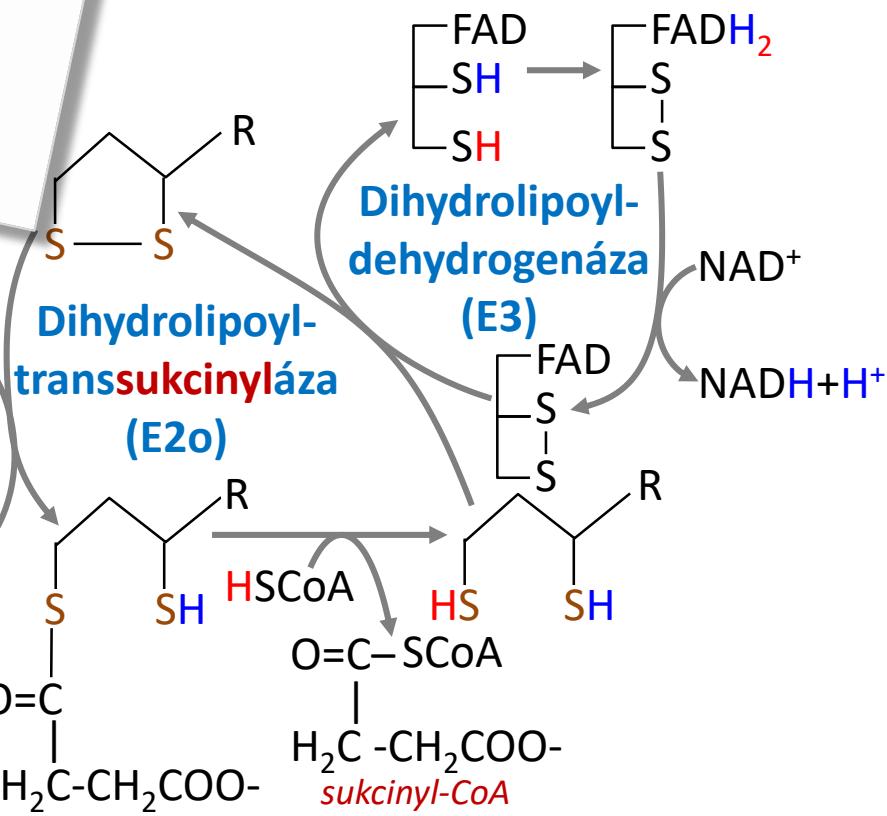


mitochondrii

vzniku AcCoA

ex

(dekarboxylace):



Oxidace glukózy

Celkový energetický zisk 1 Glc

Glykolýza:

- **Glc → Pyruvát**

- $(-2 \times 1 \text{ ATP}) + (2 \times 2 \text{ ATP}) = 2 \text{ ATP}$ -----> **2 ATP**

- $2 \times 1 \text{ NADH} + \text{H}^+$

- $2 \times 1 \text{ pyruvát}$ *cytoplasma*

- $2 \times 1 \text{ pyruvát}$ *matrix MIT*

PyruvátDH

- **$2 \times \text{Pyruvát} \rightarrow 2 \times \text{Ac}^{\sim}\text{SCoA}$**

- $2 \times 1 \text{ NADH} + \text{H}^+$

- $2 \times 1 \text{ Ac}^{\sim}\text{SCoA}$

Krebsův cyklus

- **$\text{Ac}^{\sim}\text{SCoA} \rightarrow 2 \times \text{CO}_2$**

- $2 \times 3 \text{ NADH} + \text{H}^+$

- $2 \times 1 \text{ FADH}_2$

- $2 \times 1 \text{ ATP} = 2 \text{ ATP}$ -----> **2 ATP**

