



mezioborová integrace výuky zaměřená na rostlinnou biochemii a fytopatologii

CZ.1.07/2.2.00/28.0171

Obecný metabolismus

Energetický metabolismus (obecně) (1).

Prof. RNDr. Pavel Peč, CSc.

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UP

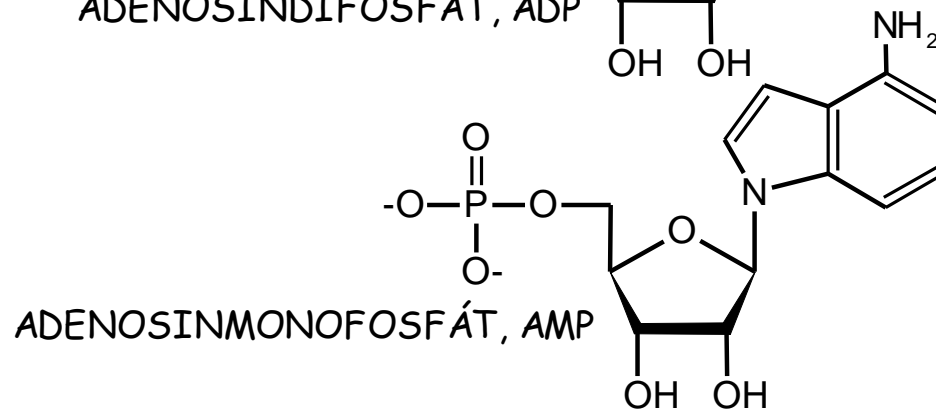
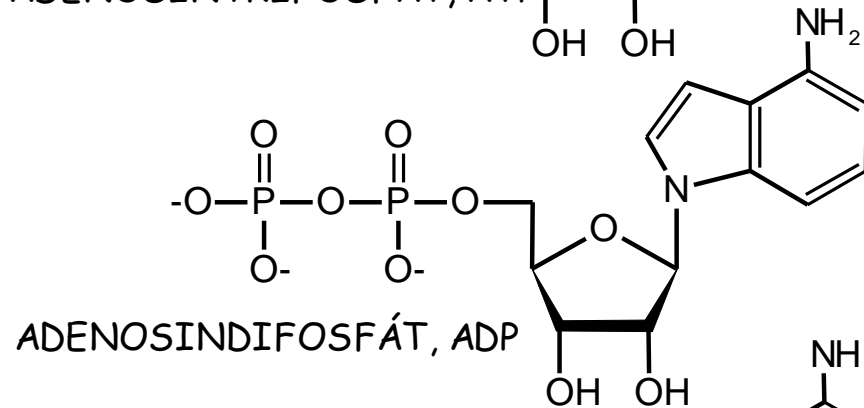
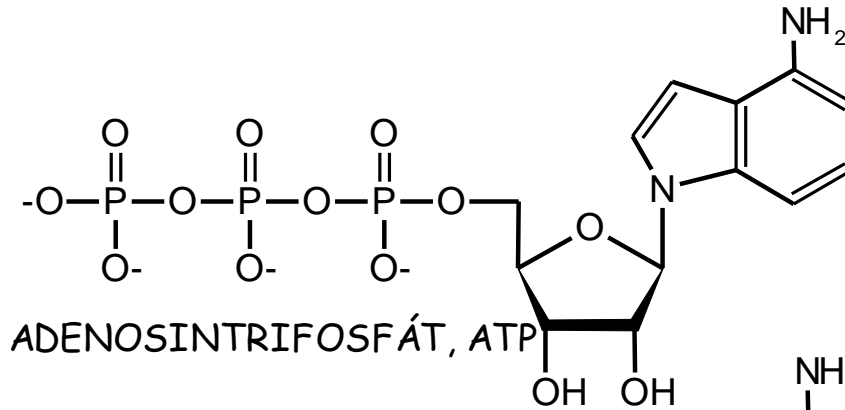


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Funkce a struktura adenosintrifosfátu (ATP) a jeho derivátů.

- **Adenosintrifosfát (ATP)** byl objeven v roce **1929 Karlem LOHMANEM**, ale správná struktura byla určena až několik let později. Jako hlavního nositele energie v buňce postuloval ATP **Fritz Albert LIPMANN** (1941), který je také autorem pojmu energií bohatá fosfátová vazba („makroergická“). Dostal Nobelovu cenu za fyziologii a medicinu 1953, ale spolu H. Krebsem za citrátový cyklus a strukturu a funkci koenzymu A. Syntéza byla provedena v roce **1948 Alexandrem TODDEM**.
- IUPAC název:
[(2''R'',3''S'',4''R'',5''R'')-5-(6-aminopurin-9-yl)-3,4-dihydroxyoxolan-2-yl]methyl (hydroxyphosphonooxyphosphoryl) hydrogenphosphate

Strukturní vzorce energeticky významných adeninových nukleotidů (adenosinových fosfátů).

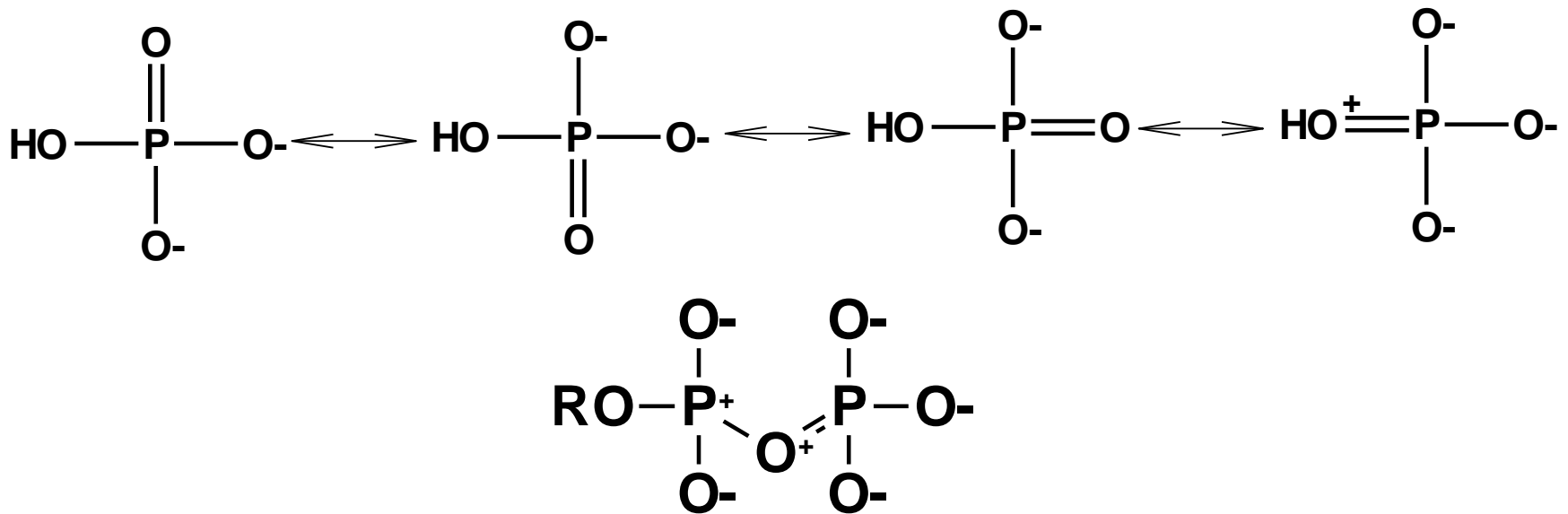


Vysoký fosforylační potenciál ATP

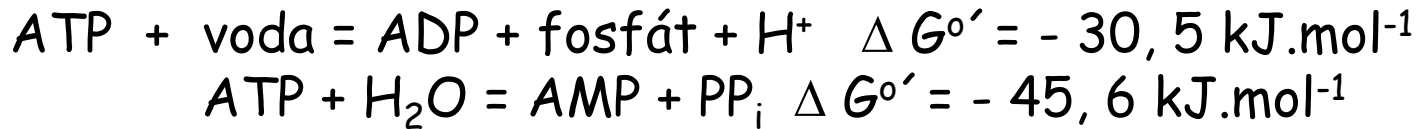
- Důvody:
- A) **Rezonanční stabilizace**. ADP a P_i mají vyšší rezonanční potenciál než ATP. Orthofosfát má velký počet rezonačních forem, kdežto γ fosfátová skupina ATP podstatně méně.
- B) **Elektrostatické odpuzování**. Při pH 7 nese trifosfátová část ATP čtyři záporné náboje. Ty se vzájemně odpuzují. Odpuzování se sníží po hydrolýze ATP.
- C) **Stabilizace hydratací**. Daleko více molekul vody se váže na ADP a P_i než na dvě fosfoanhydridové vazby ATP.

Řada možných rezonančních forem anorganického orthofosfátu.

Dole: Mezmerní struktura se dvěma kladnými náboji vedle sebe na terminální části ATP je silně nestabilní



Strukturní základy vysokého potenciálu přenosu fosfátu ATP



Rozdíly: rezonanční stabilita; elektrostatické odpuzování;
stabilizace produktů hydratací.

Vazebná konstanta ATP s různými kovovými ionty
(na mol):

Mg²⁺ (9 554), Mn²⁺ (4 532), Na⁺ (13), Ca²⁺ (3 722), K⁺ (8),
Sr²⁺ (1 381) a Li⁺ (25).

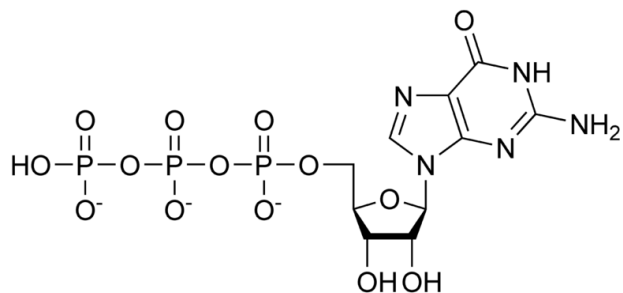
Vzhledem k síle těchto interakcí, existuje ATP v buňkách
převážně v komplexu s Mg²⁺ nebo Mn²⁺. Dva Mg²⁺ na jednu
molekulu ATP (čtyři záporné náboje).

Strukturní základy vysokého potenciálu přenosu fosfátu ATP

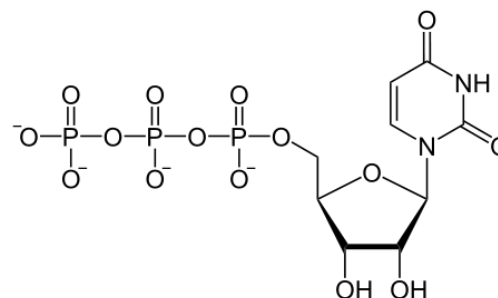
- Přesná hodnota ΔG při těchto reakcích závisí na iontové síle prostředí a koncentraci Mg^{2+} a dalších kovových iontů.
- Za typických buněčných koncentrací je aktuální ΔG těchto hydrolýz přibližně $-50 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- Volná energie hydrolýzy ATP urychluje reakce spotřebovávající energii jako např. svalová kontrakce.
- ATP se tvoří z ADP a P_i při oxidaci energeticky bohatých molekul chemotrofů nebo při osvětlení fototrofů.
- Energetický cyklus ATP-ADP je základem energetických výměn biologických systémů.

Další analogické nukleosidtrifosfáty: Guanosintrifosfát (GTP), uridintrifosfát(UTP), cytidintrifosfát (CTP)

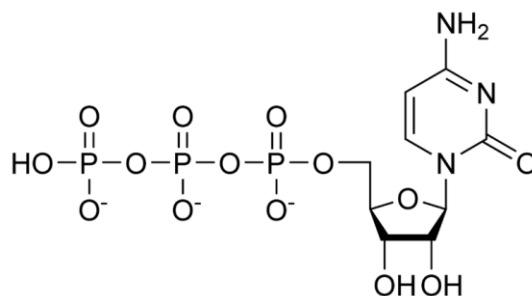
- GTP



- UTP



- CTP



Reversibilní přenos fosfátů

- Některé biosyntetické reakce jsou poháněny hydrolýzou nukleosidtrifosfátů analogických ATP.
-
- Např. guanosintrifosfát (GTP), uridintrifosfát (UTP) a cytidintrifosfát (CTP). Difosfátové formy se označují GDP, UDP a CDP a monofosfátové formy GMP, UMP a CMP.
- Přenos terminální fosfátové skupiny z jednoho nukleotidu na druhý je katalyzován enzymy (reversibilní reakce).
- Fosforylace nukleosidmonofosfátů je katalyzována nukleosidfosfátkinasami (EC 2.7.4.4) a fosforylace nukleosiddifosfátů nukleosiddifosfátkinasami (EC 2.7.4.6). Enzymy mají širokou substrátovou specificitu.

Reversibilní přenos fosfátů

- **Nukleosidmonofosfát**

- $\text{NMP} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{NDP} + \text{ADP}$ E: nukleosidmonofosfátkinasa.

- **Nukleosiddifosfát**

- $\text{NDP} + \text{ATP} \leftrightarrow \text{NTP} + \text{ADP}$ E: nukleosiddifosfátkinasa.

- Je evidentní, že všechny nukleosidtrifosfáty jsou energeticky ekvivalentní.

- ATP je primární nadřazený buněčný nosič energie.

- Dva důležité přenašeče elektronů (koenzymy oxidoreduktas) NAD^+ (nikotinamidadenindinukleotid) a FAD (flavinadenindinukleotid) jsou deriváty ATP.

Gibbsova energie (výpočet pro ATP)

- Vnitrobuněčná koncentrace ATP se udržuje v rozmezí 2 - 10 mM.L⁻¹. Koncentrace ADP a P_i jsou variabilní.
- Při typické koncentraci:
[ATP] = 3,0 mM, [ADP] = 0,8 mM, [P_i] = 4,0 mM

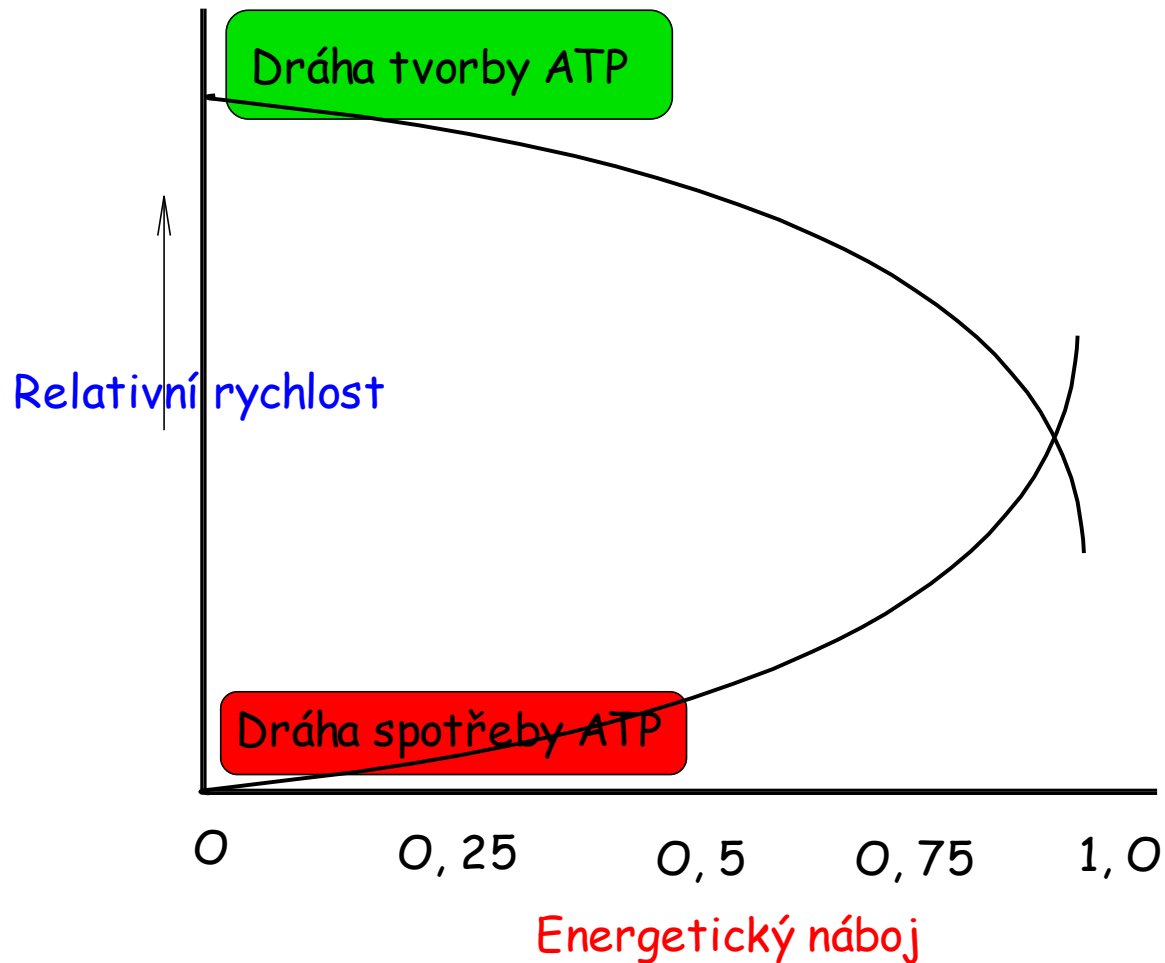
Poté je volná energie (Gibbsova) hydrolýzy ATP při 37°C:

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[\text{ADP}] \cdot [\text{P}_i]}{[\text{ATP}]} = -30,5 \text{ kJ.mol}^{-1} + (8,3145 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1})(310 \text{ K}) \ln \left[\frac{(0,8 \times 10^{-3} \text{ M}) \cdot (4,0 \times 10^{-3} \text{ M})}{3,0 \times 10^{-3} \text{ M}} \right] = (-30,5 \text{ kJ.mol}^{-1} - 17,6 \text{ kJ.mol}^{-1}) = -48,1 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

Energetický náboj buňky (EN)

- EN (angl. energy charge), veličina, vyjadřující stav energetických rezerv buňky:
- $EN = ([ATP] + \frac{1}{2} [ADP]) / ([ATP] + [ADP] + [AMP])$.
- Faktor $\frac{1}{2}$ pro koncentraci ADP ukazuje, že jeho štěpení na AMP poskytuje polovinu energie odpovídající štěpení ATP.
- Energetický náboj může teoreticky dosáhnout hodnoty 0 (adenosinfosfáty jsou přítomny pouze jako AMP) až 1 (jsou přítomny pouze jako ATP).
- Energetický náboj většiny buněk je v rozmezí 0,8 až 0,95.
- Nižší hodnoty jsou signálem k zisku (tvorbě) energie!

Rychlost tvorby a spotřeby ATP v závislosti energetickém náboji buňky



Hydrolýza ATP posunuje rovnováhu spřažených reakcí

- Termodynamicky nevýhodná metabolická dráha (pozitivní ΔG) může být ve spojení s ATP (fosforylace substrátů) převedena na reakci s negativním ΔG . Substráty jsou převedeny na produkty.
- Příklad:
- Uvažujme převod sloučeniny A na B, kde Gibbsova volná energie má hodnotu + 16,7 kJ.mol⁻¹.
- Rovnovážná konstanta K_{eq} reakce při 25°C je dle ΔG° :
- $K_{eq} = [B]_{eq} / [A]_{eq} = 10^{-\Delta G^\circ / 5,69} = 1,15 \times 10^{-3}$.
- Z výsledku plyne, že převedení A na B nemůže proběhnout za situace, kdy je molární poměr B/A roven nebo větší než $1,15 \times 10^{-3}$.

Reakce může proběhnout ve spojení s hydrolýzou ATP !!

Za standardních podmínek je ΔG° hydrolýzy - 30,5 kJ.mol⁻¹.

Hydrolýza ATP posunuje rovnováhu spřažených reakcí

- Celková reakce (součet obou reakcí):
- $A + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons B + \text{ADP} + \text{P}_i$; $\Delta G^\circ = -13, \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- Rovnovážná konstanta těchto **spřažených reakcí** při pH 7 je:
- $K_{eq} = \frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} \times \frac{[\text{ADP}]_{eq} \cdot [\text{P}_i]_{eq}}{[\text{ATP}]_{eq}} = 10^{13,8 / 5,69} = 2,67 \times 10^2$.
- V rovnováze: $\frac{[B]_{eq}}{[A]_{eq}} = K_{eq} \cdot \frac{[\text{ATP}]_{eq}}{[\text{ADP}]_{eq} \cdot [\text{P}_i]_{eq}}$
- To znamená, že hydrolýza ATP umožňuje převést A na B, když poměr $[B] / [A]$ dosáhne hodnoty $2,67 \times 10^2$.
- Tato rovnováha je odlišná od rovnováhy $1,15 \times 10^{-3}$, reakce převedení A na B bez hydrolýzy ATP.
- **Prakticky to znamená, že spojením této reakce s hydrolýzou ATP za standardních podmínek se změnila rovnováha faktorem 10^5 !!**
- **Za podmínek v buňce, kde je ΔG hydrolýzy ATP - $50,2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, se mění rovnovážný poměr faktorem 10^8 !!!**

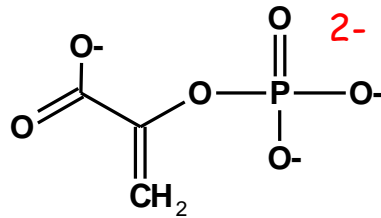
Hydrolýza ATP posunuje rovnováhu spřažených reakcí

- Hydrolýza n ATP molekul mění rovnovážný poměr spřažené reakce faktorem 10^{8n} .
- Např. hydrolýza tří molekul ATP ve spojení se spřaženou reakcí mění rovnovážný poměr faktorem 10^{24} .
- Termodynamicky nevýhodné reakční sekvence mohou být proměněny na výhodné ve spojení s hydrolýzou ATP.

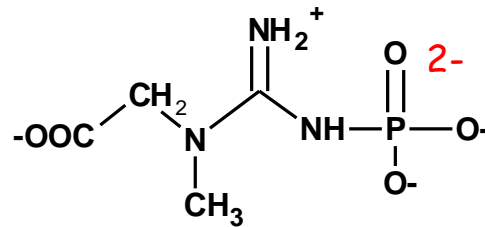
Další sloučeniny s vysokým potenciálem přenosu fosfátu.

- Řada sloučenin v biologických systémech má vyšší potenciál přenosu fosfátu než ATP.
- Fosfoenolpyruvát (PEP), 1,3-bisfosfoglycerát (1,3-BPG) a kreatinfosfát (fosfagen).
- Tak např. z PEP lze přenést fosfát na ADP za tvorby ATP (**fosforylace na úrovni substrátu** jako součást glykolýzy).
- Analogicky přenos fosfátu z 1,3-bisfosfoglycerátu na ADP za tvorby ATP a 3-fosfoglycerátu.
- Kreatinfosfát je zásobárnou fosfátů hlavně ve svalech. Přenáší fosfát na ADP za tvorby ATP a kreatinu.

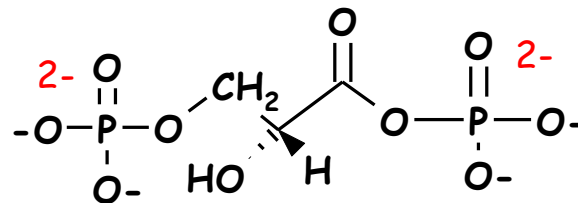
Další sloučeniny s vysokým potenciálem přenosu fosfátu.



Fosfoenolpyruvát



Kreatinfosfát



1, 3 - bisfosfoglycerát

Standardní volné energie hydrolýzy některých fosforylovaných sloučenin.

- Fosfoenolpyruvát - 61,9 kJ.mol⁻¹
- 1,3-Bisfosfoglycerát - 49,4 kJ.mol⁻¹
- Kreatinfosfát - 43,1 kJ.mol⁻¹
- **ATP na ADP** - **30, 5 kJ.mol⁻¹**
- Glukosa-1-fosfát - 20, 9 kJ.mol⁻¹
- Difosfát (pyrofosfát) - 19, 3 kJ.mol⁻¹
- Glukosa-6-fosfát - 13, 8 kJ.mol⁻¹
- Glycerol-3-fosfát - 9, 2 kJ.mol⁻¹

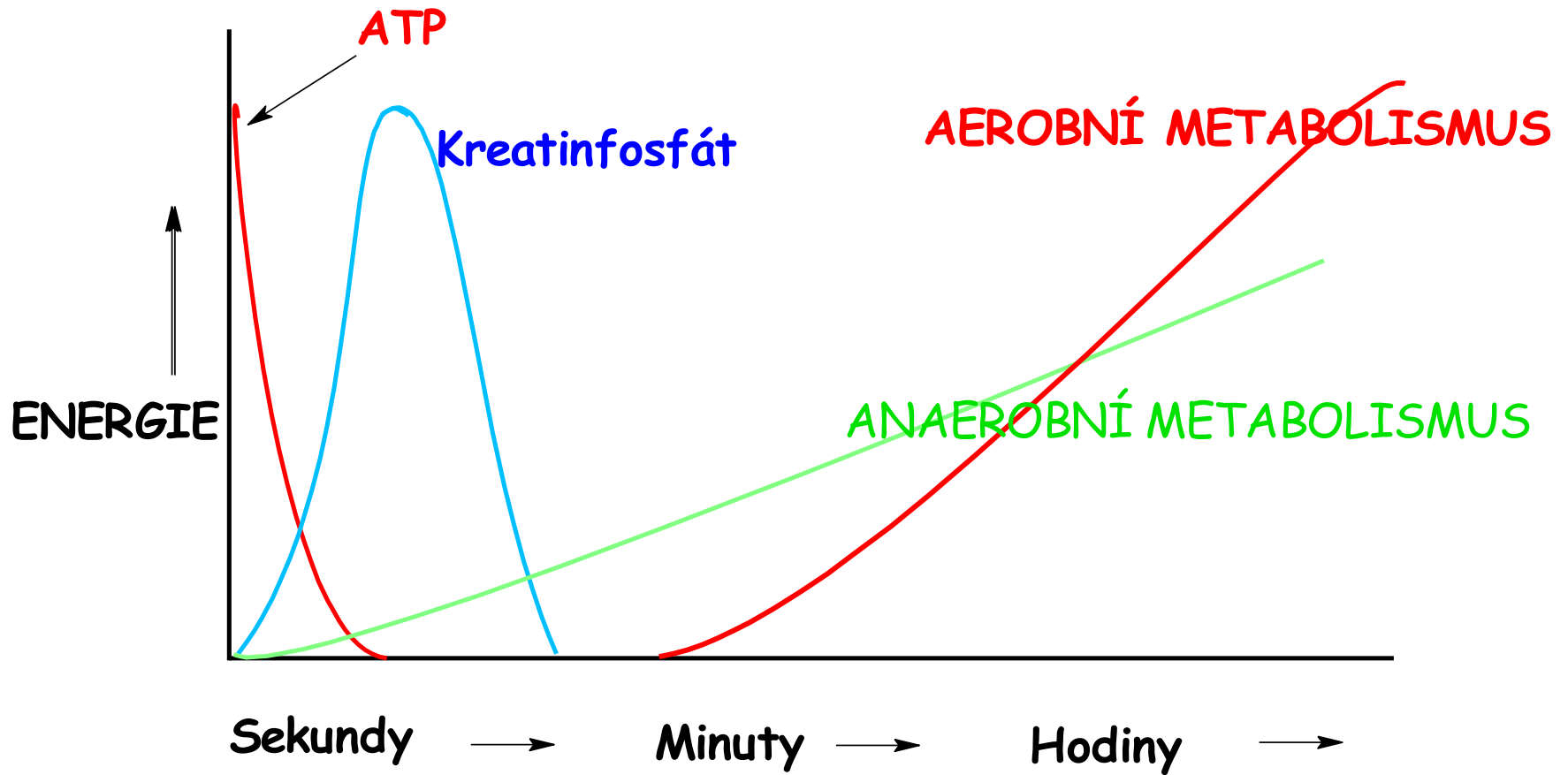
ATP a kreatinfosfát.

- Množství ATP ve svaích umožňuje svalový pohyb během sekundy.
- ATP se musí neustále vytvářet (odhadované denní množství vytvořeného a využitého ATP u dospělého člověka je cca 40 kg !!).
- Kreatinfosfát ve svaích obratlovců je zásobárnou fosfátových skupin s vysokým potenciálem přenosu fosfátu na ADP za tvorby ATP (regenerace ATP).
- Reakce je katalyzována **kreatinkinasou**:
- Kreatinfosfát + ADP \rightleftharpoons ATP + kreatin
- Při pH 7 je Gibbsova energie hydrolýzy kreatinfosfátu - 43, 1 kJ.mol⁻¹.
- Z toho plyne, že změna standardní Gibbsovy energie tvorby ATP z kreatinfosfátu je - 12, 6 kJ.mol⁻¹, což odpovídá rovnovážné konstantě 162.

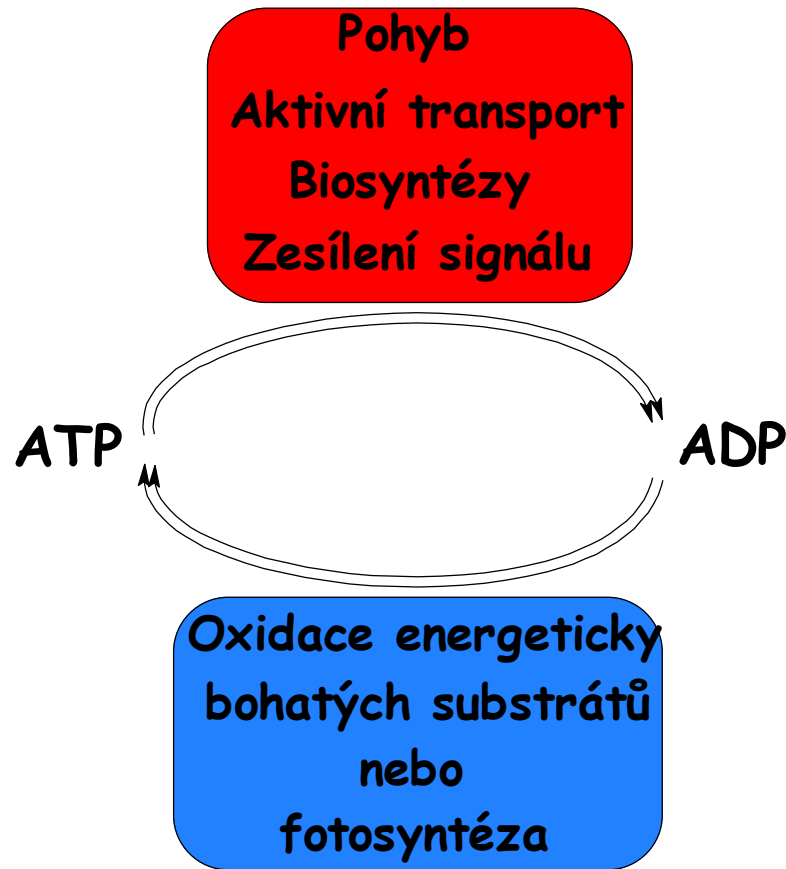
ATP a kreatinfosfát.

- Typická koncentrace těchto metabolitů v odpočívajícím svalu:
- [ATP] = 4 mM,
-
- [ADP] = 0,013 mM,
-
- [kreatinfosfát] = 25 mM
-
- [kreatin] = 13 mM.

Zdroje ATP během tělesného pohybu



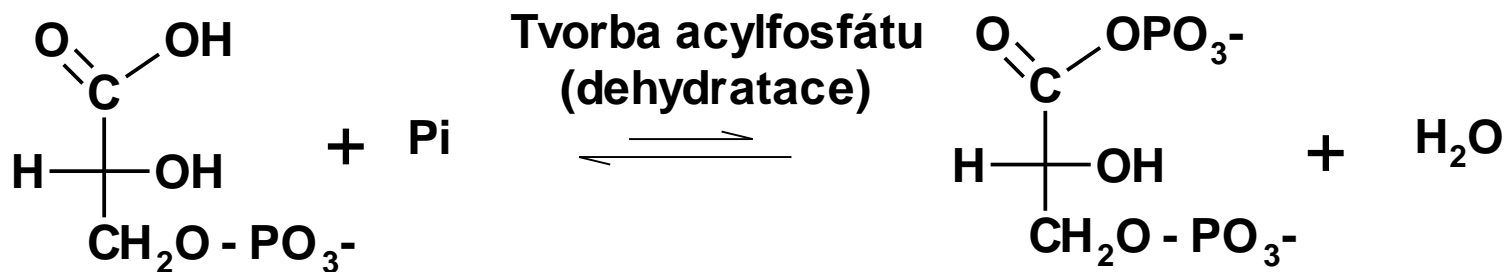
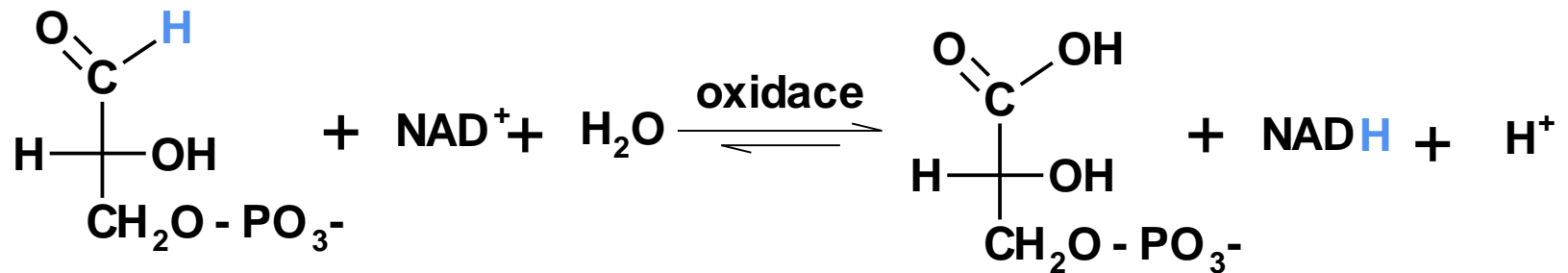
Cyklus ATP-ADP.



Jakým postupem sloučeniny s vysokým potenciálem přenosu fosfátu spojují oxidaci uhlíku s tvorbou ATP ?

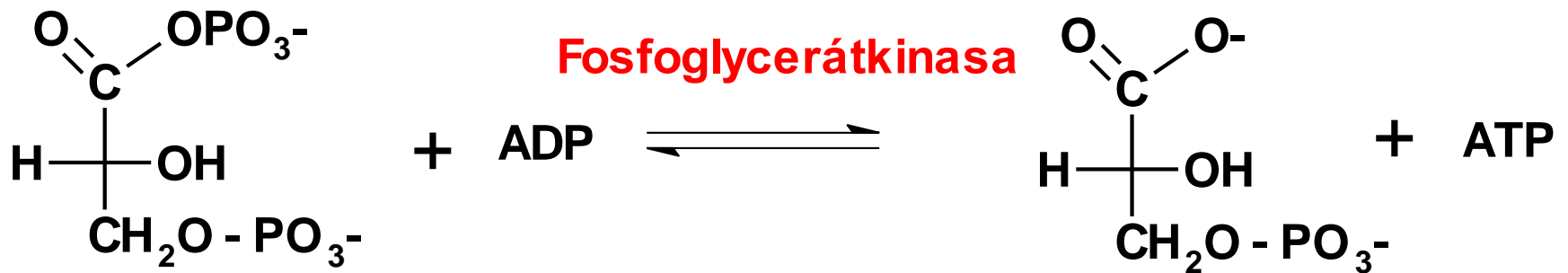
- Tvorba ATP je jednou z primárních funkcí katabolismu.
- Uhlík sacharidů a tuků je oxidován na CO_2 . Vzniklé elektrony jsou zachyceny a využity k regeneraci ATP z ADP a P_i .
- U aerobních organismů je koncovým akceptorem elektronů kyslík a oxidačním produktem oxid uhličitý.
- **Příklad:** *D*-Glyceraldehyd-3-fosfát. Meziprodukt glykolýzy.
- C-1 Uhlíkový atom je v oxidačním stavu aldehydu. Oxidací aldehydu na karboxylovou kyselinu se uvolní energie.
- V prvním stupni se tvoří acylfosfát, 1,3-bisfosfoglycerát, a uvolněné elektrony se váží na NAD^+ .
- 1,3-Bisfosfoglycerát má vysoký potenciál přenosu fosfátu. Štěpení 1,3-BPG může být spojeno s tvorbou ATP (**tvorba energie na úrovni substrátu**).
- Energie oxidace je v prvním stupni zachycena jako sloučenina s vysokým potenciálem přenosu fosfátu a poté využita k tvorbě ATP.

Schéma glycerinaldehyd-3-fosfátdehydrogenasové oxidace.

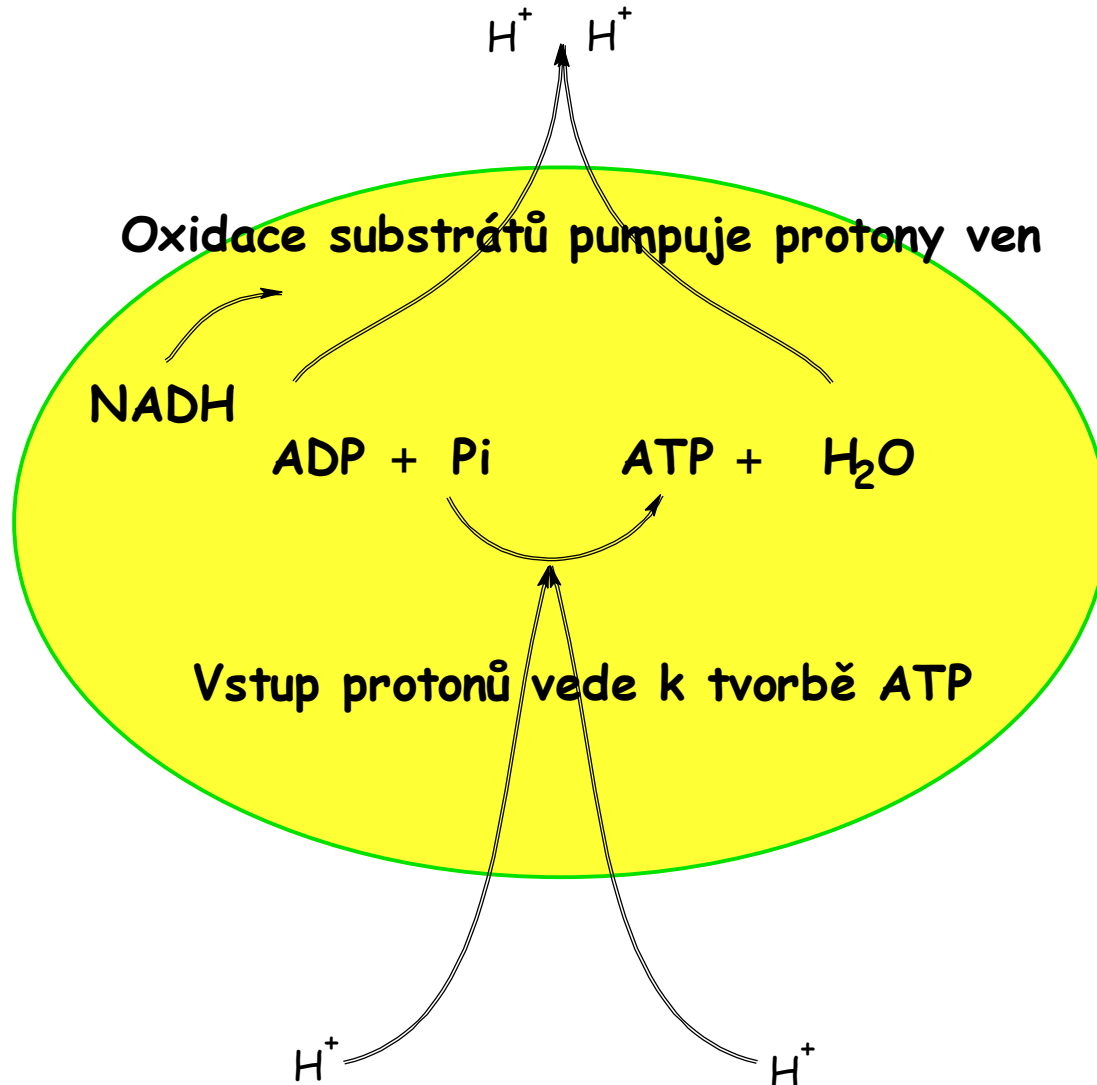


1, 3 -bisfosfoglycerát

Tvorba energie (ATP) na úrovni substrátu.

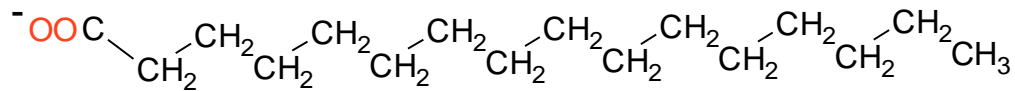


Protonové gradienty. Oxidaci energií bohatých sloučenin dochází k tvorbě protonových gradientů přes membránu působením specifických protonových pump. Protonové gradienty pohání syntézu ATP tím, že prochází enzymem ATPsyntasou (oxidativní fosforylace).

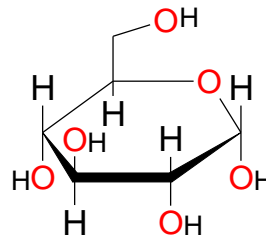


Srovnání obsahu volné energie sloučenin

- Obecně platí, že čím více je sloučenina redukováná tím více Gibbsovy (volné) energie obsahuje.
- Pro srovnání glukosa a mastná kyselina. Mastná kyselina je silně redukováná - výhodně skladovaná energie v tucích.



MASTNÁ KYSELINA
Kyselina palmitová



GLUKOSA

Respirační kvocient (RQ), spalné teplo, energ. ekvivalent

- $RQ = CO_2 / O_2$ (mol)
- $Glukosa + 6 O_2 \rightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O$; $RQ = 1$
- $Palmitát + 23 O_2 \rightarrow 16 CO_2 + 16 H_2O$; $RQ = 0,7$
- **Energetický ekvivalent - energie uvolněná na 1 L kyslíku**
- 1. Oxidace glukosy poskytuje 2 873 kJ/mol
- $2\,873 : 6 \cdot 22,4 = 21,3$ kJ/1 L O_2
- 2. Oxidace kys. palmitové 9 795 kJ/mol
- $9\,795 : 23 : 22,4 = 19,0$ kJ/ 1 L O_2
- Respirační kvocient, spalné teplo, energetický ekvivalent:
- **Proteiny** $RQ = 0,8$; kJ/g = 17,2; O_2 (mL/g) = 917; kJ/1 L O_2 = 18,75
- **Lipidy** 0,7 38,9 1987 19,6
- **Sacharidy** 1,0 17,2 812 21,1