

BIOCHEMIE PRO BAKALÁŘSKÉ STUDIUM CHEMIE A TECHNICKÉ CHEMIE

doc. Ing. Alexander Čegan, CSc.
RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

OBSAH

1. Biochemie – vývoj a současnost.....	5
1.2 Charakteristika živých systémů a jejich látkové složení.	5
1.3. Biopolymery, struktura a funkce.	5
1.4. Principy látkové a energetické přeměny u živočichů.	6
2. Prokaryotní a eukaryotní buňka, stavba a funkce jednotlivých organel.....	7
3. Kódované aminoskyseliny a jejich biologický význam. Peptidová vazba.	8
3.1. Peptidy – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce.	9
3.2. Bílkoviny – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce.	9
4. Cukry, struktura, chiralita a biologický význam.....	11
4.1. Monosacharidy.....	11
4.2. Disacharidy.....	11
4.3. Polysacharidy	12
5. Lipidy	13
5.1. Acylglyceroly a fosfoacylglyceroly, struktura, výskyt a biologický význam.	13
5.2. Steroidní lipidy a jejich deriváty, struktura, výskyt a biologický význam.	13
6. Vitaminy, struktura, funkce, výskyt a význam pro lidský organismus.	15
6.1. Hormony, struktura, funkce a význam pro lidský organismus.....	17
7. Nukleosidy a nukleotidy, chemická struktura, funkce a výskyt. ATP.	18
7.1. Nukleové kyseliny, struktura a výskyt. Přenos genetické informace, komplementarita.	18
7.2. Přenos genetické informace, komplementarita.	19
7.3. Genetický kód a mutace.	19
7.4. Proteosyntéza.	19
8. Enzymy	20
8.1. Klasifikace enzymů, názvosloví a biochemický význam,	20
8.2. Aktivní centrum enzymů, alosterické místo.	21
8.3. Chemie kofaktorů	21
8.3.1) Kofaktory oxidoreduktas.	21
8.3.2. Kofaktory transferas	22
8.4. Kinetika enzymových reakcí	22
8.5. Látky ovlivňující činnost enzymů:.....	25
8.6. Aktivní centra enzymů.....	25
8.6.1. Specifické působení enzymů.....	26
9. Dýchací řetězec a oxidativní fosforylace	27
9.1. Chemiosmotická teorie syntézy ATP.....	27
9.2. Transfer protonů a elektronů v dýchacím řetězci	27
9.2.1. Funkce komplexů I - V.....	27
9.3. Fotosyntéza a fotochemická produkce NADP + H ⁺ a ATP	28
9.3.1. Necyklická fosforylace:.....	29
9.3.2. Cyklická fosforylace:.....	29
9.3.3. Calvinův cyklus:	29
10. Biologické oxidace	31
10.1. Citrátový cyklus	31
10.1.1. Mechanismus citrátového cyklu.....	31
10.1.2. Energetická bilance citrátového cyklu.....	32
10.1.3. Anaplerotické reakce	32
10.2. Glyoxylátový cyklus.....	33
10.2.1. Mechanismus glyoxylátového cyklu	33
10.3. Vznik acetyl – CoA aerobní dekarboxylací pyruvátu	34
11. Metabolismus sacharidů.....	35
11.1. Výskyt a význam	35
11.2. Glykolýza	35
11.2.1. Mechanismus glykolýzy	35

11.2.2. Ethanolová glykolýza	37
11.2.3. Glycerolová glykolýza	37
11.2.3. Smíšená glykolýza (smíšené kvašení)	37
11.3. Pentózový cyklus	37
11.2.1. Mechanismus pentózového cyklu	38
12. Metabolismus lipidů	40
12.1. Lipoproteiny	40
12.2. Odbourávání lipidů	40
12.2.1. Hydrolytické štěpení	40
12.2.2. Vstřebávání a rozvod	40
12.2.3. Odbourávání mastných kyselin cestou β -oxidace	40
12.2.4. Odbourávání nenasycených, větvených a lichý počet uhlíkových atomů obsahujících mastných kyselin	42
12.3. Metabolismus glycerolu	42
13. Bílkoviny - metabolismus a enzymatické štěpení	43
13.1. Výskyt a význam	43
13.2. Enzymatické štěpení bílkovin - proteolýza	43
13.3. Metabolismus aminokyselin	43
13.3.1. Transaminace	43
13.3.2. Dekarboxylace	44
13.3.3. Aldolové štěpení	44
13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster aminokyselin	44
13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster glukogenních aminokyselin	44
14. Detoxikace amoniaku u živočichů	45
14.1. Metabolismus amoniaku	45
14.1.1. Asimilace amoniaku	45
14.1.2. Vylučování amoniaku	46
14.2. Tvorba močoviny	46
14.2.1. Ureosynthetický cyklus	46
14.3. Odbourávání nukleových kyselin	47
14.3.1. Hydrolysa na stavební jednotky	48
14.3.2. Odbourávání pyrimidinových basí	48
14.3.3. Odbourávání purinových basí	48
15. Biosyntézy sacharidů, aminokyselin, lipidů a nukleotidů	50
15.1. Biosyntéza sacharidů	50
15.1.1. Přeměna pyruvátu na glukosu	50
15.1.2. Biosynthesa glukosy z dalších prekursorů	50
15.1.3. Biosynthesa oligo- a polysacharidů	51
15.2. Biosyntéza aminokyselin	51
15.3. Biosyntéza lipidů	52
15.3.1. Biosynthesa mastných kyselin	52
15.4. Biosyntéza purinů a pyrimidinů	54
15.4.1. Biosyntéza pyrimidinů	54
15.4.2. Biosyntéza purinů	54

1. BIOCHEMIE – VÝVOJ A SOUČASNOST

Biochemie se vyvíjela na teoretických a experimentálních poznatcích biologie, fyziky, chemie, fyziologie a anatomie a dlouho nenalézala své místo jako samostatná vědní disciplína. Termín „Biochemie“ použil zřejmě poprvé německý chemik Hoppe-Seyler v roce 1903 a jako samostatný vědní obor se biochemie formovala ve dvacátých letech minulého století.

Současná biochemie studuje čtyři základní vědecké teorie:

1. Látkové složení živých systémů
2. Vznik a tok hmoty a energie v organismech
3. Souvislost metabolických pochodů s fyziologickými projevy organismu
4. Způsob uspořádání molekulárních složek a biochemických dějů v organismu

1.2 Charakteristika živých systémů a jejich látkové složení

Katabolismus – rozkladný pochod – katabolické reakce jsou skoro vždy hydrolytické, tzn. využívá se voda, štěpí se chemické vazby a uvolňuje se energie (např. štěpení cukrů na CO_2 a vodu). Poskytují energii pro anabolické reakce – spojení přes ATP.

Anabolismus – synthetický pochod (biosyntéza proteinů, bílkovin, nukleových kyselin, ...).

Organismy na této planetě se skládají ze 40 základních organických sloučenin:

- 20 kódovaných aminokyselin
- 6 mastných kyselin
- 5 monosacharidů
- 5 nukleových bází
- Glycerol
- Kyselina octová
- Nikotinamid
- Cholin

Všechny ostatní se získávají ze shora uvedených 21 biogenních prvků

- Makroprvky – O, C, H, N (základní stavební jednotky organických sloučenin buňky), Ca (v kostech, zubech, kofaktor enzymů, složka membrán, regulátor svalové aktivity), P (v kostech, zubech, součást nukleových kyselin a nukleotidů, zahrnut v reakcích realizujících transfer energie)
- Mikroprvky – K (hlavní kation intracelulárních kapalin, účasten na vzniku a šíření impulsů v nervové tkáni a při svalové kontrakci), S (v bílkovinách a dalších látkách), Na (hlavní kation extracelulárních kapalin, účasten na vzniku a šíření impulsů v nervové tkáni), Cl (hlavní anion žaludeční šťávy a krve), Mg (v kostech, kofaktor řady enzymů)
- Stopové – Fe (kofaktor řady oxidoreduktas, zahrnuto v transportu kyslíku), Zn (kofaktor řady enzymů), Cu (kofaktor mnohých oxidas, uplatňuje se v transportu kyslíku u některých mořských organismů), I (v hormonech štítné žlázy), Mn, Mo (kofaktory některých enzymů), Co (součást vitamínu B_{12}), B (důležitý v rostlinách – kofaktor enzymů), Si (přítomen v nižších formách živé hmoty), V (součást některých barviv nižších forem živé hmoty)

1.3. Biopolymery, struktura a funkce

Biopolymery: bílkoviny, cukry, nukleové kyseliny

- Bílkoviny – složeny z 20 kódovaných L- α -aminokyselin, peptidová vazba vzniká odštěpením H_2O ze skupin $\text{COOH} - \text{NH}_2$ dvou molekul. Představují základní stavební materiál buňky jakožto základní jednotky živých organismů. O bílkovinách hovoříme, pokud se řetězec skládá ze 100 a více jednotek. Struktura bílkovin je primární (specifická sekvence výchozích aminokyselin), sekundární (prostorové uspořádání řetězce – helix, skládaný list), terciální (vodíkové můstky a disulfidová vazba mezi jednotlivými řetězci) a kvarterní (vyšší celky vzniklé asociací jednotlivých řetězců, působení především nekovalentních vazeb). Tvar může být globulární (rozpustné ve vodě) nebo fibrilární (nerozpustné ve vodě). Podle stupně degradace mohou být nativní (biologicky aktivní) nebo denaturované (neaktivní). Podle obsahu dalších nebílkovinných složek jsou buď jednoduché (proteiny) nebo složené (další složky jako cukry, tuky, fosfolipidy atd.)
- Cukry – jednoduché cukry jsou polyalkoholy s oxo skupinou (aldózy) nebo keto skupinou (ketózy). Vznikají dehydrogenací OH skupiny polyalkoholů. Stabilizací OH skupiny a aldehydicke skupiny vznikají poloacetalové formy, 5-členné cykly furanózy nebo 6 členné cykly (pyranózy). Vzájemnou reakcí monosacharidů vznikají di-, tri- atd. sacharidy – do počtu 10 oligosacharidy, nad 10 jednotek polysacharidy.

- Nukleové kyseliny – vysokomolekulární sloučeniny cukru ribózy (podle druhu DNA nebo RNA), heterocyklické dusíkaté báze (deriváty purinu a pyrimidinu) a kyseliny trihydrogenfosforečné. Heterocyklická báze reaguje s poloacetalovou hydroxylovou skupinou ribózy za vzniku N-glykosidické vazby – nukleosid. CH_2OH skupina ribózy reaguje s H_3PO_4 – nukleotid. Spojením většího počtu nukleotidů kyselinou fosforečnou vzniká nukleová kyselina.

1.4. Principy látkové a energetické přeměny u živočichů

Organismy na této planetě lze dle způsobu získávání energie a zdroje uhlíku a donoru elektronů rozdělit na:

1. Fotolithotrofy autotrofní – světlo – CO_2 – anorganické sloučeniny – zelené buňky rostlin na světle, modré řasy, sinice, zelené a purpurové sírné bakterie
2. Fotoorganofy heterotrofní – světlo – organické sloučeniny – anorganické sloučeniny – nesírné purpurové bakterie, některé řasy
3. Chemolithotrofy – oxidace anorganických látek – CO_2 – anorganické sloučeniny – vodíkové, sírné, železité, nitrifikační bakterie
4. Chemoorganotrofy – oxidace organických látek – organické sloučeniny – organické sloučeniny – živočichové, většina mikrobů, nefotosyntetisující rostlinné buňky a fotosyntetisující ve tmě

Podle typu katabolických procesů můžeme chemotrofy rozdělit na (terminální akceptor selektronů – účinnost uvolnění energie – příklady):

1. Aerobní respirace (aerobní dýchání) – O_2 – největší – živočichové, řada mikroorganismů, nefotosynth. Rostlinné buňky a fotosynth. ve tmě.
2. Anaerobní respirace (anaerobní dýchání) – jiné anorganické sloučeniny než O_2 (NO_3^- , SO_4^{2-} , CO_2) – menší – některé mikroorganismy
3. Fermentace (kvašení) – organické meziproducty metabolismu (puruvát, acetyldehyd, butyvat, sukcinát, aj.) – nejmenší – některé mikroorganismy, svalové buňky živočichů při velké námaze
4. Trávení – rozklad potravy pomocí enzymů na 40 základních sloučenin. Ty v tenkém střevě výběrovým způsobem přecházejí do krve (bílkoviny se rozkládají na aminokyseliny, cukry na základní hexosy a pentosy, tuky na glycerol a mastné kyseliny)
5. Další stupeň probíhá v buňkách. Glycerol v cytoplasmě, mastné kyseliny v mitochondrii. Konečným produktem rozkladu sacharidů je pyruvát (aniont kyseliny pyrohroznové), odpadá CO_2 .
6. Ten se transformuje na acetyl-CoA, ten jediný smí vstoupit do matrixu mitochondrie, kde sídlí citrátový cyklus, který produkuje aktiovaný vodík, ATP. V systému zvaném respirační řetězec se produkuje H_2O . Odpadní produkt NH_4^+ se vylučuje ve formě močoviny.

Procesy tvořící ATP (adenosintrifosfát):

- b-oxidace mastných kyselin (probíhá v mitochondriích všech buněk kromě mozku)
- glykolýza glukosa-6-fosfátu (probíhá v cytosolu všech buněk)
- cytrátový cyklus acetyl-CoA (probíhá v mitochondriích všech buněk)
- respirační řetězec (NADH, FADH₂ – probíhá v mitochondriích všech buněk)

Procesy spotřebovávající ATP za vzniku ADP:

- chemická práce (biosynthesy, chem. modifikace)
- osmotická práce (aktivní transport a vylučování odpadů)
- mechanická práce (pohyby, kontrakce svalů)

Biosynthesy a jejich pomocné reakce:

- biosynthesa sacharidů - pyruvát, laktát, oxalacetát, glycerol (probíhá v cytosolu a endoplasmovém retikulu v játrech a ledvinách)
- pentosový cyklus – glukosa-6-fosfát (probíhá v cytosolu jater, tukových tkání aj.)
- biosynthesa mastných kyselin – acetyl-CoA (probíhá v cytosolu zvláště jater a tukových tkání)
- biosynthesa cholesterolu – acetyl-CoA (probíhá v cytosolu a endoplasmovém retikulu jater, střevní mukosy, nadledvin, gonády)
- biosynthesa hemu – sukcinyl-CoA a glycin (probíhá v cytosolu a mitochondriích jater a kostní dřeně)
- močovinový cyklus – NH_3 a CO_2 (probíhá v cytosolu a mitochondriích jater)
- glyoxylátový cyklus – acetyl-CoA (glyoxysomy – neprobíhá)

2. PROKARYOTNÍ A EUKARYOTNÍ BUŇKA, STAVBA A FUNKCE JEDNOTLIVÝCH ORGANEL.

Buňka je základní stavební a funkční jednotkou živých organismů. Rozlišujeme dva základní, různě vnitřně uspořádané a různě fylogeneticky pokročilé typy buněk - prokaryotické a eukaryotické. Zatímco některé organismy jsou pouze jednobuněčné (např. bakterie), jiné organismy tak jako třeba člověk jsou mnohobuněčné a jejich těla se skládají z obrovského počtu velmi specializovaných buněk. Žádná buňka nemůže vzniknout jinak než zase z buňky a mateřská buňka předává dceřině buňce potřebnou děděnou informaci k reprodukci sebe sama i ke své funkci.

Prokaryota, z řeckého pro (před) a karyon (jádro), je označení pro evolučně velmi staré organismy, možná nejstarší buněčné organismy vůbec. Do prokaryot jsou řazeny Bakterie a Archea. Jsou jednobuněčné, ale mohou tvořit kolonie. Prokaryotická buňka je podstatně jednodušší a menší než buňka eukaryot.

- je haploidní, vlákno DNA není membránou odděleno od cytoplazmy
- může obsahovat plazmidy
- s výjimkou jednoduchých váčků nemá vnitřní systém membrán členící buňku
- má prokaryotický typ ribozomů (70S)
- má-li bičík, tak prokaryotického (bakteriálního) typu
- má buněčnou stěnu obsahující peptidoglykan
- nevytváří mnohobuněčné organismy, nanejvýše kolonie

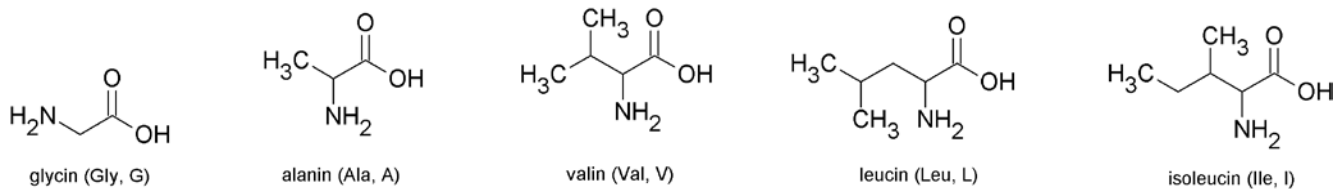
Eukaryotický typ buněk mají veškeré organismy náležející do nadříše Eukaryota, tedy veškeří prvoci, živočichové, rostliny i houby. Nicméně, jejich buňky se mezi sebou navzájem ještě dále liší. Eukaryotické buňky jsou oproti prokaryotickým buňkám evolučně vyspělejší, jejich složitější vnitřní struktura jim umožňuje stavbu a výživu výrazně větších buněk a je také předpokladem pro mezibuněčnou spolupráci potřebnou u mnohobuněčných organismů.

- Jádro (-karyon, dává eukaryotám jejich název) je vždy přítomné. Je ohraničeno dvojitou membránou a uvnitř je uchovávána genetická informace ve formě DNA. Jádro je kryto dvouvrstvou jadernou membránou, s póry tvořenými speciálními bílkoviny. Mají za úkol usnadnit transport makromolekul (zejména RNA). V jádře je uložen chromatin (DNA) - v době dělení buňky se organizuje do formy chromozomů, dále jadérko, ribozomy, karyolymfa. Jeho funkcí je tedy uchování genetické informace a na jejím základě řízení funkcí buňky. Jádro lze najít pouze u Eukaryot. Jadérko je struktura, která se nachází v jádře a jejíž funkcí je tvorba r-RNA (ribosomální RNA) a účast na regulaci buněčného dělení.
- Eukaryotická buňka je obvykle výrazně větší než buňka prokaryotická
- Endoplazmatické retikulum (složitá membránová struktura obvykle v blízkosti jádra. Můžeme rozlišit dva typy - hladké endoplazmatické retikulum bez přisedlých ribozomů, jehož funkcí je syntéza tuků a glykogenu a hrubé endoplazmatické retikulum s přisedlými ribozomy, jehož funkcí je syntéza bílkovin), golgiho komplex (je složitá membránová struktura, její funkcí je shromažďovat a dále zpracovávat produkty endoplazmatického retikula, se kterým sousedí a probíhá mezi nimi váčkový - vezikulární transport), vakuoly a ostatní endozomální struktury, vytváří vnitřní systém membrán, kterým je buňka dále členěna a umožňuje jí lepší organizaci složitějších životních pochodů.
- Semiautonomní organely jsou organely, které zřejmě vznikly symbiotickou fúzí s původní buňkou, proto jsou odděleny od okolní cytoplazmy dvěma membránami. Udílí jí nové schopnosti, které jsou pak nezbytné pro život vícebuněčných organismů. Mitochondrie jsou přítomny ve všech živých buňkách a dávají eukaryotám schopnost získávat energii dýcháním. Mitochondrie je vlastně taková „elektrárna“ eukaryotické buňky. Je tvořena dvojitou membránou, jejíž vnitřní část je všelijak zprohýbaná v krysty a tvoří tak oddělené prostory (kompartmenty) pro různé chemické reakce a zároveň zvětšuje možnou reakční plochu. Vnitřní prostor se nazývá matrix. V mitochondriích probíhá oxidativní fosforylace – velmi efektivní způsob získávání energie štěpením cukrů až na CO₂ a H₂O., plastidy se vyskytují jen u některých eukaryot (zvláště u rostlin, pro něž jsou zásadní) a některé jejich typy (jmenovitě chloroplasty umožňují rostlinám fotosyntézu). Lysosomy jsou typické pro živočišné buňky, obsahují proteolytické a hydrolytické enzymy, slouží k degradaci látek buňkou fagocytovaných nebo do buňky proniklých pinocytózou. K nalezení v živočišných buňkách.
- Cytoskelet tvořený aktinovými mikrofilamenty (mikrovlákný) a mikrotubuly udržuje její tvar a tvoří „kolejnice“ pro cílený pohyb čehokoliv uvnitř buněk.
- Má-li bičíky nebo brvy, jsou eukaryotického typu
- Má eukaryotický typ ribozomů (80S)

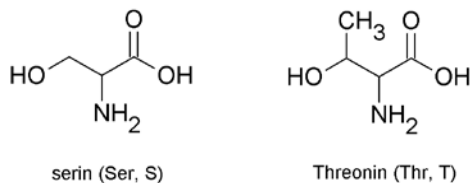
3. KÓDOVANÉ AMONIKYSELINY A JEJICH BIOLOGICKÝ VÝZNAM. PEPTIDOVÁ VAZBA.

Aminokyseliny, které se při translaci zabudovávají do polypeptidových řetězců bílkovin, proto též aminokyseliny proteinogenní nebo bílkovintvorné. Patří sem běžných 20 α -aminokyselin. Zabudování aminokyselin do peptidového řetězce při proteosynthese je řízeno genetickým kódem (proto kódované). Kromě glycinu, který není chirální, mají všechny kódované aminokyseliny konfiguraci L na uhlíku C α . Kódované a minokyseliny jsou hlavními dusíkatými látkami organismu. Metabolicky jsou spřízněny s 2-oxokyselinami, na něž mohou přecházet transaminací nebo oxidační deaminací.

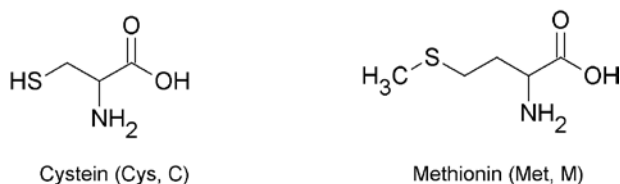
Dělí se do 8 základních skupin:



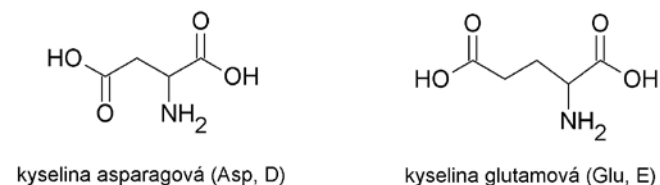
- jednoduché (Gly, Ala, Val, Leu, Ile)



- s hydroxyem v postranním řetězci (Ser, Thr)



- se sirnou skupinou v postranním řetězci (Cys, Met)



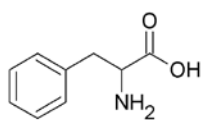
- se dvěma karboxyskupinami (Asp, Glu)



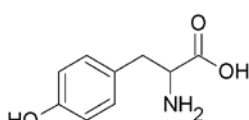
- s karboxamidovou skupinou v postranním řetězci (Asn, Gln)



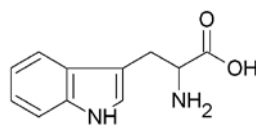
- zásadité aminokyseliny (Lys, Arg)



Fenylalanin (Phe, F)

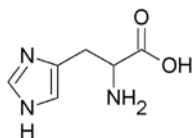


Tyrosin (Tyr, Y)

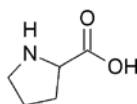


Tryptofan (Trp, W)

- aminokyseliny s aromatickým jádrem (Phe, Tyr, Trp)



Histidin (His, H)



Prolin (Pro, P)

- další (His, Pro)

3.1. Peptidy – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce.

Peptidy jsou řetězce aminokyselin. Vzájemnou reakcí $-\text{COOH}$ a $-\text{NH}_2$ ze dvou různých L-aminokyselin vzniká peptidická vazba $-\text{CONH}-$, odpadá při tom voda. Dle počtu výchozích aminokyselin hovoříme o oligopeptidech (2-10), polypeptidech (11-100) a bílkovinách (101 a více).

Peptidy plní v organismech mnoho různých funkcí: působí jako hormony (od tripeptidů až po vysokomolekulární proteohormony), antibiotika, rostlinné jedy (např. z muchomůrek), kofaktory enzymů (viz glutathion) atd.

Rozdělení peptidů:

- Glutathion (GSH) – oxidoredukční pufr, umožňuje život v oxidačním prostředí. Jedná se o tripeptid složený z aminokyselin glutaminu, cysteinu a glycinu nacházející se v buňkách živočichů, rostlin i bakterií. Je přítomen v mase, zelenině i ovoci a chrání organismus před oxidačním stresem. Kyslík likviduje bílkoviny. V každé bílkovině je cystein s SH skupinou, kyslík je transformován $\text{R-SH} + \text{HS-R} + \text{O}_2 \rightarrow \text{R-S-S-R} + \text{H}_2\text{O}_2$ (glutathion se podílí právě na odstraňování peroxidu vodíku). Je obnovován reakcí katalyzovanou enzymem glutathionreduktasou.
- Peptidy s hormonálním účinkem (např. insulin, glukagon – ovládají hladinu cukru, oxytocin – ovládá stahy hladkého svalstva, vasopresin – ovládá krevní tlak, hormony adenohypofýsy)
- Neuromodulátory (enkefalin, endorfin)
- Antibiotika (penicilin, cystein a D-valin) – mají v řetězci aminokyseliny, které ničí nepřátelské bakterie
- Peptidové toxiny (velmi mnoho sirných aminokyselin – rozkládají buněčnou strukturu jater) – botulotoxin, jedy muchomůrek, včel, plazů
- Peptidové alkaloidy

3.2. Bílkoviny – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce.

Bílkoviny jsou biopolymery, jejichž kostru tvoří polypeptidový řetězec, obsahující obvykle 100 – 2000 aminokyselinových zbytků. Představují základní stavební materiál buňky jakožto základní jednotky živých organismů. Minimální molární hmotnost bílkovin je 10 000 g/mol; menší konjugáty aminokyselin řadíme mezi peptidy. Peptidové řetězce bílkovin jsou syntetisovány na ribosomech procesem zvaným translace; většina z nich podléhá kotranslačním a posttranslačním modifikacím. Pořadí aminokyselin v polypeptidovém řetězci je pro každou bílkovinu jedinečné a geneticky dané. Drobné změny primární struktury (vyvolané mutacemi genu) mohou vést k podstatné změně vlastností dané bílkoviny. Za účasti hydrolytických enzymů se rozkládají na výchozí aminokyseliny. Ty organismus použije k nové syntéze bílkovin nebo disimilují až na anorganické složky (CO_2 , H_2O , NH_3) → procesy dekarboxylace a deaminace.

Rozdělení bílkovin podle tvaru:

- Fibrilární (vláknité) – keratiny (vlasy, nehty), elastiny (tepny, cévy), kolageny (kůže aj.)
- Globulární (kulovité) – eustony (buněčné jádro), albuminy (krevní sérum), globuliny (krevní sérum)

Struktura bílkovin:

- Primární – přísně specifická sekvence výchozích aminokyselin
- Sekundární – prostorové uspořádání řetězce (α -šroubovice – α -helix, skládaný list)

- Terciální – vzájemné prostorové uspořádání řetězců pomocí vodíkových můstků popř. disulfidových vazeb
- Kvarterní – vyšší celky, které vznikají asociací jednotlivých řetězců do komplexu stabilizovaného hlavně nekovalentními vazbami

Rozdělení podle biologické aktivity:

- Nativní – biologicky aktivní
- Denaturované – biologicky neaktivní (např. porušení terciální struktury vlivem teploty)

Rozdělení bílkovin podle složení:

- Jednoduché – složené pouze z bílkovinných aminokyselin – proteiny, např. ribonukleáza (štěpí RNA)
- Složené – obsahují i další prostetickou skupinu (cukry, tuky, fosfolipidy aj.) – proteidy, např. hemoglobin

Přehled nejběžnějších tříd složených bílkovin (prostetická skupina):

- Fosfoproteiny – (fosforylová $-\text{PO}_3^{2-}$) kasein (mléko), vitein (žloutek)
- Nukleoproteiny – (nukleové kyseliny, nukleotidy) ribosomy, chromatin (chromosomy)
- Lipoproteiny – (lipidy – triacylglyceroly, fosfolipidy, cholesterol) – nekovalentní spojení „rozkok“, lipoproteiny sérové, membránové a nervové tkáně
- Glykoproteiny – (sacharidy, 1 nebo více různě dlouhých řetězců z různých monosacharidů a jejich derivátů) imunoglobiny, substance krevních skupin, součásti chrupavek
- Chromoproteiny – (barevné, hem, deriváty riboflavinu, modifikované polymery Tyr a derivátů) hemoglobin, cytochromy a katalasa (enzymy), pigmenty kůže a vlasů
- Metaloproteiny – (součástí funkční molekuly jsou ionty kovů) hemoglobin, transferrin, ferritin, alkoholdehydrogenasa, cytochromoxidas, xantinoxidas

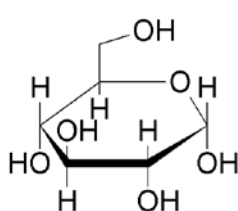
4. CUKRY, STRUKTURA, CHIRALITA A BIOLOGICKÝ VÝZNAM

Společný název pro monosacharidy a oligosacharidy (nikoli pro polysacharidy). Jsou to bílé, krystalické, ve vodě rozpustné látky vesměs sladké chuti. jednoduché cukry jsou polyalkoholy s oxo skupinou $-\text{CH}=\text{O}$ (aldózy, jsou redukující) nebo keto skupinou $-\text{C}=\text{O}$ (ketózy, neredukující). Vznikají dehydrogenací OH skupiny polyalkoholů. Stabilizací OH skupiny a aldehydicke skupiny vznikají poloacetalové formy, 5-členné cykly furanózy nebo 6 členné cykly (pyranózy). β -D-ribóza, resp. 2-deoxy- β -D-ribóza je součástí nukleových kyselin. Sacharidy jsou převažujícími organickými stavebními jednotkami rostlinných i živočišných těl (např. celulózy) a složkami jejich energetických zdrojů (např. škrobu nebo glykogenu). Zásadní úlohu při vzniku sacharidů má fotosyntéza zelených rostlin, která poskytuje glukosu. Glukosa se svými deriváty se potom uplatňuje ve vzájemné přeměně sacharidů a v řadě katabolických pochodů (glykolýza, kvašení, atd.). Podle počtu základních jednotek dělíme na mono- (1), oligo- (2–10) a polysacharidy (>11).

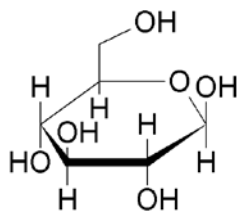
4.1. Monosacharidy

Podle uspořádání substituentů na asymetrickém uhlíku s nejvyšším pořadovým číslem se při Fischerově způsobu psaní vzorců rozeznávají dvě konfigurace sacharidů. U „D“ řady se hydroxylová skupina na tomto asymetrickém uhlíku píše vpravo, u „L“ řady se píše vlevo.

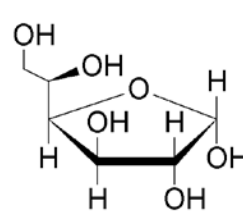
Cyklizací vzniká asymetrický C^* - dvě různé anomerní formy α a β



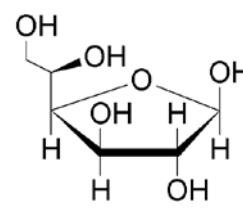
α - D - glukopyranosa



β - D - glukopyranosa



α - D - glukofuranosa



β - D - glukofuranosa

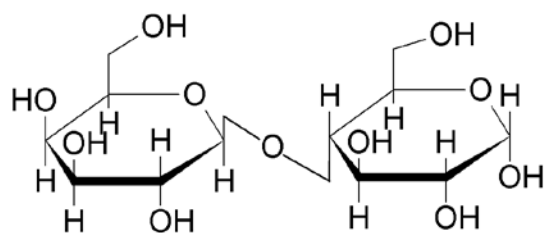
Hemiacetalová hydroxylová skupina na anomerním uhlíku snadno reaguje s hydroxylovou skupinou dalšího sacharidu nebo jiné sloučeniny za vzniku glykosidu.

Nejdůležitější hexózou je glukóza (hroznový cukr), je základní složkou lidské krve, likvoru a dalších extracelulárních tekutin. Rostliny si ji vyrábí fotosyntézou z H_2O a CO_2 , živočichové ji přijímají potravou. Fruktóza je přítomna v ovoci, galaktóza v mléce a sorboza v jeřabinách.

4.2. Disacharidy

Vznikají spojením dvou stejných nebo různých monosacharidových jednotek glykosidickou vazbou mezi α - nebo β - anomerní hydroxylovou skupinou monosacharidu a libovolnou hydroxylovou skupinou jiného monosacharidu. Pokud zůstává ve vzniklé molekule disacharidu (oligosacharidu) minimálně jeden poloacetalový hydroxyl volný, označujeme daný sacharid jako redukující (redukuje Fehlingův roztok). Mezi redukující disacharidy patří např. maltosa, isomaltosa, cellobiosa a laktosa. Pokud jsou všechny poloacetalové hydroxylы blokovány vazbou, označujeme daný sacharid jako neredukující. Do této skupiny řadíme sacharosu a trehalosu.

Redukující disacharid:

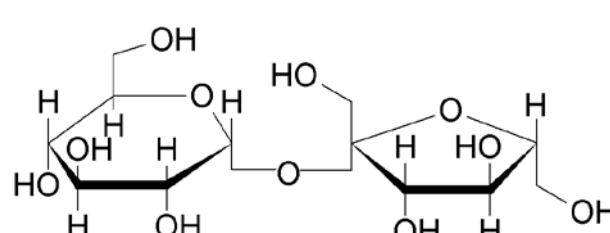


β - D - galaktopyranosa

α - D - glukopyranosa

Laktosa (mléčný cukr)

Neredukující disacharid:



α - D - glukopyranosa

β - D - fruktofuranosa

Sacharosa

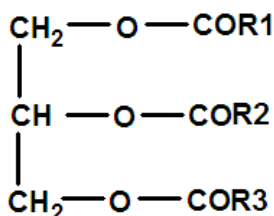
4.3. Polysacharidy

Jejich biologický význam je zejména zásobní a stavební. Celulóza – podpůrná substance rostlin, škrob v rostlinách (zásobní funkce v semenech a hlízách) – polysacharid složený ze dvou polysacharidů (lineární amylozy 1->4 a větveného amylopektinu 1->6). Glykogen (živočišný škrob) – 12 glukózových jednotek, štěpí se fosforolýzou.

5. LIPIDY

5.1. Acylglyceroly a fosfoacylglyceroly, struktura, výskyt a biologický význam.

Základem je glycerol, který spolu s 3 molekulami mastných kyselin poskytuje triacylglycerol. Jedna molekula mastné kyseliny může být nahrazena molekulou jinou spojením přes zbytek kyseliny fosforečné – dostáváme tak fosfolipid.



triacylglycerol

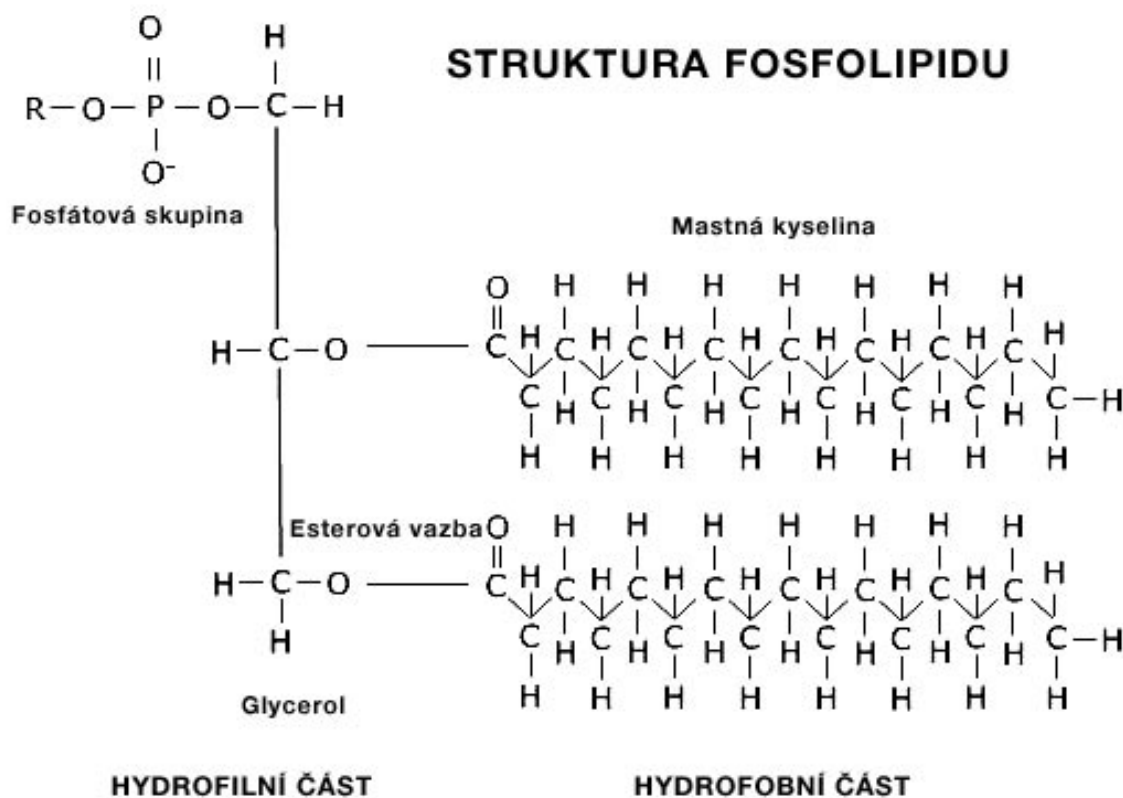
Acylglyceroly jsou živiny, z fosfoacylglycerolů je tvořena lipidová dvojvrstva, kterou je oddělena buňka.

Adipocity jsou tukové buňky specializované na ukládání triacylglycerolu. Tuková tkáň umožňuje přežít hladovění i v řádu měsíců (glykogen pouze v řádu dnů) a pro některé živočichy je důležitou tepelnou izolací.

Lipidové částice jsou emulgovány žlučovými kyselinami do chylomikronů – vznikají pseudorozpustné látky (koloidy).

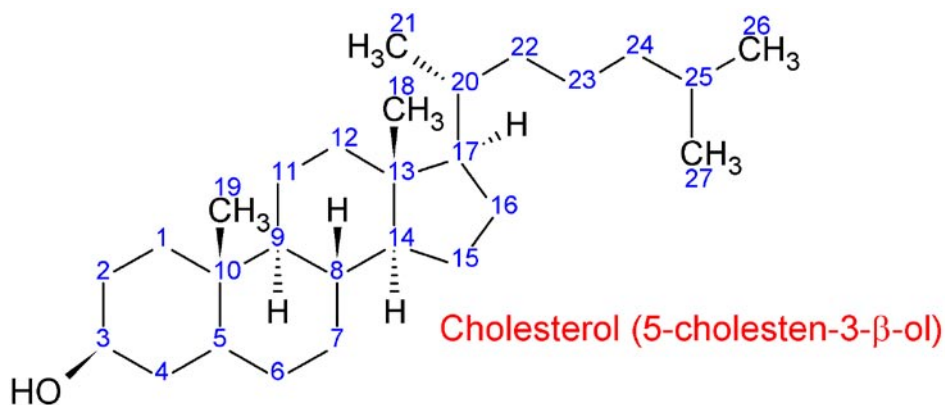
Lipidy jsou v cytoplasmě štěpeny na glycerol a mastné kyseliny, glycerol se zapojuje do metabolismu cukrů, mastné kyseliny jsou v cytoplasmě aktivovány na acyl-S-coenzymy A a transportovány do matrixu mitochondrií a zpracovávány β -oxidací.

Fosfoacylglyceroly – vedlejší živiny, hlavním významem je strukturní složka membrán. Fosfolipidy vytvářejí nepropustnou konzistentní přepážku na molekulární úrovni, tzv. lipidová dvojvrstva. Ve vodném prostředí spontánně tvoří tzv. micely, kulovité útvary, v nichž hydrofóbní konce mastných kyselin směřují dovnitř.



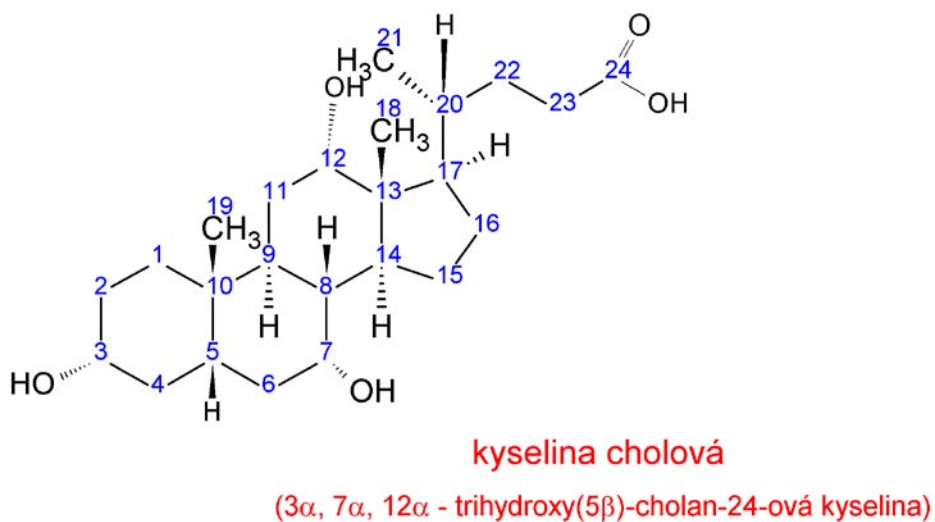
5.2. Steroidní lipidy a jejich deriváty, struktura, výskyt a biologický význam.

Vznikají v živých organismech ze steroidního prekurzoru, kterým je cholesterol (hydrofóbní uhlovodíkový řetězec, hydrofilní hydroxylová skupina). Cholesterol se tvoří z acetyl-CoA přes mevalonát, ten je následně fosforylován a dekarboxylován, isopentenylidifosfát a skvalen (30 uhlíků – po uvolnění 3C vzniká cholesterol). V četných žlázách, též v kůře nadledvin, se cholesterol ukládá ve formě esterů a v případě potřeby se z nich může uvolnit pro zvýšenou syntézu hormonů.



- Je to emulgátor membrán, zajišťuje jejich plasticitu, zvyšuje jejich pevnost.
- Zastoupen v lipoproteinech krevní plazmy (ze 70 % esterifikován mastnými kyselinami)
- je to prekurzor steroidních hormonů, žlučových kyselin a vitamínu D.

Lidský organismus obsahuje asi 100 g cholesterolu, přičemž si organismus sám denně vyrábí asi 1 g, z toho se denně asi 300 mg vylučuje kůží. Žlučové kyseliny vznikají odbouráváním cholesterolu v játrech, jsou uvolňovány žlučí do tenkého střeva. Chytají vodíkovými vazbami acetylcholin.



Z cholesterolu jsou syntetizovány hormony:

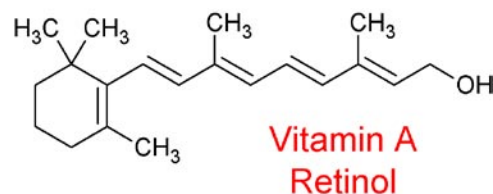
pohlavní samčí (testosteron), pohlavní samičí (estradiol a progesteron), aldosteron (horní kůra nadledvinek, rovnováha Na⁺ a K⁺), kortisol (horní kůra nadledvinek – regulace metabolismu)

6. VITAMINY, STRUKTURA, FUNKCE, VÝSKYT A VÝZNAM PRO LIDSKÝ ORGANISMUS.

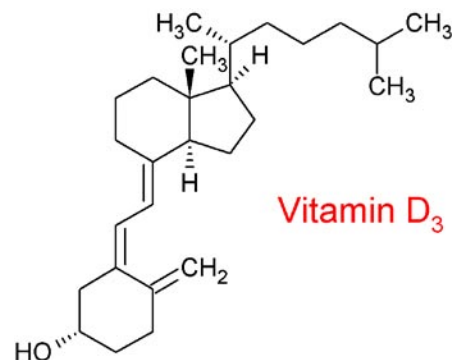
Vitaminy jsou široká skupina chemicky různorodých látek s nízkou molekulovou hmotností, které lidský organismus nezbytně potřebuje, i když jen ve velmi malých množstvích. Tato většinou miligramová množství postačí pro zdravý život. Lidský organismus si je nedovede sám vytvořit, musí je přijímat potravou, některé ve formě provitaminů. Nejčastěji působí vitaminy jako kofaktory enzymatických reakcí nebo regulátory životních pochodů, to jsou hlavně vitaminy ze skupiny vitaminů B. Jiné vitaminy se uplatňují jako antioxidanty, podílejí se na likvidaci peroxidových radikálů, především kyslíku. Tím se vyznačuje především vitamin C, dále A a E.

Vitaminy rozpustné v tucích jsou vitaminy A, D, E a K.

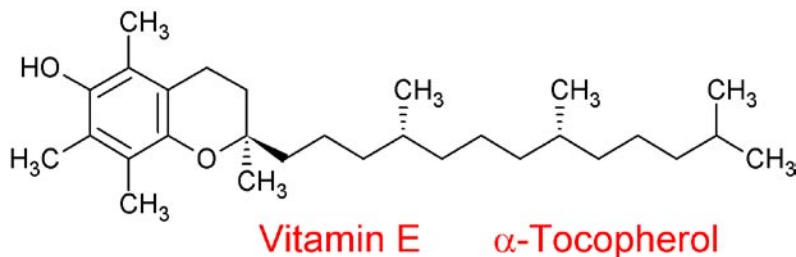
- vitamin A - (retinol) je skupina látek živočišného původu s podobnou strukturou, které mají stejnou biologickou aktivitu. Nejčastěji je přijímán jako provitamin A - β -karoten. Je nezbytný pro vidění (šeroslepost až oslepnutí), správnou funkci kůže a epiteliálních tkání. Dlouhotrvající nadbytek retinolu poškozuje jaterní tkáň, mohou vypadávat vlasy, objevuje se krvácení z nosu. Hlavním zdrojem je barevná zelenina (mrkev, rajská jablčka, špenát), vaječný žloutek, játra a rybí tuk. β -karotenu je připisován i ochranný účinek před vznikem rakoviny.



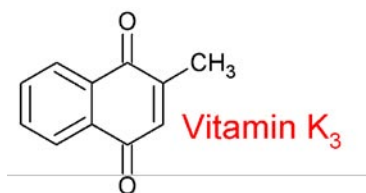
- vitamin D - (kalciferol, cholekalciferol) má steroidní strukturu a lidský organismus si dokáže z rostlinných i živočišných prekursorů (i cholesterolu) syntetizovat formu D₃ - kalcitriol, hormon, který ovlivňuje metabolismus vápníku a fosforu v kostech. Vitamin D vzniká i v pokožce při slunění. Nedostatek způsobuje křivici (u dětí) a osteomalacii (u dospělých), hypervitaminosa se projeví zvracením, hubnutím a přesunem vápníku do jiných orgánů (ledviny, plíce). Nejsnáze je přijímán z mléka a másla, také z jater, žloutku a rybiho tuku.



- vitamin E - (tokoferol) má také několik isomerů, nejrozšířenější je α -tokoferol. Je nejdůležitějším antioxidantem, chránícím před peroxidací hlavně vyšší mastné kyseliny s dvojnými vazbami, čímž je v podstatě jedním z faktorů předcházejících rozvoji aterosklerosy. Hromadí se v membránách buněk i buněčných organel, zvláště erytrocytů a dýchacího ústrojí, protože je aktivní za vyššího parciálního tlaku kyslíku. Doplňujícím prvkem pomáhajícím správné funkci vitaminu E je selen, jako součást enzymu glutathionperoxidasy. Další sloučeniny napomáhají regeneraci vitaminu E z radikálu, kterým se stal po likvidaci volných radikálů, a tudíž možnosti opakovaného využití v buňce. Nedostatek se může projevit jako onemocnění nervové či svalové soustavy, jater, dokonce jako hemolytická anemie; ohroženy jsou děti žen, které trpěly jeho nedostatkem v těhotenství. Nejbohatším zdrojem jsou obilné klíčky, slunečnicový a sojový olej, listový salát.

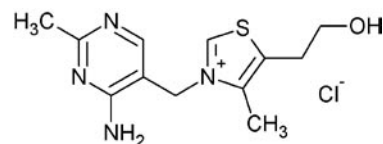


- vitamin K - (menachinony) jsou opět skupinou látek se stejným biologickým účinkem. I tento vitamin potřebuje správné vstřebávání tuků a přítomnost žlučových kyselin. Vitaminy K umožňují přeměnu glutamátu a jeho prostřednictvím se váže kation vápníku. Tato sloučenina je zabudována v molekule kofaktorů srážení krve a osteokalcinu v kostní tkáni. Vazbou Ca²⁺ dojde k aktivaci kofaktorů, případně mineralizaci kostí. Zdrojem je listová zelenina, také květák a rostlinné oleje, některé typy jsou syntetizovány bakteriemi v tlustém střevě. Proto celkem zřídka dochází k projevům nedostatku (při poruchách vstřebávání tuků); pozor je nutné dát při užívání protisrážlivých léků a u novorozenců.



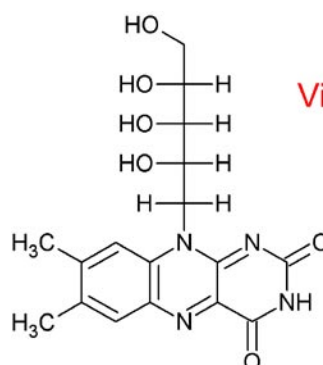
Skupina vitaminů rozpustných ve vodě je chemicky rozmanitá, zahrnuje skupinu vitaminů B a vitamin C. Kromě vitaminu C a kyseliny listové musí být ostatní převedeny do aktivní formy; všechny jsou vstřebávány bez účasti tuků a nadbytečné množství je téměř okamžitě vylučováno močí. Zásoby těchto vitaminů v organismu jsou nízké, takže k projevům jejich nedostatku dochází dosti rychle (u B₁ za několik týdnů, u ostatních vitaminů B a C za méně než 2 měsíce). Vitaminy skupiny B se uplatňují jako kofaktory enzymů, tedy nepřímo jako katalyzátory.

- vitamin B₁ – (thiamin) je ve své aktivní formě thiaminpyrofosfátu kofaktorem oxidačních dekarboxylas a transketolas, enzymů katalyzujících přeměnu aminokyselin (také dekarboxylaci pyruvátu při odbourávání sacharidů). Zpočátku se jeho nedostatek projevuje depresí, závažně jako beri-beri, onemocnění nervové soustavy. B₁ je široce přítomný v potravě, zejména v různých zelenině, celozrnných potravinách, kvasnicích, játrech a žloutku, ale v nízkém množství. Oloupané zrní je vitaminu téměř zbaveno.



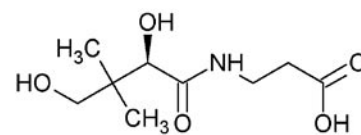
Vitamin B₁
Thiamine chloride

- vitamin B₂ – (riboflavin) je součástí široce rozšířených enzymů známých jako flavoproteiny (oxidoreduktasy), přítomné např. v citrátovém cyklu nebo v dýchacím řetězci. Jeho nedostatek nepůsobí závažné onemocnění, spíše se projeví jako zánět ústních koutků, nervovými poruchami nebo kožními změnami. Vyskytuje se v kvasnicích, žloutku, játrech a mléce. Je fotocitlivý, v mléce na světle jeho koncentrace klesne za hodinu asi o polovinu.



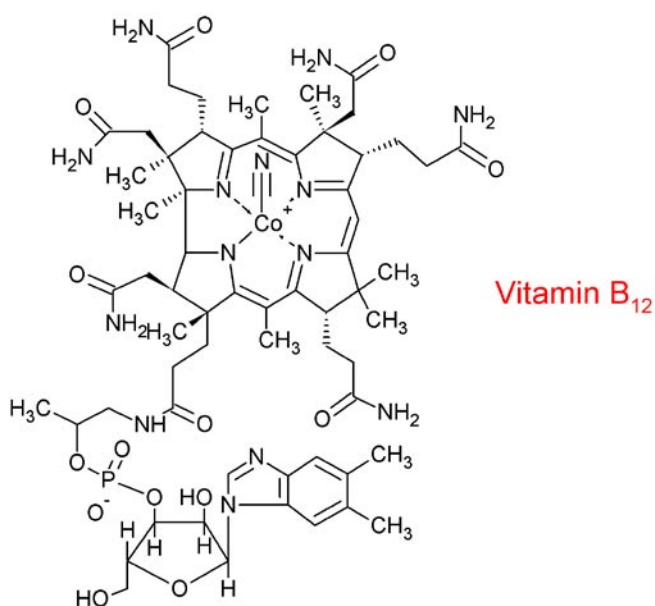
Vitamin B₂
Riboflavin

- vitamin B₅ – (kyselina pantothenová) – jeho aktivní forma koenzym A (CoA-SH) je součástí citrátového cyklu, účastní se i jiných reakcí (tvorba cholesterolu, acetylační reakce). Je také široce rozšířen v mase, játrech, kvasnicích, luštěninách a celozrnném pečivu; nedostatek byl pozorován u válečných zajatců jako apatie, deprese a svalová slabost.

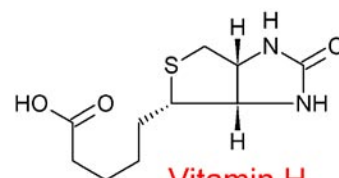


Vitamin B₅
Pantothenic acid

- vitamin B₆ – (pyridoxiny) představují 3 chemicky podobné sloučeniny, které mají stejný účinek. Jeho aktivní forma pyridoxalfosfát je součástí transaminas (ALT, AST) a dekarboxylas. Nejčastěji ho přijímáme v kvasnicích, mase, drůbeži, rybách, vejcích a banánech. Nedostatek se projevuje spíše jako nedostatek celé skupiny B: svalovou slabostí, nervovými, kožními a krevními chorobami. Jsou známy vrozené poruchy části molekuly enzymů, které se vážou s pyridoxalfosfátem, způsobí nefunkčnost enzymu a u dětí vedou k závažným poruchám vývoje. Vysoké dávky jsou nebezpečné pro nervovou soustavu, v těhotenství mohou být teratogenní.
- vitamin B₁₂ – (cyanokobalamin) má v molekule zabudovaný ion kobaltu. Je syntetizován mikroorganismy, ke vstřebávání ve střevě potřebuje faktor uvolňovaný ze žaludeční sliznice; Vitamin B₁₂ se hromadí v játrech, vázaný na plasmatickou bílkovinu. B₁₂ se spolu s folátem podílí na tvorbě purinů a pyrimidinů pro syntézu DNA při buněčném dělení. Nedostatek se projeví jako zhoubná (megaloblastická) anémie, ohroženi jsou i přísní vegetariáni.



Vitamin B₁₂



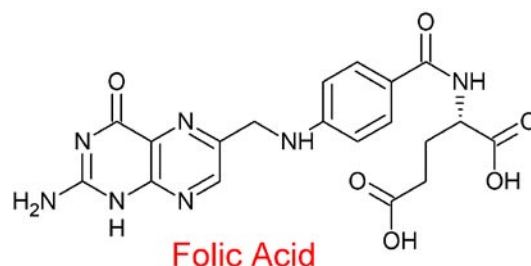
Vitamin H
Biotin

- vitamin H – (biotin) působí jako kofaktor karboxylas, zabudovává do molekul aktivovaný CO₂ (karboxyl). Biotin se velmi pevně váže s avidinem, bílkovinou z vaječného bílku, toho se využívá v imunochemii pro vazbu protilátek. Nedostatek biotinu se projevuje vzácně: u novorozenců a pacientů s dlouhodobou parenterální výživou, nebo s dietou jako kožní projevy, únava a deprese. V dostatečném množství ho tvoří střevní bakterie, dalším zdrojem jsou játra a žloutek.

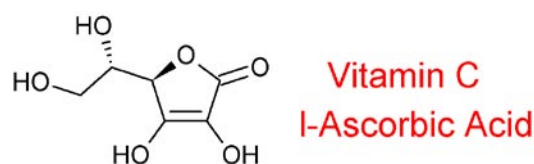
- vitamin PP – (niacin, kyselina nikotinová) je součástí kofaktoru NAD^+ příp. NADP^+ dehydrogenas (např. v citrátovém cyklu). Vyskytuje se v mnoha potravinách. V organismu může vznikat i přeměnou tryptofanu. Nedostatek nastává při převážném příjmu kukuřičných výrobků, projevuje se jako pelagra (kožní onemocnění), průjem a nervové poruchy.



- kyselina listová – (folacin) je opět skupinou příbuzných látek se stejným účinkem, působí jako kofaktory enzymů přenášejících aktivovaný jednouhlíkový zbytek, např. při tvorbě nukleotidů pro DNA. Spolupůsobí s vitaminem B_{12} a jeho nedostatek se také projevuje jako megaloblastická anémie. Vyskytuje se v listové zelenině, v kvasnicích a játrech.



- vitamin C – (kyselina askorbová) patří chemicky mezi cukry. Je to silné redukční činidlo, které má v organismu mnoho významných úkolů: udržuje ionty kovů v redukovaném stavu, účastní se syntézy kolagenu, adrenalinu a žlučových kyselin, při odbourávání tyrosinu, podporuje vstřebávání železa. Především je ale účinný antioxidant, chrání před účinky radikálů, při trávení zabraňuje vzniku toxických nitrosaminů. Nejasné je působení při imunitních reakcích. Vyskytuje se v různých koncentracích v čerstvé zelenině (paprika) a ovoci, značnou měrou ho získáváme z brambor, kde je nízká koncentrace, ale jíme je pravidelně ve větším množství. Dlouhodobý nedostatek projevující se jako kurděže je vzácný, k dalším projevům patří svalová slabost, křehké dásně a podkožní hemorhagie (krvácení).



6.1. Hormony, struktura, funkce a význam pro lidský organismus.

Endokrinní systém, společně s nervovým systémem zprostředkovává komunikaci mezi jednotlivými buňkami a orgány, a reguluje metabolickou, morfologickou a funkční homeostázu. Hormony jsou sloučeniny s biologickou aktivitou vznikající ve tkáni nebo žláze a jejich účinek je v jiných tkáních, žlázách nebo orgánech (endokrinní), v blízkých tkáních nebo buňkách (parakrinní) nebo přímo v buňkách, které je produkují (autokrinní). Mají cílený účinek, nepůsobí na jiné i velmi podobné struktury a účinkují ve velmi malé koncentraci (až $10^{-12} \text{ mol.l}^{-1}$). Mechanismus účinku je charakterizován působením na:

- proteosyntézu, transkripci strukturálního genu do m-RNA, replikaci DNA
- aktivaci enzymů, regulaci membránových nošičů atd.

Transportní mechanismus závisí na jejich chemické povaze – hydrofilní nevyžadují žádný transmitter, hydrofobní jsou přenášeny pomocí proteinů. Do krve se dostane hydrofobní hormon přenášený vazebnou bílkovinou a ten se dostane do cílové buňky (ta má cytosolový receptor) a přejde do cytoplasmy, je přenesen do jádra (pomocí jaderného receptoru), kde působí jako derepresor, přichytí se na represor, otevře se DNA a přepisuje se do m-RNA -> začne se syntetisovat určitá bílkovina. Hydrofilní hormony neprocházejí přes membránu, ale přichytí se na povrchu. Pro jejich účinek je proto vyžadován další „messenger“, který zachytí jejich signál po přichycení.

Obecné mechanismy působení hormonů se dělí na:

- a) krátká negativní zpětná vazba (typická pro rychlou hormonální regulaci 5min – 1 hod)
- b) dlouhá zpětná vazba

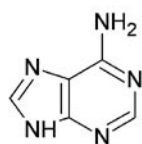
ad a) – endokrinní žláza (např. slinivka břišní) vylučuje hormon vyvolávající nějaký účinek. Tento účinek je endokrinní žláza schopna změřit (např. ve slinivce buňky α -glukagonu působí proti β -inzulinu. Buňky β pracují neustále naponu, takže nemohou ovlivnit situaci, ale buňky α snižují produkci (proto negativní zpětná vazba).

ad b) – působí tam, kde to nemusí být tak rychlé a organismus není shopen měřit účinek. Řídící jednotkou hypothalamus (podvěsek mozkový). Nebere zřetel na účinky, měří koncentraci hormonu periferní žlázy (je-li hormon defektní, vznikají poruchy). Případně se může vyskytnout i genetická chyba přímo v hypothalamu. Hypothalamus reguluje hypofýzu vypouštěním liberinu+ a statinu-.

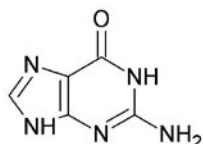
Mezi hydrofilní patří hormony odvozené od aminokyselin tyrosinu a tryptofanu a dále potom proteinové hormony. Hydrofobní hormony jsou všechny steroidní hormony (syntetisovány z cholesterolu), dále potom thyroïdní hormony (iodací zbytek po tyrosinu).

7. NUKLEOSIDY A NUKLEOTIDY, CHEMICKÁ STRUKTURA, FUNKCE A VÝSKYT. ATP.

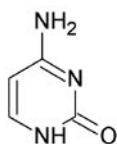
Nukleosidy vznikají navázáním substituentů na cukr ribózu (popř. deoxyribózu). Heterocyklická báze (deriváty purinu Adenin a Guanin, a pyrimidinu Cytosin, Thymin / Uracil) reaguje svou NH skupinou s poloacetalovou hydroxylovou skupinou ribózy za vzniku N-glykosidické vazby – nukleosid.



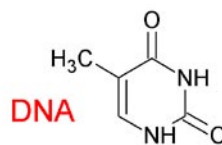
Adenine



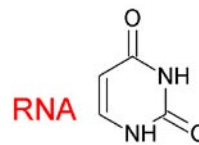
Guanine



Cytosine



Thymine

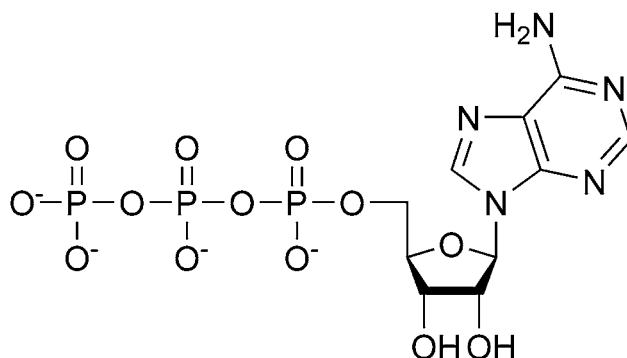


Uracil

Nukleosidy se nemají přes co spojovat, až připojením kyseliny trihydrogenfosforečné fosfodiesterovou vazbou, kdy CH_2OH skupina ribózy reaguje s H_3PO_4 , vzniká nukleotid. Spojením většího počtu nukleotidů kyselinou fosforečnou vzniká nukleová kyselina.

Nukleotidy jsou sloučeniny, jejichž působení je hlavně při přenosu genetické informace, dále energetické molekuly využívané při přenosu energie (ATP), dále strukturní části enzymových kofaktorů, popř. enzymů (NAD^+ , FAD).

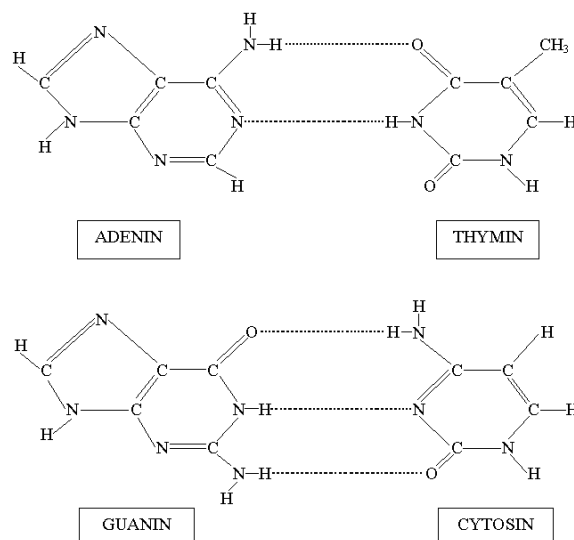
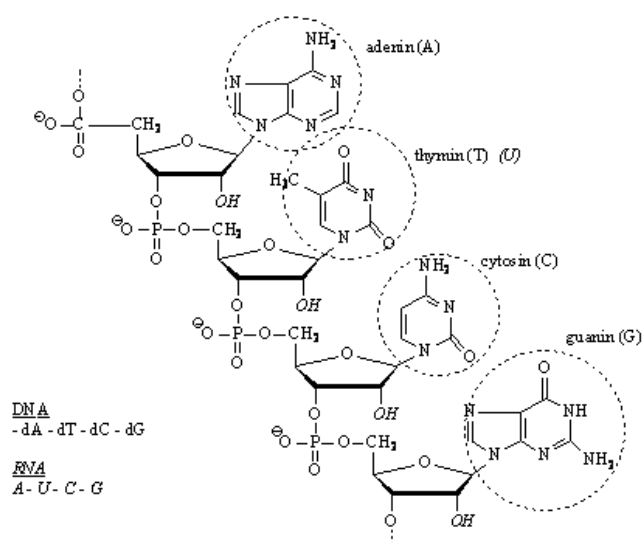
ATP = adenosintrifosfát, energetický přenašeč. Přidáním molekuly H_2O se odštěpí H_3PO_4 , $\Delta G^\circ = 33 \text{ kJ/mol}$, vzniká ADP.



7.1. Nukleové kyseliny, struktura a výskyt. Přenos genetické informace, komplementarita.

Nukleové kyseliny – vysokomolekulární sloučeniny cukru ribózy (podle druhu DNA nebo RNA), heterocyklické dusíkaté báze (deriváty purinu a pyrimidinu) a kyseliny trihydrogenfosforečné. Heterocyklická báze reaguje s poloacetalovou hydroxylovou skupinou ribózy za vzniku N-glykosidické vazby – nukleosid. CH_2OH skupina ribózy reaguje s H_3PO_4 – nukleotid. Spojením většího počtu nukleotidů kyselinou fosforečnou vzniká nukleová kyselina.

Úsek hypotetického řetězce DNA / RNA a spojení AT a GC:



7.2. Přenos genetické informace, komplementarita.

DNA je primárním genetickým materiálem, v němž je zapsána genetická informace buňky = uspořádání (pořadí) dusíkatých bází v molekule nukleové kyseliny, které určuje její vlastnosti a následně i vlastnosti syntetizované bílkoviny. Nese kompletní genetickou informaci pro vznik, růst, funkci i zánik živého organismu. U eukaryotů je většinou jednotná, s dvoušroubovicovou strukturou a je umístěna v buněčném jádře. Jedno vlákno je kodogenní (pozitiv) – nesoucí genetický kód, druhé vlákno je inverzní (negativ). Dvoušroubovice jsou spojeny tak, že jejich vzdálenost zleva doprava a ze shora dolů je přísně dána.

RNA narozdíl od DNA obsahuje místo Thyminu Uracil. RNA je několik druhů:

- m-RNA (messenger RNA) – zajišťuje přepis strukturního genu, obsahuje kodon (tripletový jazyk) návod pro výrobu 1 bílkoviny, řídí syntézu bílkovin, spojuje ribozomy
- t-RNA (transférová RNA) – zajišťuje transport aktivovaných aminokyselin z cytoplasmy na ribozom, specifický sled nukleosidů na t-RNA = antikodon. Jednotlivá t-RNA je specifická pro každou aminokyselinu.
- r-RNA (ribosomální RNA) – součást ribozomů, na nichž probíhá proteosyntéza bílkovin, odděluje a váže v ribozomech jednotlivé části přiváděné do ribozomu t-RNA
- mitochondriální RNA (dědí se po matce)

Princip komplementarity spočívá ve vodíkových vazbách odpovídající si bází (A-T/U a G-C). Transkripce probíhá na inverzním vláknu DNA. Replikace probíhá po částech.

7.3. Genetický kód a mutace.

Genetický kód představuje soubor pravidel, podle kterých se genetická informace uložená v DNA (respektive RNA) převádí na primární strukturu bílkovin - tj. pořadí aminokyselin v řetězci. Genetický kód je univerzální - stejný u většiny živých organismů, pouze u několika málo skupin a mitochondrií se vyskytují drobné odchylky. Podoba genetického kódu společná většině živých organismů se nazývá standardní genetický kód. Genetická informace nesená organismem (jeho genom) je zapsán v DNA molekule (s výjimkou některých nebuněčných organismů, u nichž tuto úlohu plní RNA). Každá funkční část (jednotka) DNA se nazývá gen. Každý gen se v procesu transkripce přepíše do odpovídající kratší molekuly m-RNA, která slouží jako přenašeč informace od DNA k ribozómům - buněčným strukturám, na kterých probíhá translace (tvorba primární struktury bílkovin podle záznamu v m-RNA). Pořadí aminokyselin se zde stanovuje tak, že ke každému tripletu (kodónu) se připojí t-RNA s odpovídajícím antikodónem nesoucí aminokyselinu.

Genetická informace se čte pouze ve směru od 5'-(P) konce k 3'-(OH) konci. Máme tedy 43 možných kombinací, tj. 64 odlišných kodónů.

Mutace genová představuje mutaci v molekule DNA. Dále ji můžeme rozdělit na mutaci genu strukturního (která se může projevit na struktuře bílkoviny) a mutaci genu regulačního (která se může projevit na jeho regulační funkci a následně na míře exprese jím řízených genů strukturních). Důsledky mutací mohou být nulové až velmi vážné. Pokud k nim dojde v realizujícím se důležitém strukturním genu, je nutno zvážit, jakého jsou typu a kde nastanou. Za asi nejhorší variantu lze považovat deleci nebo inzerci třemi nedělitelného počtu bází na počátku genu, což zpravidla vede k jeho naprosté nefunkčnosti. Naproti tomu substituce na třetím místě tripletu se díky degenerovanému genetickému kódu nemusí projevit vůbec.

Typy genových mutací:

- inzerce a delece - dochází k přidání či vypadnutí jednoho či více párů bází.
- inverze - převrácení posloupnosti několika bází
- substituce - nahrazení jedné nebo několika bází jinou. Rozlišujeme substituci tranzicí (náhrada stejným typem báze - purinové purinovou (A, G) a pyrimidinové pyrimidinovou (C, T) a substituci transverzí (náhrada odlišným typem báze - purinové pyrimidinovou a obráceně).

7.4. Proteosyntéza.

Aby aminokyseliny mohly vůbec spolu reagovat za vzniku peptidové vazby, musí být nejdříve aktivovány pomocí ATP a pak navázány za spoluúčasti specifického enzymu ligasy na specifickou t-RNA. Specifický sled nukleosidů na t-RNA = antikodon, specifický sled (triplet) nukleosidů na m-RNA = kodon. Každá aminokyselina může být kódována více kodony, naopak jeden kodon představuje pouze jedinou aminokyselinu.

Iniciační kodon na m-RNA určuje začátek genové sekvence, u něj začíná proteosyntéza. Je to AUG, výjimečně CUG. Naopak u stop kodonu proteosyntéza končí, jde o UAA, UAG, UGA.

8. ENZYMY

Enzymy jsou přírodní, živočišné nebo rostlinné katalyzátory urychlující a umožňující průběh biochemických reakcí. Enzymy nacházíme ve všech živých systémech, předpokládá se, že i nejjednodušší buňka obsahuje asi 3000 enzymů. Protože enzymy vykazují druhovou specifitu (každý biologický druh má své vlastní enzymy, jiné než jiné druhy) odhaduje se počet enzymů na miliardy. Enzymovou katalýzou bylo za dobu existence naší planety zpracováno množství hmoty přesahující hmotnost zeměkoule, asi 6.1021 t. Katalytickou funkci vykonává jednoduchá nebo složená bílkovina. Nebílkovinná část enzymů se nazývá koenzym a zbývající bílkovinná část se nazývá apoenzym. Enzymy jsou velmi účinnými katalyzátory a jejich výhody spočívají zejména ve:

1. Vysoké účinnosti: jediná molekula enzymu je schopna za 1 sec přeměnit až 5.104 mekul substrátu (příklad: nakatalyzovaný rozklad H_2O_2 probíhá s rychlostí $0,23 \text{ s}^{-1}$, katalyzovaný rozklad H_2O_2 na Pt má $k = 1,3.103 \text{ s}^{-1}$, enzymatický rozklad katalasou má $k = 3,7.107 \text{ s}^{-1}$.
2. Specifita reakční, účinková i substrátová je značná, každý typ reakce je řízen specifickými enzymy, které štěpí pouze určitý substrát.
3. Práce za mírných podmínek, při 20-40°C, tlak 0,1 MPa a pH většinou kolem 7.
4. Regulovatelnost účinku a to i na několika úrovních. Velkou předností enzymů jen netoxičnost, na rozdíl od umělých, které jsou velmi často toxické. Přesnost a specifita enzymů je ale vyvážena jejich poměrně rychlým opotřebením, jsou stále odbourávány a znovu syntetizovány. Klasifikace a názvosloví enzymů. Základem jednotné klasifikace a nomenklatury enzymů je jejich rozdělení do šesti hlavních tříd podle typu katalyzované reakce.

8.1. Klasifikace enzymů, názvosloví a biochemický význam,

Enzymy se dělí do šesti hlavních tříd:

1. Oxidoreduktasy: katalyzují intermolekulové oxidačně redukční přeměny. Je to nejpočetnější třída enzymů a všechny jsou povahy složených bílkovin. Dále se dělí na:
 - a) transhydrogenasy nebo derhydrogenasy
 - b) transelektronasy a
 - c) oxygenasy.Dělí se na podtřídy podle funkčních skupin, které jsou donory H nebo elektronů.
2. Transferasy: realizují přenos skupin ($-\text{CH}_3$, $-\text{NH}_2$, $-\text{COCH}_3$) v aktivované formě z jejich donotu na akceptor. Např. aminotransferasy přenášejí aminoskupinu z aminokyseliny na oxokyselinu. Transferasy jsou rovněž povahy složených bílkovin. Dělí se na podtřídy podle charakteru přenášených skupin.
3. Hydrolasy. Štěpí hydrolytické vazby, které vznikly kondenzací, např. peptidové, glykosidové, esterové. Např. proteasy štěpí peptidové vazby v molekulách bílkovin a peptidů. Na podtřídy se dělí podle typu štěpených vazeb.
4. Lyasy. Katalyzují nehydrolytické štěpení a vznik vazeb (C-C, C-O, C-N). Provádějí to většinou tak, že odštěpují ze substrátu, nebo do něj vnášejí malé molekuly (H_2O , CO_2 , NH_3 ,...) bez pomoci dalšího reaktantu. Např. pyruvátdekarboxylasa odštěpuje z pyruvátu CO_2 za vzniku acetaldehydu. Lyasy jsou povahy složených bílkovin, tvoří málo početnou skupinu enzymů. V triviálním názvosloví pro ně používáme název synthasy. Na podtřídy se dělí podle typu štěpených, nebo syntetisovaných vazeb.
5. Isomerasy. Realisují vnitromolekulární přesuny a tomů a jejich skupin, tedy vzájemné přeměny isomerů. Např. triosafosfátisomerasa katalyzuje vytvořené rovnováhy mezi glyceraldehyd-3-fosfátem a dihydroxyacetonfosfátem. Je to málo početná skupina enzymů většinou povahy jednoduchých bílkovin. Dělení na podtřídy je založeno na typu izomerie.
6. Ligasy. Katalyzují vznik enargeticky náročných vazeb za současného rozkladu látky uvolňující energii, např. ATP. Příkladem je pyruvátcarboxylasa katalyzující zabudování CO_2 do molekuly pyruvátu za vzniku oxalacetátu. Ligasy jsou málo početná skupina enzymů, mají povahu složených bílkovin a v triviálních názvech se pro ně používá označení synthetasa. Dělí se podle typu vytvářených vazeb.

Systémové názvy enzymů se tvoří takto:

- a) Enzym katalyzující přeměnu substrátu A reakcí typu R má název ARasa. Např. D-glyceraldehyd-3-fosfátfosfohydrolasa
- b) Enzym katalyzující reakci substrátem A se substrátem (nebo kofaktorem) B reakcí typu R má název A : B-Rasa. Např. (S)-laktát : NAD^+ - oxidoreduktasa. Systémové číslo pak vystihuje zařazení enzymu v uvedené klasifikaci EC (Enzyme Commission). Např. Pro (S)-laktát : NAD^+ - oxidoreduktasa bude EC 1 1 1 27. Třída – oxidoreduktasy -> 1, Podtřída – donorem H je skupina $>\text{CH}-\text{OH}$ -> 1, Skupina –akceptorem H je NAD^+ -> 1, Číslo enzymu uvnitř skupiny -> 27.

Vyjadřování katalytické účinnosti enzymů. V roce 1961 navrhla enzymová komise přijetí standardní (mezinárodní) jednotky aktivity: 1U – představuje množství enzym v mg katalyzujícího za standardních podmínek (30°C a optimální pH) při saturaci substrátem přeměnu 1 mol substrátu za minutu. Po zavedení jednotek SI byla pak v roce 1972 definována nová jednotka pro katalytickou aktivitu katal. 1 kat – představuje množství katalyzátoru v mol, které přemění za standardních podmínek za 1 sec 1 mol substrátu. V praxi používáme její zlomky – mikrokatal ($\mu\text{kat} = 10^{-6} \text{ kat}$) a nanokatal ($\text{nkat} = 10^{-9} \text{ kat}$). Vztah staré (U) a nové jednotky je $1\text{U} = 16,67 \text{ nkat}$. V roce 1981 zavedl IUPAC pro katalytickou aktivitu vyjádřenou v katalech název rychlost přeměny substrátu. Používají se i další veličiny – koncentrace katalytické aktivity ($\text{kat} \cdot \text{dm}^{-3}$), specifická katalytická aktivita (aktivita vztažená na kg enzymu, jednotka $\text{kat} \cdot \text{kg}^{-1}$) a molární katalytická aktivita ($\text{kat} \cdot \text{mol}^{-1}$).

8.2. Aktivní centrum enzymů, alosterické místo.

Enzymy jako biokatalyzátory zvyšují rychlost chemických reakcí, kterých se zúčastní. Substrát se váže v aktivním centru enzymu, které má určitou prostorovou a chemickou stavbu a určuje tak vazbu molekuly substrátu i druh reakce, která proběhne. Aktivní centrum si můžeme představit jako prohlubeň nebo zářez v apoenzymu, kde jsou aminokyseliny vázány v určitém pořadí a je přítomen kofaktor. Přiblížení substrátu vyvolá takovou změnu konformace, že může dojít k jeho vazbě. Jindy se dvě molekuly substrátu naváží těsně k sobě v takové orientaci, že proběhne jejich sloučení. V aktivním centru existují oproti roztoku i jiné poměry hydrofobně-hydrofilní, stejně jako elektrostatické. Je to dáno právě funkčními skupinami aminokyselin v aktivním centru a jeho okolí.

Enzymatické děje jsou ovlivňovány teplotou. Při vyšší teplotě se zvyšuje difusní pohyb molekul a tedy i substrátu. Enzymy pracují optimálně mezi 25 až 45 °C (v lidském organismu 37 °C), při teplotách nad 50 °C dochází k denaturaci bílkoviny a inaktivaci enzymu. Podstatný může být účinek efektorů. Aktivátory enzymatickou reakci urychlují, inhibitory ji zpomalují, případně znemožňují. Aktivátory jsou nízkomolekulární látky, které se naváží poblíž aktivního centra, tím trochu pozmění jeho prostorovou strukturu a reakce probíhá ještě rychleji. Často to jsou ionty dvojmocných kovů. Kompetitivní inhibitor má většinou molekulu obdobnou vlastnímu substrátu enzymu, když se ale naváže na enzym, reakce neprobíhá. Vazba je ale nepevná, inhibitor může být z enzymu vytěsněn nadbytkem správného substrátu, kompetitivní inhibice je reversibilní (i ireversibilní). Nekompetitivní inhibitor se naváže na enzym (nikoliv však na aktivní centrum, ale na alosterické místo) a reakci nevratně zablokuje. Inhibitory mohou látky nízko i vysokomolekulární (i některá léčiva působí jako inhibitory).

8.3. Chemie kofaktorů

8.3.1) Kofaktory oxidoreduktas.

- Pyridinové (nikotinamidové) dinukleotidy. Jsou to nejdéle známé kofaktory (od roku 1906) a skládají se z nikotinamidového a adeninového nukleosidu vzájemně spojených prostřednictvím kyseliny difosforečné. Dosud známe asi 250 enzymů, které pracují s NAD^+ nebo NADP^+ . Patří do skupiny transhydrogenas odnímajících sbrstrátům (hlavně primárním a sekundárním alkoholům a aldehydům) dvojici atomů vodíku. Jeden z těchto atomů se váže jako hydridový ion do polohy 4 pyridinového kruhu, proton (H^+) se váže na apoenzym. NAD^+ je kofaktorem malátdehydrogenasy, která realizuje dehydrogenaci malátu na oxalacetát. Tato reakce je poslední dehydrogenací citrátového cyklu. K reoxidaci $\text{NADH} + \text{H}^+$ dochází na jiném apoenzymu, který realizuje předání atomů vodíku na jejich vhodný akceptor. Nejčastěji je to na flavinmononukleotid.
- Flavinové. Struktura flavinmononukleotidu (FMN) a flavinadenindinkleotidu (FAD) byla objasněna v roce 1933 a jejich funkce spočívá v přijetí dvou atomů vodíkuze substrátu. Základem tohoto kofaktoru je vitamín B_2 , FMN a FAD jsou pevnou částí molekuly enzymu, proto jsou nazývány flavoproteiny. Na rozdíl od nikotinamidů mohou flaviny vstupovat i do reakcí, v nichž je přenášen kyslíkový atom, stejně jako do reakcí s jednoelektronovým přenosem. Příkladem působení flavinového kofaktoru je účinek sukcínátdehydrogenasy kotvené ve vnitřní mitochondriální membráně, která předává získané vodíky v dýchacím řetězci na CoQ.
- Biopterinové. Základem je 2-amino-4-hydroxypteridin (biopterin), který se v redox reakcích uplatňuje ve dvou oxidačních stavech ve čtyřelektronové redukované formě (tetrahydrobiopterin) a jeho dvouelektronově redukováný p-chinoidní dihydropterin. Příkladem jeho působení je přeměna L-fenylalaninu na L-tyrosin enzymem L-fenylalaninhydroxylasou. Oxidovaný dihydrobiopterin je zpětně redkován NADH-dependentní reduktasou.
- α -Lipoátové. Základem tohoto kofaktoru je cyklický disulfid 6,8 – dithiooktanové kyseliny, která je karboxylem vázaná amidickou vazbou na $-\text{NH}_2$ skupinu lysinového zbytku vázaného na bílkovinné části enzymu. Přijetím dvou atomů vodíku nse otevře disulfidový kruh za vzniku dvou thiolových skupin. Vodíkové atomy jsou pak předávány flavinovým oxidoreduktásám.

- e) Benzochinony s isoprenoidním postraním řetězcem. Často se vyskytující faktory, chinoidní struktura přechází na hydrochinonovou. Patří mezi ně ubiquinony (koenzym Q, CoQ) součást mitochondriálních dýchacích řetězců a plastochinon – součást světlé fáze fotosyntézy. V dýchacím řetězci je semichinoidní forma ubiquinonu redukována NADH-ubichinonreduktasou na ubiquinol, který dále redukuje cytochrom c (Fe^{3+}).
- f) Hem. Součástí molekul řady oxidoreduktas přenášejících samotné elektrony (transelektronasy) je hem, tvořící prosthetickou skupinu hemoglobinu, myoglobinu a početné skupiny cytochromů. Hem je ferroporofyrinový komplex tvořený čtyřmi pyrrolovými jádry s osmi substituenty. Pouze isomer protoporfyrin IX je přítomen v živých systémech.
- g) Ionty železa vázané přímo na bílkovinu. Ve všech organismech se nacházejí transelektronasy, jejichž kofaktory tvoří ionty železa vázané na atomy síry cysteinylových zbytků enzymu. Tyto nehemové ferroproteiny nazýváme Fe-S-proteiny (ferredoxiny). V nejjednodušších je jediný ion železa čtyřstěnně koordinován k thiolovým skupinám čtyř zbytků cysteinu. Druhý druh, označovaný Fe_2S_2 -proteiny má strukturu složitější a obnovuje dva ionty železa, dva anorganické sulfidové atomy a čtyři zbytky cysteinu. Třetí druh, označovaný jako Fe_4S_4 -proteiny, obsahuje čtyři ionty železa, čtyři anorganické sulfidy a čtyři zbytky cysteinu.

8.3.2. Kofaktory transferas

- a) Adenosintrifosfát. Tato nukleotidová struktura je kofaktorem transferaz označovaných jako kinasy. Přenášejí nejčastěji fosforylovou skupinu $-\text{PO}_3^{2-}$ na hydroxylové skupiny alkoholů, na acyly nebo na skupiny guanidylové. Méně časté jsou přenosy difosfátového zbytku, adenosinmonofosfátového zbytku a adenosylového zbytku.
- b) Adenosylmethionin (aktivní methyl) je kofaktorem methylačních enzymů.
- c) Aktivní sulfát (PAPS) je 3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát. Realizuje přenos zbytku kys. sírové na fenoly a alkoholy za vzniku esterů této kyseliny.
- d) Biotin je přenašečem aktivovaného oxidu uhličitého, který je pomocí ligas zabudováván do organických sloučenin jako karboxyl. V molekule enzymu je biotin kovalentně připojen na bílkovinnou část amidovou vazbou na – aminovou skupinu lysinu.
- e) Thiamindifosfát. Prosthetickou skupinou transferas přenášejících aktivní acetaldehyd a aktivní glykolaldehyd je thiamindifosfát (TPP) derivát vitamínu B_1 . Reaktivní částí kofaktoru je thiazolový kruh, pyrimidinová část a difosfátová skupina se účastní vazby s bílkovinnou částí enzymu. Na tomto schématu je naznačena část mechanismu působení pyruvátdehydrogenasového komplexu sestávajícího z několika vektorově spojených enzymů.
- f) Tetrahydrofolát. Rozšířenějším kofaktorem na bázi pteridinu je tetrahydrofolát. Syntetizují jej rostliny a některé mikroorganismy kombinací pteridinu, 4-aminobenzoové kyseliny a glutamátu. Pro živočichy je esenciálním faktorem – vitamínem. Tetrahydrofolát přenáší nejčastěji formylové a hydroxymethylové skupiny, po redukci i methylové.
- g) Pyridoxalfosfát a formy jeho působení.
 - 1) transferasa (transaminace). Vezmeme-li jinou ketokyselinu, běží tento proces zpátky. Přenos aminoskupin je prováděn na 2-oxoglutarát, který přechází na glutamát.
 - 2) dekarboxylasa. Glutamát je dále dehydrogenován glutamátdehydrogenasou za účasti vody.

Začneme-li od libovolné aminokyseliny je tato pomocí pyridoxalfosfátu zbavena aminoskupiny, ta je přenesena na 2-oxoglutarát (meziprodukt citrátového cyklu) za vzniku glutamátu a ten, jako jediná aminokyselina, dehydrogenován na 2-oxoglutarát.

- h) Koenzym A. Aktivovaný acetyl a další acyly přenáší pomocí thioesterové vazby na thiolovou skupinu cysteaminu.

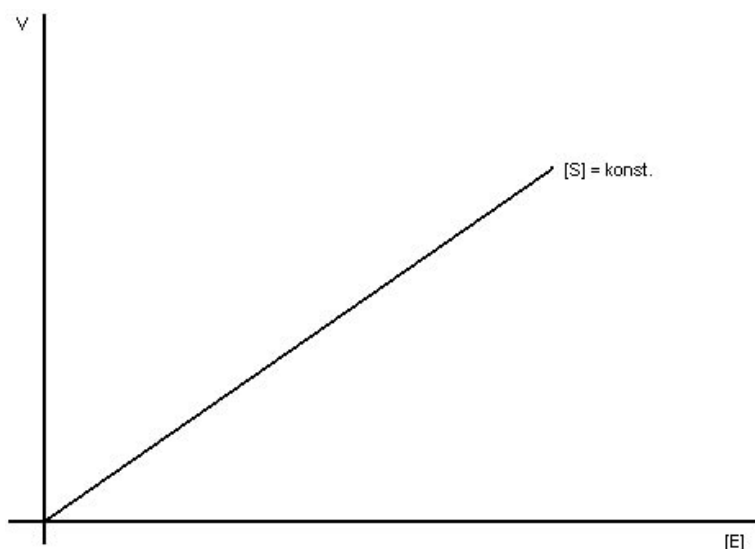
Příklady nativních enzymů.

- 1) Oxidoreduktasy: dehydrogenasa (transhydrogenasa), isocitrátdehydrogenasa (kofaktor NAD^+)
- 2) Transferasy: Acetyltransferasa, β -oxothiolasa (kofaktor HSCoA)
- 3) Hydrolasa: Lysosym
- 4) Lyasa: Citrátsynthasa
- 5) Isomerasa: Akonitasa
- 6) Ligasa: Acyl-CoA-synthetasa, aktivace mastných kyselin

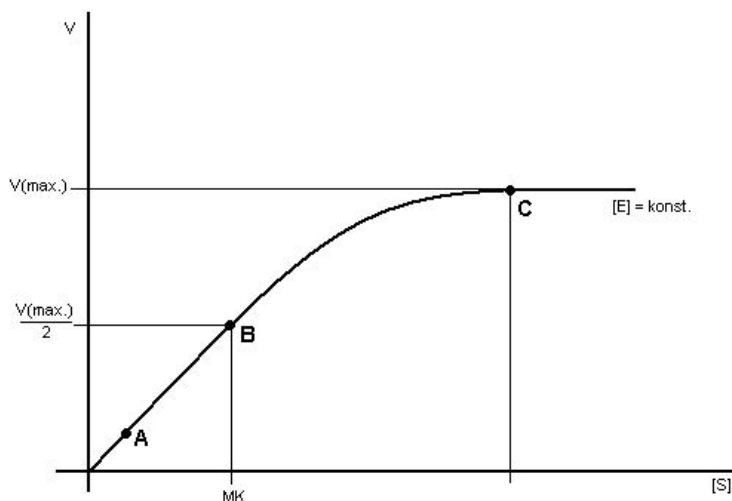
8.4. Kinetika enzymových reakcí

Prvé měření enzymové kinetiky bylo provedeno v roce 1902, v roce 1913 získali Michaelis a Mentenová základní poznatky, které jsou charakteristické pro enzymové reakce. Při měření rychlosti hydrolytického štěpení sacharosy na fruktosu a glukosu účinkem β -fruktofuranosidasy (invertasy) zjistili že:

- a) Byla-li počáteční koncentrace sacharosy udržována konstantní a měnila se koncentrace enzymu, byla závislost počáteční rychlosti reakce na koncentraci enzymu lineární (obr. a)



- b) Byla-li koncentrace enzymu konstantní a měnila se koncentrace substrátu, byla závislost počáteční rychlosti na koncentraci sacharosy hyperbolická (obr. b)



Pro vysvětlení těchto pozorování navrhli Michaelis a Mentenová pro mechanismus jednosubstrátové enzymové reakce následující schéma:



Vycházeli z představy, že meziproduktem reakce je komplex enzym – substrát. Schéma se omezuje na počáteční periodu reakce, kdy koncentrace produktu v reakční směsi je malá a tím i zpětná tvorba komplexu ES z produktu a enzymu je zanedbatelná. Podíváme-li se na křivku na obrázku b) zjistíme, že z kinetického hlediska se tato hyperbolická závislost skládá ze dvou částí: při nízkých koncentracích substrátu jsou molekuly enzymu většinou volné a jen malá část jich je v komplexu, takže pro koncentraci volného enzymu platí: $[E] \gg [ES]$. Rychlost reakce je malá a je úměrná koncentraci substrátu podle kinetické rovnice prvního řádu. Při vysoké koncentraci substrátu je veškerý enzym vázaný v komplexu ES, takže $[E] \ll [ES]$. Nasycením enzymu substrátem je dosaženo mezní rychlosti $v = V$, která už dále nestoupá, protože další substrát už nemá k dispozici volný enzym. Došlo k nasycení enzymu a reakce je vzhledem k substrátu nultého řádu. Tato křivka závislosti rychlosti enzymové reakce na koncentraci substrátu vyjadřuje sytění enzymu substrátem a nazývá se také saturační křivka. Její matematické zpracování provedli Briggs a Haldane (1925) na základě teorie ustáleného stavu. Podmínka ustáleného stavu enzymové reakce zní, že koncentrace komplexu enzym substrát je v průběhu celé reakce konstantní ($n = \text{ustálený stav}$).

$$[ES]_n = \text{konstanta}$$

Tento stav se vytváří, je-li k dispozici dostatek substrátu. Rychlost vzniku komplexu ES pak odpovídá rychlosti rozpadu komplexu ES.

$$k_1 \cdot [E] \cdot [S] = k_{-1} \cdot [ES] + k_2 \cdot [ES]$$

V této rovnici ale máme dvě proměnné a to $[E]$ a $[S]$ jejichž aktuální koncentrace (koncentrace v čase) se během reakce mění. Proto vyjádříme aktuální koncentraci enzymu pomocí konstantní počáteční koncentrace $[E]_0$ a množství enzymu vázaného v komplexu ES.

$$[E] = [E]_0 - [ES]$$

Dosazením za $[E]$ pak získáme výraz pro $[ES]_n$.

$$k_1 ([E]_0 - [ES]) \cdot [S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

$$k_1 [E]_0 [S] - k_{-1} [ES] [S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$$

$$[ES] \cdot (k_{-1} + k_2 + k_1 [S]) = k_1 [E]_0 [S]$$

$$[ES]_n = \frac{k_1 \cdot [E]_0 \cdot [S]}{k_{-1} + k_2 + k_1 \cdot [S]}$$

Reakční produkt se podle výchozího schématu tvoří z ES monomolekulární reakcí charakterizovanou konstantou k_2 , takže rychlost jeho vzniku bude vyjádřena výrazem:

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2 \cdot [ES] = \frac{k_2 \cdot [E]_0 \cdot [S]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [S]}$$

Konstantní hodnoty se v tomto vztahu obvykle nahrazují novými kinetickými parametry:

$$V = k_2 \cdot [E]_0 \text{ a } K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Vztah pak nabývá tvaru obecné rovnice Michaelis – Mentenové

$$v = \frac{V \cdot [S]}{K_M + [S]}$$

Odvození Michaelise a Mentenové vycházelo z jiného předpokladu, a to že: $k_2 \ll k_{-1}$, tedy z tzv. kvasirovnovážného stavu, a $K_M = k_{-1} / k_1$. K_M není rovnovážnou konstantou katalyzované reakce, má rozměr koncentrace a vyjadřuje mru afinity enzymu pro substrát. Michaelisova konstanta je rovna koncentraci substrátu, při níž je dosaženo poloviny mezní rychlosti. Hodnota K_M rozděluje křivku závislosti počáteční rychlosti enzymové reakce na koncentraci substrátu na dvě oblasti. Při nízkých koncentracích substrátu bude proto časový průběh enzymové reakce probíhat podle kinetické reakce I. řádu, při vysokých koncentracích substrátu je reakční rychlost konstantní, nezávislá na $[S]$. Množství vznikajících produktů se proto při dostatečně vysoké koncentraci substrátu mění s časem lineárně a směrnice této přímky je ekvivalentní koncentraci enzymu, resp. Jeho aktivitě. Těto skutečnosti využíváme ke (kinetickému) určování množství enzymu.

Michaelisova konstanta je nezávislá na koncentraci enzymu, závisí však na prostředí (pH, teplota, přítomnost efektorů,...), proto je nutné její údaj vždy doplnit udáním podmínek stanovení. Charakterizuje katalytické vlastnosti enzymu vzhledem k příslušnému substrátu. Hodnoty se pohybují v širokém rozmezí 10^{-1} až 10^{-6} mol.dm⁻³. K_M je úměrná disociační konstantě komplexu enzym-substrát (v mezním případě, kdy $k_2 \ll k_{-1}$ je jí číselně rovna). Čím je hodnota Michaelisovy konstanty nižší, tím je vyšší afinita enzymu k danému substrátu. U enzymů působících na více substrátů považujeme za hlavní ten, pro který má enzym nejnižší K_M . Znalost Michaelisovy konstanty umožňuje dále odhadnout koncentraci substrátu nutnou k dosažení limitní rychlosti reakce. Výpočet provedeme z rovnice Michaelis-Mentenové pro podmínku kdy je $v = V$ a $[S]_V = ?$ Výraz $K_M + [S]_V$ se musí rovnat $[S]_V$ alespoň 102 krát větší než K_M . V případě, že $[S]_V \approx 102 K_M$ získáváme koncentraci substrátu nutnou pro dosažení limitní rychlosti. Ze znalosti V můžeme pomocí rovnice $V = k_2 [E]_0$ vypočítat rychlostní konstantu k_2 . Tato konstanta udává molekulovou (vzhledem k rozměru molární aktivitu enzymu), dříve nazývanou číslo proměny. Vyjadřuje počet molů substrátu přeměněných za optimálních podmínek za jednu sekundu jedním molem enzymu.

K určení kinetických parametrů K_M a V se používá nejčastěji tzv. metody počátečních rychlostí. Provádí se měřením série časových závislostí průběhu enzymové reakce při konstantní koncentraci enzymu pro asi 6 různých koncentrací substrátu za stejných podmínek. Zjistíme hodnoty $v_1 - v_6$ (počáteční rychlosti) sestavením tangenty a použijeme linearizaci nebo počítáč.

8.5. Látky ovlivňující činnost enzymů:

Katalytickou účinnost enzymů výrazně ovlivňuje celá řada látek, kterým říkáme efekторы nebo modifikátory. Zvyšují-li aktivitu, hovoříme o pozitivních efektech nebo aktivátorech, látky snižující účinek enzymu nazýváme negativní efekty neboli inhibitory. Efekty dělíme na přirozené a nepřirozené. Přirozené efekty jsou normální složky buněk (metabolity, koenzymy) a jsou důležitými nástroji při regulaci buněčného metabolismu. Nepřirozené efekty jsou syntetické látky úmyslně i neúmyslně vnesené do organismu. Jedná se v prvním případě o léčiva, ve druhém o jedy, narkotika nebo exhaláty.

Za aktivátory považujeme pouze ty látky, které se vážou na molekulu enzymu vratně a nejsou tedy integrální součástí enzymové bílkoviny, nebo prosthetické skupiny.

Efekty, které brzdí enzymové reakce se nazývají inhibitory. Můžeme je dělit podle několika hledisek a to např. podle původu na přirozené a umělé, podle specifity účinku na specifické a nespecifické, pro nás nejdůležitější je dělení podle mechanismu účinku. Zde rozeznáváme čtyři typy inhibice. Můžeme je dobře odlišit kinetickým měřením – srovnáním velikosti Michaelisovy konstanty a mezní rychlosti naměřených bez (K_M , V) a za přítomnosti inhibitoru (K'_M , V').

Kineticky odlišitelné typy inhibice jsou:

- Kompetitivní, kdy inhibitor neovlivňuje meznou rychlost ($V=V'$), ale zvyšuje Michaelisovu konstantu ($K'_M > K_M$).
- Nekompetitivní, kdy inhibitor nevyvolá změnu Michaelisovy konstanty ($K'_M = K_M$), ale snižuje meznou rychlost ($V' < V$).
- Nekompetitivní, kdy inhibitor snižuje meznou rychlost i Michaelisovu konstantu, ale tak, že nemění jejich poměr
- Smíšená, kdy inhibitor mění Michaelisovu konstantu, meznou rychlost i jejich poměr.

Z těchto typů inhibice si rozebereme prvé tři případy:

- Inhibice kompetitivní (soutěživá) – Tuto inhibici vyvolávají látky, jejichž struktura je natolik podobná substrátu, že ji enzym nerozezná a vytváří s nimi komplex EI, který se ale nerozpadá na produkty. Tím je enzym blokován. Při použití většího množství substrátu bude inhibitor z komplexu EI vytlačen a z dosažení maximální rychlosti je tedy třeba vyšší koncentrace substrátu. Těmto kompetitivním inhibitorům říkáme antimetabolity.
- Inhibice nekompetitivní (allosterická) – Tento typ inhibitorů neovlivňuje vazbu substrátu na enzym, ale zmenšuje jeho přeměnu na produkt. Účinek těchto inhibitorů je nezávislý na koncentraci substrátu a nelze jej odstranit zvýšením koncentrace substrátu. Inhibitory nemění velikost Michaelisovy konstanty, ale snižují maximální rychlost.
- Inhibice akompetitivní - K tomuto typu inhibice dochází, jestliže se inhibitor může vázat teprve tehdy, když vazba substrátu na enzym vhodně pozmění jeho konformaci. Inhibitor tedy nereaguje s volným enzymem, ale až s komplexem ES, a tím brání jeho proměně na $P + E$. Maximální rychlost i Michaelisova konstanta se snižují stejnou měrou, takže jejich poměr zůstává zachován.

8.6. Aktivní centra enzymů

Podle dlouholetých studií struktur enzymů je jisté, že enzymová reakce probíhá v relativně malé oblasti molekuly, které říkáme aktivní centrum, nebo aktivní místo. Na výstavbě aktivních center enzymů se pravidelně účastní několik typů skupin. Jsou to především katalyticky aktivní skupiny tvořící katalytické centrum a dále skupiny, které specificky vážou substrát tzv. vazebné centrum. Dále to jsou i skupiny, které vytvářejí vhodné chemické prostředí v centru a jeho vhodnou prostorovou strukturu.

Na základě studia hydroláz byly popsány prozatím tři typy aktivních center:

- Tvaru štěrby (pukliny) do kterých se vsunou řetězce substrátu a na vhodném místě jsou přerušeny.
- Tvaru mělké povrchové prohlubně, např. trávicí enzymy.
- Tvaru jamky, např. enzymy odštěpující koncové struktury z řetězců.

U enzymů povahy složených bílkovin má aktivní centrum ještě oblast k navázání koenzymu. Toto druhé vazebné centrum bývá většinou na povrchu molekuly enzymu a bývá prostorně lokalizováno v bezprostřední blízkosti vazebného centra pro substrát. Enzymová reakce probíhá mezi vázaným substrátem a vázaným koenzymem. Koenzym zde má úlohu druhého reaktantu a někdy se označuje jako kosubstrát. Další místa podmiňující, nebo usnadňující aktivitu enzymů označujeme jako stabilizační, nebo aktivační místa. Aktivita oligomerních enzymů nacházejících se na klíkových místech metabolických drah je pak ovládána tzv. allosterickými efekty. Jsou to látky, které vyvolávají jemné konformační změny probíhající celou molekulou a zasahující i vazebné a katalytické centrum. Místa působení těchto efektorů se nazývají allosterická centra.

8.6.1. Specifické působení enzymů

Původní názor Fisherův o klíči a zámku vysvětlil, že přesné rozložení vazebných skupin aktivního centra zaručí, že do kontaktu s nimi se dostane pouze substrát vhodné geometricky a elektrostaticky doplňkové struktury. To, že větší podobné molekuly nereagují je jasné, do aktivního místa se nevejdou, ale to že menší podobné molekuly reagují pomaleji než specifický substrát bylo vysvětlitelné s obtížemi. V roce 1958 zformuloval Koshland teorii indukovaného přizpůsobení aktivního místa enzymu. Teorie předpokládá, že vazba substrátu na enzym vyvolává malé či velké konformační změny, které při správném substrátu vedou v konečném důsledku k správnému nasměrování katalytických skupin. Tím je umožněn optimální průběh reakce. Látky, které nemají dostatečnou velikost, nebo tvar se mohou na enzym vázat, ale nemohou vyvolat optimální zformování aktivního centra. Konformační změny pozorované při vzájemném působení enzymu a substrátu lze rozdělit asi do tří skupin:

- a) při interakci se konformace nemění
- b) dochází k malým změnám konformace
- c) nastávají rozsáhlé změny

9. DÝCHACÍ ŘETĚZEC A OXIDATIVNÍ FOSFORYLACE

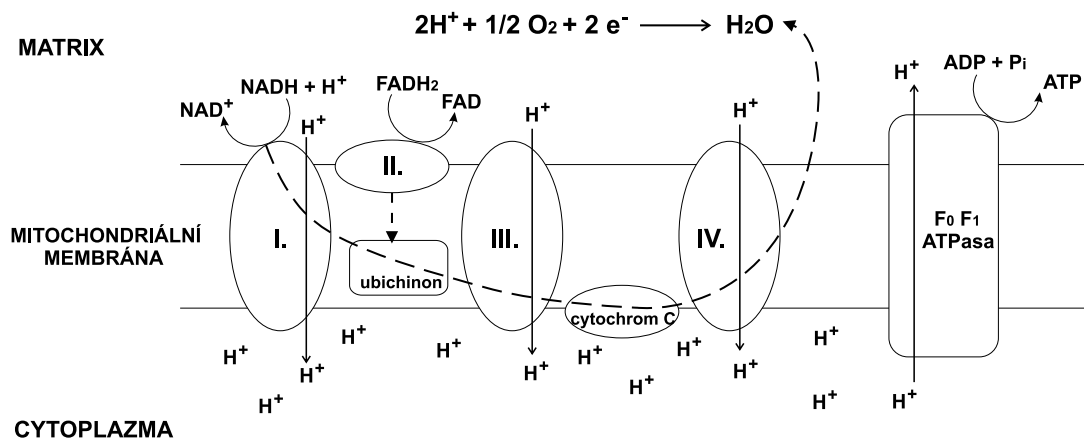
9.1. Chemiosmotická teorie syntézy ATP

Heterotrofní organismy získávají hlavní podíl energie (cca 90%) uložené ve struktuře molekul živin, během procesu zvaného respirace, neboli buněčné dýchání. Při tomto ději se přenášejí elektrony odebrané aktivovaným vodíkům atomům kyslíku pomocí složitěho systému oxidoreduktas lokalizovaných v oddělených komplexech. Protony jsou při tomto procesu přesunovány na druhou (cytosolární) stranu nepropustné vnitřní mitochondriální membrány, kde se hromadí. Jejich průchod zpět je umožňován speciálním enzymem ATP-asa, který využívá jejich energii k syntéze ATP z ADP a kyseliny fosforečné (anorganického fosfátu). Celý tento proces probíhá v mitochondriích, které se nacházejí ve všech eukaryotních buňkách. Vnitřní mitochondriální membrána je nejdůležitější funkční složkou mitochondrie, v ní jsou uloženy všechny oxidoredukční komplexy I – IV a ATP-asa. Tato membrána je nepropustná pro ionty a elektroneutrální molekuly s molekulovou hmotností nad 150. ATP prochází touto membránou řízeným přenosem výměnou za ekvivalentní množství ADP.

Podstata získávání energie spočívá tedy ve slučování vodíku a kyslíku na vodu. Tato reakce je silně exergonická ($\Delta G_0' = -237 \text{ kJ/mol}$) a přímá reakce je proto pro buňku nepoužitelná. Problém jednorázového uvolnění výše uvedené energie mitochondrie vyřešila konstrukcí kaskády oxidoreduktáz, které stupňovitě zvyšují redox potenciál aktivovaného vodíku z hodnoty $-0,32 \text{ V}$ (vázaného v $\text{NADH} + \text{H}^+$) až na redox potenciál kyslíku $+0,82 \text{ V}$. V tomto systému oxidoreduktas je každý komplex redukován komplexem předešlým a elektrická práce je transformována na práci osmotickou přenosem protonů proti koncentračnímu spádu. Vzhledem k tomu, že ze dvou aktivovaných vodíků je získána energie dostačující k vyrobení 3 molekul ATP (cca 105 kJ/mol), je účinnost této chemiosmotické syntézy ATP 45%. Zbylá energie se přeměňuje na teplo a ohřívá heterotrofní organismus.

9.2. Transfer protonů a elektronů v dýchacím řetězci

Oxidoreduktasy savčích dýchacích řetězců jsou uspořádány do pěti komplexů zakotvených ve vnitřní mitochondriální membráně a označovaných I – IV, jako komplex V je označována ATP-asa. Komplex II. je periferní, zakotvený na matrixové straně, komplexy I a III – V jsou integrační a procházejí celou šířkou vnitřní mitochondriální membrány. Komplex III je spojen s komplexem I a II pomocí mobilních přenašečů na bázi ubiquinonu a s komplexem IV pomocí mobilního cytochromu c.



Respirační řetězec

9.2.1. Funkce komplexů I - V

Komplex I lze označit jako NADH-ubichinonreduktasu a katalyzuje redukci semichinoidní formy ubiquinonu na ubiquinol. Tento systém funguje přesně podle obecného chemiosmotického mechanismu. Jeho základem je flavoprotein NADH-dehydrogenasa, obsahující vedle koenzymu FMN další prosthetické skupiny typu FeS. NADH-ubichinonreduktase se na se na matrixové straně redukuje $\text{NADH} + \text{H}^+$, převezme dva aktivované vodíky a na cytosolární straně předá dva elektrony transelektronase Fe_4S_4 . Dva protony jsou vytlačeny do cytosolárního prostoru a oxidovaný FMN je připraven pro novou redukci $\text{NADH} + \text{H}^+$. Transelektronasa Fe_4S_4 předává dva elektrony transelektronase Fe_2S_2 , která předává jeden elektron po druhém semichinoidní formě ubiquinonu opět na matrixové straně.

Komplex II. Tento komplex je nejjednodušší ze všech. Základem jeho funkce je sukcinátdehydrogenasa, flavoprotein obsahující prosthetickou skupinu FAD a dvě skupiny Fe_2S_2 . Vedle toho tento protein obsahuje skupinu typu

Fe₄S₄ a cytochrom b, jejichž význam není zatím známý. Rovněž přenos elektronů v komplexu není zcela vysvětlen. Systém produkuje ubichinol. Tento komplex II nepřenáší protony do cytoplasmatického prostoru.

Komplex III. Tento komplex zpracovává ubichinol dodávaný z komplexů I a II. Jeho funkce spočívá v reoxidaci ubichinolu na semichinoidní formu pomocí ubichinol: cytochrom c-oxidoreduktasy. Základní princip chemiosmotického mechanismu je komplikován tím, že transport H⁺ se děje cyklickým pochodem. Základní funkční složkou systému jsou dvě molekuly cytochromu b (bT a bK) z nichž pouze bT je redukovatelná ubichinolem. Dále systém obsahuje cytochrom c₁ a molekulu Fe₂S₂-proteinu, jehož funkce opět není jasná. Komplex cytochromu b přebírá od ubichinolu jeden elektron a oxiduje ho na semichinoidní formu, přičemž je vypuzen jeden proton do cytosolárního prostoru, semichinoidní forma je dále oxidována na ubichinon cytochromem c₁ za současného vypuzení druhého protonu do cytosolárního prostoru. Ubichinon pokračuje k cytochromu b (části bK), kde získává zpět elektron, který na začátku předal, a z matrixového prostoru přibírá jeden proton. V tomto okamžiku začíná další okruh s jedním přijatým elektronem. Je zřejmé, že na jeden přijatý elektron jsou do cytosolárního prostoru vypuzeny dva protony a jeden elektron je přenesen na mobilní cytochrom c.

Komplex IV. Funguje jako ferrocytochrom c: kyslík-oxidoreduktasa (cytochromoxidasa). Mechanismus funkce tohoto komplexu je nejméně jasný ze všech oxidoredukčních mitochondriálních systémů. Komplex se skládá ze sedmi bílkovinných podjednotek a jeho funkčními složkami jsou cytochromy a, a₃ a ionty mědi ve stechiometrickém poměru 1:1:2. Má tvar písmene Y, jehož „noha“ směřuje na cytosolární stranu membrány a obě ramena pronikají jeho matrixovou stranou. Ionty mědi tvoří páry s jednotlivými cytochromy; oxidovaná forma přijímá elektrony na cytosolární straně od cytochromu c a vytváří plně redukovanou formu (Cu²⁺Fe²⁺), která na matrixové straně postupně redukuje O₂ na dva oxidové ionty a přechází na plně oxidovanou formu (Cu²⁺Fe³⁺). Tento komplex nezpůsobuje přenos H⁺ přes membránu, ale přesto zvyšuje pH matrixového prostoru protonací vzniklých oxidových iontů.

Součinnostmi komplexů I, III a IV jsou tedy přeneseny dva elektrony ze dvou aktivovaných vodíků NADH + H⁺ na kyslík za vzniku 1/2 O₂²⁻ a současně je přesunuto šest protonů do cytosolárního prostoru. Ty podle diagramu umožní syntézu 3 molekul ATP. Součinnostmi komplexů II, III a IV jsou přeneseny dva elektrony z aktivovaných vodíků FADH₂ na kyslík za vzniku 1/2 O₂²⁻ a současně jsou přesunuty čtyři protony na cytosolární stranu, které umožňují syntézu 2 molekul ATP.

Komplex V. Výroba ATP probíhá v komplexu V označovaném jako ATP-synthasa. Katalyzuje reakci, a to výhradně ve směru zleva doprava. Úplný komplex má podjednotkovou strukturu a skládá se ze dvou částí. Část označovaná CF₀ je uložena v membráně a skládá se z bílkoviny F₀ (obsahuje čtyři podjednotky) tvořící protonový kanál umožňující návrat protonů z cytoplasmového prostoru. Na F₀ se váže část OSCP (oligomycine-sensitivity-conferring-protein) citlivá k antibiotiku oligomycinu. Na složku CF₀ se váže složka F₁, která je vlastní mitochondriální ATP-asou. Skládá se z pěti podjednotek α, β, γ, δ a ε, z nichž každá je obsažena dvakrát. Průchod dvou protonů kanálem vede na katalytické složce F₁ k syntéze ATP z ADP a Pi. Pro mechanismus této reakce byly navrženy dva modely.

Přímý mechanismus vzniku ATP předpokládá odtržení jednoho kyslíkového atomu fosfátového iontu působením transferasových protonů a „neutralizací“ tím vzniklého kladného náboje na atomu fosforu volným elektronovým párem kyslíku koncového fosfátu ADP

Nepřímý mechanismus je založen na konformační změně složky F₁ při průchodu obou protonů kanálem F₀. Předpokládá se, že aminokyselinové složení aktivního místa v základním stavu kompletního systému vede k vytvoření vazby mezi ADP a fosfátem (tj. eliminaci H₂O a tvorbě ATP), pokud jsou reakční složky vázány na bílkovinu. Průchodem dvou elektronů se změní konformace aktivního místa, takže se předtím vytvořený ATP uvolní od složky F₁. Systém se pak vrací do základního stavu, čímž se vytvoří další pevně vázaná molekula ATP.

Pevné spojení mezi oxidací a fosforylací narušují látky zvané „odpojovače“. Jedním z typů těchto sloučenin jsou slabé lipofilní kyseliny (2,4-dinitrofenol). Jejich lipofilita umožňuje snadnou difúzi membránou z cytosolární na matrixovou stranu. Zvýšení pH na této straně vede k odštěpení protonu do matrixu a k tvorbě lipofilního fenolátového iontu, který difunduje zpět na cytosolární stranu, kde v oblasti nízkého pH přijímá proton a celý proces se opakuje. Obdobně působí antibiotika např. valinomycin. Ten má schopnost vázat iont K⁺ polárními atomy peptidových vazeb. Nepochybně postranní řetězce aminokyselinových zbytků peptidu způsobují lipofilitu vnějšího okraje kruhu a draselný iont se stává rozpustným v organických rozpouštědlech a může difundovat membránou. Tímto přenosem se vyrovnává záporný potenciál membrány způsobený neutralizací aniontů (od kterých byly protony přeneseny do cytosolu) a tím se snižuje účinnost komplexu V.

9. 3. Fotosyntéza a fotochemická produkce NADP + H⁺ a ATP

Fotosyntéza zahrnuje necyklickou fosforylací (vyrábí NADPH + H⁺ a ATP), cyklickou fosforylací (vyrábí jen ATP) a Calvinův cyklus (z CO₂ a H₂O se pomocí NADPH + H⁺ a ATP syntetizuje D-glukosa).

9.3.1. Necyklická fosforylace:

Podílí se na ní oba chlorofylové systémy označované P700 a P680, označované podle absorpčního maxima. Fotosystém P700, který má v základním stavu redoxpotenciál $E^\circ = +0,45 \text{ V}$, se ozářením slunečním světlem excituje na $P700^*$ s redoxpotenciálem $E^\circ = -0,55 \text{ V}$.

Excitované elektrony z $P700^*$ jsou na stromatické straně thylakoidní membrány odebrány ferredoxinem ($E^\circ = -0,42 \text{ V}$), který je dále předává FAD a ten pomocí H^+ odebraných ze stromatického prostoru vytvoří $FADH_2$. $FADH_2$ je oxidován $NADP^+$ ($E^\circ = -0,32 \text{ V}$) za tvorby $NADPH + H^+$. V průběhu této redukce se ze stromatického prostoru odeberou na 4 elektrony $2 H^+$ (na tvorbu $2 FADH_2$ se spotřebují $4 H^+$, ale při tvorbě $2 NADPH + 2 H^+$ jsou $2 H^+$ vázány jako hydrid na $2 NADP^+$ a jen $2 H^+$ se regenerují).

Fotosystém P680, který má v základním stavu redoxpotenciál $E^\circ = +0,82 \text{ V}$, se ozářením slunečním světlem excituje na $P680^*$ s redoxpotenciálem $E^\circ = 0 \text{ V}$. Čtyři excitované elektrony z $P680^*$ jsou na stromatické straně thylakoidní membrány odebrány plastochinonem, který současně odebírá ze stromatického prostoru $4 H^+$, ty přenesou do thylakoidního prostoru a elektrony předá cytochromu $c552$. Ten je předá plastocyaninu, který s jejich pomocí zredukuje $P700^+$ na výchozí $P700$. Oxidovaný chlorofyl $P680^+$ je velmi silné oxidační činidlo, které získá čtyři elektrony z oxidace vody a tím přejde na výchozí formu $P680$. Dalším produktem oxidace vody je kyslík a $4 H^+$ uvolněné do thylakoidního prostoru. Protony shromažďované v thylakoidním prostoru jsou využívány k syntéze ATP.

Na 4 elektrony, využitě k produkci $2 NADPH + 2 H^+$ se v thylakoidním prostoru shromáždí celkem $14 H^+$ ($2 H^+$ se v thylakoidním prostoru spotřebují na tvorbu $2 NADPH$, $4 e^-$ se uvolní z $P680^*$ a s jejich pomocí jsou $4 H^+$ přeneseny ze stromatického prostoru do thylakoidního – absolutní difference je $8 H^+$ a $4 H^+$ se v thylakoidním prostoru generují při oxidaci vody). V procesu fotosyntézy je na jednu syntetizovanou molekulu ATP nutná energie $3 H^+$, z nichž $2 H^+$ zreagují na vodu, ale třetí H^+ je volný a snižuje diferenci H^+ ve stromatu oproti thylakoidnímu prostoru. Ze $14 H^+$ je tedy možno vyrobit více než 3 ATP a méně než 4 ATP ($14 - 3,5 = 10,5 : 3 = 3,5 \text{ ATP}$). Toto množství postačuje pro syntézu glukosy v Calvinově cyklu (spotřeba $NADPH + H^+$ a ATP je v poměru $2 : 3$). V případě, že rostlinná buňka má z jiných důvodů nedostatek ATP, fotosystémy se mohou modifikovat na cyklickou fosforylaci, která produkuje pouze ATP.

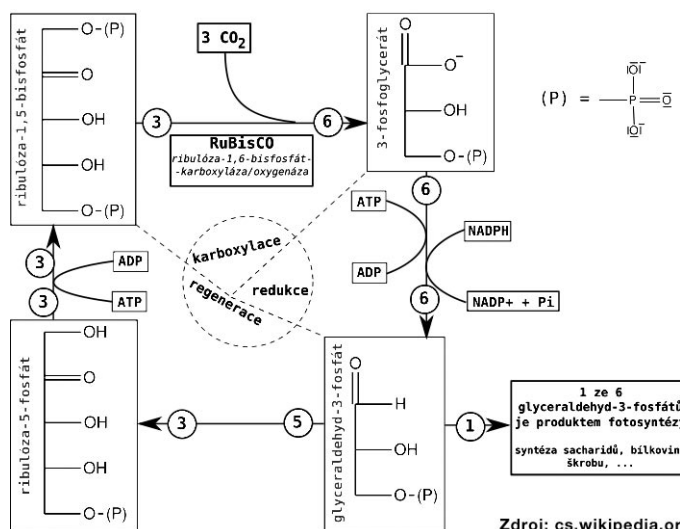
9.3.2. Cyklická fosforylace:

Podílí se na ní jen chlorofylový systém označený jako P700, jím produkované elektrony jsou přenášeny na ferredoxin a z něho na plastochinon, který přenáší ze stromatického prostoru H^+ do thylakoidního prostoru a elektrony potom předává komplexu cytochromů b a f. Závěr kaskádovitého přenosu elektronů tvoří plastocyanin, který je předává zpět chlorofylu $P700^+$ za vzniku výchozího $P700$. Výsledkem cyklické fosforylace je pouze přenos H^+ přes thylakoidní membránu na thylakoidní stranu a následné využití jejich osmotické síly k produkci ATP podle obecné rovnice: $ADP + PO_3^{2-} + 2 H^+ = ATP + H_2O$

9.3.3. Calvinův cyklus:

Jedná se o fotosyntetickou fixaci CO_2 na cirkulující substrát ribulosa-1,5-bisfosfát pomocí enzymu ribulosabifosfátkarboxylasy. Vzniklá nestabilní β -ketokyselina se okamžitě hydrolyzuje za vzniku dvou molekul 3-fosfoglycerátu. Reakční mechanismus fixace oxidu uhličitého reaktivnější enolformou ribulosa-1,5-bisfosfátu a hydrolyza vzniklé nestabilní β -oxokyseliny za vzniku dvou molekul 3-fosfoglycerátu jsou podrobněji naznačeny v uvedeném schématu.

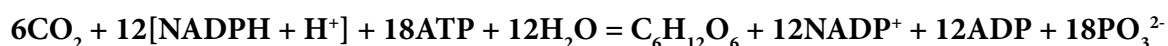
Energie fotosyntézy do reakčního procesu vstupuje v následujícím kroku, kterým je hydrogenace 3-fosfoglycerátu. Substrátem hydrogenace je 1,3-bisfosfoglycerát, který nejprve vzniká působením ATP za katalýzy glyceraldehydfosfátdehydrogenasy specifické pro $NADP^+$. Stejný enzym pak provede hydrogenaci za vzniku dvou molekul glyceraldehyd-3-fosfátu. Působením triosafosfátisomerasy přechází jedna molekula glyceraldehyd-3-fosfátu na dihydroxyacetonfosfát a působením aldolasy (pracuje podle reakčního mechanismu aldolizace a přenáší vždy tři substituované uhlíkové atomy) vzniká fruktosa-1,6-bisfosfát. Hydrolytickou defosforylací vzniká fruktosa-6-fosfát a působením fosfoglukosaisomerasy se vytváří glukosa-6-fosfát, který hydrolyzou poskytuje D-glukosu. Ta je výstupním produktem Calvinova cyklu, ale současně se tímto reakčním sledem spotřebovala ribulosa-1,5-bisfosfát, která musí být regenerována, jinak by se produkce glukosy po jejím vyčerpání zastavila a nejednalo by se o cyklický proces.



Zdroj: cs.wikipedia.org

Regenerační sled začíná u fruktosa-6-fosfátu, který je substrátem transketolasy (pracuje podle reakčního schématu acyloinové reakce a přenáší vždy dva substituované uhlíkové atomy) a s další molekulou glyceraldehyd-3-fosfátu poskytuje xylulosa-5-fosfát a erythrosa-4-fosfát. Tento aldosa-fosfát zreaguje stejně jako glyceraldehyd-fosfát v reakci pomocí aldolasy s dihydroxyacetonfosfátem na sedoheptulosa-1,7-bisfosfát. Ta se dále hydrolyticky defosforyluje sedoheptulosabisfosfatasou na sedoheptulosa-7-fosfát a z ní transketolasovou reakcí s glyceraldehyd-fosfátem vznikne ribosa-5-fosfát a xylulosa-5-fosfát. Xylulosa-5-fosfát se převádí na ribulosu-5-fosfát fosforibuloepimerasou a ribosa-5-fosfát na ribulosu-5-fosfát fosforibosaisomerasou. Fosforibulokinasa ribulosu-5-fosfát pomocí ATP fosforyluje na výchozí ribulosa-1,5-bisfosfát.

Celková bilance Calvinova cyklu je ve schématu propočtena podle obecných zásad stechiometrie. Na vytvoření 1 molekuly glukosy musí zreagovat 6 molekul CO_2 se 6 molekulami ribulosa-1,5-bis-fosfátu, které vytvoří 3 molekuly fruktosa-6-fosfátu, 4 molekuly glyceraldehyd-3-fosfátu a 2 molekuly dihydroxyacetonfosfátu. Z jedné molekuly fruktosa-6-fosfátu se vytvoří produkt cyklu glukosa a další dvě molekuly fruktosa-6-fosfátu zahajují regenerační cyklus. V jeho průběhu se ještě spotřebuje 6 molekul triosa-fosfátů. Na začátku cyklu se spotřebovává 12 molekul ATP a 12 molekul $\text{NADPH} + \text{H}^+$ na redukci dvanácti molekul 3-fosfoglycerátu a v jeho závěru ještě 6 molekul ATP na fosforylaci ribulosa-5-fosfátu. V průběhu cyklu se spotřebuje celkem 12 molekul vody. Calvinův cyklus probíhá i ve tmě a jeho sumární rovnice má následující tvar.



10. BIOLOGICKÉ OXIDACE

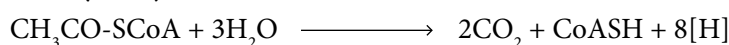
10.1. Citrátový cyklus

Odbourávání většiny substrátů ve druhé fázi aerobního katabolismu končí u dvojuhlíkatého zbytku $\text{CH}_3\text{CO-}$ vázaného na koenzym A tj. acetylkoenzymu A. Tato látka vzniká:

- oxidací mastných kyselin lipidů
- oxidační dekarboxylací hlavního produktu katabolismu sacharidů – pyruvátu
- degradací uhlíkových koster některých (ketogenních) aminokyselin.

Odbourávání substrátů na acetyl-CoA se však uvolní jen menší část jejich energie, asi $\frac{3}{4}$ jí však zůstává v acetyl-CoA. Tato energie se uvolňuje až v terminální oxidaci tohoto dvojuhlíkatého zbytku na CO_2 . K tomu slouží tzv. citrátový cyklus, universálně rozšířený u aerobů a nazývaný rovněž Krebsův cyklus podle objevitele Hanse A. Krebse z roku 1937.

Odbourávání acetyl-CoA v citrátovém cyklu probíhá stupnovitě: acetyl se váže na čtyřuhlíkový nosič a tím je transformován na donory CO_2 (karboxylové kyseliny) a donory atomů vodíku (hydroxyl- a oxoderiváty). Více než polovina z cyklu získaných aktivovaných vodíků pochází ze tří molekul vody, které do reakčního sledu postupně vstupují. Celkovou reakci vystihuje rovnice



Oxid uhlíčitý se uvolňuje dekarboxylací bez podstatné změny energie. Zdrojem energie jsou odebrané atomy vodíku, které vstupují do dýchacího řetězce. Jako jejich donory slouží dvakrát sekundárně alkoholová skupina, jednou oxoskupina a jednou karboxylová skupina s ethylenovou skupinou (sukcinát). V cyklu se taky přímo ukládá menší část energie do molekuly GTP vloženou substrátovou fosforylací. Citrátový cyklus je přednostně určen k terminální oxidaci substrátů, ale současně je i hotovostí meziproductů, z nichž vycházejí biosyntetické děje sloužící k výstavbě nové buněčné hmoty. Citrátový cyklus je tedy typickým amfibolickým dějem a skutečným středem aerobního metabolismu; je křižovatkou katabolických a anabolických cest.

10.1.1. Mechanismus citrátového cyklu

Můžeme ho rozdělit do 4 stupňů.

1. Kondenzace C_2 a C_4 - molekul na C_6 - molekulu.

Reakční sled začíná aldolovou kondenzací acetyl-CoA s oxalacetátem za vzniku C_6 – trikarboxylové hydroxykyseliny citronové po hydrolýze thioesterové vazby v $\text{CH}_3\text{CO-SCoA}$ a odštěpení CoA-SH . Reakci katalyzuje allostерický enzym z třídy lyas - citrátsynthasa, regulující celý cyklus. Inhibitorem citrátsynthasy je ATP. Kondenzace acetyl-CoA s oxalacetátem je exergonickou reakcí ($\Delta G^\circ = -3.32 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) a je prakticky nevratná.

V dalším dvojstupňovém ději se akonitasou odštěpuje z citrátu voda za vzniku cis-akonitátu, voda se na akonitát opět aduje stejným enzymem, ale opačně. Dochází k izomerizaci a vzniká isocitrát. Kofaktorem akonitasy je dvojmocné železo, reakce má kladnou Gibsovu energii + 6,3 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Rovnovážný stav této reakce se ustanovuje při 90% citrátu, 2% cis-akonitátu a 8% isocitrátu.

2. Přechod C_6 - molekuly na C_5 - molekulu za odštěpení CO_2 .

Isocitrát (na rozdíl od citrátu) může být dehydrogenován, protože má sekundární alkoholovou skupinu. Dehydrogenace je rovněž usnadněna přítomností karboxylové skupiny na prostředním uhlíku. Dehydrogenace je prováděna isocitrátdehydrogenasou s koenzymem NAD^+ . Po dehydrogenaci a vzniku C=O skupiny na C_2 uhlíku se vazba karboxylu k prostřednímu uhlíku silně zeslabí a přítomnost Mn^{2+} jako katalyzátoru umožní její rozštěpení a tím dekarboxylaci. Volné β -ketokyseliny a jejich ionty jsou poměrně nestálé a jejich dekarboxylace probíhá samovolně. Celková reakce je slabě exergonická $\Delta G^\circ = -8,4 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Rovněž tato dehydrogenace je regulována allostерickou inhibicí isocitrátdehydrogenasy účinkem ATP. Nadbytkem ATP vede k inaktivaci enzymu tvorbou dimeru, naopak nadbytek ADP převádí dimer na aktivní tetrametr.

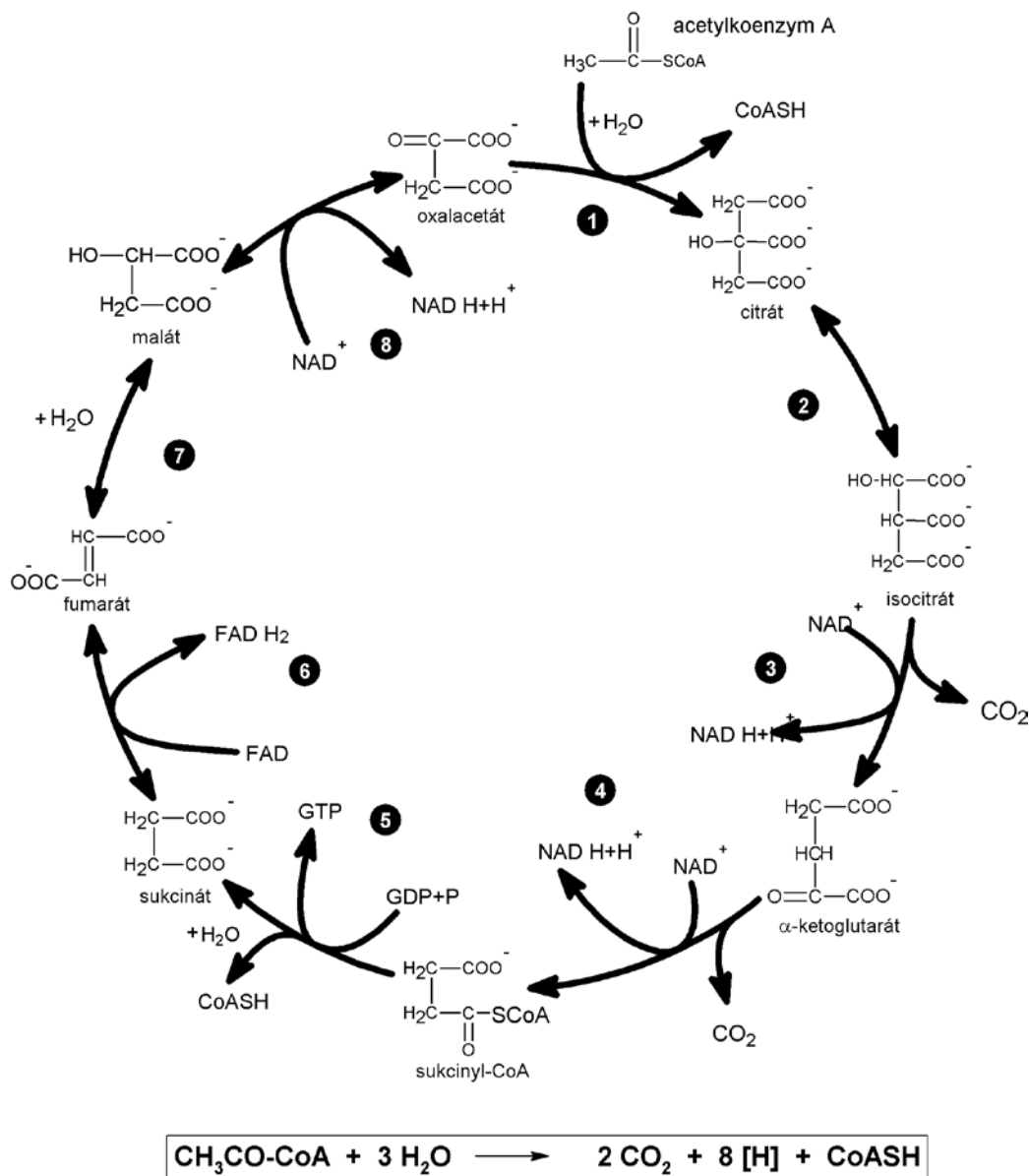
3. Přechod C_5 - molekuly na C_4 - molekulu za odštěpení CO_2 .

2-Oxoglutarát je následně dekarboxylován a dehydrogenován za vzniku sukcinyl-CoA, a to účinkem komplexní 2-oxoglutarátdehydrogenasy. Jde o obdobný proces jako u níže popsané dekarboxylace a dehydrogenace pyruvátu. Rozdíl spočívá pouze v přítomnosti specifického enzymu a to dihydrolipoamidsukcinyltransferasy. Dva aktivní vodíky jsou přeneseny na NAD^+ , celková několikastupňová reakce je silně exergonická ($-30,1 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$) a tedy prakticky nevratná. Účinkem vody na sukcinyl-CoA za katalýzy enzymem sukcinyl-CoA-synthetasy proběhne hydrolýza za vzniku sukcinátu a koenzymu A. Část energie makroergické thioesterové sloučeniny se uloží do molekuly GTP vznikající tzv. substrátovou fosforylací $\text{GDP} + \text{Pi} \rightarrow \text{GTP}$. Působením nukleosiddifosfátkinasy pak proběhne reakce $\text{GTP} + \text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{GDP}$, při níž vzniká molekula ATP.

4. Reakce na úrovni C_4 - dikarboxylových kyselin

Tato fáze představuje oxidaci sukcinátu na oxalacetát se vstupem třetí molekuly vody. Zahrnuje dvě za sebou jdoucí dehydrogenace s vloženou hydratací. První dehydrogenaci sukcinátu na fumarát provádí sukcináddehydrogenasa s prosthetickou skupinou FAD, která má dále v molekule nehemové železo vázané na síru (Fe-S). Tento enzym je zakotven ve vnitřní mitochondriální membráně a je podstatou komplexu II. dýchacího řetězce. Tato reakce je nejrychlejší z celého cyklu. Fumarát se vazbou s vodou mění na malát. Reakci katalyzuje fumaráthyratasa, která zaručuje vazbu vody v trans- poloze a tím i vznik L-malátu. Jde o oligomerní allosterický enzym opět inhibovaný ATP.

Poslední reakcí citrátového cyklu je dehydrogenace L-malátu za vzniku oxalacetátu, která uzavírá cyklický průběh. Reakci katalyzuje malátdehydrogenasa s koenzymem NAD^+ . Reakce je silně endergonní ($\Delta G^{\circ} = +30 \text{ kJ.mol}^{-1}$), přesto však probíhá poměrně snadno, to pro silně exergonní průběh první reakce katalyzované citrátsynthásou.



10.1.2. Energetická bilance citrátového cyklu

Energetická bilance cyklu vede k vytvoření 3 ekvivalentů $NADH + H^+$ a jednoho $FADH_2$. Prostřednictvím dýchacího řetězce se získá $(3 \times 3 + 2 \times 1) = 11$ molekul ATP. Spolu s jednou molekulou ATP vzniklou z GTP po substrátové fosforylaci je celkový zisk energie z degradace C_2 zbytku roven 12 ATP.

10.1.3. Anaplerotické reakce

Tyto reakce doplňují vyčerpané metabolity citrátového cyklu reakcemi na citrátovém cyklu nezávislými. Jedná se např o:

- karboxylaci C_3 kyselin pomocí karboxybiotinového komplexu, kterou je z pyruvátu vyráběn oxalacetát
- reakce fosfoenolpyruvátu s hydrogenuhličitanovým anionem produkující rovněž oxalacetát.

10.2. Glyoxylátový cyklus

Zavedení dvou nových enzymových reakcí do citrátového cyklu vytvoří cyklický mechanismus doplňování C_4 -dikarboxylových kyselin při zabránění ztrátě uhlíku tvorbou CO_2 . Nemá tedy degradační, ale biosyntetický charakter. Tento cyklický mechanismus se nazývá glyoxylátový cyklus. Užívá tři z osmi enzymů citrátového cyklu a dva nové – isocitrátlyasu a malátsynthasu. Celkový děj probíhající v glyoxylátovém cyklu vystihuje rovnice.



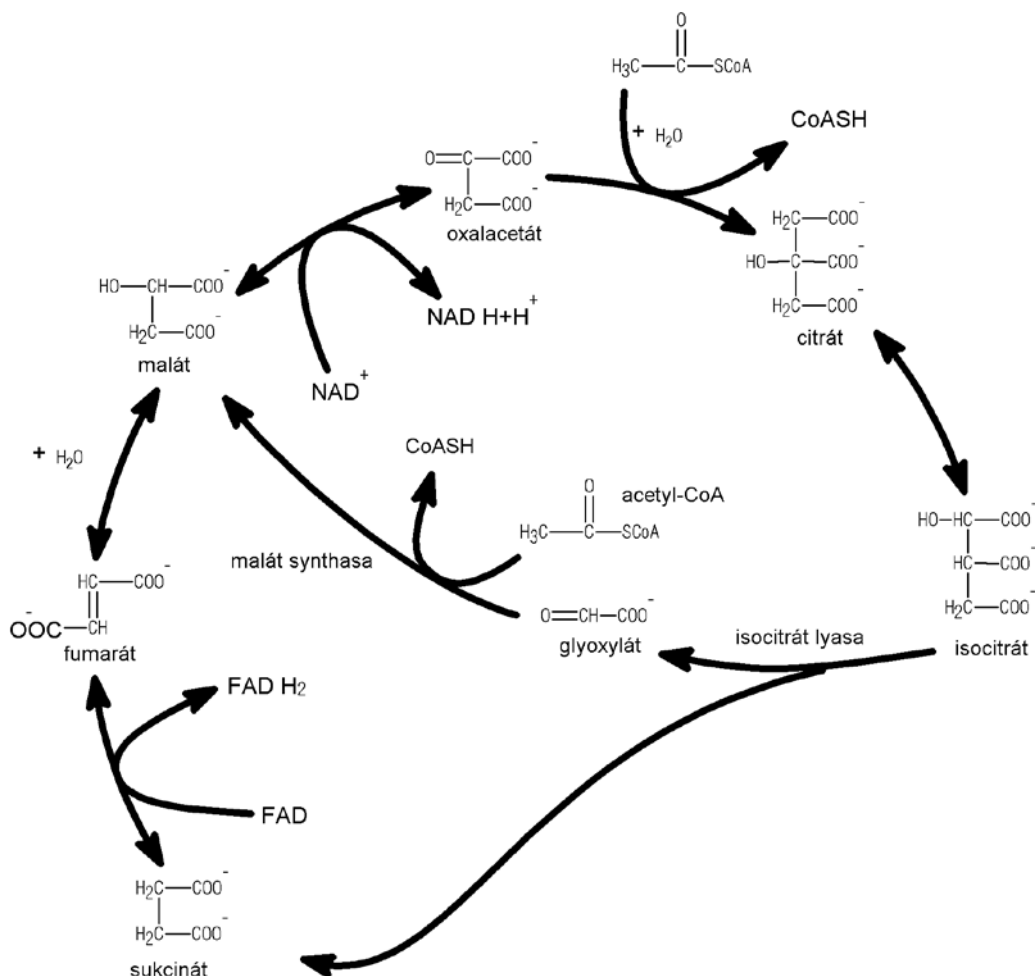
Acetyl-CoA může být tedy využit dvojím způsobem:

- odbourán na 2 CO_2 za současného vzniku čtyř dvojic aktivovaných vodíků
- využit k výrobě C_4 -dikarboxylových kyselin bez ztráty uhlíku.

Cestu b) používají mikroorganismy jako jediný zdroj intermediátů požadovaných k synthese uhlíkových skeletů všech svých hlavních složek. Jsou to mikroorganismy rostoucí na substrátech o nízké hmotnosti (acetát, sukcinát) a nebo mikroorganismy zpracovávající mastné kyseliny a n-alkany. Glyoxylátový cyklus je příkladem anaplerotické reakce pro tyto mikroby a činí je nezávislými na karboxylaci pyruvátu a fosfoenolpyruvátu pro tvorbu C_4 -dikarboxylových kyselin. Intenzivně probíhá glyoxylátový cyklus v semenech klíčících rostlin, které tímto dějem přeměňují acetylové zbytky vznikající oxidačním odbouráním mastných kyselin tukových rezerv, na cukry. U prokaryot jsou enzymy glyoxylátového cyklu v cytoplasmě, u eukaryotních mikrobů a u rostlin ve speciálních organelách, glyoxysomech resp. peroxisomech.

10.2.1. Mechanismus glyoxylátového cyklu

- Začáteční fáze cyklu je stejná jako u citrátového cyklu až po vznik isocitrátu.
- Štěpení C_6 – molekuly na C_2 a C_4 -molekuly. Místo dekarboxylace a dehydrogenace na 2-oxoglutarát je isocitrát štěpen za katalýzy isocitrátlyasou (isocitratasou) na glyoxylát a sukcinát. Sukcinát představuje výstup z cyklu, může být dále přeměňován prostřednictvím citrátového cyklu, nebo zapojen do dalších reakcí.
- Kondenzace dvou C_2 – jednotek. Do cyklu vstoupí druhá molekula acetyl-CoA a kondensuje se s glyoxylátem za vzniku malátu analogickým způsobem jako probíhá kondensace s oxalacetátem, tj. adicí karboaniontu acetyl-CoA na karbonylový uhlík glyoxylátu. Závěrečná dehydrogenace malátu na oxalacetát je identická jako u citrátového cyklu.



10.3. Vznik acetyl – CoA aerobní dekarboxylací pyruvátu

Za aerobních podmínek je vznik pyruvátu posledním stupněm glykolytického odbourání glukosy. Pyruvát je pomocí pyruvátdehydrogenasového komplexu přeměňován na acetyl-CoA, oxid uhličitý a dva aktivní vodíky.



Pyruvátdehydrogenasový komplex je vázán na vnitřní mitochondriální membránu a tvoří supramolekulovou strukturu, která zajišťuje následné přeměny substrátu. Molekulová hmotnost celého komplexu činí asi $4,6 \cdot 10^6$ (enzym bakterie *E. coli*), má tvar krychle a jeho složky mají podjednotkovou strukturu. Jádru útvaru tvoří osm trojic podjednotek dihydrolipoamidacetyltransferasy situovaných v rozích krychle. Tím je každá podjednotka ve styku s jednou z podjednotek dvanácti molekul pyruvát dehydrogenasy situovaných na hranách krychle a s dihydrolipoamiddehydrogenasou, jejichž 6 molekul leží uprostřed stran.

Přeměna pyruvátu na $\text{CH}_3\text{CO-SCoA}$ probíhá v těchto krocích.

- Pyruvát vzniklý glykolýzou v cytoplazmě je transportován přes vnitřní mitochondriální membránu do matrix pomocí nosiče výměnou za OH^- .
- Váže se na pyruvát dehydrogenasu, konkrétně na thiazolové jádro kofaktoru tramindifosfátu. Zde proběhne dekarboxylace za vzniku α -hydroxyethylthiamindifosfátu.
- Ke vzniklému α -hydroxyethylderivátu se přiblíží mobilní raménko cyklického lipoamidu dlouhé 1,4 nm a vytvoří S6-acetylhydrolipoamid (kofaktor dihydrolipoamidacetyltransferasy), které přenesení acetylovou skupinu na koenzym A výměnou za vodík. Vzniká acetyl-CoA a dihydrolipoamid.
- Vodíky dihydrolipoamidu jsou přeneseny mobilním raménkem k dihydrolipoamiddehydrogenase jejichž kofaktor FAD odebere dva vodíky a obnoví cyklický disulfid lipoamidu.
- Vzniklý FADH_2 je oxidován pomocí NAD^+ , který přenáší dva vodíky do dýchacího řetězce.

Tímto sledem reakcí se systém vrací do původního vztahu.

11. METABOLISMUS SACHARIDŮ

11.1. Výskyt a význam

Sacharidy jsou obsaženy ve všech živých organismech, kde se podílejí na látkové přeměně a produkci energie. Sacharidy jsou i strukturními složkami, jsou součástí mnoha významných metabolitů, nukleových kyselin, signálních a imunitních systémů. Polysacharidy a oligosacharidy jsou metabolizovány až po enzymatickém rozštěpení na monosacharidy, které jsou resorbovány z trávicího traktu savců do krve. Enzymy štěpící polysacharidy nazýváme polyasy, oligosacharidy jsou štěpeny olisasami a enzymy obecně štěpící glykosidové vazby se nazývají glykosidasy, nebo sacharidasy. Nejznámější polyasa je α -1,4-D-glukan-glukanhydrolasa běžně označovaná jako α -amylasa, která katalyzuje hydrolyzu amylosy, amylopektinu a glykogenu. Je označována rovněž jako dextrinogenní amylasa, protože štěpí polysacharidy uvnitř molekuly (endoamylasa) na mnoho produktů. Je velmi rozšířená (slinné žlázy, pankreas atd.). Velmi známá je i β -amylasa štěpící obdobné substráty, ale na jiné produkty. Jako exoamylasa odštěpuje z volných konců glukosidových řetězců maltosové jednotky až po větvení 1 $\rightarrow$ 6. Obdobnou funkci má celulosa (β -1,4-D-glukan-glukanhydrolasa) štěpící β -glukosidové vazby celulosy a produkující cellobiasu. Oligosacharidy jsou štěpeny např. sacharidasou, která štěpí β -fruktosidovou vazbu v sacharose. Hydrolyzu α -glukosidových vazeb katalyzuje α -D-glukosid-glukohydrolasa (α -glukosidasa, nebo maltasa). Cellobiosu pak štěpí β -D-glukosid-glukohydrolasa (cellobiasa). Fyziologicky významná je i laktasa (β -D-galaktosid-galaktohydrolasa) štěpící laktosu obsaženou v mateřském mléce. Tímto štěpením jsou poly- a oligosacharidy degradovány na monosacharidy, které jsou živými organismy metabolizovány po transformaci na fosforečné estery. Hlavní cestou odbourání glukosy vzniklé štěpením sacharidů z potravy a rezervních polysacharidů je tzv. glykolýza. Vedlejší cestou odbourání glukosy je pentosový cyklus, který má i anabolickou funkci.

11.2. Glykolýza

Glykolýza je základní metabolický děj probíhající téměř ve všech buňkách savců a jeho úkolem je uvolnění energie uložené v glukóze. V buňkách se zpracovává 70 – 80% sacharidů přijatých v potravě. Sumární rovnice glykolýzy popisuje štěpení jedné molekuly hexózy na dvě molekuly pyruvátu a čtyři aktivované vodíky. Mimo to se během štěpení glukózy uvolní ještě 2 ATP (z krevní glukózy), nebo 3 ATP (z rezervního polysacharidu).

Pyruvát je velmi hodnotným meziproduktem metabolismu, který v sobě skrývá ještě cca 75% z celkové energie hexosy.

11.2.1. Mechanismus glykolýzy

Odbourávání glukózy na pyruvát zahrnuje celkem 10 dílčích reakcí, které probíhají v cytoplasmě pomocí enzymů, které nejsou vázány na buněčné struktury. Celé odbourávání můžeme rozdělit do tří fází.

1. Přeměna glukózy na vhodný donor atomů vodíku – glyceraldehyd-3-fosfát

Krevní glukóza musí být aktivována dvojnásobnou fosforylací pomocí 2 ATP, které se v dalších fázích glykolýzy získají zpět. Vzniklý hexózbisfosfát se zpětnou aldolizací štěpí na dva trióza-fosfáty, z nichž jeden je vhodným donorem aktivovaných atomů vodíku. Tento proces aktivace zahrnuje čtyři dílčí reakce.

- První fosforylace produkuje D-glukóza-6-fosfát vznikající z krevní glukózy a ATP za katalýzy hexokinázou. Je-li výchozím substrátem rezervní polysacharid, tento krok probíhá bez spotřeby ATP. Glykogen je fosforolyticky štěpen na D-glukóza-1-fosfát za katalýzy glykogenfosforylázou (aktivátorem enzymu je AMP, inhibítoem je glukóza) a tento fosfát je fosfoglukomutázou izomerován na D-glukóza-6-fosfát.
- Izomerace je další reakcí, která enzymem glukózafosfátizomerázou přemění D-glukóza-6-fosfát na β -D-fruktóza-6-fosfát z důvodu tvorby další primární alkoholické skupiny (hexokinázy fosforylují pouze primární alkoholické skupiny).
- Druhá fosforylace je nejpomalejší reakcí celé glykolýzy a celou glykolýzu reguluje. Produktem je β -D-fruktóza-1,6-bisfosfát, který vzniká reakcí β -D-fruktóza-6-fosfátu s ATP za katalýzy 6-fosfofruktokinázy (specifický allosterický enzym inhibovaný ATP, fosfoenolpyruvátem a citrátem, aktivovaný AMP a ADP).
- Štěpení hexózbisfosfátu na dva trióza-fosfáty probíhá mechanismem obrácené aldolizace a je katalyzováno fruktózbisfosfátaldolázou (lyáza). Vzniklé trióza-fosfáty udržuje v rovnováze trióza-fosfátizomeráza (rovnováha se ustavuje při 4% glyceraldehyd-3-fosfátu a 96% dihydroxyacetonfosfátu), která umožňuje zpracování obou molekul trióza-fosfátů.

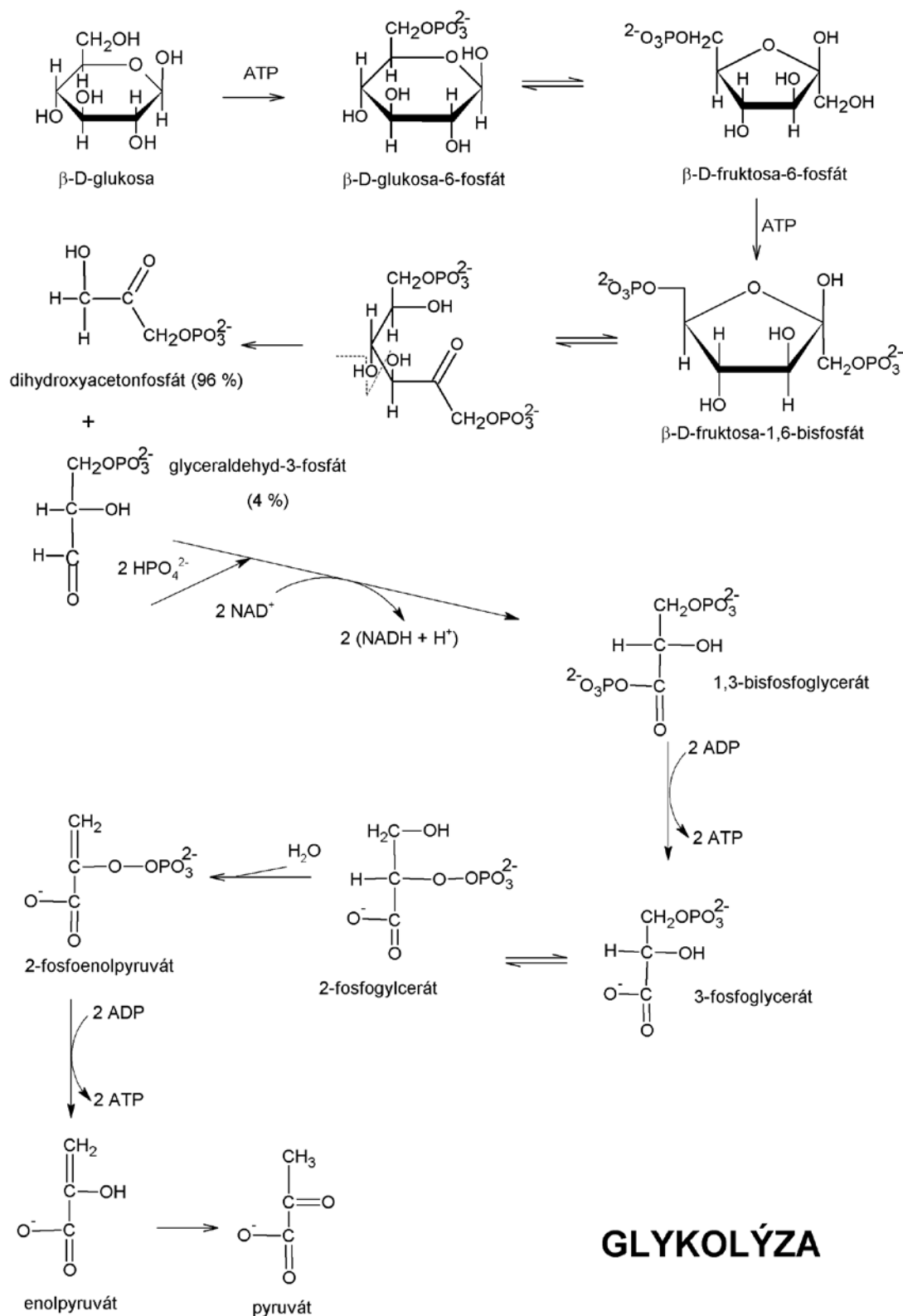
2. Dehydrogenace glyceraldehyd-3-fosfátu

Dehydrogenace glyceraldehyd-3-fosfátu je jedinou oxidační reakcí celé glykolýzy. V anaerobním metabolismu oxidace probíhá odštěpením atomů vodíku, kyslík a další atomy poskytuje kyselina fosforečná. Energie reakce se ukládá do vzniklého bisfosfátu, který v další reakci substrátově fosforyluje ADP na ATP a přechází na 3-fosfoglycerát.

Dehydrogenaci katalyzuje enzym glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenáza s kofaktorem NAD^+ a aktivované vodíky jsou odštěpovány po jednom ze substrátu a z kyseliny fosforečné, po odštěpení se oba reaktivní meziprodukty spojí na 1,3-bisfosfoglycerát. Redukovaný kofaktor $\text{NADH} + \text{H}^+$ je oxidativně regenerován v dýchacím řetězci, nebo fermentačně v různých reakcích.

3. Vznik pyruvátu

3-Fosfoglycerát je fosfoglyceromutázou izomerován na 2-fosfoglycerát a ten je enolázou dehydratován na 2-fosfoenolpyruvát, který za katalýzy pyruvátkinázy fosforyluje ADP v procesu substrátové fosforylace na ATP. Tato reakce je nevratná a uzavírá cestu zpětné syntézy glukózy z pyruvátu. Tím je umožněna regulace syntézy a odbourání sacharidů. Vzniklý enolpyruvát se spontánně a velmi rychle tautomerizuje na keto formu – pyruvát.



11.2.2. Ethanolová glykolýza

Anaerobní organismy nemohou provádět oxidativní regeneraci redukováného $\text{NADH} + \text{H}^+$ v dýchacím řetězci, protože ho nemají. Např. kvasinky používají k reoxidaci acetaldehyd vzniklý dekarboxylací pyruvátu za katalýzy pyruvátdekarboxylázy s koenzymem thiamindifosfátem (vitamin B1). Vzniklý ethanol (nervový jed) kvasinkám do koncentrace cca 15% nevadí, protože kvasinky nervový systém rovněž nemají. Vyšší koncentrace ethanolu již i na ně působí toxicky a usmrcuje je.

Celkový energetický zisk ethanolové glykolýzy se rovná pouze 2 ATP na molekulu glukózy a produkce ethanolu je podmíněna stálým kyselým prostředím.

11.2.3. Glycerolová glykolýza

V případě, že ve fermentačním médiu není dostatek acetaldehydu, stává se akceptorem aktivovaných vodíků druhý triózafosfát – dihydroxyacetonfosfát, ze kterého vzniká glycerolfosfát a následnou hydrolýzou katalyzovanou fosfatázami je produkován glycerol.

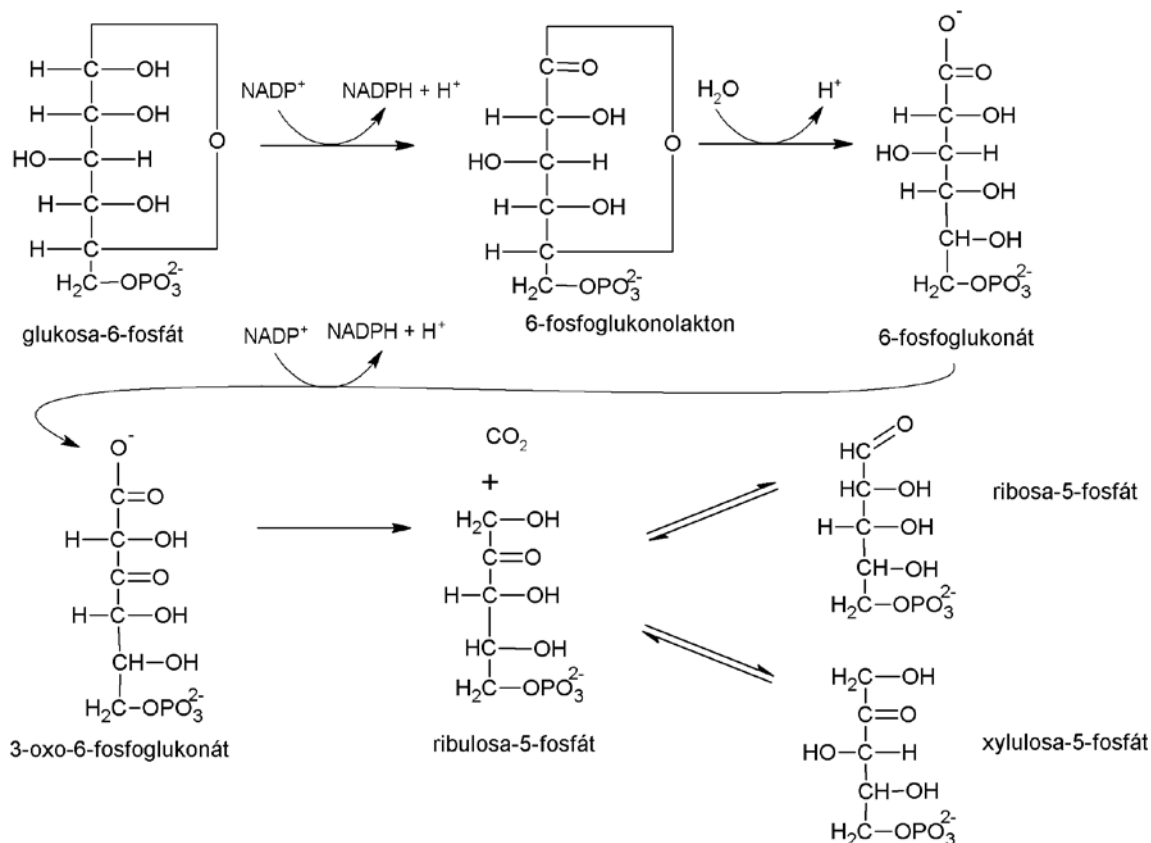
Redukci dihydroxyacetonfosfátu na glycerol lze uměle vyvolat přidavkem činidel reagujících se vznikajícím acetaldehydem např. hydrogensířičitanem sodným, který vytvoří bisulfitovou sloučeninu neschopnou reakce s $\text{NADH} + \text{H}^+$. Tento pochod byl používán při průmyslové výrobě glycerolu sulfitovou metodou opět v kyselém prostředí.

11.2.3. Smíšená glykolýza (smíšené kvašení)

V alkalickém prostředí dochází k rychlé dismutaci dvou molekul acetaldehydu na ethanol a kyselinu octovou a acetaldehyd není k reoxidaci $\text{NADH} + \text{H}^+$ k dispozici. Aktivované vodíky jsou proto opět předávány na dihydroxyacetonfosfát, ze kterého vzniká glycerol. V tomto případě vzniká směs všech tří produktů (ethanol, kyselina octová a glycerol).

11.3. Pentózový cyklus

Energie sacharidů může být využívána nejen jako zdroj energie transportovaný pomocí ATP, ale i jako chemická energie označovaná jako „redukční síla“ – konkrétně na vázané aktivované vodíky určené k biochemickým redukčním transportované pomocí $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Tento systém produkce „redukční síly“ je rovněž uložen v cytoplasmě a pomocí NAD(P)^+ - transhydrogenasy je spojen se systémem $\text{NADH} + \text{H}^+$. Pentózový cyklus umožňuje úplnou oxidaci glukózy na CO_2 bez zapojení citrátového cyklu a dýchacího řetězce. Poskytuje aktivované vodíky pro biochemické redukce a ribózafosfát pro syntézu nukleových kyselin a nukleotidových kofaktorů. Je amfibolickým dějem. Není hlavní cestou odbourání sacharidů, je pouze cyklem doplňkovým existujícím převážně pouze v jaterních buňkách savců. V rostlinných buňkách zpracovává cca 20 – 30% vyrobených sacharidů.



11.2.1. Mechanismus pentózového cyklu

Pentózový cyklus se skládá ze dvou hlavních částí – z fáze oxidační a fáze regenerační.

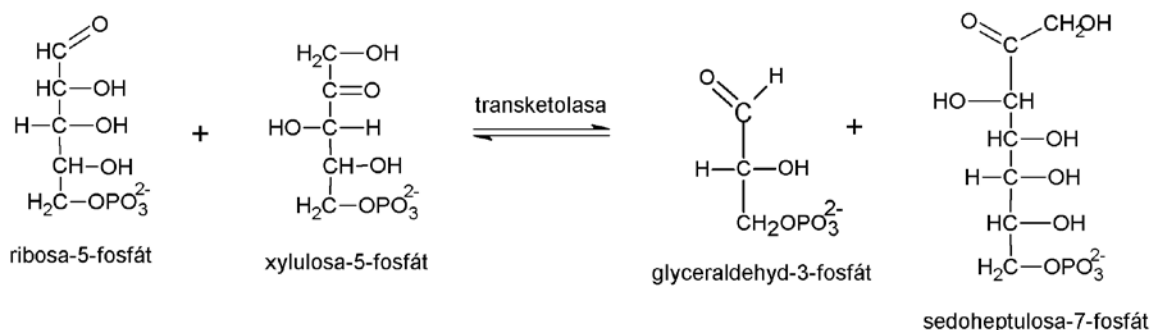
1. Oxidační fáze

Glukóza-6-fosfát se za katalýzy glukóza-6-fosfátdehydrogenázy s kofaktorem NADP^+ oxiduje v první reakci na 6-fosfoglukonolakton, který se v další reakci hydrolyzuje specifickou laktonázou na 6-fosfoglukonát. Působením fosfoglukonátdehydrogenázy opět s kofaktorem NADP^+ se oxiduje C_3 uhlík 6-fosfoglukonátu za vzniku 3-oxo-6-fosfoglukonátu (β -ketokyselina), který samovolně a rychle dekarboxyluje na D-ribulózu-5-fosfát. Větší část D-ribulóza-5-fosfátu se účinkem ketolizomerázy převádí na D-ribózu-5-fosfát, který organizmy používají na syntézu nukleotidů. Zbytek D-ribulóza-5-fosfátu se epimerázou převede na D-xylulóza-5-fosfát, který je zpracováván v regenerační fázi.

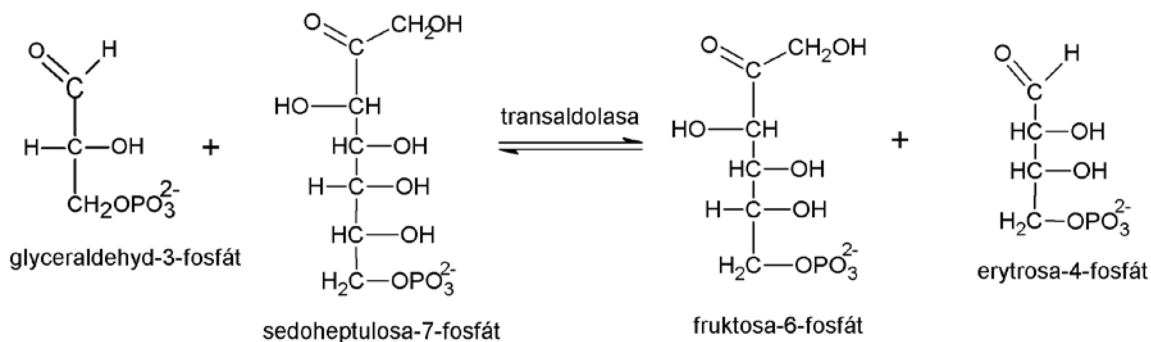
2. Regenerační fáze

V regenerační fázi se nadbytečný a nevyužitelný D-xylulóza-5-fosfát převádí pomocí transketolázy a transaldolázy na glukóza-6-fosfát. Mechanismus regenerační fáze se skládá ze 7 reakcí a využívá acyloinovou reakci, kterou katalyzují transketolázy a aldolizační reakci, kterou katalyzují transaldolázy. První 3 reakce probíhají dvojnásobně.

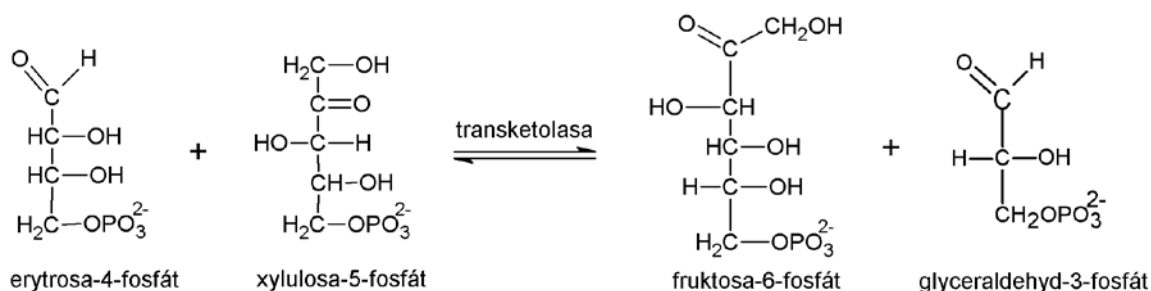
- a) První reakce. D-xylulóza-5-fosfát reaguje s D-ribulózou-5-fosfátem za katalýzy transketolázy, která přenáší dvojici uhlíků (C_1 a C_2) z D-xylulóza-5-fosfátu ve formě glykolaldehydu na C_1 uhlík D-ribulóza-5-fosfátu za vzniku D-sedoheptulóza-7-fosfátu a glyceraldehyd-3-fosfátu.



- b) Druhá reakce. Oba produkty první reakce spolu zreagují za katalýzy transaldolázy, která přenáší trojici uhlíků ($\text{C}_1 - \text{C}_3$) z D-sedoheptulóza-7-fosfátu ve formě dihydroxyacetonu na glyceraldehyd-3-fosfát za vzniku D-fruktóza-6-fosfátu a D-erythróza-4-fosfátu.



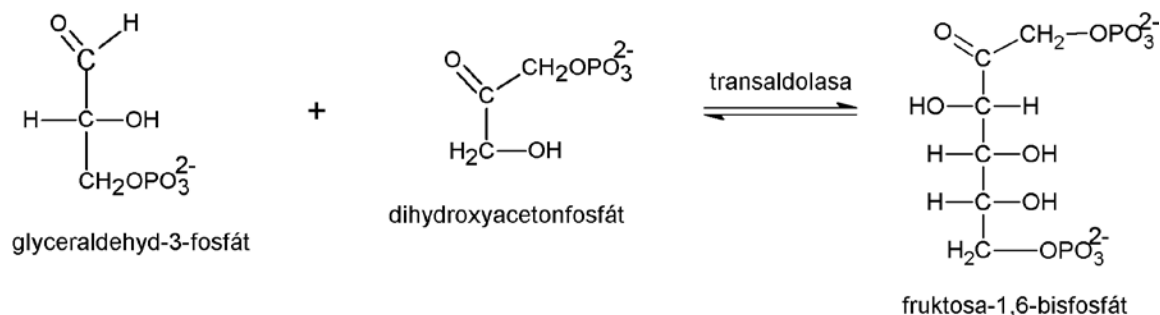
- c) Třetí reakce. Je téměř identická jako první reakce, D-xylulóza-5-fosfát reaguje s D-erythrózou-4-fosfátem za katalýzy transketolázy, která přenáší dvojici uhlíků (C_1 a C_2) z D-xylulóza-5-fosfátu ve formě glykolaldehydu na C_1 uhlík D-erythróza-4-fosfátu za vzniku D-fruktóza-6-fosfátu a glyceraldehyd-3-fosfátu. Těmito reakcemi vznikly 2 molekuly D-fruktóza-6-fosfátu a 1 molekula glyceraldehyd-3-fosfátu. Po opakovaném proběhnutí prvních tří reakcí vzniknou celkem 4 molekuly D-fruktóza-6-fosfátu a 2 molekuly glyceraldehyd-3-fosfátu.



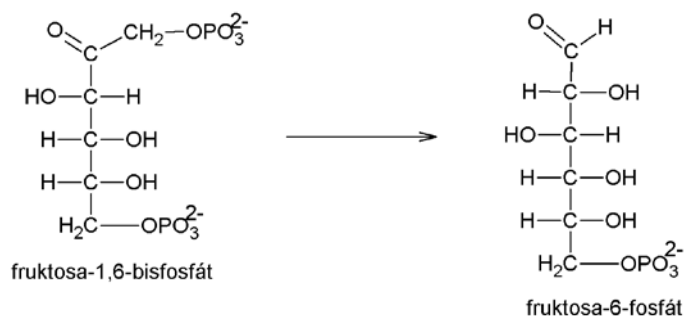
- d) Čtvrtá reakce. Jedna molekula glyceraldehyd-3-fosfátu se pomocí triosafosfátizomerázy izomeruje na dihydroxyacetonfosfát.



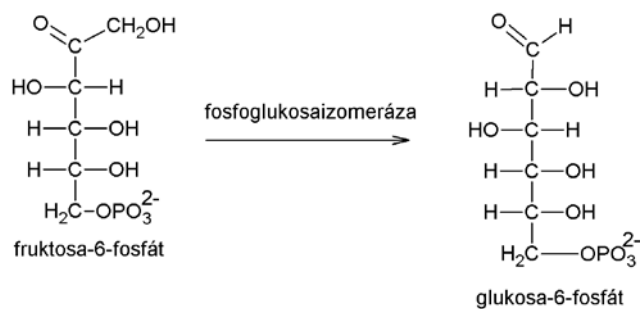
- e) Pátá reakce. Dihydroxyacetonfosfát reaguje za katalýzy transaldolázou s glyceraldehyd-3-fosfátem za vzniku D-fruktóza-1,6-bisfosfátu.



- f) Šestá reakce. D-fruktóza-1,6-bisfosfát je hydrolyzován na pátou molekulu D-fruktóza-6-fosfátu.



- g) Sedmá reakce. Pět molekul D-fruktóza-6-fosfátu je fosfoglukosaizomerázou izomerováno na pět molekul D-glukóza-6-fosfátu.



12. METABOLISMUS LIPIDŮ

12.1. Lipoproteiny

Mezi složené lipidy řadíme dále lipoproteiny vznikající spojením (hydrofobními interakcemi nepolárních oblastí obou složek) lipidů se specifickými bílkovinami zvanými apolipoproteiny. Hlavní význam tohoto spojení spočívá v tom, že bílkovina činí hydrofobní lipidové struktury dispergovatelné a stabilní ve vodném prostředí.

Lipoproteiny jsou pestrá škála látek s různým poměrem lipidové a bílkovinné složky. Lipidové části lipoproteinů tvoří především triacylglyceroly, jsou v nich však přítomná i různá množství fosfolipidů (hlavně lecithinů a sfingomyelinů) a dále volného a esterifikovaného cholesterolu. Triacylglyceroly a cholesterylestery tvoří lipofilní jádro lipoproteinové částice, které obaluje bílkovinná složka, fosfolipidy a neesterifikovaný cholesterol.

Lipoproteiny tvoří součásti buněčných membrán, cytoplasmy buněk, krevní plasmy a vaječného žloutku. Nejprostudovanějšími jsou plasmové lipoproteiny, které zajišťují transport a distribuci lipoproteinů (vstřebaných lipidů) potravy, lipidových hormonů a v tukách rozpustných vitamínů) prostřednictvím krve a lymfatického systému. Fungují též jako regulátory metabolismu lipidů.

12.2. Odbourávání lipidů

12.2.1. Hydrolytické štěpení

Potřebuje-li organismus využít lipidy z potravy nebo z tukových rezerv jako zdroj energie nebo je přeměnit na lipidy, jejichž složení mastných kyselin odpovídá tělesným tukům, musí je odbourat. Prvním krokem tohoto procesu je hydrolytické štěpení, při kterém se přerušují esterové vazby a uvolňují glycerol a mastné kyseliny. Hydrolysu katalysují karboxylesterasy nazývané lipasy. Z fosfolipidů se účinkem fosfolipas ještě odštěpují kyselina fosforečná a aminoalkoholy, z glykolipidů glykosidasami kromě toho i sacharidy.

Lipasy jsou velmi rozšířené enzymy, ve vysoké koncentraci jsou u savců přítomné v pankreasu a střevní stěně. K aktivaci potřebují emulgující látky a vápenaté ionty. Potravou přijaté lipidy štěpí lipasy v gastrointestinálním systému, orgánový tuk je odbouráván orgánovými lipasami (např. jaterními). Některé lipasy mají větší nebo menší specifitu k poloze acylu: např. pankreatické lipasy štěpí v triacylglycerolech pouze esterové vazby na vnějších atomech uhlíku (C_1 a C_3), kdežto střevní i na vnitřním (C_2).

Trávení lipidů začíná u savců v žaludku činností žaludeční lipasy. Intenzivní hydrolysa lipidů však nastává až působením pankreatické lipasy v duodenu (dvanáctníku), kam též vtéká žluč. Z ní vylučované silně povrchově aktivní žlučové kyseliny způsobují emulgaci lipidů a tím usnadňují jejich štěpení. Podobný účinek mají i z lipidů uvolňované mastné kyseliny: spojují se s meziprodukty štěpení, monoacylglyceroly, za vzniku polymolekulových agregátů povahy micel o průměru 3 až 10 nm. Odbourávání lipidů ještě pokračuje v tenkém střevě činností střevních lipas. Pankreatické lipasy štěpí triacylglyceroly na di- a monoacylglyceroly a část mastných kyselin, teprve střevní lipasy rozloží monoacylglyceroly na glycerol a mastné kyseliny.

12.2.2. Vstřebávání a rozvod

Vstřebávání (resorpce) produktů trávení lipidů je velmi složitý proces. Dochází k němu v tenkém střevě buď přímo, nebo za pomoci žlučových kyselin. Vstřebávání odštěpených mastných kyselin závisí na délce jejich řetězce. Mastné kyseliny s kratším řetězcem obsahujícím 10 až 12 atomů uhlíku procházejí z buněk střevní sliznice přímo do krve, kterou jsou přenášeny v neesterifikované formě. Mastné kyseliny s delším řetězcem jsou v buňkách střevní sliznice reesterifikovány na triacylglyceroly. Ty jsou spolu s nehydrolysovanými lipidy obaleny vrstvou lipoproteinu, cholesterolu a fosfolipidů za vzniku kulových částecek o průměru 0,1 až 1 μm , nazývaných chylomikrony. Chylomikrony se potom dostávají procesem připomínajícím obrácenou pinocytosu do krve a lymfy. Krví se lipidy a jejich složky dostávají do jater, kde se dále rozkládají nebo resynthesují. Jaterní lipidy a lipidy z potravy, které neprošly játry, se rozvádějí ve formě lipoproteinových komplexů do jednotlivých tkání.

12.2.3. Odbourávání mastných kyselin cestou β -oxidace

Štěpením lipidů uvolněné mastné kyseliny se používají na resynthesu lipidů nebo se odbourávají. Hlavní energeticky nejvýhodnější cestou je u živočichů, rostlin i mikroorganismů tzv. β -oxidace (3-oxidace). Byla objevena F. Knoopem již v roce 1904, její mechanismus však objasnil F. Lynen až v roce 1951.

β -oxidace je cyklický pochod, který postupně zkracuje řetězec mastné kyseliny vždy o dva atomy uhlíku. Odbourávání se tedy děje po spirále nazývané podle jejího objevitele Lynenova spirála: proces β -oxidace se opakuje tak dlouho, pokud se celá mastná kyselina nerozloží na acetylové zbytky vázané na CoA. Sled reakcí, probíhajících během jednoho cyklu (jednoho závitu spirály), zahrnuje oxidaci na třetím atomu uhlíku s následným odštěpením dvouuhlíkového zbytku ve formě acetyl-CoA.

Vznikající acetyl-CoA může být dále oxidován v citrátovém cyklu nebo může vstoupit do biosynthetických dějů. Vlastní oxidaci na C3 předchází aktivace mastné kyseliny – vznik acyl-CoA – a závěr reakčního sledu tvoří thiolýtické štěpení, při němž produkt β -oxidace, β -oxoacetyl-CoA, se za přítomnosti CoA rozpadá na acetyl-CoA a o dva atomy uhlíku kratší acyl-CoA.

Podívejme se nyní blíže na mechanismus procesu β -oxidace mastných kyselin, který můžeme rozdělit na tři základní fáze:

1. **Aktivace mastné kyseliny.** Mastné kyseliny jsou poměrně nereaktivní, jejich reaktivita se však zvýší, provedou-li se na makroergické thioestery. Tuto aktivaci provádí ligasa (acyl-CoA-synthetasa) za součinnosti CoA a ATP. Reakce je analogická aktivaci aminokyselin v proteosynthese (kap. 5.4.1): je to dvoustupňový děj, reakcí s ATP vzniká přenosem AMP acyladenylát, z něhož se pak acyl přenáší na CoA za vzniku makroergického thioesteru acyl-CoA a uvolnění AMP. K zahájení β -oxidace je tedy zapotřebí jedné molekuly ATP (bez ohledu na délku řetězce mastné kyseliny). Tím, že tato molekula ATP přechází až na AMP, je z ní čerpáno dvojnásobné množství energie než při častější přeměně na ADP. Na aktivaci mastné kyseliny jsou proto zapotřebí dvě jednotky metabolismické energie ATP, jak jsme si vysvětlili v kap. 4.1.6.

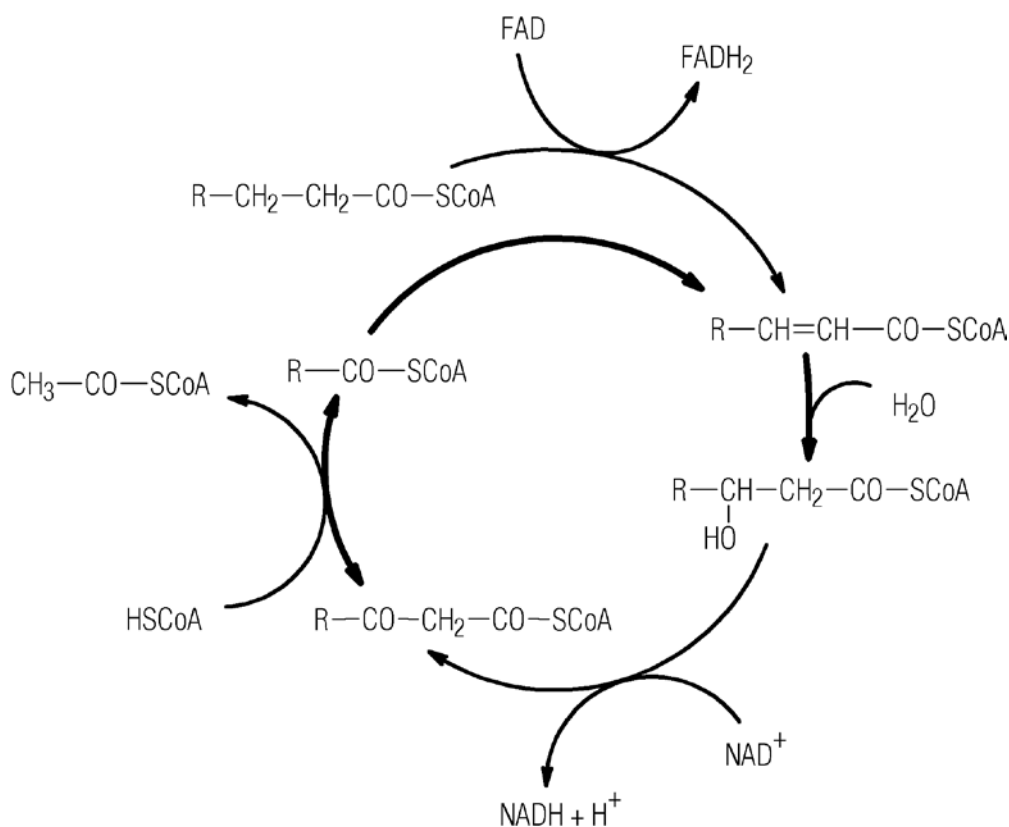
V eukaryotních buňkách probíhá β -oxidace v matrix mitochondrií, podobně jako citrátový cyklus. Volné mastné kyseliny s dlouhým uhlíkovým řetězcem však neprocházejí mitochondriální membránou. Proto jejich aktivace probíhá v cytosolu na vnější straně mitochondriální membrány a vzniklý acyl-CoA je převeden do matrix po vazbě na zvláštní přenašeč, derivát máselné kyseliny zvaný karnitin.

V matrix se acyl přesune na mitochondriální CoA a vstupuje do reakcí Lynenovy spirály. Uvolněný přenašeč, karnitin, se vrací zpět do cytosolu.

2. **Vlastní β -oxidace.** Mechanismus této fáze už vlastně známe – jde o stejný sled reakcí, jaký tvoří konečnou fázi citrátového cyklu, s tím rozdílem, že v citrátovém cyklu probíhají tyto reakce s dikarboxylovými kyselinami, při β -oxidaci s monokarboxylovými. Jde tedy o dvě za sebou jdoucí dehydrogenace s vloženou hydratací.

První dehydrogenaci, za vzniku dvojné vazby mezi C α a C β , provádí flavinová dehydrogenasa (acyl-CoA-dehydrogenasa), adici molekuly vody na tuto dvojnou vazbu za tvorby β -hydroxylacyl-CoA katalysuje lyasa (enoyl-CoA-hydratasa nazývaná krotonasa) a druhou dehydrogenaci pyridinová dehydrogenasa (3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenasa) a vzniká při ní β -oxoacyl-CoA jako konečný produkt 3-oxidace.

3. **Thiolýsa.** Vzniklý β -oxoacyl-CoA je jako thioester velmi labilní a může se thiolýticky štěpit, přičemž mezi C α a C β původní mastné kyseliny vstoupí nová molekula CoA a z řetězce se uvolní C2 jednotka jako acetyl-CoA. Tato reakce je klíčovým stupněm odbourávání a katalysuje ji acyltransferasa β -oxothiolasa (nazývaná též thiolasa).



β -oxidace mastných kyselin je pro buňku významný proces, umožňující jí získávat mnoho molekul ATP s uloženou energií. Postupně odštěpované molekuly acetyl-CoA mohou ihned vstoupit do citrátového cyklu, který též probíhá v matrix mitochondrií, a všechny odebrané aktivované vodíky mohou být oxidovány v mitochondriálním dýchacím řetězci a uvolněná energie může být využita v procesu oxidační fosforylace. Při jednom proběhnutí cyklu β -oxidace se získá jedna molekula FADH₂ a jedna molekula NADH, takže po jejich reoxidaci v dýchacím řetězci lze získat 5 molekul ATP. Další 12 molekul ATP se vytvoří při aerobním odbourání odštěpené molekuly acetyl-CoA.

V rostlinných buňkách probíhá β -oxidace mastných kyselin uvolněných z tukových rezerv, uložených ve sférosomech cytoplasmy, téměř výhradně v glyoxysomech. V těchto organelách je totiž lokalizována většina enzymů glyoxylátového cyklu, umožňujícího přeměnu acetyl-CoA na prekursory sacharidů. Sled reakcí β -oxidace v glyoxysomech odpovídá β -oxidaci ve zvířecích mitochondriích, ale existuje několik rozdílů. Tak předně, acetyl-CoA vznikající štěpením mastných kyselin se většinou využívá v glyoxylátovém cyklu. Dále FADH₂, který se vytvořil při první dehydrogenaci, reaguje přímo s O₂ za vzniku H₂O₂, který je detoxikován glyoxysomální katalasou. Mitochondriální β -oxidace má u rostlin druhotný význam a slouží jen k odbourávání lipidů specifických pro tyto organely.

12.2.4. Odbourávání nenasycených, větvených a lichý počet uhlíkových atomů obsahujících mastných kyselin

Nenasycené mastné kyseliny se odbourávají stejně jako nasycené, až se dvojná vazba dostane do polohy β - γ . Pak zvláštní enzym zajistí přesmyk dvojně vazby z této polohy do polohy α - β . Oxidace pak pokračuje dále po Lynenově spirále s tím rozdílem, že první dehydrogenace odpadá.

β -Oxidací jsou odbourávány nejen vyšší mastné kyseliny lipidů s lineárním dlouhým řetězcem se sudým počtem atomů uhlíku, ale i karboxylové kyseliny vznikající při odbourávání aminokyselin. Ty mohou být větvené a s lichým počtem uhlíkových atomů. Větvené mastné kyseliny se odbourávají β -oxidací až se místo větvení dostane do α - nebo β - polohy ke karboxylu, další reakce už jsou speciální. U mastných kyselin s lichým počtem atomů uhlíku probíhá odbourávání stejným mechanismem jako u kyselin se sudým počtem uhlíkových atomů, na konci Lynenovy spirály však vzniká propionyl-CoA. Propionyl-CoA se buď převede karboxylací na sukcinyl-CoA a slouží k výrobě sacharidů nebo hemu, nebo je odbouráván cyklickým dějem, analogickým citrátovému cyklu.

12.3. Metabolismus glycerolu

Dalším štěpným produktem většiny lipidů je glycerol. Je v úzkém vztahu k triosafosfátům, meziproductům metabolismu sacharidů. Přeměna glycerolu na triosafosfát, zahrnující dehydrogenaci a fosforylaci, naznačuje zapojení glycerolu do celkového metabolismu.

Poslouží-li glycerol jako zdroj energie, poskytne jeho molekula při úplném aerobním odbourání 20 ATP: odbouráním triosafosfátu se získají 2 ATP substrátovou fosforylací, (3-1) ATP z redukováného koenzymu glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasy (1 ATP je zapotřebí na vstup do mitochondrií), 3 ATP při oxidační dekarboxylaci a 12 ATP z aerobní oxidace acetyl-CoA. K tomu přistupují (3-2) ATP z dehydrogenace glycerol-3-fosfátu (1 ATP je zapotřebí na fosforylaci a 1 ATP na vstup NADH do mitochondrií).

13. BÍLKOVINY - METABOLISMUS A ENZYMATICKÉ ŠTĚPENÍ

13.1. Výskyt a význam

Bílkoviny jsou hlavním stavebním materiálem buněk a tkání a současně jsou jediným zdrojem dusíku pro heterotrofní organizmy. Na rozdíl od zásobních sacharidů a lipidů, bílkoviny jsou stavebními a funkčními složkami živých organismů, neustále se odbourávají a znovu se tvoří. Jejich tvorba je ale závislá na dostatečném přísunu bílkovin v potravě. Jejich biologický poločas existence je velmi rozdílný a pohybuje se od několika minut (insulin) až po 180 dnů (svalové bílkoviny). Bílkoviny jsou štěpeny na aminokyseliny a z nich jsou opět syntetizovány nové bílkoviny v procesu zvaném proteosyntéza, který je řízen nukleovými kyselinami. Nadbytečné aminokyseliny jsou zbavovány amoniaku a jejich uhlíkaté skelety jsou odbourávány různými reakcemi na různé metabolity, oxid uhličitý a energii.

13.2. Enzymatické štěpení bílkovin - proteolysa

Štěpení bílkovin katalyzují proteolytické enzymy (proteasy), které se dělí podle místa štěpení bílkovin na: a) endopeptidázy, ty štěpí peptidické vazby uvnitř řetězce bílkoviny za vzniku směsi peptidů různé délky a velikosti, b) exopeptidázy, ty odštěpují pouze koncové aminokyseliny z bílkovinné molekuly. Karboxypeptidázy odštěpují C-koncové aminokyseliny (s volnou $-\text{COOH}$ skupinou), aminopeptidázy odštěpují N-koncové aminokyseliny (s volnou $-\text{NH}_2$ skupinou). Podle mechanismu štěpení a konstrukce aktivního místa dělíme proteasy do 4 skupin na: a) serinové, b) cysteinové, d) metalloproteasy a e) aspartátové.

Podle účelu a místa účinku dělíme proteázy na:

1. Žaludeční endopeptidázy

Hlavní proteázou je pepsin a dále pepsin C (gastricin), u savčích mláďat se v jejich žaludku vyskytuje ještě chymosin, který nahrazuje nedostatečně produkováný pepsin a specificky štěpí mléčnou bílkovinu kasein.

2. Proteasy pankreatické šťávy

Aktivovaná pankreatická šťáva obsahuje 7 odlišných proteáz, které kompletně štěpí bílkoviny z potravy. Jsou to: trypsin, chymotrypsin A, B a C, elastáza a karboxypeptidázy A a B.

3. Enzymy střevní šťávy

Jsou syntetizovány v buňkách tenkého střeva a jsou to: aminopeptidázy a dipeptidázy.

4. Protázy štěpící tkáňové bílkoviny

Jsou většinou lokalizovány v buněčných organelách lysozómech a nazýváme je kathepsiny. Podle struktury se kathepsiny označují velkými písmeny B, D, L, H, S, M a T. Další proteáza lysozómů je kolagenáza, vyskytují se v nich i další hydrolázy: ribonukleáza, deoxyribonukleáza, fosfatáza, arylsulfatáza a glykosidázy.

Účinkem těchto proteáz jsou bílkoviny a peptidy štěpeny na jednotlivé aminokyseliny, které se stávají částí hmotnosti, neboli poolu v organismu. Z tohoto poolu jsou aminokyseliny odebírány na:

- a) syntézu tělních bílkovin,
- b) syntézu jiných biologicky významných dusíkatých látek (nikotinamid, kreatin, purinové a pyrimidinové nukleové báze atd.).
- c) metabolické palivo a zdroj energie při hladovění nebo poruchách metabolismu (diabetes).

13.3. Metabolismus aminokyselin

13.3.1. Transaminace

Transaminační reakcí odstraňují aminoskupinu z aminokyselin převážně savci, kteří vylučují odpadní dusík jako močovinu. Transaminační reakci katalyzují aminotransferázy dříve nazývané transaminasy, jejichž kofaktorem je pyridoxalfosfát (vitamin B6). Aminokyselina se váže aminoskupinou na aldehydickou skupinu pyridoxalfosfátu za vzniku aldiminu (Schiffovy báze), při této reakci dochází k odštěpení vody. Aldimin se tautomerizuje na ketimin, který aduje vodu a štěpí se na α -ketokyselinu a pyridoxamin. Transaminace je vratná, z vhodné fyziologické α -ketokyseliny a pyridoxaminu je možné vyrobit nedostatkovou aminokyselinu pouhým obrácením transaminace. Použitím α -ketoglutarátu se odpadní aminoskupiny shromažďují do kyseliny glutamové, která je za katalýzy glutamátdehydrogenázy rozkládána na amoniak a α -ketoglutarát, který v této reakci cirkuluje. Tuto modifikaci označujeme jako



transdeaminaci. Kofaktorem glutamátdehydrogenázy je NAD^+ (případně i NADP^+), tato jediná reakce představuje výstup z transaminázového ping-pongového mechanismu přenášení aminoskupiny mezi oxokyselinami.

13.3.2. Dekarboxylace

Dekarboxylace je zahajována stejnou reakcí jako transaminace, ze vzniklého aldiminu se rychle odštěpuje karboxylová skupina aminokyseliny jako CO_2 a aldimin se transformuje na chinonimid, který je nestabilní a zpětnou rezonancí se rearomatizuje na aldimin a po adici vody na dvojnou vazbu se štěpí na amin a pyridoxalfosfát. Tyto „biogenní“ aminy mají regulační účinky na fyziologické funkce nervové soustavy a jsou produkovány i v mozku.



13.3.3. Aldolové štěpení

Toto štěpení probíhá jen u aminokyselin nesoucích na β -uhlíku hydroxylovou skupinu a prakticky se týká pouze threoninu a serinu. Prvá reakce je opět stejná jako u transaminace, po vzniku aldiminu se v případě Thr odštěpí acetaldehyd (u Ser vzniká formaldehyd detoxikovaný navázáním na tetrahydrofolát) a rezonančním přesunem dvojných vazeb vzniká chinonimid. Ten zpětnou rezonancí přechází na aldimin, který se po adici vody na dvojnou vazbu štěpí na glycín a pyridoxalfosfát. Na rozdíl od transaminace jsou dekarboxylace a aldolové štěpení nevratnými reakcemi.

13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster aminokyselin.

Odbourání uhlíkových koster všech kódovaných aminokyselin vede k sedmi dvou- až pětiuhlíkatým produktům, které se mohou zapojit do metabolismu sacharidů nebo lipidů. Podle těchto produktů dělíme aminokyseliny do následujících skupin.

1. Glukogenní

Z jejich skeletů vznikají pouze produkty biogeneze sacharidů – pyruvát a oxalacetát, nebo meziproducty citrátového cyklu, které se v něm transformují na oxalacetát. Jedná se o: Ala, Ser, Thr, Cys, Gly, Met, Gln, Glu, Asn, Asp, His, Arg, Pro.

2. Ketogenní

Z jejich skeletů vznikají jeden, nebo dva meziproducty biogeneze lipidů – acetyl-CoA nebo acetoacetyl-CoA. Jedná se o: Val, Leu, Ile, Lys.

3. Glukogenní a ketogenní

Z jejich skeletů vznikají dva meziproducty, jeden je acetyl-CoA nebo acetoacetát a druhý je sukcinát, nebo fumarát. Jedná se o: Phe, Tyr, Trp.

13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster glukogenních aminokyselin.

Třináct kódovaných glukogenních aminokyselin rozdělujeme do tří skupin podle produktu odbourání:

1. Alifatické aminokyseliny se 2 až 4 atomy uhlíku (Ala, Ser, Cys, Thr, Gly)

Alanin poskytuje transaminací pyruvát, serin a threonin poskytují glycín, cystein se oxiduje na cysteinsulfínát a obě tyto sloučeniny reagují transaminací na 3-merkaptopyruvát resp. 3-sulfinylpyruvát, posledním stupněm oxidace cysteinu je cysteát, který dekarboxylací poskytuje biogenní amin – taurin. Glycín se za katalýzy serinhydroxymethyltransferázy převádí na serin a ten je serindehydratázou dehydratován na pyruvát.

2. Kyselina asparagová a asparagin (Asp, Asn)

Asparagin se za katalýzy asparaginázy deaminuje na kys. asparagovou, která se aspartátdehydrogenázou převádí na oxalacetát (transaminace). Kys. asparagová se rovněž účastní ornithinového cyklu, kde se převádí na fumarát.

3. Kyselina glutamová, glutamin, arginin, prolin a histidin (Glu, Gln, Arg, Pro, His)

Glutamin se za katalýzy glutaminsynthetasy (ligáza) deaminuje na kys. glutamovou, která se dále odbourává transaminací, nebo dehydrogenací na 2-oxo-glutarát. Ten vstupuje do citrátového cyklu. Arginin se pomocí arginázy štěpí na ornithin a ten je flavinovou dehydrogenázou převáděn na glutamát- γ -semialdehyd a ten je pomocí dehydrogenázy s kofaktorem NAD^+ oxidován na kys. glutamovou. Prolin je flavinovou dehydrogenázou převáděn na pyrrolin-5-karboxylát a ten je hydrolyzován na glutamát- γ -semialdehyd. Histidin je histidázou deaminován na kys. urokanovou a ta je hydrolyzována nejprve na 4-imidazol-5-yl-3-propionovou kyselinu a dále na N-formiminoglutamovou kyselinu, která se štěpí tetrahydrofolátem kofaktorem na formimino-tetrahydrofolát a kys. glutamovou.

14. DETOXIKACE AMONIAKU U ŽIVOČICHŮ

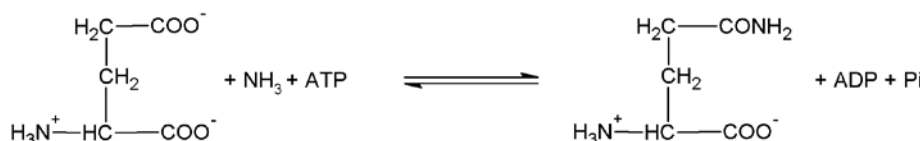
14.1. Metabolismus amoniaku

Zatímco metabolismus uhlíkového skeletu aminokyselin je velmi pestrý, jak jsme viděli v předešlé kapitole, je osud jejich aminoskupin mnohem uniformnější. Buď se tyto skupiny použijí při synthese dusík obsahujících částí biomolekul sloučenin, jako jsou aminokyseliny puriny a pirimidiny, karbamoylové nebo guanidylové deriváty, nebo jsou po převedení na vhodnou odpadní formu z organismu vyloučeny.

14.1.1. Asimilace amoniaku

Důležitou úlohu při využívání amoniaku při biosyntetických dějích mají amidy asparagin a zejména glutamin. Jsou nejen stavebními jednotkami bílkovin, ale jsou též transportéry (lehce přecházejí buněčnou membránou) a donory amoniaku v organismech; vytvářejí jeho určitou latentní rezervu. Asparagin je však metabolicky méně versatilní (mnohostranný) než glutamin a jeho amidový dusík nelze přímo přenášet do syntetických reakcí.

K převedení amoniaku do amidové skupiny glutaminu slouží reakce katalysovaná ligasou glutaminsynthetasou

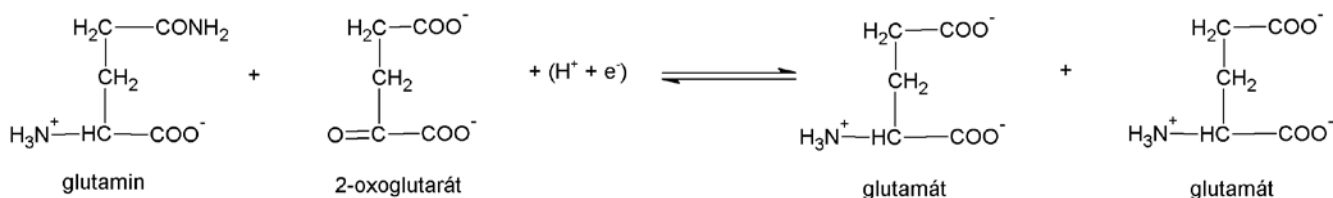


U živočichů probíhá tento děj hlavně v játrech a mozku. Analogicky se tvoří asparagin za katalysy asparaginsynthetasou.

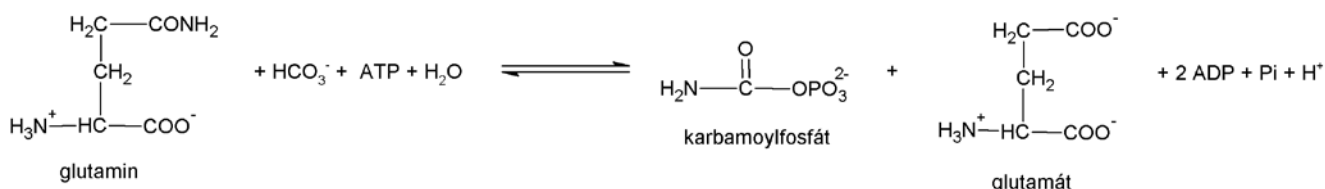
Rostliny ukládají amoniak kromě do glutaminu a asparaginu též do různých alkaloidů.

Amidový dusík glutaminu se uplatňuje při různých reakcích:

- a) Synthesa aminokyselin transaminací. Převedením amoniaku z amidové skupiny glutaminu na 2-oxoglutarát se získá glutamát, vhodný donor aminoskupin pro transaminační reakce. Jde o redukční děj a redukčním činidlem je u plísní a bakterií NADPH, enzym chloroplastů rostlin pak používá redukovaný ferredoxin. Živočichové nemají potřebný enzym, a nemohou proto použít amoniak z jeho latentní zásoby v glutaminu jako zdroj aminoskupin.



- b) Výroba karbamoylfosfátu. Glutamin může dále sloužit jako zdroj dusíku pro syntesu karbamoylfosfátu. Karbamoylfosfát poskytuje atomy C₂ a N₃ při synthese pyrimidinového skeletu a podílí se na tvorbě guanidylové skupiny argininu. V mitochondriích jaterních buněk savců vzniká karbamoylfosfát přímo z amoniaku bez účasti glutaminu. Jak je dále uvedeno, touto reakcí je zaváděn amoniak do močovinového cyklu sloužícího k jeho detoxikaci a exkreci u savců. Tento děj může být používán též k výrobě argininu má-li živočich schopnost syntetizovat ornithin.



- c) Synthesa purinů. Glutamin poskytuje dusíkové atomy N3 a N9 purinového kruhu a 2-aminoskupinu guaninu.
d) Synthesa dalších dusíkatých látek. Dusík amidové skupiny glutaminu je dále používán při synthese histidinu, aminocukrů a při aminaci UTP za vzniku CTP.
e) Transfer amoniaku na aspartát. V některých organismech se amidová skupina glutaminu přenáší na aspartát činností asparaginsynthetasy.

Hlavní formy vstupu amoniaku do metabolismu jsou tedy glutamin, glutamát a karbamoylfosfát.

14.1.2. Vylučování amoniaku

Pro živočišné buňky je volný amoniak už v nízkých koncentracích toxický. Je proto hlavní formou odpadního dusíku jen u vodních živočichů; ve vodním prostředí se přebytečný snadno rozpustný amoniak vylučovaný žábami rozptýlí a tím ztratí svůj toxický účinek. Těmto organismům říkáme amonotelní. Kostnaté ryby (teleosty) amoniak ještě detoxikují metylací a oxidací na trimethylaminooxid ($(\text{CH}_3)_3\text{N} \rightarrow \text{O}$).

U živočichů, jejichž embryonální vývoj probíhá za nedostatku vody a v omezeném prostředí (nepropustná skořápka vajec), je amoniak metabolisován až na močovou kyselinu (trioxopurin), která pro svou malou rozpustnost není toxická. Těmto organismům, vylučujícím suspensi pevné močové kyseliny, říkáme urikotelní; jsou to vejcorodí (plazi a ptáci) a chrupavčité ryby (paryby), např. žraloci.

U savců, u nichž se embryo vyvíjí v dostatku plodové vody a jeho oběh je spojen s oběhem matky, je hlavním dusíkatým odpadním produktem rozpustná močovina (urea); těmto organismům proto říkáme ureotelní. Ve formě močoviny odchází u savců 80 až 90 % celkového dusíku konečných dusíkatých metabolitů. Zbytek slouží k neutralizaci kyselin a je pak vylučován močí ve formě amonných solí a nepatrného množství volného amoniaku. Amoniak určený k odstranění je předáván do krevního oběhu hlavně v amidové skupině glutaminu a aminové skupině alaninu. Glutamin a alanin jsou přijímány játry, kde probíhá syntéza močoviny, a ledvinami, kde přecházejí ionty NH_4^+ do moči (jejich hlavním zdrojem je glutamin).

Na rozdíl od živočichů rostliny obecně dusík nevylučují; je pro ně faktorem limitujícím jejich růst. Transformují proto odpadní amoniak do sloučenin, které jsou deponovány v rostlinných skladových orgánech. Mohou je tvořit močovina, aminokyseliny arginin, citrulin a glutamin, dále alantoin a allantová kyselina a L-kanavanin (2-amino-4-guanidino-3-hydroxybutyrát).

14.2. Tvorba močoviny

Močovina se tvoří u ureotelních živočichů speciálním metabolickým pochodem, kterému říkáme močovinový, ureosynthetický nebo ornithinový cyklus nebo též malý Krebsův cyklus. Byl to první cyklický metabolický děj, který byl objeven (H. Krebs a K. Henseleit 1932). I když probíhá při degradaci bílkovin a detoxikaci amoniaku, tedy při jejich katabolismu, je to vlastně děj biosynthetický.

Do ureosynthetického cyklu vstupuje jedna molekula CO_2 a dvě aminoskupiny, pocházející z aminokyseliny ornithinu. Tato část probíhá zhruba ve všech organismech schopných biosyntézy argininu. Avšak pouze ureotelní živočichové mají vysokou hladinu enzymu arginasy, která katalyzuje hydrolytické štěpení argininu na močovinu a ornithin. Močovina, neutrální, ve vodě rozpustná látka, se pak vyloučí močí a ornithin je k dispozici pro další cyklus děje.

14.2.1. Ureosynthetický cyklus

Tento cyklus probíhá nepřetržitě v játrech. Je velmi intenzivní. U dospělého zdravého a náležitě živého člověka se denně vytvoří a vylučuje v průměru 25 až 35 g močoviny (asi 0,5 mol). Přechází do krve a v ledvinách se z krve dostává glomerulární filtrací do moče.

Buňky, které nemají všechny enzymy potřebné k syntéze močoviny, detoxikují amoniak vazbou na glutamát, za vzniku glutaminu. Ten je pak přenášen krví do jater, kde odevzdá amoniak do močovinového cyklu a menší část do ledvin, kde glutaminasou uvolnění amoniak neutralizuje kyseliny, vznikající v metabolismu a vylučuje se s nimi močí.

Děj realizovaný ureosynthetickým cyklem lze vystihnout sumární rovnicí

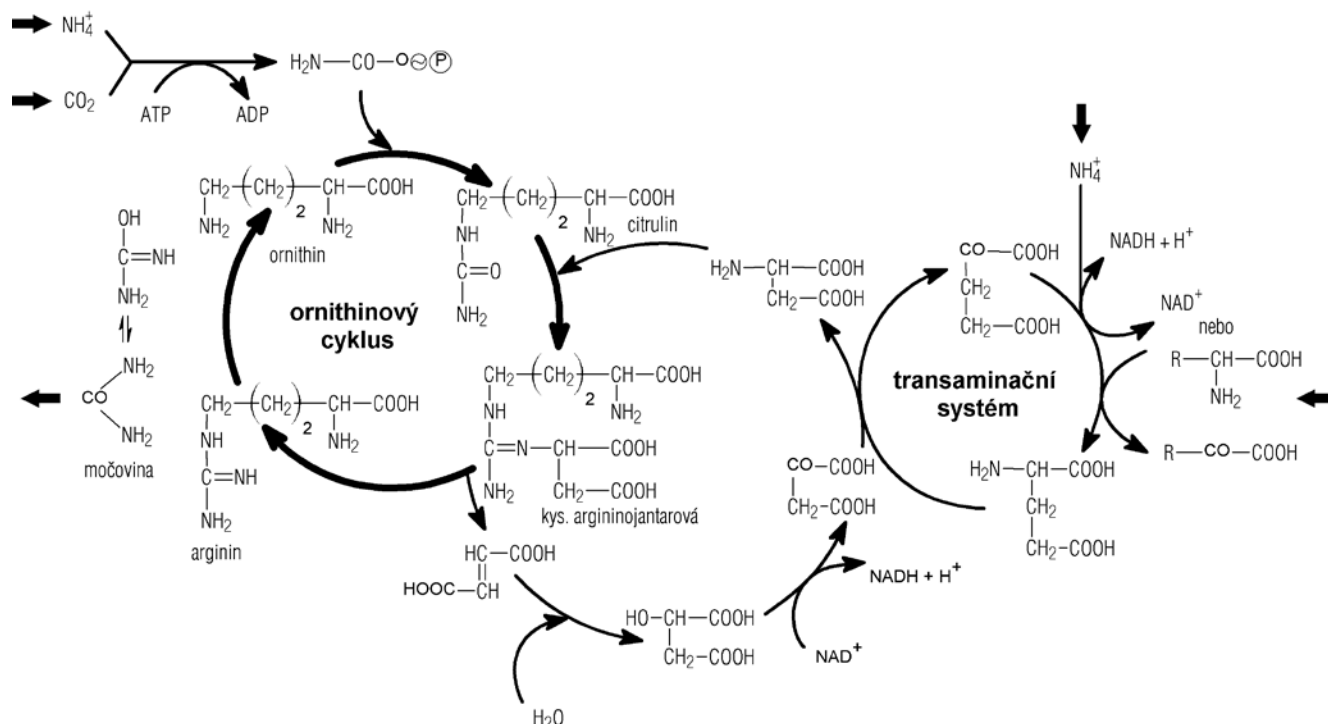


Tato reakce je silně exergonická a její průběh je umožněn tím, že se na její realizaci podílejí energií bohaté meziprodukty. V zájmu odstranění toxického amoniaku jeho převedením na neškodnou ve vodě výborně rozpustnou látku musí proto organismus vynakládat značné množství energie.

Proces se rozpadá do pěti dílčích dějů:

- 1. Tvorba Karbamoylfosfátu.** Fosforečný ester karbamové kyseliny je aktivovaný vstupní produkt, který vnáší do cyklu jednu aminoskupinu, pokutovanou hlavně glutamátem, vznikajícím z transportní formy aminoskupin, glutaminu, jak už jsme si vysvětlili. Synthesu karbamoylfosfátu vystihuje rovnice
Probíhá v matrix mitochondrií, kde je dostatek CO_2 , který je zdrojem uhlíku pro karbamoylfosfát; CO_2 je uvolňován dekarboxylačními reakcemi citrátového cyklu a dekarboxylací pirimidinů.
- 2. Vznik citrulinu.** V další reakci, probíhající opět v matrix mitochondrií, se karbamoylová skupina přenáší na δ -aminoskupinu aminokyseliny ornithinu za vzniku citrulinu a uvolnění fosfátu. Citrulin pak vystoupí z mitochondrií do cytoplasmu, kde se odehrávají další reakce cyklu.

3. **Zapojení druhé aminoskupiny: kondensace citrulinu s aspartátem.** Pro vznik argininu je zapotřebí další aminoskupina. Přináší ji do cyklu aspartát za tvorby argininosukcinátu. Vznik této makroergické sloučeniny katalysuje ligasa argininosukcinátsynthetasa za použití energie odpovídající dvěma jednotkám ATP: ATP se štěpí na AMP a PPi, který se dále hydrolysuje na 2 Pi
4. **Štěpení argininosukcinátu na arginin a fumarát.** Aminoskupiny aspartátu tedy vytvoří arginin, zatímco jeho uhlíkový skelet zůstává zachován a uvolní se jako fumarát. Vznik fumarátu umožňuje napojení močovinového cyklu na citrátový cyklus. Fumarát se v citrátovém cyklu přemění přes malát na oxalacetát, z něhož transaminací může opět vznikat aspartát pro další cyklus výroby močoviny. Při přeměně malátu na oxalacetát se navíc získají dva aktivované atomy vodíku, ekvivalentní 3 jednotkám ATP, o něž se sníží energie potřebná na syntézu močoviny.
5. **Štěpení argininu.** Arginin, uvolněný rozpadem argininosukcinátu, se hydrolyticky štěpí za katalysy arginasou na močovinu a ornithin, čímž se cyklus uzavírá. Ornithin přechází z cytosolu zpět do mitochondrií, kde zahajuje další reakční cyklus. Jak už jsme uvedli, močovina postupně přechází do moči.



Při špatné funkci ledvin se močovina spolu s dalšími odpadními látkami hromadí v organismu (mluvíme o uremii), což by vedlo k jeho zániku. K odstraňování těchto látek z krve nemocných se používá dialýza na umělé ledvině.

Semena rostlin, mikroorganismy a bezobratlí obsahují vysoce specifický enzym ureasu, který štěpí močovinu na amoniak a oxid uhličitý. Ureasa ze sojových bobů byla prvním enzymem připraveným v krystalické formě (J.B. Summer 1926).

Pokud se týče energetické stránky močovinového cyklu, je k jeho průběhu potřebná energie odpovídající čtyřem jednotkám ATP: dvě jsou zapotřebí na syntézu karbamoylfosfátu a další dvě na kondensaci citrulinu s aspartátem. Zapojením fumarátu do citrátového cyklu lze však uhradit tři jednotky ATP. Čistý výdej energie tedy představuje 1 ATP na 1 molekulu močoviny.

14.3. Odbourávání nukleových kyselin

Nukleové kyseliny mají v organismech mimořádné postavení: slouží k uložení a zpracování genetické informace. Obměně podléhají pouze RNA. DNA se neodbourává ani v eukaryotních ani v prokaryotních buňkách. Při dělení buněk se DNA novou syntésou zdvojuje. Jako stavební materiál slouží produkty odbourávání sacharidů a bílkovin. Odbourávání veškeré DNA nastává jen u mrtvých buněk nebo při tvorbě bezjaderných buněk (např. zralé erythrocyty).

Nukleové kyseliny z potravy jsou během trávení hydrolyzovány na stavební jednotky, které jsou pak oxidačně degradovány. Protože však většinou nejsou využívány jako zdroj metabolické energie ani stavebního materiálu, neřadíme nukleové kyseliny mezi živiny.

14.3.1. Hydrolysa na stavební jednotky

Při trávení nukleových kyselin a nukleoproteinových komplexu potravy se účinkem HCl v žaludku nejprve odštěpí bílkovinná složka (histon, protamin a další), která se hydrolyzuje za katalysy proteolytickými trávicími enzymy.

Rozpad na nukleotidy uskutečňují hydrolasy ze skupiny fosfodiesteras (polynukleotidas) nazývaných též nukleasy. Jsou buď deoxyribo-, nebo ribonukleasy a endo- nebo exonukleasy.

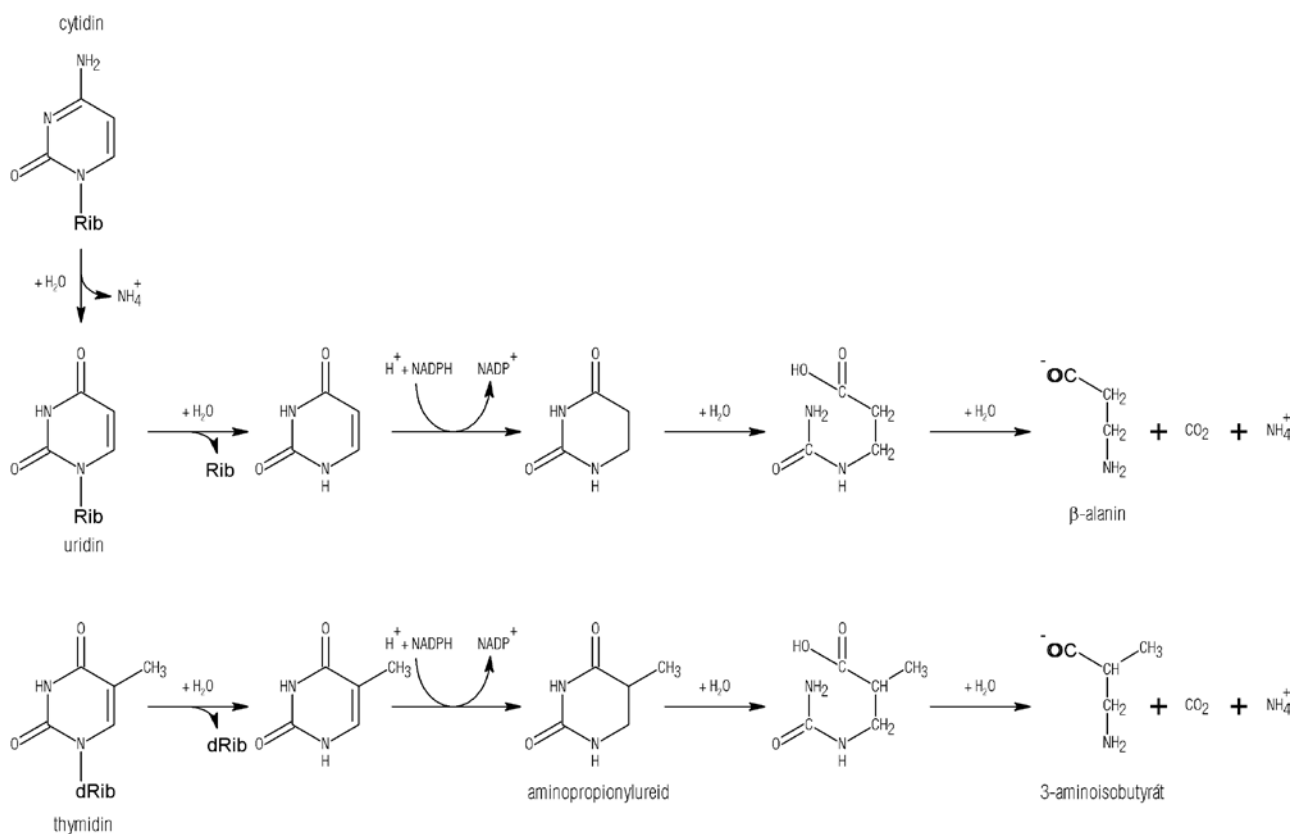
Hydrolytické štěpení nukleotidů pokračuje za katalysy mononukleotidasami (fosfomonoesterasami) a uvolňuje se kyselina fosforečná. Tyto enzymy jsou velice rozšířené a štěpí i fosforečné estery cukrů. Říkáme jim též, i když nesprávně, fosfatasy. Při trávení se uplatňují tzv. alkalické fosfatasy s optimem účinnosti při pH kolem 8.

Nukleosidy se štěpí hydrolysou glykosidové vazby mezi pentosou a basí za součinnosti nukleosidas (nukleosidfosforylas) ze skupiny glykosidas. Zdá se, že štěpení katalyzované těmito enzymy probíhá spíše fosforolyticky než hydrolyticky, kdy za přítomnosti kyseliny fosforečné nebo i difosforečné vznikne pentosa-1-fosfát (nebo 1-difosfát).

Odbourávání tkáňových ribonukleových kyselin v rámci jejich neustálé obnovy probíhá, stejně jako v případě bílkovin, hlavně v lysosomech.

14.3.2. Odbourávání pyrimidinových basí

Oxidační odbourávání pyrimidinových basí probíhá u různých organismů různě. Např. hlavní cesta u živočichů zahrnuje redukci uracilu a thyminu za vzniku plně hydrogenovaného kruhu. U cytosinu nastává hydrogenace po jeho deaminaci na uracil. Následuje otevírání kruhu mezi N₁ a C₆, čímž z uracilu a na něj převedeného cytosinu vzniká karbamoyl-β-alanin (β-ureidopropionát) a z thyminu karbamoyl-β-aminobutyryát. Tyto aminokyseliny se dále hydrolyzují na β-alanin, resp. β-aminoisobutyryát a karbamát, který se rozpadá na CO₂ a NH₃. β-Alanin a β-aminoisobutyryát se dále metabolizují jako aminokyseliny; β-alanin může být též využit na výrobu CoA, dipeptidů eserinu a karnosinu apod.

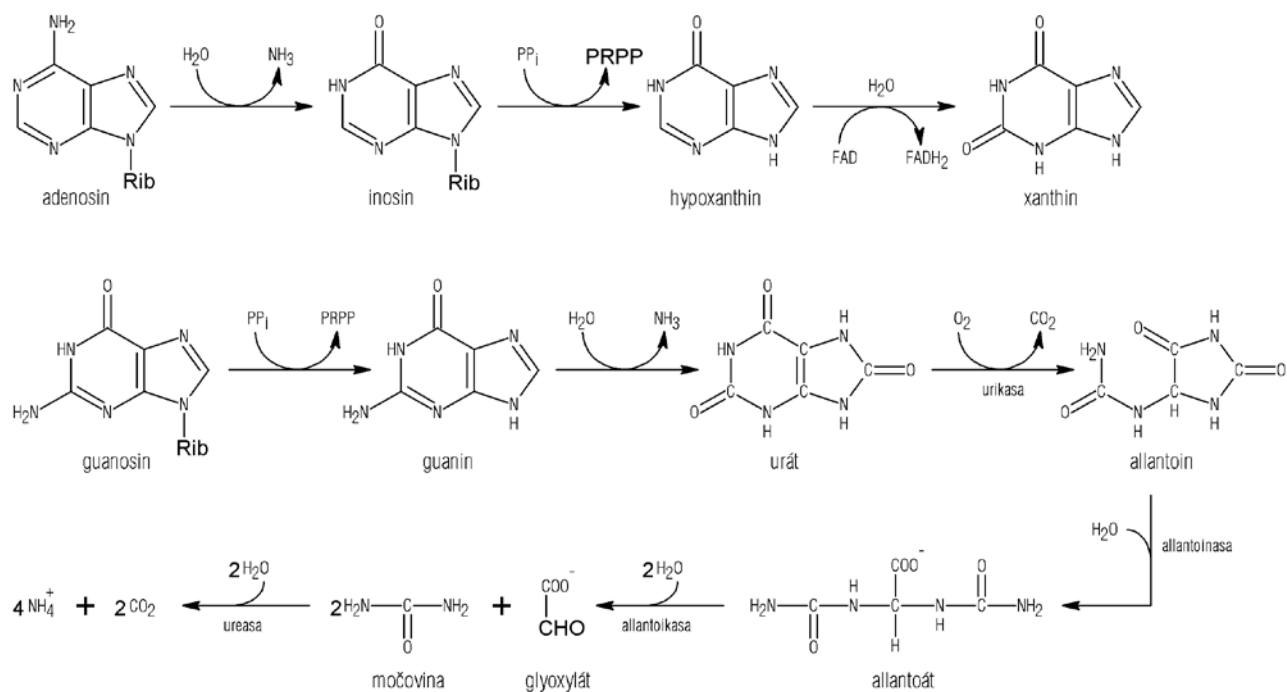


14.3.3. Odbourávání purinových basí

Většina purinových derivátů se odbourává v organismech na urát. Oxidace guaninu začíná z volní base, oxidace adeninu z nukleosidu adenosinu. Ribosový zbytek je odštěpován fosforolyticky jako 5-fosfo-α-D-ribosyl-1-difosfát (PRPP)

Xanthin je dále oxidován až na urát (anion močové kyseliny trioxopurinu).

Oxidaci hypoxanthinu přes xanthin na urát katalyzuje xanthinoxidasa, flavoproteinový enzym, obsahující molybden a železo. Stejně jako jiné flavinové oxidasy přenáší odebrané atomy vodíku přímo na molekulový kyslík. Jeho redukci vzniklý H₂O₂ je pak katalasou rozkládán na H₂O a O₂.



U primátů, ale i u ptáků, některých plazů a některých druhů hmyzu je urát konečným produktem degradace purinů a je vylučován močí. Savci s výjimkou primátů a též plazi, plži a dvoukřídle hmyz oxidují urát dále na allantoin, který vylučují. U obojživelníků, mlžů a většiny ryb pokračuje odbourávání na allantoát, který se hydrolyzuje na dvě molekuly močoviny a jednu molekulu glyoxylátu.

15. BIOSYNTÉZY SACHARIDŮ, AMINOKYSELIN, LIPIDŮ A NUKLEOTIDŮ

15.1. Biosyntéza sacharidů

Biosynthesa (biogenese) sacharidů z malých molekul prekursorů je jedním z nejdůležitějších procesů biosféry, protože je hlavním dějem, kterým autotrofní organismy vytvářejí z CO_2 a H_2O pohlcením sluneční energie organickou hmotou. Heterotrofy používají pro výrobu sacharidů tři až čtyřuhlíkaté organické molekuly (vyjímecně i dvojuhlikové), vzniklé během katabolismu. Jsou to pyruvát, laktát, glycerol, meziprodukty citrátového cyklu a u rostlin a některých mikroorganismů i acetyl-CoA. Této „novotvorbě“ glukosy z necukerných zdrojů, sloužící k doplnění její hladiny v organismu, říkáme glukogenese nebo glukoneogenese; většina autorů dnes dává přednost druhému názvu. Pokud na tento děj navazuje výstavba oligo- a polysacharidů užívá se termín glykoneogenese.

V této kapitole si popíšeme výrobu sacharidů u heterozygotů a začneme hlavní cestou glukoneogenese (na níž se napojuje i výroba z CO_2 u autotrofů), vedoucí od pyruvátu ke glukose.

15.1.1. Přeměna pyruvátu na glukosu

Dalo by se očekávat, že výroba glukosy z pyruvátu, resp. laktátu, který na pyruvát snadno přechází, bude probíhat jako zvrat Embdenova-Meyerhofova-Parnasova schématu. Většina reakčních stupňů v biosynthese glukosy je katalyzována enzymy glykolýzy, a probíhá tedy brácením reakcí užitých při odbourávání glukosy. U tří reakcí je však rovnováha silně posunuta ve směru glykolýzy. Jejich zvrat by byl za fyziologických podmínek energeticky příliš náročný, a proto probíhají jiným mechanismem (pomocí jiných enzymů), jedna dokonce většinou oklikou. Týká se to vstupní reakce, přeměny pyruvátu na silně makroergický fosfoenolpyruvát, a dále odštěpování fosforylových skupin z fruktosa-1,6-bisfosfátu a glukosa-6-fosfátu.

Různé buňky využívají tři rozličné cesty k přeměně pyruvátu na fosfoenolpyruvát. Pouze některé bakterie dovedou tuto reakci realizovat jako jednostupňový děj, spočívající v přímé karboxylaci pyruvátu katalyzované enzymem z třídy ligas, fosfoenolpyruvátsynthetasou a probíhající v cytosolu. Jiné mikroorganismy, rostliny i živočichové přeměňují pyruvát na fosfoenolpyruvát oklikou přes oxalacetát, vznikající karboxylací pyruvátu. Vznik oxalacetátu katalysuje pyruvátkarboxylasa, která je v eukaryotních buňkách vyšších organismů lokalizována výhradně v mitochondriích, kam pyruvát snadno přechází. Oxalacetát je pak dekarboxylován a současně fosforylován na fosfoenolpyruvát za účasti fosfoenolpyruvátkarboxykinasy. Podle druhu buněk se může tento enzym vyskytovat buď v mitochondriích, nebo v cytosolu. V prvním případě vzniká fosfoenolpyruvát v mitochondriích a odtud přechází do cytoplazmy, kde probíhají ostatní reakce glukoneogenese. V druhém případě se však musí zprostředkovat přenos oxalacetátu, který neprochází mitochondriální membránou, do cytoplazmy. Umožňuje to přeměna oxalacetátu na malát, který membránou prochází; v cytoplazmě se pak zpětně převádí na oxalacetát.

Přeměny fosfoenolpyruvátu přes fosfoglycerát a glyceraldehydrofosfát až na fruktosa-1,6-bisfosfát už probíhají reverzí reakcí glykolýzy. Reakce katalyzovaná fosfofruktokinásou však je prakticky nevratná. Proto odštěpení jedné z fosforylovaných skupin z molekuly fruktosa-1,6-bisfosfát katalysuje jiný enzym (pracující jiným mechanismem) fruktosabisfosfataasa. Vzniklý fruktosa-6-fosfát se pak snadno přemění na glukosa-6-fosfát, který buňka může využít pro syntézu oligo- nebo polysacharidů. Je-li však hladina glukosy v organismu nízká, přeměňuje se glukosa-6-fosfát na glukosu, a to za katalýzy glukosa-6-fosfatasou, která je lokalizovaná v endoplazmatickém retikulu.

Na výrobu molekuly glukosy je zapotřebí dvou molekul pyruvátu. Na přeměnu každé na fosfoenolpyruvát se musí vynaložit energie 1 ATP a 1 GTP, na fosforylaci 3-fosfoglycerátu na 1,3-bisfosfoglycerát další 1 ATP a při redukci fosfoglycerátu na glyceraldehydrofosfát 1 NADH, který je ekvivalentní 3 ATP. Výdaj energie při biosynthese glukosy je tedy $2 \times 6 \text{ ATP} = 12 \text{ ATP}$. Pro srovnání – při zpětném odbourávání glukosy získá aerobní organismus 8 ATP (2 ATP substrátovými fosforylacemi a 6 ATP ze 2 NADH).

Hlavním místem glukoneogenese u savců jsou jaterní buňky, u nichž se shromažďuje laktát, nahromaděný v intenzivně pracujících svaích. Ten se přeměňuje laktátdehydroge-nasou na pyruvát, z kterého se syntetisuje glukosa-6-fosfát, a z něho se pak vyrábí jaterní glykogen. Glukoneogeneze však probíhá i v jiných orgánech, především v ledvinách a dále v mozku, v srdečním svalu a v kosterních svaích. Promotorem (zahajovatelem) glukoneogenese jsou hormony glukagon a adrenalin, jejichž působením je zprostředkováno cAMP.

15.1.2. Biosynthesa glukosy z dalších prekursorů

Popsaná cesta biosynthesy glukosy z pyruvátu umožňuje výrobu sacharidů též z různých předstupňů pyruvátu a fosfoenolpyruvátu. Nejdůležitější z nich jsou meziprodukty citrátového cyklu. Oxidují se na oxalacetát, který je účinkem fosfoenolpyruvátkarboxykinasy přeměňován na fosfoenolpyruvát. Na meziprodukty citrátového cyklu

jsou přeměňovány uhlíkové kostry většiny aminokyselin. Aminokyseliny, které mohou poskytnout prekursory na výrobu sacharidů, se označují jako glukogenní aminokyseliny.

Glukogenní aminokyseliny slouží u živočichů jako zdroj na výrobu glukosy při nedostatečném přísunu potravy. Když organismus hladoví, uvolňují se glukokortikoidy (např. kortison) z endokrinní žlázy nazývané kůra nadledvin. Tyto hormony stimulují enzymy glukogeneze v játrech a též činí buňky citlivější na cAMP a tím i na účinek glukagonu. Výsledkem je zvýšení glukogeneze u hladovějších organismů.

Výchozím materiálem pro výstavbu sacharidů mohou být i produkty odbourávání lipidů. Odbouráváním mastných kyselin vznikající acetyl-CoA mohou k výrobě sacharidů použít pouze rostliny a některé mikroorganismy. Umožňuje jim to glyoxylátový cyklus. Jeho produkt, sukcinát, se reakcemi citrátového cyklu postupně přemění na oxalacetát, který přechází za katalýsy fosfoenolpyruvátkinasy na fosfoenolpyruvát. Pro syntézu jedné molekuly glukosy je zapotřebí dvou molekul fosfoenolpyruvátu, tedy čtyř molekul acetyl-CoA. Jak jsme si výše uvedli, na přeměnu oxalacetátu na glukosa-6-fosfát je zapotřebí celkem 10 ATP (odpovídající 2 ATP potřebné při karboxylaci pyruvátu). Ze čtyř acetyl-CoA získáme v glyoxylátovém cyklu vedle dvou sukcinátů 2×1 NADH (odpovídající 6 ATP) a při přeměně dvou sukcinátů na dva oxalacetáty v citrátovém cyklu 2×1 FADH₂ (4 ATP) a 2×1 NADH (6 ATP), tedy celkem 16 ATP. Při vzniku molekuly glukosy ze čtyř acetyl-CoA se tedy současně vytvoří 6 ATP jako energetický zisk.

15.1.3. Biosynthesa oligo- a polysacharidů

Ke zvratu fosforolýsy glykogenu není v buňkách dostatečná koncentrace glukosa-1-fosfátu. Enzym glykogenfosforylase se proto podílí pouze na odbourávání glykogenu, biosynthesa (glykogenese) neprobíhá obrácením fosforolýsy. Dochází k ní postupným napojováním monomerních jednotek v silně aktivované formě, tedy transglykolysací za účasti glykosyltransferas. K zahájení reakce je nutný primer, který tvoří malá molekula glykogenu, na kterou se přenášejí z UDP-glukosy další hexosové jednotky.

Z aktivovaných stavebních jednotek UDP-glukosy se budují i molekuly rostlinných škrobů a také živočišné a rostlinné oligosacharidy. Např. sacharosa vzniká napojením aktivovaného zbytku glukosy na fruktosu, laktosa napojením na galaktosu.

Četné mikroorganismy používají na výstavbu polysacharidů disacharidy: z jedné jejich složky vyrábějí polysacharid, druhou užívají k získání potřebné energie.

15.2. Biosyntéza aminokyselin

Schopnost biosynthesy aminokyselin je u různých organismů různá. Rostliny dovedou vyrábět všechny aminokyseliny za použití NH₄⁺, NO₃⁻ nebo NO₂⁻ jako zdroje dusíku, bobovité rostliny v symbióse s určitými bakteriemi dokonce vycházejí z N₂. Mikroorganismy se ve schopnosti syntézy aminokyselin zřetelně liší. Většina vyžaduje NH₄⁺ jako zdroj dusíku, některé bakterie a houby však jsou stejně jako rostliny schopné využívat i NO₃⁻ a NO₂⁻. Jak už jsme si uvedli, existují i mikroorganismy, pro které jsou určité aminokyseliny esenciální.

Živočichové musí používat k výrobě aminokyselin dusík organicky vázaný v aminokyselinách uvolněných hydrolýsou bílkovin potravy nebo vlastních tkání. Řadu kódovaných aminokyselin nedovedou vůbec syntetizovat a musí je získávat potravou nebo štěpením tkáňových bílkovin. Říkáme jim esenciální (nepostradatelné) aminokyseliny, ostatním pak neesenciální nebo relativně postradatelné. Pro člověka jsou esenciální větvené aminokyseliny valin, leucin a isoleucin, aromatické fenylalanin a tryptofan, dále threonin, methionin a lysin. Histidin a arginin jsou postradatelné jen v dospělosti, v době vývoje v dětském věku jsou též esenciální. Další dvě aminokyseliny jsou „podmíněně postradatelné“ pouze při dostatku esenciálních aminokyselin, z nichž se tvoří; jsou to tyrosin, vznikající z fenylalaninu, a cystein syntetizovaný z methioninu.

Podívejme se nejprve na syntézu neesenciálních aminokyselin, tak jak je provádí většina organismů.

Alanin a aspartát jsou vyráběny jednostupňovou přeměnou pyruvátu, resp. oxalacetátu. Jde o transaminační reakci s pyridoxalfosfátem jako kofaktorem a glutamátem jako zdrojem aminoskupiny nebo o obrácení procesu oxidační deaminace, tj. o redukční aminaci přes aminokyselinu. Amidy asparagin a glutamin vznikají amidací. Další jednostupňovou syntézou neesenciálních aminokyselin je u savců probíhající hydroxylace esenciální aminokyseliny fenylalaninu na tyrosin. Glutamát se tvoří redukční aminací z 2-oxoglutarátu, tedy obrácením reakce, která slouží k regeneraci 2-oxoglutarátu při transaminačních reakcích. Glutamát je dále prekursorem další neesenciální aminokyseliny prolinu, který vzniká obrácením jeho odbourávání přes γ -semialdehyd. Glutamát se dále spolu s aspartátem podílí na biosyntéze argininu jako donor aminoskupiny. Prekursorem argininu je nekódovaná aminokyselina ornithin a syntéza je součástí ureosyntetického cyklu, při jehož popisu jsme si též výrobu argininu uvedli.

Uhlíkové skelety aminokyselin pocházejí z meziproduktů glykolýsy, pentosového nebo citrátového cyklu.

Serin se syntetisuje z 3-fosfoglycerátu, meziprojektu glykolýzy. Prvním stupněm je oxidace na 3-fosfohydro-pyruvát. Tato α -oxokyselina je pak transaminována na 3-fosfoserin, jehož hydrolysou vzniká serin.

Serin je prekursorem glycinu a cysteinu. Při synthese glycinu se odstraní β -uhlíkový atom postranního řetězce serinu přesunem na tetrahydrofát, nosič jednouhlíkových jednotek.

Serin + tetrahydrofát $\leftrightarrow$ glycin + methylenetetrahydrofát + H_2O

V obráceném směru probíhá tato reakce při odbourávání glycinu (kap. 4.6.4). Reakce je katalysována serinovou transhydroxymethylasou s PLP jako kofaktorem. Vazba mezi α - a β -atomy uhlíku serinu se stabilizuje tvorbou Schiffovy base serinu s PLP. β -uhlíkový atom je pak přesunut na tetrahydrofát.

Glycin může vznikat též z CO_2 a NH_4^+ a methylenetetrahydrofátu za katalysy glycinsynthasou. Obrácením výše uvedené reakce se pak může z takto vyrobeného glycinu tvořit serin.

Serin přechází na cystein nahrazením kyslíkového atomu postranního řetězce za atom síry. Jeho zdrojem je esenciální aminokyselina methionin, syntetisovaná z asparátu, jak je dále uvedeno. Meziprojekt této synthesy se kondensuje se serinem za vzniku cystathioninu. Ten je deaminován a štěpen na cystein a 2-oxoglutarát, zatímco při synthese methioninu se cystathion štěpí na druhé straně atomu síry a vzniká homocystein a pyruvát. Enzymy obou reakčních stupňů jsou lyasy a používají PLP jako kofaktor.

Prekursory zbývajících esenciálních aminokyselin jsou pyruvát a aspartát. Threonin a methionin se tvoří z homoserinu, vznikajícího z asparátu přes aspartylfosfát a aspartátsemialdehyd

Threonin vzniká fosforylací homoserinu, následnou eliminací fosfátu z γ -atomu uhlíku a substitucí β -uhlíku hydroxylovou skupinou. Reakce je katalysována PLP-enzymem threoninsynthetasou.

Při biosynthese methioninu se tvoří z homoserinu nejprve o-sukcinyl-homoserin přenosem sukcinylové skupiny ze sukcinyl-CoA. V dalším stupni nahradí cystein sukcinát, čímž vznikne cystathion. Ten se hydrolyticky štěpí na homocystein, pyruvát a NH_4^+ , jak jsme si uvedli už při popisu synthesy cysteinu. Protože cystein může být methylován na methionin, je zřejmé, že cystathionin může sloužit jako meziprojekt při přeměně cysteinu na methionin u rostlin a bakterií a při přeměně methioninu na cystein u savců.

Proces biosynthesy histidinu u savců zatím neznáme. U mikroorganismů vzniká zajímavou, poměrně složitou synthetou. Reakční sled začíná kondensací ATP a PRPP, při níž se atom N_1 purinového kruhu ATP váže na atom C_1 ribosové jednotky PRPP. Z takto vzniklého N' -5-fosforibosyl-ATP se vytvoří sledem reakcí, za otevření pyrimidinového kruhu adenosinu a rozštěpí molekuly, 5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid a imidazolglycerolfosfát. Z imidazolglycerolfosfátu se pak vytvoří histidin. Pět uhlíkových atomů molekuly histidinu tedy pochází z PRPP, adeninová jednotka poskytuje dusíkový a uhlíkový atom pro imidazolový kruh; jeho druhý dusíkový atom (označený ve schématu) pochází z glutamátu. Za zmínku stojí, že meziprojekt 5-aminoimidazol-4-karboxamidribonukleotid vznikající při štěpné reakci, která vytváří imidazolový kruh, je též meziprojektem biosyntézy purinů. Biosynthesa histidinu a purinů je propojena.

15.3. Biosyntéza lipidů

15.3.1. Biosynthesa mastných kyselin

Vyšší mastné kyseliny vznikají procesem, který se svým spirálovým charakterem velice podobá procesu odbourávání mastných kyselin. Obrácená redukční spirála má prakticky identické meziprojekty, ovšem jednotlivé reakce provádějí jiné enzymy a do procesu je začleněná karboxylace. Biosynthesa mastných kyselin je také v buňce lokalizovaná jinde. Zatímco mastné kyseliny se odbourávají v mitochondriích, probíhá jejich biosynthesa v cytosolu. Hlavními místy synthesy mastných kyselin jsou tukové tkáně.

Výchozí látkou pro biosynthesu mastných kyselin je acetyl-CoA, vznikající při odbourávání jiných mastných kyselin, při oxidační dekarboxylaci pyruvátu v rámci aerobního odbourávání sacharidů a z uhlíkových koster některých aminokyselin. Podíváme-li se na princip výroby mastných kyselin vidíme, že jde o redukci acetylu na $-CH_2-CH_2-$ zbytky, tvořící „obratle“ páteře mastné kyseliny. Proces probíhající v jednom cyklu (jedné otočce spirály) lze proto popsat sumární rovnicí

Vodíky potřebné k redukci poskytuje NADPH získaný v pentosovém cyklu, u fototrofů též ve světlé fázi fotosynthesy. Jako každý anabolický děj vyžaduje i výroba mastných kyselin energii.

Uhlíkový řetězec mastné kyseliny se tedy buduje stupňovitě z dvouuhlíkových jednotek. Ty však neposkytuje přímo acetyl-CoA, ale energií bohatší produkt jeho karboxylace, malonyl-CoA. Meziprojekty biosynthesy jsou thioestery bílkoviny označené AcP (Acyl Carrier Protein) a ne CoA, jako při odbourávání mastných kyselin.

Výchozí materiál, acetyl-CoA, vzniká převážně v mitochondriích. Membrány mitochondrií však pro něj nejsou propustné. Přenos acetyl-CoA do cytoslu, kde se odehrává biosynthesa mastných kyselin, se uskutečňuje buď karnitinem, nebo prostřednictvím přeměny na citrát. Přenos karnitinem probíhá stejným mechanismem jako přenos

acylů vyšších mastných kyselin, ale v obráceném směru. Druhou cestou, kterou se dostává acetyl-CoA do cytosolu, je tvorba citrátu. Ten vzniká reakcí acetyl-CoA s oxalacetátem za katalýsy citrátsynthasou. Citrát takto vytvořený přejde mitochondriální membránou do cytosolu a tam se účinkem citrátlyasy rozpadá za účasti ATP a CoA zpět na oxalacetát a acetyl-CoA.

Proces biosyntézy mastných kyselin lze rozdělit do tří fází:

- A. **Výroba malonyl-CoA.** Karboxylace acetyl-CoA na energeticky bohatší malonyl-CoA probíhá na enzymovém komplexu ligasy, acetyl-CoA-karboxylasy, který se skládá ze tří funkčních podjednotek:
- a) bílkovinného nosiče biotinu (BCCP = Biotin Karboxyl Carrier Protein), který má biotický kofaktor vázaný na jednom ze zbytků lysinu;
 - b) biotinkarboxylasy, která katalysuje za účasti ATP navázání CO_2 na BCCP, čímž je CO_2 převeden do aktivované formy;
 - c) karboxyltransferasy, která přenáší CO_2 z BCCP-biotinu na acetyl-CoA za vzniku malonyl-CoA.

B. **Synthesa palmitové kyseliny.** Sled reakcí, jimiž se z malonyl-CoA syntetizuje základní šestnáctiuhlíkový řetězec palmitové kyseliny, zajišťuje multienzymový komplex synthetasy mastných kyselin. Jeho součástí je ACP, jehož prothetická skupinatvoří pohyblivé raménko, které slouží jako nosič substrátů a meziproductů, vznikajících činností jednotlivých enzymů synthetasového komplexu; váže je triolovou skupinou (tzv. centrální SH, cSH). Malonyl-CoA, napojená na ACP, podstoupí sled reakcí – kondensace, první redukce, dehydratace, druhá redukce – a za odštěpení CO_2 prodlouží acyl (v prvním cyklu acetyl) o C_2 -jednotku. Tento prodloužený acyl se přenesse z cSH raménka ACP na triolovou skupinu zbytku cysteinu jednoho z enzymů komplexu, β -oxoacylsynthetasy (tzv. periferní SH, pSH). Na uvolněnou cSH raménka ACP se připojí další malonylová skupina a proběhne nový sled reakcí. Tyto cykly se opakují, až vznikne palmitový zbytek (C_{16}), který se pak uvolní jako palmitoyl-CoA. U většiny bakterií a v chloroplastech rostlin jsou ACP a enzymy synthetasy mastných kyselin diskrétní bílkoviny a jsou nekovalentně spojené v multienzymovou jednotku. U živočichů jde o disociovatelný dimer, sestávající ze dvou polypeptidových podjednotek, z nichž každá má několik aktivních míst s různým typem enzymové aktivity. Podívejme se nyní blíže na sled reakcí, kterým se molekula mastné kyseliny vždy prodlužuje o dva atomy uhlíku:

1. Transacylace. První cyklus zahrnuje přenos acetylu z acetyl-CoA. Nejprve na cSH a pak transacylací na pSH. V dalších cyklech se přenáší z cSH na pSH acyl, který se v průběhu biosyntézy vytvořil. Tím se uvolňuje cSH pro vazbu malonylu
 2. Kondensace acylu s malonylem. Při přiblížení malonylové skupiny k cSH pohyblivého raménka ACP se acyl (v prvním cyklu acetyl) uvolní z pSH a napojí na malonyl účinkem tzv. kondensačního enzymu (3-oxoacyl-synthetasy). Ke spojení dochází adicí karbonylového uhlíku acylu na methylový uhlík malonylu za současné dekarboxylace; produktem je 3-oxoacyl
 3. První redukce. 3-oxoacylreduktasou za účasti NADPH se redukuje 3-oxoacyl na 3-hydroxyacyl
 4. Dehydratace. Účinkem lyasy (3-hydroxyacyldehydratasy, krotonasy) se odštěpí molekula vody a vznikne nenasycený acyl (enoyl)
 5. Druhá redukce. Enoyl se redukuje enoylreduktasou pomocí NADPH (nebo NADH) na nasycený acyl
- Reakce 3 až 5 probíhají na cSH. Vzniklý acyl se po ukončení cyklu acyltransferasou přenáší z cSH na pSH a na cSH se váže nový malonyl a následuje nový cyklus reakcí 2 až 5. Jednotlivé cykly se opakují tak dlouho, až se dosáhne požadované délky řetězce. Pak se proces zastaví allosterickou inhibicí. Konečným produktem činnosti cytoplazmového multienzymového komplexu synthetasy mastných kyselin je zpravidla C_{16} -kyselina.

C. **Další přeměny palmitátu.** Vyrobená mastná kyselina se uvolní z vazby na ACP a ožívuje se reakcí s CoA za účasti ATP a katalýsy thiokinasou. Vzniklý acyl-CoA se může buď zapojit do syntézy lipidů, nebo se použije na výrobu kyselin s delším řetězcem, nenasycených kyselin nebo hydroxykyselin. Tyto další úpravy však neprobíhají v cytosolu. Řetězec se prodlužuje v mitochondriích přímo acetyl-CoA bez použití malonyl-CoA. Nenasycené mastné kyseliny se pak tvoří specifickými NADP^+ -dyhydrogenasami; jsou stereospecifické a umožňují vznik cis-isomerů.

Podívejme se ještě na energetickou stránku biosyntézy mastných kyselin. Na prodloužení řetězce o C_2 -jednotku musí organismus vydat:

- 1 ATP na činnost biotinkarboxylasy při výrobě malonylu,
- 2 NADPH ----- 6 ATP na dvojstupňovou redukci acetylu na $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$.

Na výrobu mastné kyseliny o n uhlíkových atomech je tedy zapotřebí energie v jednotkách $\text{ATP} = 7(n/2 - 1)$.

Např. synthesa palmitové kyseliny stojí organismus 49 ATP. Pro srovnání – při jejím zpětném odbourávání Lynenovou spirálou na acetyl-CoA vzniká jen $5(8 - 1) \text{ ATP} - 2 \text{ ATP} = 33 \text{ ATP}$, tedy něco přes 67% energie vynaložené na biosyntésu.

15.4. Biosyntéza purinů a pyrimidinů

Aminokyseliny jsou základ pro tvorbu všech ostatních biologických sloučenin dusíku, tzn. i dusíkatých složek nukleotidů, pyrimidinových i purinových bází. Vzhledem k základnímu významu těchto látek pro funkci živé hmoty je jejich biosyntéza předpokladem pro růst a vývoj buněk, tkání i organismů a probíhá ve všech jejich formách.

15.4.1. Biosyntéza pyrimidinů

Pyrimidinové jádro vzniká ve formě volné báze z aspartátu. Reakcí této aminokyseliny s karbamoylfosfátem vzniká N-karbamoylaspartát, který odštěpením vody tvoří cyklický amid, dihydroorotát. Oxidací tohoto meziprojektu flavoproteinem dihydroorotát oxidasou (EC 1.3.3.1) vzniká pyrimidinové jádro v orotátu, tj. karboxyuracilu. Na tomto stupni reaguje pyrimidin a aktivovanou formou ribosafosfátu, 5-fosforibosyl-1-difosfátem za vzniku nukleotidu oriditin-5'-fosfátu. Odštěpením karboxylové skupiny vzniká uridinmonofosfát (UMP), který dvojí reakcí s ATP přechází na UDP a UTP. Tato látka je koenzymem glykosyltransferás a výchozí substrát pro syntézu RNA, ale také zdroj cytidintrifosfátu (CTP), který se z ní tvoří ligasovou reakcí s glutaminem.

Obě hlavní pyrimidinové složky nukleových kyselin vznikají teda společnou biosyntetickou cestou. Biosyntéza probíhá v cytosolu, a je tak oddělena od tvorby močoviny, probíhající v mitochondriální matrix, ač oba pochody vycházejí z téhož substrátu, karbamoylfosfátu. Zdrojem této látky pro syntézu pyrimidinů je cytosolární karbamoylfosfátsynthasa (EC 6.3.5.5), liší se od mitochondriálního enzymu tím, že zdrojem dusíku není amoniak, ale glutamin.

Enzym není aktivován N-acetylglutamátem, ale je inhibován produktem celé biosyntetické cesty, UTP. Tento vztah je příkladem regulace biosyntézy mechanismem negativní zpětné vazby; při dostatku pyrimidinových nukleotidů v buňce automaticky klesá syntéza výchozího substrátu jejich biosyntézy, karbamoylfosfátu.

15.4.2. Biosyntéza purinů

Na rozdíl od pyrimidinů se puriny syntetizují přímo ve formě nukleotidů. Syntéza purinového jádra začíná tvorbou 5-fosforibosylaminu, tj. „amonium-5'-nukleotidu“ reakcí glutaminu s 5-fosforibosyl-1-difosfátem. Tato látka se acyluje glycinem za vzniku 5'-fosforibosylglycinamidu. Reakcí s 5,10-methylenetetrahydrofolátem vzniká 5'-fosforibosyl-N-formylglycinamid, který obsahuje všechny atomy imidazolového jádra purinu. Přenosem amidového dusíku z glutaminu se mění amidová skupina na amidinovou v 5'-fosforibosyl-N-formylglycinamidinu; nově zavedená aminoskupina je základ pro pyrimidinový kruh purinu. V dalším kroku se ligasovou reakcí uzavírá imidazolový kruh na 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol, který se dále karboxyluje CO_2 bez účasti známých karboxylačních koenzymů na 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxylát. V dalším reakčním stupni reakce se tvoří z karboxylu amid mechanismem analogickým tvorbě argininu z citrullinu; zdrojem dusíku je aspartát, který se mění na fumarát. Formylací aminoskupiny 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxamidu 10-formyltetrahydrofolátem vzniklý 5'-fosforibosyl-5-formamidoimidazol-4-karboxamid obsahuje všechny atomy purinového jádra, které se pak uzavírá dehydratací za vzniku inosin-5'-fosfátu (IMP). Tato látka je výchozím substrátem pro syntézu obou významných purinových nukleotidů. Náhradou kyslíku aminoskupinou z aspartátu (stejným mechanismem jako při tvorbě 5'-fosforibosyl-5-aminoimidazol-4-karboxamidu) vzniká AMP. Pro tvorbu GMP je nutná dehydrogenace IMP NAD^+ na xanthosin-5'-fosfát (XMP), v němž se pak nahrazuje karbonylový kyslík v poloze 6 aminoskupinou z glutaminu ligasovou reakcí.

Purinové jádro vzniká tedy jako „mozaika“ částí procházejících z různých zdrojů. Rozhodující úlohu při jeho tvorbě má tetrahydrofolátový systém přenosu C_1 -látek, který je proto nezbytnou složkou všech forem živé hmoty. Protože efektivní funkce systému syntetizujícího puriny je esenciální pro rychle rostoucí a množící se buňky, jsou na ní mnohem více závislé buňky nádorové než normální somatické buňky. Proto je jednou ze strategií v léčbě nádorových onemocnění blokáda tvorby purinů, např. antimetabolity kyseliny listové, které jsou mnohem toxičtější pro nádorové než pro somatické buňky.

16. SEZNAM INTERNETOVÝCH ODKAZŮ PODLE KAPITOL

1. Biochemie – vývoj a současnost
 - 1.1.1. http://www.labo.cz/mft/biochemie_zaklady.htm
 - 1.1.2. <http://slovník-cizích-slov.abz.cz/web.php/slovo/biochemie>
 - 1.1.3. <http://old.medik.cz/medik/kocarek/>
 - 1.1.4. www.elabs.com/van/Early2.GIF&imgrefurl=http://www.elabs.com/van/evo-nasa4-early.htm&usg=__kp-9CVXfrqlqIwHhEQT7WWf9sIA=&h=548&w=534&sz=32&hl=cs&start=5&um=1&tbnid=1CWN_F1kw43GMM:&tbnh=133&tbnw=130&prev=/images%3Fq%3DBiochemie%2B-%2Bv%25C3%25BDvoj%26um%3D1%26hl%3Dcs%26lr%3D%26sa%3DN
- 1.2. Charakteristika živých systémů a jejich látkové složení
 - 1.2.1. <http://nb.vse.cz/kfil/elogos/epistemology/slouk1-03.pdf>
 - 1.2.2. <http://biomikro.vscht.cz/bioch1/prednaska1.pdf>
 - 1.2.3. <http://www.gvi.cz/files/chemie/chszs.pdf>
- 1.3. Biopolymery, struktura a funkce
 - 1.3.1. <http://www.google.cz/search?hl=cs&lr=&q=Biopolymery&start=10&sa=N>
 - 1.3.2. http://www.cojeco.cz/index.php?s_term=&s_lang=2&detail=1&id_desc=9727
- 1.4. Principy látkové a energetické přeměny u živočichů
 - 1.4.1. http://www.vscht.cz/ktt/zdrene/13.0_Bioenergie.pdf
 - 1.4.2. www.ceskolipska.cz/files/11/latkovy-metabolismus.doc
 - 1.4.3. <http://www.med.muni.cz/~mpesl/trafficjam/Prirodu/priro/kap5-7.pdf>
2. Prokaryotní a eukaryotní buňka, stavba a funkce jednotlivých organel
 - 2.1. <http://bunka-2.navajo.cz/>
 - 2.2. <http://genetika.wz.cz/eukaryota.htm>
 - 2.3. mujweb.atlas.cz/Veda/mitochondrie/11/11.htm
3. Kódované aminokyseliny a jejich biologický význam. Peptidová vazba
 - 3.0.1. www.e-aminokyseliny.cz/
 - 3.0.2. www.aminokyseliny.cz/
 - 3.0.3. <http://projektalfa.ic.cz/amk.htm>
- 3.1. Peptidy – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce
 - 3.1.1. biochemie.euweb.cz/Biochemie/Peptidy.ppt
 - 3.1.2. orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/04-Peptidy/04-Peptidy.doc
- 3.2. Bílkoviny – struktura, význam a rozdělení podle biologické funkce
 - 3.2.1. is.muni.cz/do/1499/el/estud/fsps/js06/t031/Bilkoviny.ppt
4. Cukry, struktura, chiralita a biologický význam
 - 4.0.1. http://www.prirodnivyviva.cz/cukry_a_skruby.htm
 - 4.0.2. chemie.gyrec.cz/cukry.ppt
- 4.1. Monosacharidy
 - 4.1.1. <http://www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-sach-mono.html>
- 4.2. Disacharidy
 - 4.2.1. <http://projektalfa.ic.cz/olygosacharidy.htm>
- 4.3. Polysacharidy
 - 4.3.1. <http://www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-sach-poly.html>
 - 4.3.2. <http://projektalfa.ic.cz/polysacharidy.htm>
5. Lipidy
 - 5.0.1. ukb.lf1.cuni.cz/ppt/trnkova/Modul_Lipidy.pdf
 - 5.0.1. www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-lipidy.html
- 5.1. Acylglyceroly a fosfoacylglyceroly, struktura, výskyt a biologický význam
 - 5.1.1. <http://vnl.xf.cz/bich/bich-lipidy.php>
 - 5.1.2. <http://www.gvi.cz/files/chemie/lipidy.pdf>
- 5.2. Steroidní lipidy a jejich deriváty, struktura, výskyt a biologický význam

- 5.2.1. haminger.wbs.cz/7.Lipidy.ppt
- 5.2.2. www.jadem.wz.cz/MatOt/Chem25%5BLipidyTerpenySteroidy%5D.doc
- 5.2.3. www.ceskolipska.cz/files/11/izoprenoidy.doc
6. Vitaminy, struktura, funkce, výskyt a význam pro lidský organismus
- 6.0.1. www.aminokyseliny.cz/vitaminy/
- 6.0.2. ukb.lf1.cuni.cz/ppt/trnkova/Modul_Vitaminy.pdf
- 6.1. Hormony, struktura, funkce a význam pro lidský organismus
- 6.1.1. <http://www.molbio.upol.cz/stranky/vyuka/BPOL/10.%20Struktury%20signalnich%20komplexu.pdf>
- 6.1.2. www.szs-most.cz/vyucujici/dokumenty/somatologie/vyuka/zlazy_vnitrni_sekreci.ppt
7. Nukleosidy a nukleotidy, chemická struktura, funkce a výskyt. ATP.
- 7.0.1. <http://www.sszdra-karvina.cz/bunka/che/pl/plnuk.pdf>
- 7.1. Nukleové kyseliny, struktura a výskyt. Přenos genetické informace, komplementarita.
- 7.1.1. <http://biologie.upol.cz/metody/Struktura%20nukleovych%20kyselin.htm>
- 7.1.2. <http://old.mendelu.cz/~agro/af/genetika/vsg2/dna2/model.htm>
- 7.2. Přenos genetické informace, komplementarita.
- 7.2.1. <http://www.gvi.cz/files/chemie/nk.pdf>
- 7.2.2. www.onkologickecentrum.cz/downloads/prezentace/struktura-nk.ppt
- 7.2.3. votga-bio.wz.cz/gen2.doc
- 7.2.4. http://home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/studium/predmety/uvod_genetika/prezentace/mol_gene-tika.pdf
- 7.3. Genetický kód a mutace.
- 7.3.1. <http://geneticky-kod.navajo.cz/>
- 7.3.2. <http://old.mendelu.cz/~agro/af/genetika/vsg2/expres4/genkod.htm>
- 7.3.3. <http://www.vscht.cz/kch/kestazeni/sylaby/aplikbiolb.pdf>
- 7.4. Proteosyntéza.
- 7.4.1. <http://genetika.wz.cz/transl.htm>
- 7.4.2. http://ovecka.mysteria.cz/html/text/mol_gen/proteo.htm
- 7.4.3. <http://www.jergym.hiedu.cz/~canovm/biocykl/dittel/proteo.html>
8. Enzymy
- 8.0.1. <http://xantina.hyperlink.cz/organika/prirodni/enzymy.html>
- 8.0.2. http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/trnkova/Modul_Enzymy.pdf
- 8.0.3. <http://vnl.xf.cz/bich/bich-enzym.php>
- 8.1. Klasifikace enzymů, názvosloví a biochemický význam
- 8.1.1. <http://biologie.php5.cz/enzymy.php>
- 8.1.2. <http://projektalfa.ic.cz/enzymy.htm>
- 8.2. Aktivní centrum enzymů, alosterické místo
- 8.2.1. <http://www.gvi.cz/files/chemie/enzymy.pdf>
- 8.2.2. eva.elgra.net/Skola/Chemie/06_07/14_Enzymy.ppt
- 8.2.3. perry.czweb.org/poznamky/Chemie/Bilkoviny.doc
- 8.3. Chemie kofaktorů
- 8.3.1. www.gymbos.cz/kabinety/chemie/Vitaminy.doc
- 8.3.2. http://ukb.lf1.cuni.cz/ppt/trnkova/Modul_Vitaminy.pdf
- 8.3.3. www.usbe.cas.cz/people/safarik/Prednasky-na-JcU/Enzymologie/Kofaktory.ppt
- 8.3.1. Kofaktory oxidoreduktas.
- 8.3.1.1. chemie.gyrec.cz/Enzym.ppt
- 8.3.2. Kofaktory transferas
- 8.3.2.1. [laboranti.ic.cz/Biochemie/CC%20\(10.p%F8edn.\).ppt](http://laboranti.ic.cz/Biochemie/CC%20(10.p%F8edn.).ppt)
- 8.4. Kinetika enzymových reakcí
- 8.4.1. ibiochemie.upol.cz/WebGraphics/biochemie/download/Modul-02.ppt
- 8.5. Látky ovlivňující činnost enzymů
- 8.5.1. laboranti.ic.cz/Biochemie/ENZYMY-2.PPT

- 8.5.1. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/enzymy_seminar.doc
- 8.5.1. Kineticky odlišitelné typy inhibice
- 8.5.1.1. www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/enzym.ppt
- 8.5.1.2. www.usbe.cas.cz/people/safarik/Prednasky-na-JcU/Enzymologie/Enzymy-jsou-proteiny-PP95.ppt
- 8.6. Struktura aktivního centra enzymů
- 8.6.1. <http://www.gvi.cz/files/chemie/enzymy.pdf>
- 8.6.2. eva.elgra.net/Skola/Chemie/06_07/14_Enzymy.ppt
- 8.6.3. <http://biomikro.vscht.cz/bioch1/prednaska5.pdf>
- 8.6.1. Specifické působení enzymů
- 8.6.1.1. www.usbe.cas.cz/people/safarik/Prednasky-na-JcU/Enzymologie/Jak-enzymy-pracuji.ppt
- 9. Dýchací řetězec a oxidativní fosforylace
- 9.0.1. <http://mujweb.atlas.cz/Veda/mitochondrie/13/13.htm>
- 9.0.2. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/ckc_respretezec.doc
- 9.1. Chemiosmotická teorie syntézy ATP
- 9.1.1. <http://www.sszdra-karvina.cz/bunka/bi/met/mmet.pdf>
- 9.2. Transfer protonů a elektronů v dýchacím řetězci
- 9.2.1. www.alej.cz/predmety/biologie/system/data/upimages/bunecne_dychani.ppt
- 9.2.1. Funkce komplexů I – V
- 9.2.1.1. www.gmk.cz/files/ict-bi-dychani.ppt
- 9. 3. Fotosyntéza a fotochemická produkce NADP + H⁺ a ATP
- 9.3.1. <http://mujweb.atlas.cz/veda/biologie/fotosynteza.htm>
- 9.3.2. <http://www.biology.webz.cz/fotosynteza.php>
- 9.3.3. www.alej.cz/predmety/biologie/system/data/upimages/FOTOSYNTENZA.ppt
- 9.3.1. Necyklická fosforylace
- 9.3.1.1. <http://www.vscht.cz/ufmt/cs/pomucky/uhrovah/docs/Biofyzika/Fotobiopochody.pdf>
- 9.3.2. Cyklická fosforylace
- 9.3.2.1. <http://www.vscht.cz/ufmt/cs/pomucky/uhrovah/docs/Biofyzika/Fotobiopochody.pdf>
- 9.3.2.2. www.gjvj.cz/biologie/fotosynteza_2.ppt
- 9.3.3. Calvinův cyklus
- 9.3.3.1. http://gvm.vm.cz/vyuka/bio_pojmy/hesla/cyklus_calvinuv.html
- 9.3.3.2. www.biolib.cz/cz/glossaryterm/id4262/
- 10. Biologické oxidace
- 10.0.1. <http://mujweb.atlas.cz/veda/biologie/oxidace.htm>
- 10.1. Citrátový cyklus
- 10.1.1. http://projektalfa.ic.cz/citratovy_cyklus.htm
- 10.1.2. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/05.ppt
- 10.1.3. orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/23-Citrátový%20cyklus/23-TCA-2.htm
- 10.1.1. Mechanismus citrátového cyklu
- 10.1.1.1. http://64.233.183.132/search?q=cache:9tOPT_iVJVsj:biochemie.upol.cz/WebGraphics/biochemie/download/Modul-05.ppt+Mechanismus+citr%C3%A1tov%C3%A9ho+cyklu&hl=cs&ct=clnk&cd=10&gl=cz
- 10.1.1.2. che1.lf1.cuni.cz/html/Uvod_do_metabolismu.pdf
- 10.1.2. Energetická bilance citrátového cyklu
- 10.1.2.1. che1.lf1.cuni.cz/html/Uvod_do_metabolismu.pdf
- 10.1.3. Anaplerotické reakce
- 10.1.3.1. gvm.vm.cz/vyuka/bio_pojmy/hesla/reakce_anapleroticke.html
- 10.2. Glyoxylátový cyklus
- 10.2.0.1. <http://biomikro.vscht.cz/biochemieI/prednes11.html>
- 10.2.1. Mechanismus glyoxylátového cyklu
- 10.2.1.1. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/05a.ppt
- 10.3. Vznik acetyl – CoA aerobní dekarboxylací pyruvátu
- 10.3.1. biomikro.vscht.cz/bioch1/prednaska8.pdf

11. Metabolismus sacharidů
 - 11.0.1. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/mtb_sach1_fd.ppt
 - 11.0.2. http://vnl.xf.cz/bich/bich-metabol_sach.php
 - 11.1. Výskyt a význam
 - 11.1.1. is.muni.cz/do/1499/el/estud/fsps/js06/t031/Sacharidy.ppt
 - 11.2. Glykolýza
 - 11.2.1. natura.baf.cz/natura/1996/1/9601-3.html
 - 11.2.1. Mechanismus glykolýzy
 - 11.2.1.1. www.upol.cz/fileadmin/user_upload/FTK-dokumenty/Stejskal/03-glykogenolyza.ppt
 - 11.2.1.2. http://projektalfa.ic.cz/anaerobni_glykolyza.htm
 - 11.2.2. Ethanolová glykolýza
 - 11.2.2.1. <http://www.sci.muni.cz/mikrob/kvasbiotech/pivokvas/pivokvas.html>
 - 11.2.2.2. biology.ujep.cz/vyuka/file.php/1/opory/Uvod_do_studia_biologie.pdf
 - 11.2.3. Glycerolová glykolýza
 - 11.2.3.1. <http://web.telecom.cz/dotdiag/dokument/patobio/metdrahy.pdf>
 - 11.2.3. Smíšená glykolýza (smíšené kvašení)
 - 11.2.3.1. http://www.vscht.cz/main/soucasti/fakulty/fpbt/grant_TRP/dokumenty/20.pdf
 - 11.3. Pentózový cyklus
 - 11.3.1. <http://ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap31.pdf>
 - 11.2.1. Mechanismus pentózového cyklu
 - 11.2.1.1. home.icpf.cas.cz/gavlasova/Mikrobiologie/04%5B1%5D.ppt
 - 11.2.1.2. che1.lf1.cuni.cz/html/Sacharidy_CZE.pdf
 - 11.2.1.3. biomikro.vscht.cz/bioch1val/07/metabolismus_sacharidu_fotosynthesa.pdf
12. Metabolismus lipidů.
 - 12.0.1. <http://vnl.xf.cz/bich/bich-lipidy.php>
 - 12.0.2. www.gvi.cz/files/chemie/baml.pdf
 - 12.0.3. orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/22-Metabolismus%20lipidů/22-Metab_lipidu.htm
 - 12.0.4. ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap33.pdf
 - 12.1. Lipoproteidy
 - 12.1.1. www.upol.cz/fileadmin/user_upload/FTK-dokumenty/Stejskal/06-lipoproteiny.ppt
 - 12.1.2. www.oriondiagnostica.cz/dentocult/lipoproteiny.htm
 - 12.1.3. orion.chemi.muni.cz/zakladni_pojmy_z_biochemie/page0378
 - 12.2. Odbourávání lipidů
 - 12.2.1.1. <http://www.jergym.hiedu.cz/~canovm/biocykl/cykly/lipidyod.htm>
 - 12.2.1.2. http://home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/vyz/pred_03b.pdf
 - 12.2.1.3. <http://web.quick.cz/canovm/biocykl/cykly/lipidyod.htm>
 - 12.2.1. Hydrolytické štěpení
 - 12.2.1.1. home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/vyz/pred_03b.pdf
 - 12.2.2. Vstřebávání a rozvod
 - 12.2.2.2. <http://ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap36.pdf>
 - 12.2.3. Odbourávání mastných kyselin cestou -oxidace
 - 12.2.3.1. <http://vnl.xf.cz/bich/bich-lipidy.php>
 - 12.2.3.2. <http://www.jergym.hiedu.cz/~canovm/lipid/lipid.html>
 - 12.2.3.3. www.upol.cz/fileadmin/user_upload/FTK-dokumenty/Stejskal/05-tuky.ppt
 - 12.3. Metabolismus glycerolu
 - 12.3.1. <http://www.sweb.cz/puntik/bioch.html>
13. Bílkoviny - metabolismus a enzymatické štěpení
 - 13.1. Výskyt a význam
 - 13.1.1. is.muni.cz/do/1499/el/estud/fsps/js06/t031/Metabolismus_bilkovin.ppt
 - 13.1.2. ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap32.pdf

- 13.1.3. <http://gvm.vm.cz/people/holikova/vyuka/biochemie/Biosynt%C3%A9za%20a%20metabolismus%20b%C3%ADlkovin.pdf>
- 13.2. Enzymatické štěpení bílkovin – proteolýza
- 13.2.1. orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/17-Katabolismus%20b%C3%ADlkovin/17-Katabolismus%20b%C3%ADlkovin2a.htm
- 13.3. Metabolismus aminokyselin
- 13.3.1. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/test_mtb_aminokyseliny.ppt
- 13.3.2. ukb.lf1.cuni.cz/skripta/kap32.pdf
- 13.3.3. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/11.ppt
- 13.3.1. Transaminace
- 13.3.2. Dekarboxylace
- 13.3.3. Aldolové štěpení
- 13.3.3.1. www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/metabolismusak.ppt
- 13.3.3.2. <http://biochemie.wz.cz/aminokyseliny.html>
- 13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster aminokyselin.
- 13.3.4. Odbourání uhlíkatých koster glukogenních aminokyselin.
- 13.3.4.1. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/04.ppt
- 14. Detoxikace amoniaku u živočichů
- 14.0.1. <http://ktl.lf2.cuni.cz/text/fyzioterapie/Biochemie.pdf>
- 14.1. Metabolismus amoniaku
- 14.1.1. Asimilace amoniaku
- 14.1.2. Vylučování amoniaku
- 14.1.2.1. http://home.zf.jcu.cz/public/departments/koz/vyz/pred_02b.pdf
- 14.1.2.2. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/kruhy/2_rocnik/zvlastni_situace_seminar_web.ppt
- 14.2. Tvorba močoviny
- 14.2.1. <http://www.med.muni.cz/~mpesl/trafficjam/Prirodu/priro/kap5-7.pdf>
- 14.2.2. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/11.ppt
- 14.2.3. <http://www.natur.cuni.cz/~malacova/Sledovani%20cinnosti%20ledvin.pdf>
- 14.3. Odbourávání nukleových kyselin
- 14.3.1. <http://www.onkologickecentrum.cz/downloads/vysetreni/laborator-metody.pdf>
- 14.3.1. Hydrolýza na stavební jednotky
- 14.3.1. www.orko.cz/Biologie%202008/Biopolymery09.ppt
- 14.3.2. Odbourávání pyrimidinových basí
- 14.3.3. Odbourávání purinových basí
- 14.3.3.1. orion.chemi.muni.cz/e_learning/=Texty/19Metabolismus%20nukleotidu/Metab%20Nukl1a.doc
- 15. Biosyntéza sacharidů, aminokyselin, lipidů a nukleotidů
- 15.1. Biosyntéza sacharidů
- 15.1.1. <http://gvm.vm.cz/people/holikova/vyuka/biochemie/Biosynt%C3%A9za%20sacharidu%20a%20nukleotidu.pdf>
- 15.1.2. www.gvi.cz/files/chemie/mabs.pdf
- 15.1.1. Přeměna pyruvátu na glukosu
- 15.1.2. www.lf2.cuni.cz/Ustavy/biochemie/vyuka/metabolismusak.ppt
- 15.1.2. Biosyntéza glukosy z dalších prekursorů
- 15.1.2.1. www.gsurba.edu.sk/pk/bio/texty/biosynteza.pdf
- 15.1.2.2. old.lf3.cuni.cz/chemie/cesky/materialy_B/ckc_respretezec.doc
- 15.1.3. Biosyntéza oligo- a polysacharidů
- 15.1.3.1. http://www.kbi.zcu.cz/studium/ftp/bio_05.pdf
- 15.1.3.2. <http://www.biotox.cz/naturstoff/chemie/ch-sach-poly.html>
- 15.2. Biosyntéza aminokyselin
- 15.2.1. biochemie.upol.cz/stranky/vyuka/bch/12.ppt
- 15.3. Biosyntéza lipidů
- 15.3.1. Biosyntéza mastných kyselin
- 15.3.1. che1.lf1.cuni.cz/html/Syntesa_MK_3sm.pdf

- 15.4. Biosyntéza purinů a pyrimidinů
- 15.4.1. Biosyntéza pyrimidinů
- 15.4.2. Biosyntéza purinů
- 15.4.2.1. <http://www1.lf1.cuni.cz/~kocna/biochem/text8.htm>

17. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Němečková A.: Lékařská chemie a biochemie, Avicenum Osveta 1990
2. Vodrážka Z.: Biochemie 1-3, Academia Praha 1992
3. Šícho J., Vodrážka Z., Králová B.: Potravinářská biochemie, SNTL Praha 1981
4. Voet D., Voetová J. G.: Biochemie, Viktoria publishing Praha 1994
5. Šípál Z., Anzenbacher P., Peč P., Pospíšil J.: Biochemie, SNP Praha 1992

BIOCHEMIE PRO BAKALÁŘSKÉ STUDIUM CHEMIE A TECHNICKÉ CHEMIE

doc. Ing. Alexander Čegan, CSc.
RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.