

BIOCHEMICKÁ ENERGETIKA

... aneb **Krebsův cyklus a dýchací řetězec**, zkrátka veškerá ta změt' sloučenin, šipek a rovnic, které jste se dosud obávali. (Nyní nastal čas tyto obavy rozptýlit. ☺)

Milé studentky, milí studenti,

v minulých hodinách jsme společně pronikli do tajů **fotosyntézy**, díky které už víme, **jak získávají energii rostliny**, případně další fototrofní organismy. V dnešní chemii se proto zaměříme na děje, jež vedou k **zisku energie u živočichů** (a dalších chemotrofních organismů).

Možná jste si dříve všimli, že se při glykolýze nebo β -oxidaci mastných kyselin uvolňuje vodík. Kdyby však vodík vznikal ve formě H_2 , jak to známe z anorganiky, rychle by unikl z buněk a navíc by [tvořil výbušnou směs s kyslíkem](#)¹ (což ostatně také známe z anorganiky). **Jak to tedy náš organismus zařizuje, že ačkoliv jsme obklopeni kyslíkem, nevybouchneme?**

Stalo se vám někdy při sportu, že vás náhle začaly pálit svaly a museli jste na chvíli zvolnit? Jde o nepříjemný projev vzniku kyseliny mléčné. **Proč si však organismus kyselinu mléčnou vytváří, když nám tím způsobuje pálení svalů a kazí tak radost z pohybu?**

O tom, co mají společného člověk a například šimpanz, bylo napsáno již mnoho. **Co má ale společného člověk s obyčejným citronem?**

Pokud byste měli jmenovat nějaký prudký jed, jistě by si někteří z vás vzpomněli na cyankáli, případně na kyanovodík. Zajímá-li vás, **proč jsou pro nás kyanidy jedovaté**, jste tu správně.

Odpovědi nejen na výše uvedené otázky vám totiž zodpoví dnešní chemie!

Ze všeho nejdříve si ale ještě zopakujeme, co jsme se naučili minule. Opakovací otázky můžete řešit přímo zde v tomto materiálu nebo také online na www.exp.er.cz, kde je vám k dispozici i správné řešení. **Až všechny otázky správně zodpovíte, otočte list a pustíme se do díla!**

¹ přičemž onen výbuch není ničím jiným, než uvolněním energie, která vznikla vzájemnou reakcí obou prvků.

Opakovací test:

- 1) Vyberte správná tvrzení (může jich být i více):
 - a) Hlavním cílem fotosyntézy je tvorba kyslíku a vznik energie
 - b) Fotosyntézu je možno rozdělit na 2 fáze: fázi temnostní a fázi světelnou
 - c) Calvinův cyklus probíhá výhradně v noci
 - d) Když posvítíme na fotokomplex s chlorofylem, excituje se a tím získává redukční účinky (schopnost uvolňovat elektrony). Tyto elektrony pak rostlina využívá pro další metabolické děje.
- 2) Jak označujeme rostliny, které ještě před vlastní fixací akumulují CO₂? (může být více správných řešení)
 - a) C₄
 - b) CAM
 - c) C₅
 - d) C₃
- 3) H⁺ ionty z thylakoidů unikají, protože:
 - a) je z thylakoidů vytlačuje rotace ATPasy
 - b) thylakoidy jsou obklopeny spoustou hydrogenuhličitanových aniontů (HCO₃⁻), které k sobě kladně nabité kationty H⁺ přitahují
 - c) díky primární fázi fotosyntézy se H⁺ ionty v thylakoidech hromadí, vzniká koncentrační gradient a H⁺ ionty se tak snaží dostat z thylakoidů pryč
 - d) ani jedno tvrzení není pravdivé; H⁺ se naopak snaží dostat **dovnitř** thylakoidů, nikoliv **ven**
- 4) Co to je fotorespirace a jak se ji rostliny snaží potlačovat? (otevřená otázka)

5) Struktura ATPasy připomíná:

- a) květák
- b) vodovodní trubku, uvnitř které proudí H^+ ionty a ATP
- c) komolý kužel
- d) mlýnské kolo či turbínu

6) Enzym RuBisCO je klíčový pro:

- a) tvorbu ATP
- b) fotolýzu vody
- c) redukci sacharidů (např. ribulosa-1,5-bisfosfátu)
- d) fixaci CO_2

7) Doplňte rovnici fotolýzy vody, která probíhá na rostlinném fotokomplexu s chlorofylem:



8) Kromě rostlin mohou fotosyntézu provádět i některé bakterie². Jakou chemickou látku tyto bakterie při fotosyntéze rozkládají namísto vody? (otevřená otázka)

² žijící např. v přírodní rezervaci Husrygg na švédském ostrově Gotland.

Krebsův (=citrátový) cyklus

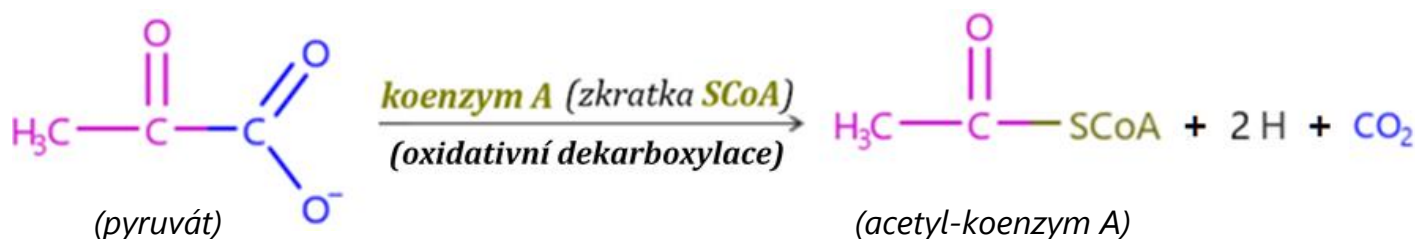
Krebsův cyklus je místem, kde se **setkávají produkty metabolismu sacharidů, lipidů i vybraných aminokyselin**, přičemž dochází k jejich přeměně až na CO_2 .

Pro začátek si zopakujte znalosti z předchozích hodin zodpovězením následujících otázek:

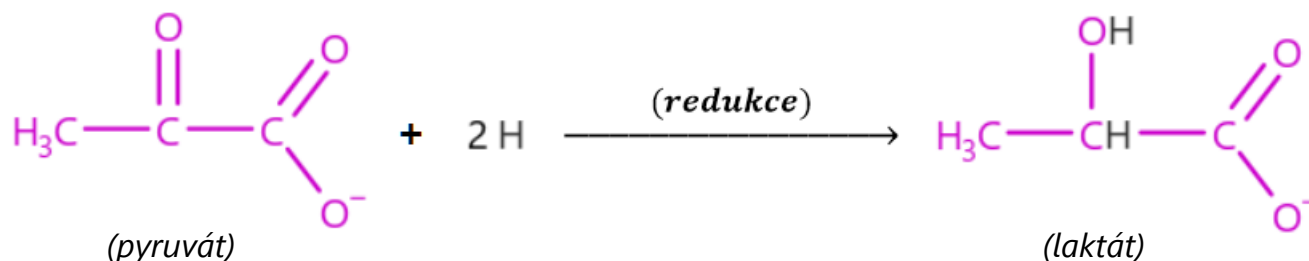
- jak se nazývá biochemická dráha, ve které se zpracovávají sacharidy a co je jejím produktem?
- který proces je klíčový při odbourávání lipidů a k jakému finálnímu produktu vede?
- co vznikne přenesením $-\text{NH}_2$ skupiny (transaminací) z aminokyseliny alaninu³ ?

PŘEMĚNA PYRUVÁTU V ORGANISMU:

To, jak se s pyruvátem naloží, dost záleží na množství kyslíku, které má organismus k dispozici. Za běžných podmínek je pyruvát přeměněn na **acetyl-koenzym A** podle následujícího schématu:



Ne vždycky se však tkáním kyslík dostává v dostatečné míře (typicky se to stává při intenzivní pohybové aktivitě, která klade na spotřebu O_2 zvýšené nároky). V takovém případě organismus **pyruvát „jen“ zredukuje na kyselinu mléčnou, resp. laktát (= sůl kyseliny mléčné)**, a to pomocí vodíku uvolněného během glykolýzy⁴ (viz též str. 54).



³ pakliže si nevzpomínáte na strukturu této aminokyseliny, využijte příslušné materiály. 😊

⁴ právě z glykolýzy totiž organismus čerpá většinu energie, kterou pro řečenou „intenzivní pohybovou aktivitu“ potřebuje...

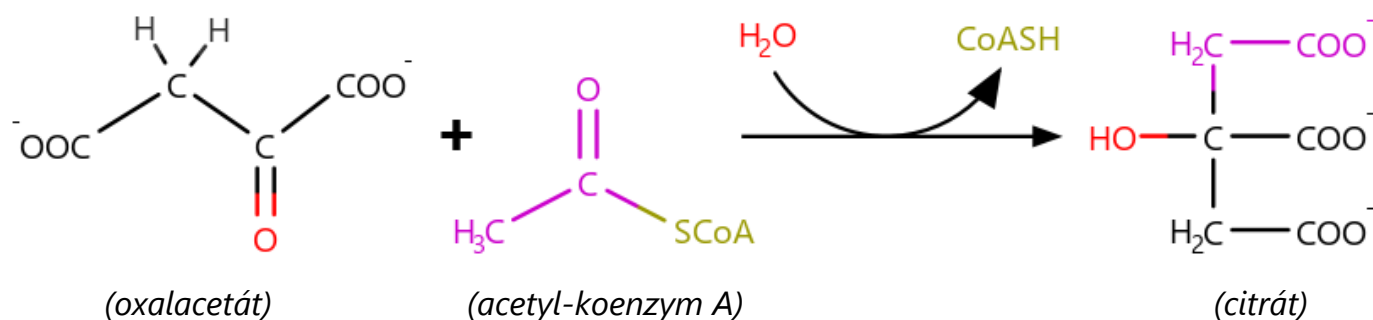
Laktát se nám pak **hromadí ve svalech**, způsobuje jejich **překyselení** a to se projevuje **nepříjemným pálením...**

A proč to organismus vlastně dělá tak složitě? Jistě vás napadne, že by bylo mnohem jednodušší mít jednu universální cestu, kterou bychom pyruvát odbourávali nezávisle na tom, jestli zrovna máme kyslíku moc, anebo málo. Zásadním důvodem pro existenci dvou metabolických cest je **výrazný rozdíl ve výtěžku energie, již můžeme jedním nebo druhým způsobem získat:**

Při redukci pyruvátu na laktát získáme **energii pouze ve formě několika molekul ATP, které se vytvoří ještě při glykolýze**⁵ (takto běžně fungují některé anaerobní bakterie). Pokud ovšem pyruvát podstoupí přeměnu na acetyl-koenzym A a ten se metabolizuje dále, můžeme **z 1 molekuly glukosy získat až 38 ATP**, a to právě **díky Krebsovu cyklu** a navazujícímu **dýchacímu řetězci**. (A to se vyplatí! 😊)

Průběh Krebsova cyklu

V prvním kroku Krebsova cyklu dochází ke **kondenzaci acetyl-koenzymu A** (získaného dřívějšími přeměnami živin) **s oxalacetátem**. Přitom vzniká citrát (=sůl kyseliny citrónové), jak je zřejmé z reakčního schématu⁶:



Právě díky této reakci vzniklo **alternativní pojmenování Krebsova cyklu — cyklus citrátový**. Pro nás tato reakce může být odpovědí na otázku, co máme společného s citronem: Třeba tuto sympatickou kyselinu. 😊

Celý Krebsův cyklus probíhá v matrixu mitochondrií a jeho další fáze si můžete prohlédnout ve zjednodušeném modelu na další straně.

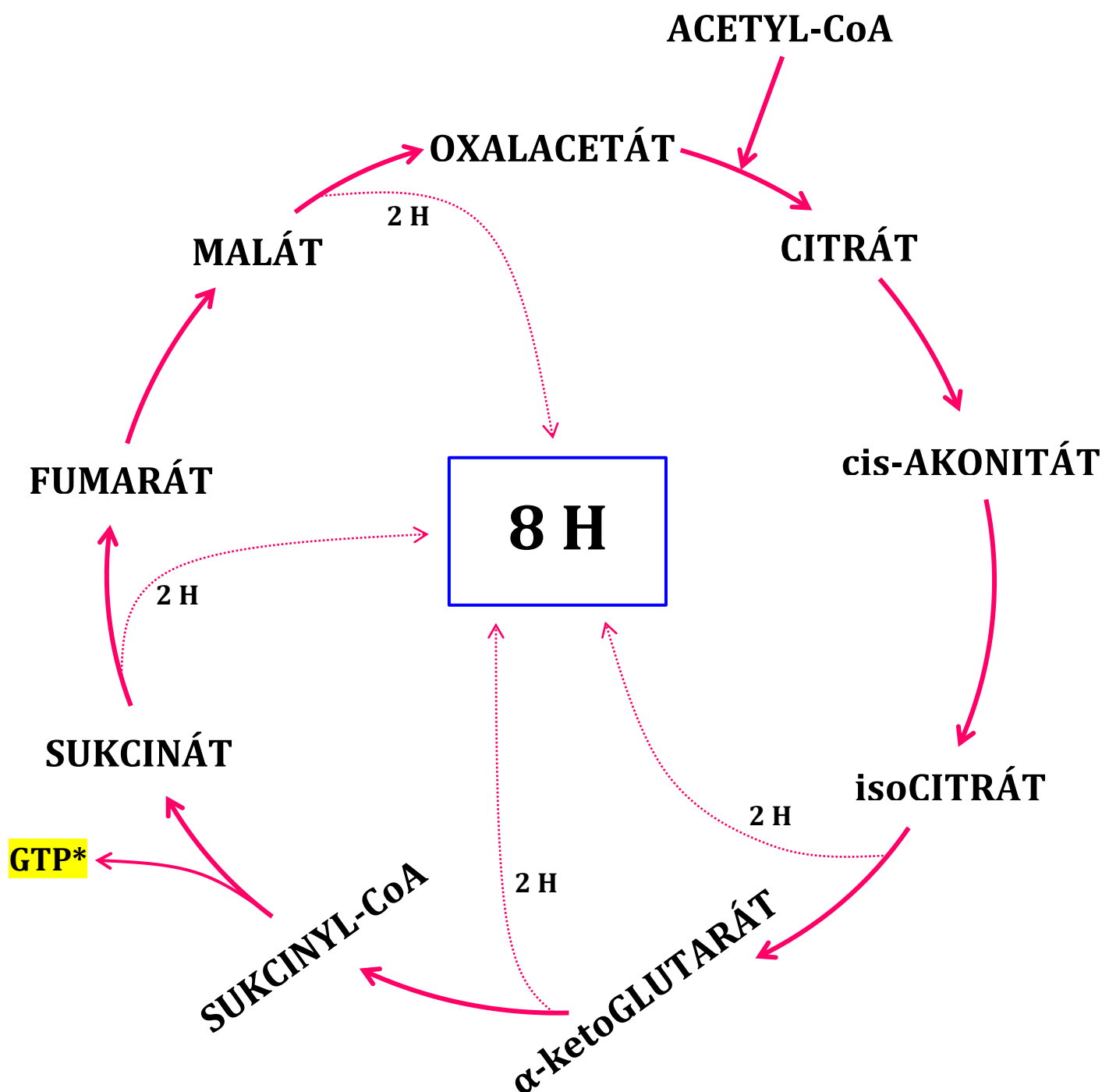
⁵ Kolik molekul ATP vznikne během glykolýzy při přeměně 1 molekuly glukosy na pyruvát? Připomeňte si!

⁶ Přesný reakční mechanismus případní zájemci najdou v prezentaci o základech enzymologie. 😊

ZJEDNODUŠENÝ MODEL KREBSOVA CYKLU

Během prohlížení modelu se pokuste (např. ve dvojicích / čtveřicích) splnit následující úkoly:

- Na konci tohoto souboru najdete kartičky se strukturami jednotlivých intermediátů Krebsova cyklu. Přiřaďte k názvům ve schématu odpovídající struktury.
- Na základě přiřazených struktur k názvům jednotlivých intermediátů určete a označte kroky, kdy dochází ke změně počtu atomů uhlíku v molekule a tedy k uvolnění CO_2 (=dekarboxylaci).
- Rozhodněte, zda je Krebsův cyklus ve vztahu ke svým substrátům oxidační, či redukční děj.



* viz další stránku

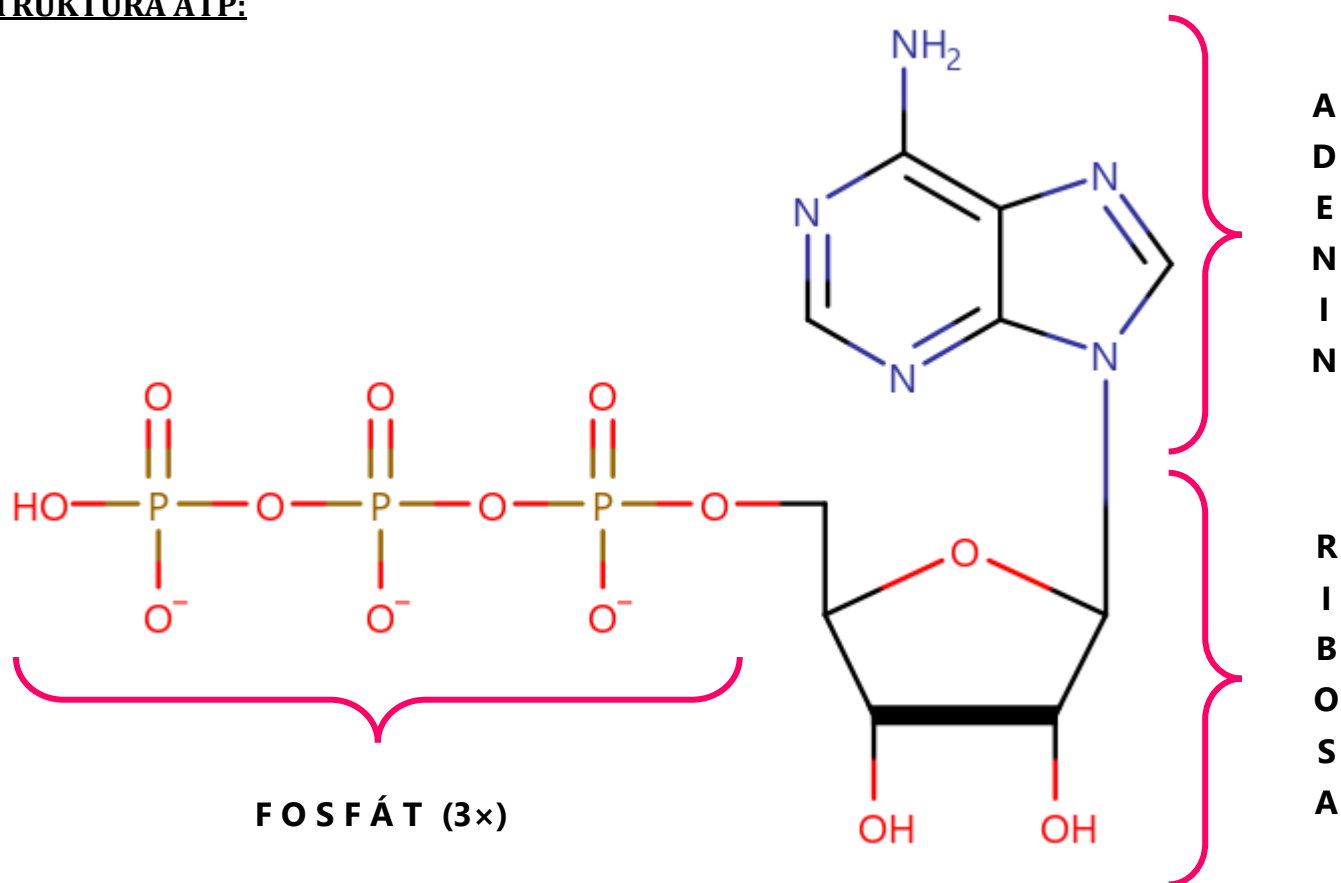
Makroergické sloučeniny

Když přijde řeč na biochemické procesy, kde se buď spotřebovává, nebo naopak uvolňuje energie, zmiňuje se speciální skupina sloučenin, která je schopná energii v buňkách „konzervovat“, tedy uchovávat v dále využitelné formě — tzv. **makroergické sloučeniny**. Tyto sloučeniny disponují vazbami, jejichž rozštěpením lze získat velké množství energie (zpravidla více jak $30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$).

Asi nejznámější makroergickou sloučeninou je **ATP** (celým jménem *adenosintrifosfát*)⁷ sestávající z nukleové báze **adeninu**, sacharidu **ribosy** a tří zbytků kyseliny fosforečné — **fosfátů** (viz obrázek níže). Princip funkce ATP tkví v odštěpování jednotlivých fosfátů (P_i), jak naznačují rovnice⁸:



STRUKTURA ATP:



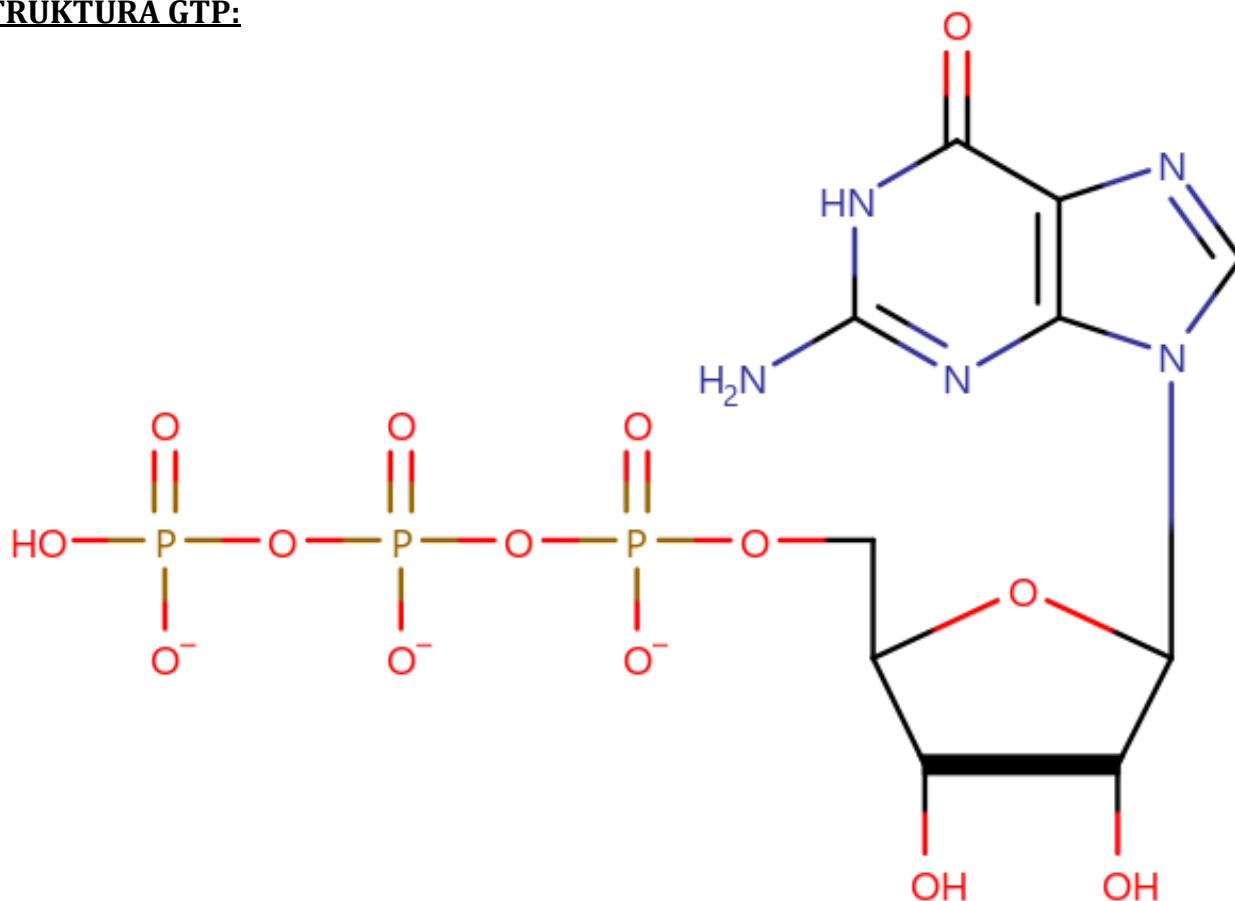
⁷ anglicky *adenosin***tr**iphosphate, proto ta zkratka ATP.

⁸ přičemž **ADP** značí *adenosin***d**ifosfát a **AMP** *adenosin***m**onofosfát.

Další z makroergických sloučenin, se kterou se můžeme setkat (jmenovitě kupř. v Krebsově cyklu), je *guanosintrifosfát*, zkráceně **GTP**. Z energetického hlediska je však mezi ATP a GTP jen minimální rozdíl.

Na obrázku je nakreslená struktura GTP. Porovnejte ji se strukturou ATP z předchozí stránky a označte, v čem se struktury navzájem liší:

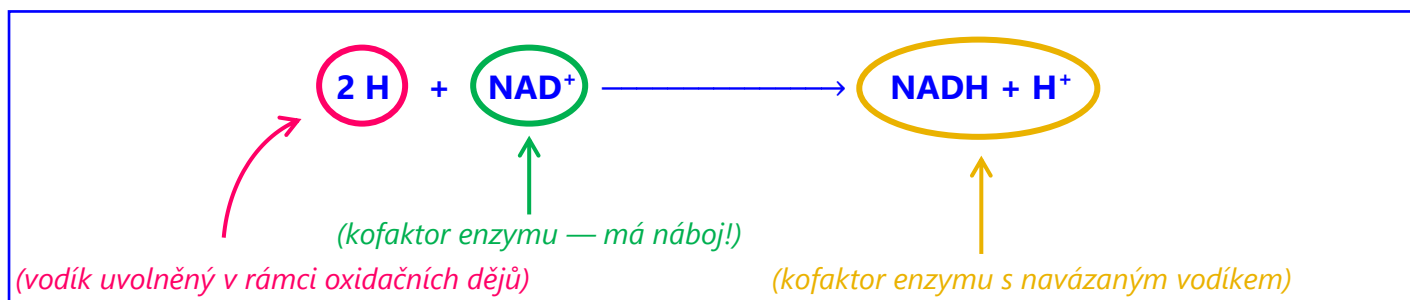
STRUKTURA GTP:



Dýchací řetězec

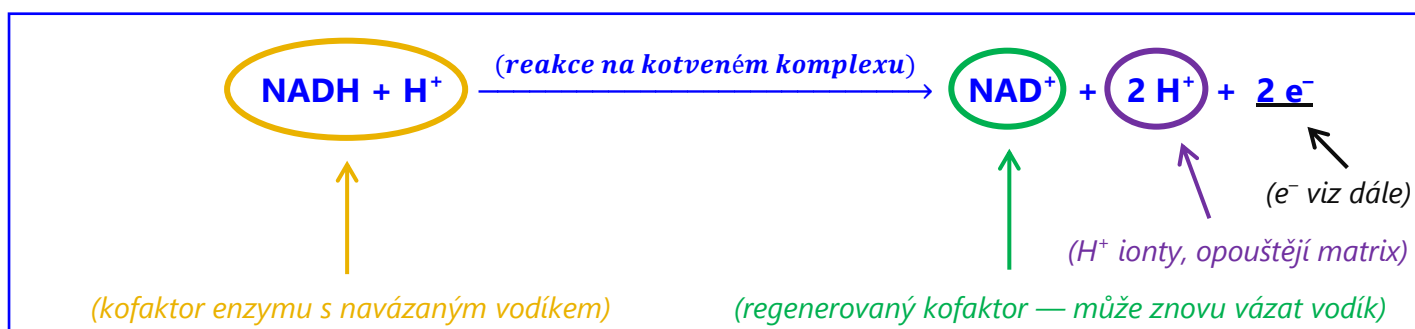
Dýchací řetězec sestává z několika tzv. **kotvených komplexů** (to jsou stabilní komplexy mnoha proteinů s enzymovou aktivitou pevně ukotvené ve vnitřních membránách mitochondrií). Tyto komplexy zajišťují **postupný přenos elektronů a vodíku (resp. kationtů H^+ — viz dále) z oxidačních dějů v organismu na kyslík** (jedná se tedy o striktně aerobní proces).

Veškerý vodík, který se v rámci biochemických dějů v organismu uvolňuje, totiž nikdy nevzniká jako molekula H_2 (tak, jak to známe z anorganiky), **ale váže se na kofaktory enzymů katalyzujících příslušné reakce. Takovým kofaktorem je například NAD^+ nebo FAD ⁽⁹⁾:**



Enzymové kofaktory přenášejí navázaný vodík ke kotveným komplexům, kde se zároveň regenerují, aby se mohly i nadále účastnit katalýzy oxidačních reakcí.

Při regeneraci kofaktorů se vodík uvolňuje výhradně ve formě iontů H^+ a skrze kotvené komplexy přechází do mezimembránového prostoru mitochondrií (opouští matrix). Reakce poskytuje ještě volné elektrony, protože i zde je zapotřebí, aby náboje výchozích látek a produktů byly v součtu totožné¹⁰. Vznikající elektrony pak přecházejí mezi jednotlivými kotvenými komplexy.



Důsledkem činnosti kotvených komplexů nastává analogická situace jako při primární fázi fotosyntézy: **V mezimembránovém prostoru se začnou hromadit H^+ ionty a to vytváří koncentrační gradient.** Ten se (stejně jako při fotosyntéze) stává **hybnou silou pro tvorbu ATP.**

(H^+ ionty se snaží dostat do matrixu, kde jich je relativně málo, a tak uvádí do chodu enzym ATPasu, jež se nachází na vnitřní mitochondriální membráně — viz obrazové schéma).

⁹ celými jmény **nikotinamidadenindinukleotid** ([struktura zde](#)) a **flavinadenindinukleotid** ([struktura zde](#)) — názvy se nemusíte učit nazpaměť, avšak struktury si alespoň prohlédněte.

¹⁰ celkový náboj na levé straně rovnice: +1 => na pravé straně rovnice musí být také +1

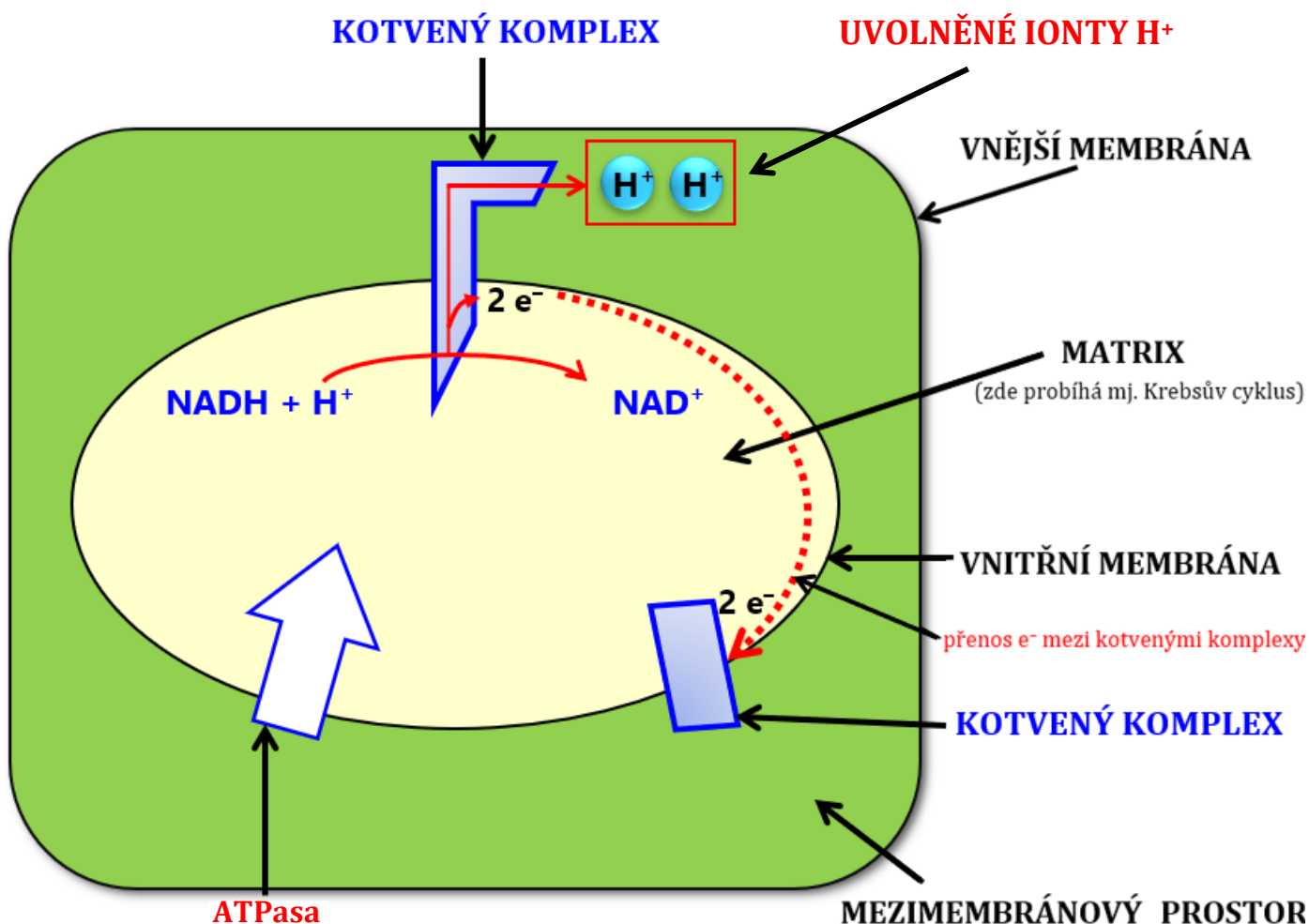
Poté, co se H^+ ionty poháněné koncentračním gradientem dostanou skrze ATPasu do matrixu, zreagují na dalším z kotvených komplexů s kyslíkem a s elektrony, které vznikly předchozí reakcí. Finálním **produktem dýchacího řetězce tak je molekula vody**. Proces jejího vzniku na kotveném komplexu můžeme popsat sumární rovnicí:



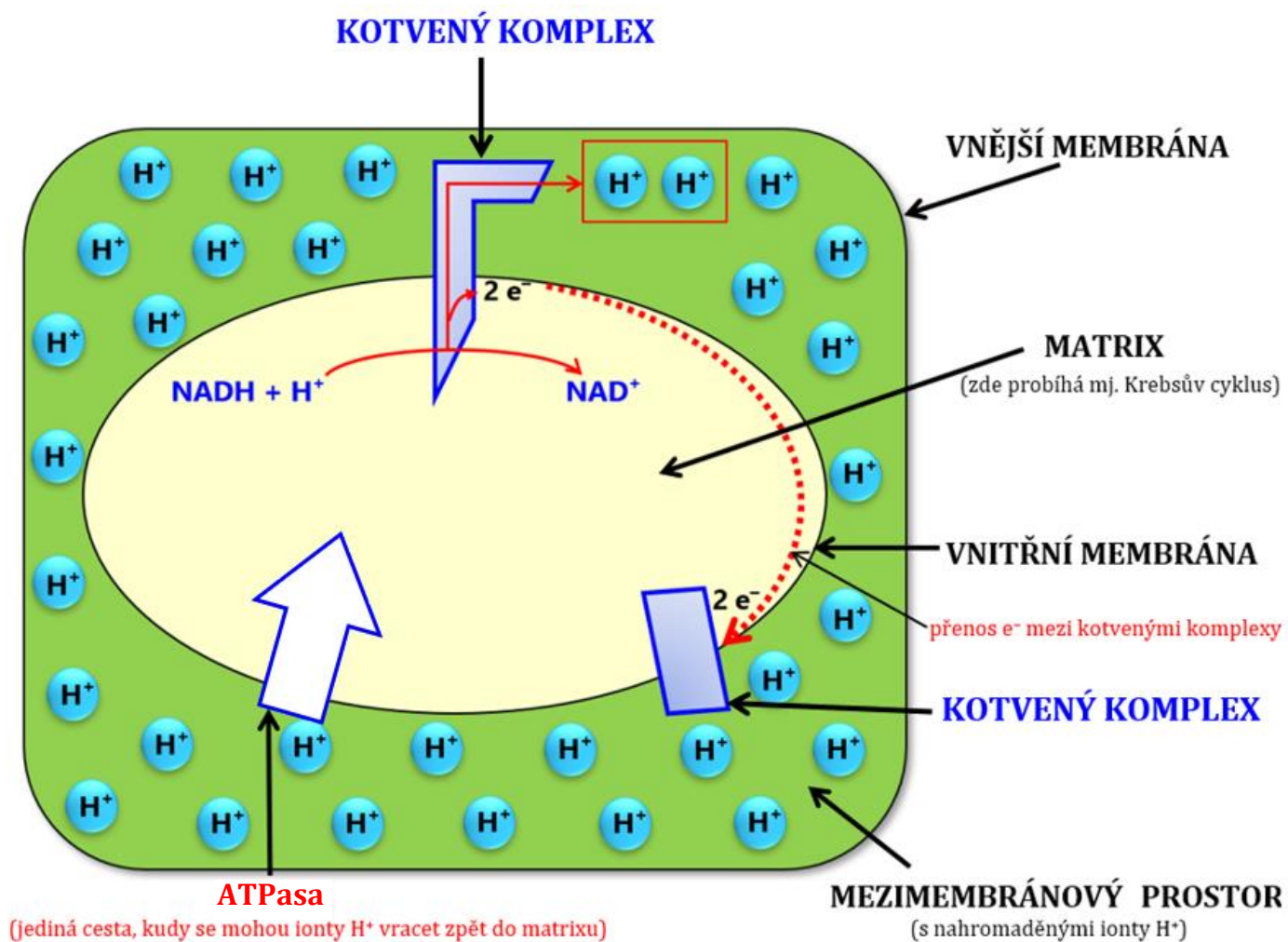
Právě proto, že slučování vodíku a kyslíku zde neprobíhá najednou (jako to známe z anorganiky), nýbrž díky kompartmentaci a kotveným komplexům postupně, **uvolňuje se veškerá energie také postupně** (takže nevybouchneme jako balónek z úvodního videa **a energii můžeme efektivně využívat**).

SCHÉMA MITOCHONDRIÁLNÍ BUŇKY V KONTEXTU PROBÍHAJÍCÍHO DÝCHACÍHO ŘETĚZCE:

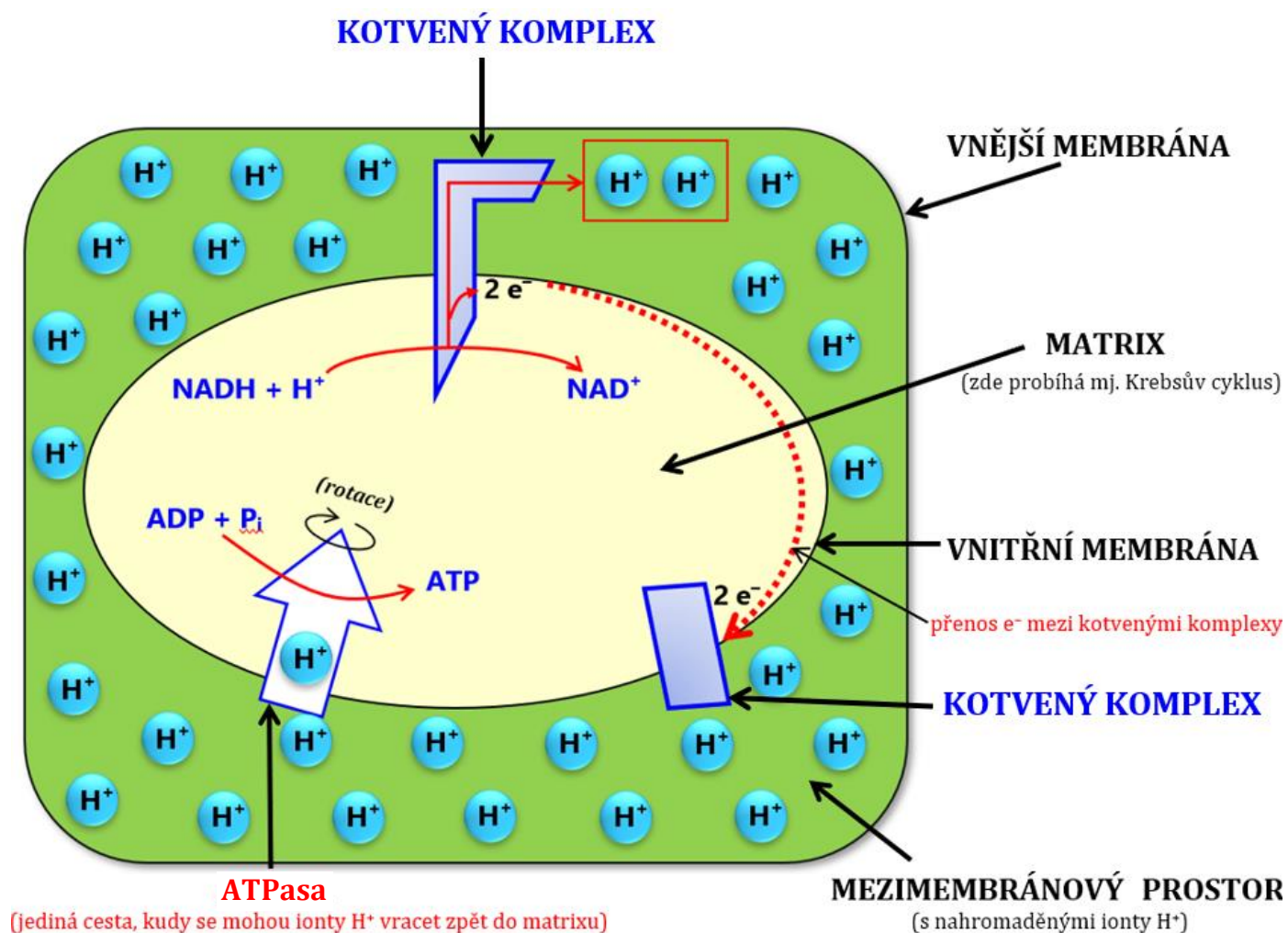
- 1) Na vyobrazeném kotveném komplexu **dochází k regeneraci kofaktoru ($NADH + H^+$)**, přičemž se uvolňují elektrony a **vodík ve formě iontů H^+** , které putují do mezimembránového prostoru. Elektrony přecházejí mezi jednotlivými kotvenými komplexy.



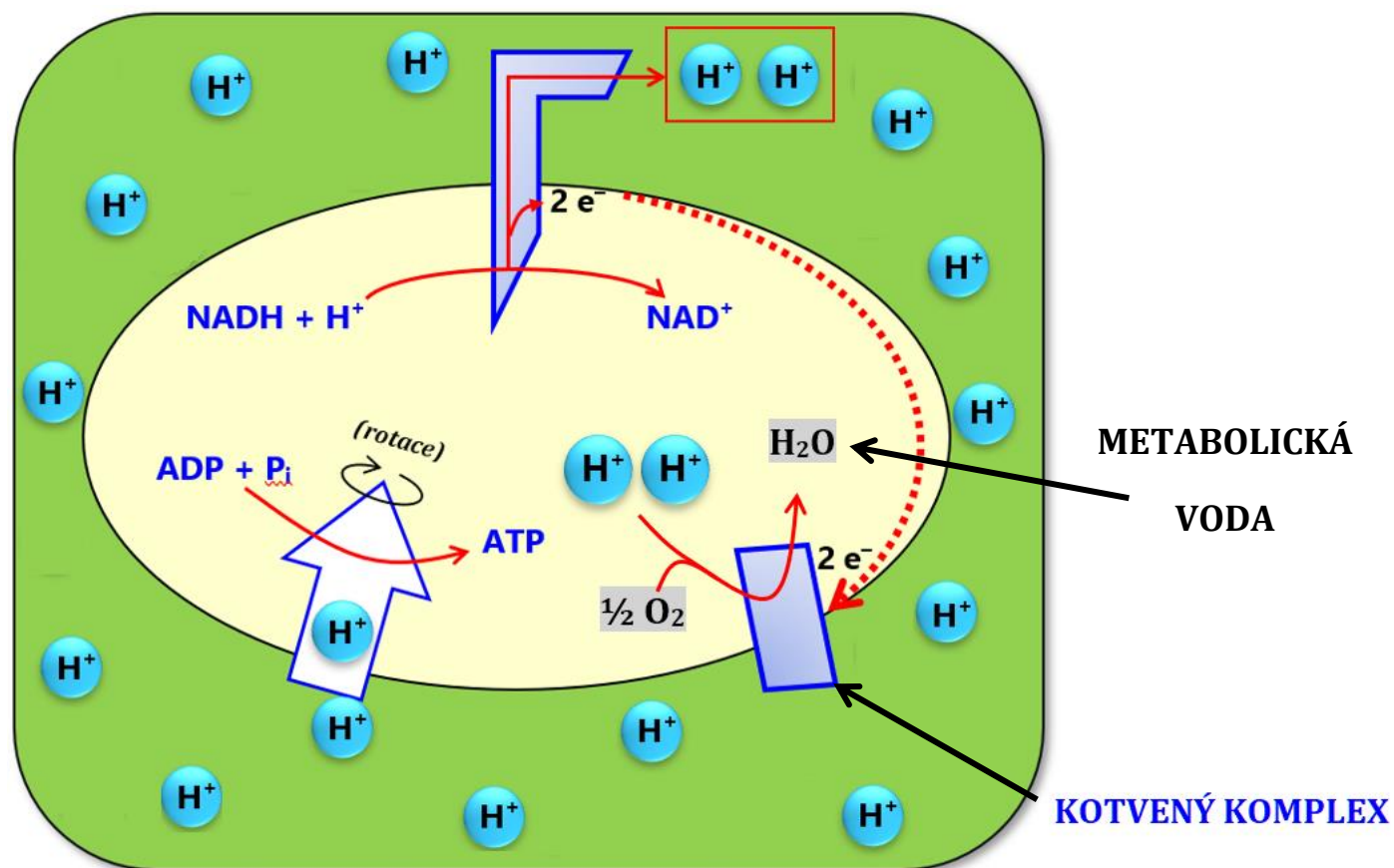
- 2) V důsledku opakující se činnosti kotvených komplexů **přibývají v mezimembránovém prostoru ionty H^+ , a tak se vytváří koncentrační gradient.**



3) Podobně jako při primární fázi fotosyntézy se **koncentrační gradient H^+ iontů stává hybnou silou pro tvorbu ATP prostřednictvím enzymu ATPasy.**

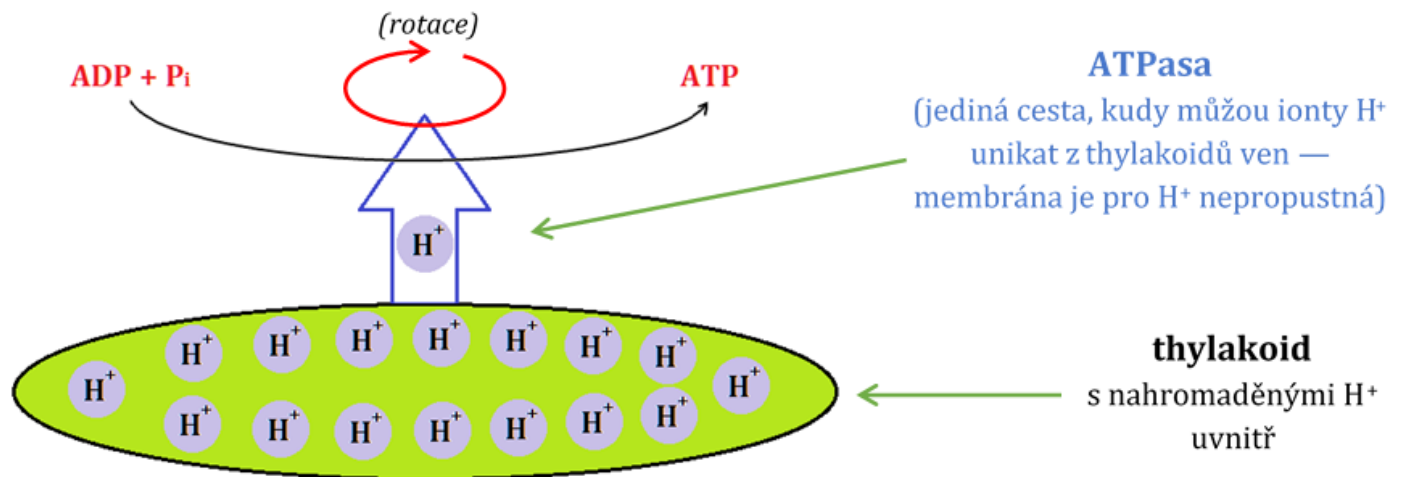


- 4) **Ionty H^+ , které se skrze ATPasu dostanou zpět do matrixu, reagují na dalším z kotvených komplexů s kyslíkem a elektrony za vzniku tzv. metabolické vody.**

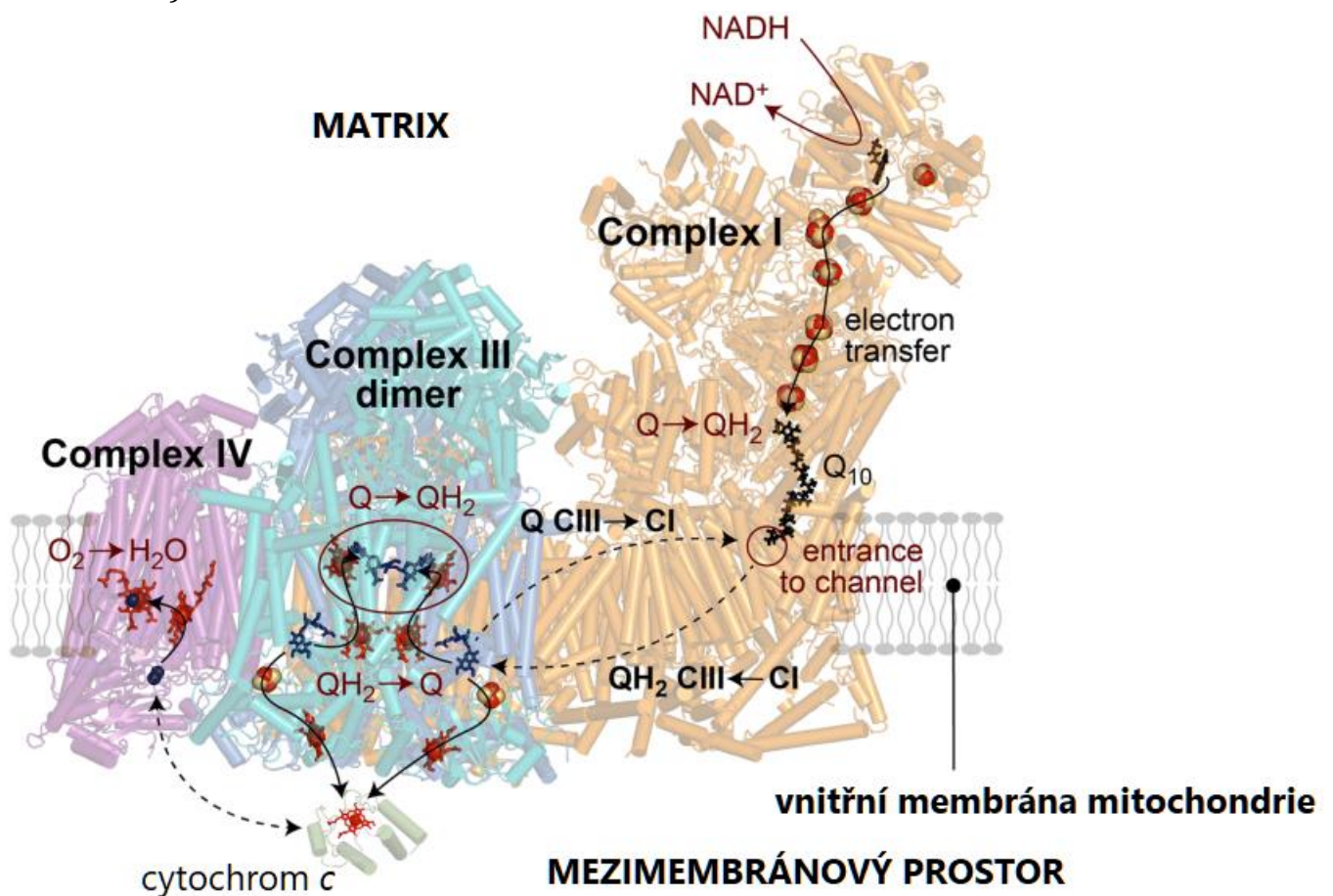


Uveďte, jak se popsáný proces tvorby ATP v dýchacím řetězci nazývá (dvěma slovy):

Porovnejte princip tvorby ATP v dýchacím řetězci a při fotosyntéze (viděli jste minule...)

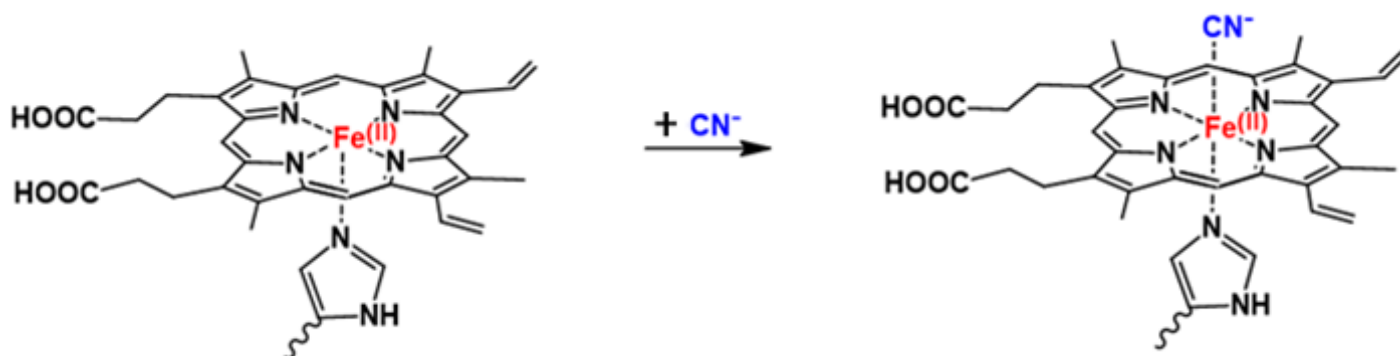


Protože předchozí obrázky zachycovaly součásti mitochondriální buňky **pouze schematicky** (aby lépe vyniklo, jak dýchací řetězec probíhá), uveďme zde ještě obrázek¹¹ reflektující **skutečné pozice a tvary** jednotlivých kotvených komplexů (spíše pro zajímavost; není nutné, abyste se cokoli z tohoto obrázku učili...):

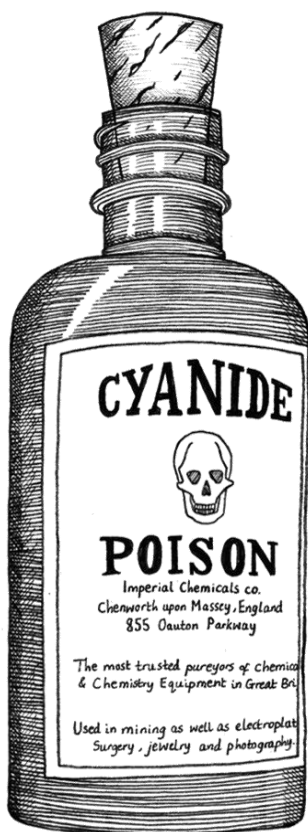


¹¹ zdroj obrázku: https://media.springernature.com/lw685/springer-static/image/art%3A10.1186%2Fs12915-018-0577-5/MediaObjects/12915_2018_577_Fig1_HTML.png (upraveno).

Součástí některých kotvených komplexů jsou **cytochromy** — speciální proteiny obsahující ionty železa vázané v porfyrinovém skeletu¹², podobně jako je tomu u hemoglobinu. A podobně jako hemoglobin vykazuje vysokou afinitu k oxidu uhelnatému (CO), načež pak pozbývá své fyziologické funkce, **cytochromy ochotně reagují s kyanidovými ionty (CN⁻), přičemž i toto spojení vede ke ztrátě jejich fyziologické úlohy.**



Požítím kyanidu (nebo inhalací kyanovodíku) si tedy **zablokujeme cytochromy v kotvených komplexech a s nimi i celý dýchací řetězec!** A protože bez dýchacího řetězce si naše tělo nemůže tvořit ATP v dostatečném množství pro udržení byť jen základních životních funkcí, velmi rychle dochází k fatálnímu poškození organismu, nezřídka k úmrtí.



Kromě školní laboratoře se nicméně s kyanidy můžeme setkat i v našem běžném životě. Napadne vás, kde přesně?

¹² Porfyrinový skelet je planární útvar, v němž je iont železa (nebo i jiného kovu) vázán koordináčně-kovalentními vazbami mezi atomy dusíku (jako na obrázku). Kyanidové anionty se pak vážou na železo jako další ligand.

Příloha — struktury jednotlivých intermediátů Krebsova cyklu:

$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{COO}^- \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{CH} \quad \text{COO}^- \\ \\ \text{OH} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{C} \quad \text{COO}^- \\ \quad \quad \diagdown \quad \diagup \\ \quad \quad \text{H} \quad \text{H} \end{array} $
$ \begin{array}{c} \text{HC} - \text{COO}^- \\ \\ \text{C} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{COO}^- \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{HO} - \text{CH} - \text{COO}^- \\ \\ \text{HC} - \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_2\text{C} - \text{COO}^- \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{C} = \text{C} \quad \text{COO}^- \\ \quad \quad \diagdown \\ \quad \quad \text{H} \end{array} $
$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{C} \quad \text{COO}^- \\ \quad \quad \\ \quad \quad \text{O} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{C} \quad \text{C} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \text{H} \quad \quad \text{C} \quad \text{SCoA} \end{array} $	$ \begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \quad \diagup \\ \text{OOC}^- \quad \text{C} \quad \text{C} \quad \text{O} \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \text{H} \quad \quad \text{C} \quad \text{COO}^- \end{array} $