

Metabolizmus

Metabolizmus

- Každá živá buňka je otevřený systém, který je charakteristický výměnou s prostředím (hmoty, energie, informace)
- Živiny z prostředí do buňky → transformace – tvorba energie, syntéza biomolekul → exkrece metabolitů
- Tok hmoty, energie a informace buňkou →
metabolizmus

Metabolizmus

- Metabolická aktivita mikroorganismů je mimořádně různorodá
- Metabolizmus buňky (tok hmoty a energie buňkou) tvoří celek, který má dvě protichůdné kategorie

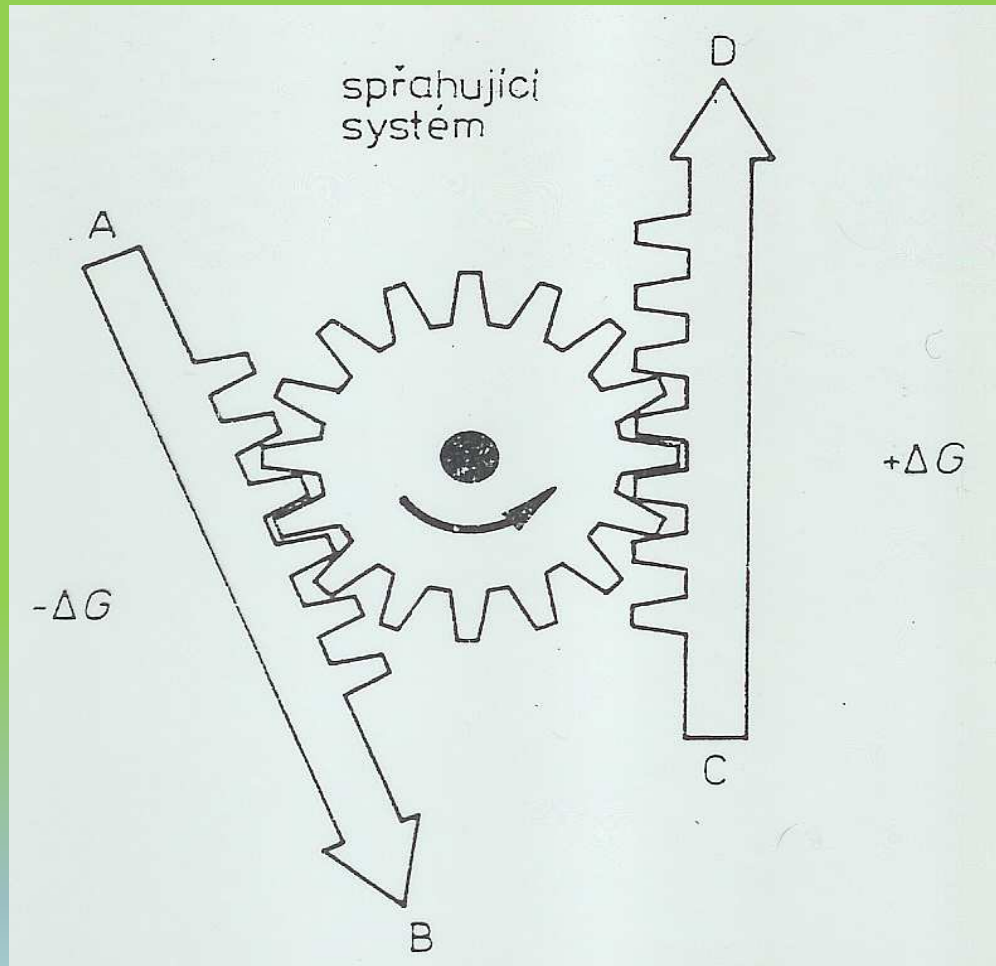
katabolizmus

anabolizmus

Metabolizmus

- **Katabolizmus** – představuje degradativní procesy, vedoucí ke tvorbě energie ($-\Delta G$)
- **Anabolizmus** – vede k syntéze jednotlivých složek buňky a je spojen se spotřebou energie ($+\Delta G$)
- **Katabolizmus a anabolizmus jsou dva protichůdné procesy, které vedle sebe existují v prostoru a čase a vzájemně se podmiňují**

Metabolizmus



Spřažení

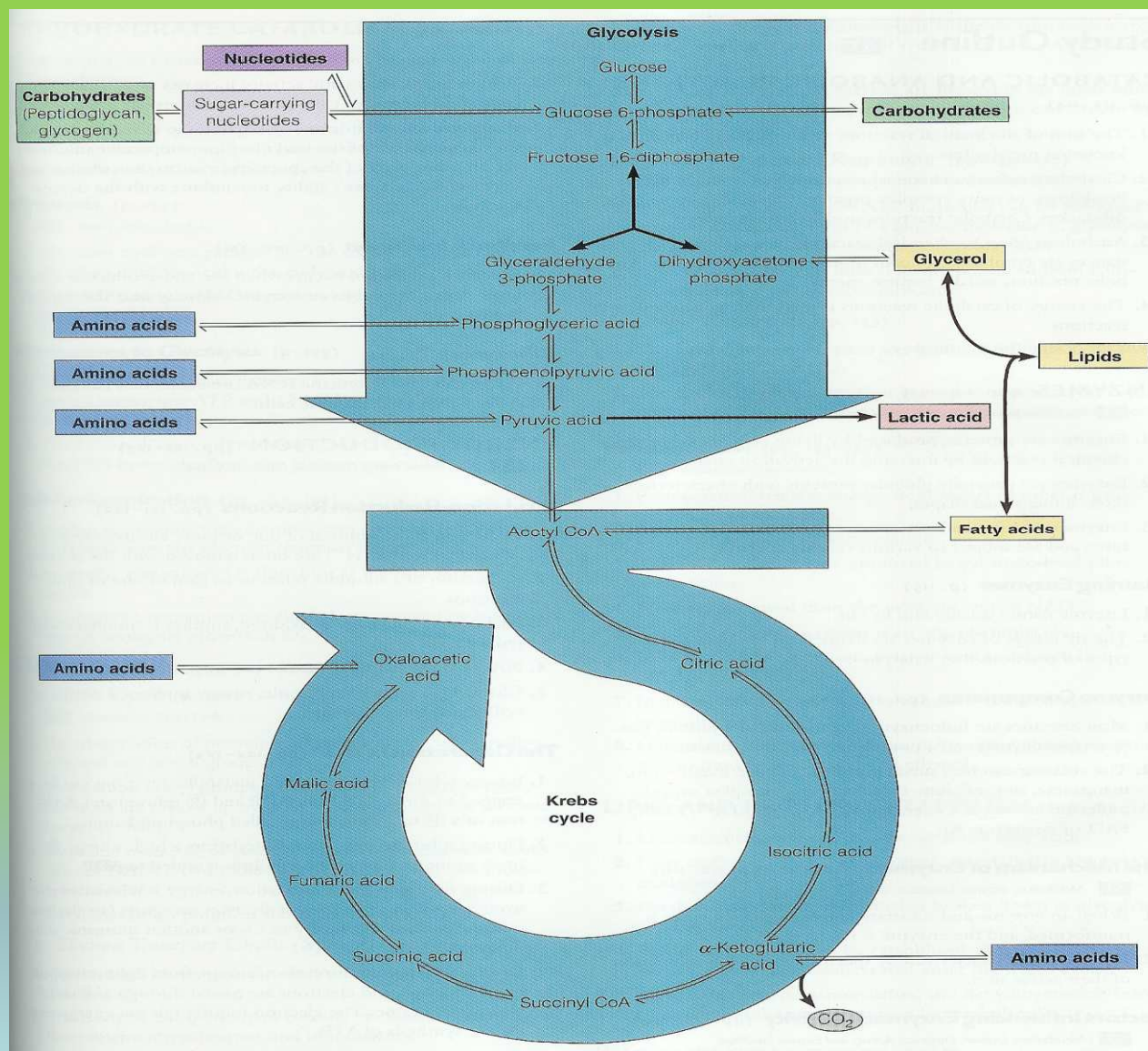
katabolizmu

(exergonické reakce)

a anabolizmu

(endergonické reakce)

Metabolizmus



Vazba mezi
katabolizmem
a
anabolizmem

Metabolizmus

- Proces metabolizmu je souhrn biochemických reakcí, které
 - a/ probíhají posloupně a jsou “seřazený” do řad – **metabolické dráhy**
 - b/ uzavřeny do kruhu – **cykly**
- Výsledný metabolit může vznikat více než jednou metabolickou drahou – **alternativní metabolické dráhy**

Metabolizmus

- Každá metabolická dráha – metabolický pochod – je řízen specifickým regulačním systémem
- Regulační systém se uplatňuje
 - již při syntéze enzymů
 - nebo má vliv na aktivitu enzymu
- Řídící funkce regulačního systému se uplatňuje i při změněných podmínkách vnějšího prostředí

Energie

- Všechny chemické reakce probíhající v buňce lze považovat za termodynamicky reverzibilní změny
- V průběhu izotermního děje je na uskutečnění reakce spotřebována jen malá část celkové vnitřní energie systému – **volná energie**
- Zbytek představuje energii ztrátovou (**entropii**) – projeví se v podobě tepla

Energie

- Změna volné energie při přechodu reagujícího systému z jednoho stavu do druhého

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

ΔG – změna volné energie

ΔH – změna celkové (vnitřní) energie systému

T – absolutní teplota

ΔS – změna entropie

Energie

- Při chemické reakci je změna volné energie dána rovnicí

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K$$

ΔG° - standardní změna volné energie

R – plynová konstanta (8,319 kJ/mol/grad)

K – rovnovážná konstanta rovnice $A+B \leftrightarrow C+D$

$$K = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Energie

- V rovnovážném stavu je volná energie minimální a nedochází k její změně
- Potom $\Delta G^\circ = 0$ z toho

$$\Delta G^\circ = - RT \ln K = -2,303 RT \log K$$

Energie

- Při vysoké hodnotě **K** směřuje reakce k dokončení a ΔG° je negativní. Při těchto reakcích je energie uvolňována (**exergonické reakce**)
- Probíhá-li reakce opačným směrem, hodnota **K** je nízká, musí být systému energie dodána (**endergonické reakce**)

Makroergické vazby

- Energetický metabolismus probíhá při spřažení exergonických a endergonických reakcí
- **Pro uskutečnění syntézy je nutné, aby součet změn volné energie obou spřažených reakcí byl negativní nebo alespoň s nulovou hodnotou**

Makroergické vazby

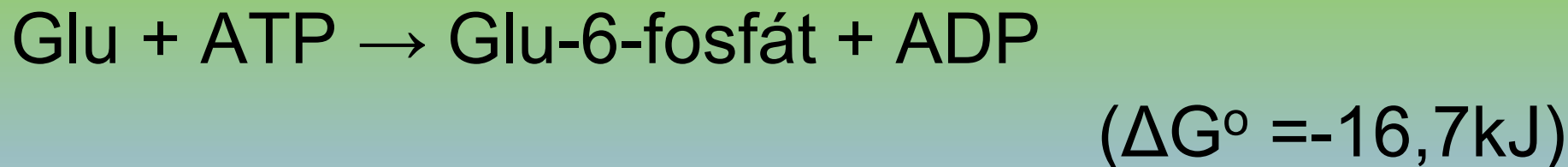
- Syntetické reakce probíhají většinou za účasti energeticky bohaté sloučeniny (ATP, látka schopná vytvářet makroergickou vazbu)
- Díky vysoké hladině ΔG makroergické vazby, se aktivuje substrát a umožní se tím vlastní reakce

Makroergické vazby

- **Příklad – spřažené reakce** při fosforylaci glukózy na glukóza-6-fosfát



Při účasti ATP, poskytne jeho makroergická vazba ($\Delta G^{\circ} = -20,3 \text{kJ}$) potřebnou energii pro reakci, ale odštěpením P také fosforylaci Glu



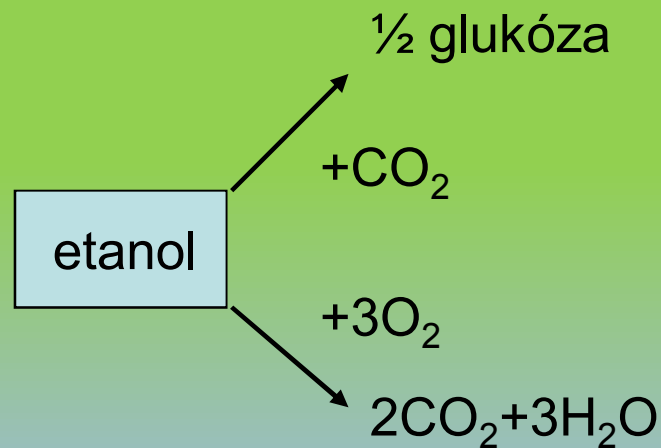
Makroergické vazby

- Změny ΔG° při hydrolýze některých sloučenin

	- ΔG° (KJ.mol ⁻¹)
• $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_{\text{an}}$	30,9
• $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{AMP} + \text{pyrofosfát}$	31,8
• $\text{Glu-6P} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glu} + \text{P}_{\text{an}}$	12,5
• $\text{Acetylfosfát} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HAc} + \text{P}_{\text{an}}$	43,9
• $\text{P-enolpyruvát} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{pyruvát} + \text{P}_{\text{an}}$	54,4
• $\text{Acyl-KoA} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HAc} + \text{KoASH}$	32,2

Makroergické vazby

- **Příklad – spřažené reakce** – růst kvasinky *Torulopsis* na etanolu. Pro syntézu glukózy (polysacharidů) je potřebná energie, kterou získá také z etanolu



Makroergické vazby

- Regenerace ADP na ATP vyžadující $\Delta G^{\circ} = +20,3 \text{ kJ}$ je možná spřažením s jinou, energeticky bohatou látkou (fosfoenolpyrohroznovou kyselinou) hydrolyzou se uvolní ($\Delta G^{\circ} = -50,2 \text{ kJ}$)



Makroergické vazby

- Některé energeticky bohaté sloučeniny

	ΔG° (kJ/mol)
Fosfoenolpyruvát	62,0
1,3-difosfoglycerát	49,4
Acetylfosfát	42,3
Acetyl-koA	34,3
UDP-Glukóza	31,8
ATP (\rightarrow AMP+2P _{an})	31,0
ATP (\rightarrow ADP+P _{an})	31,8

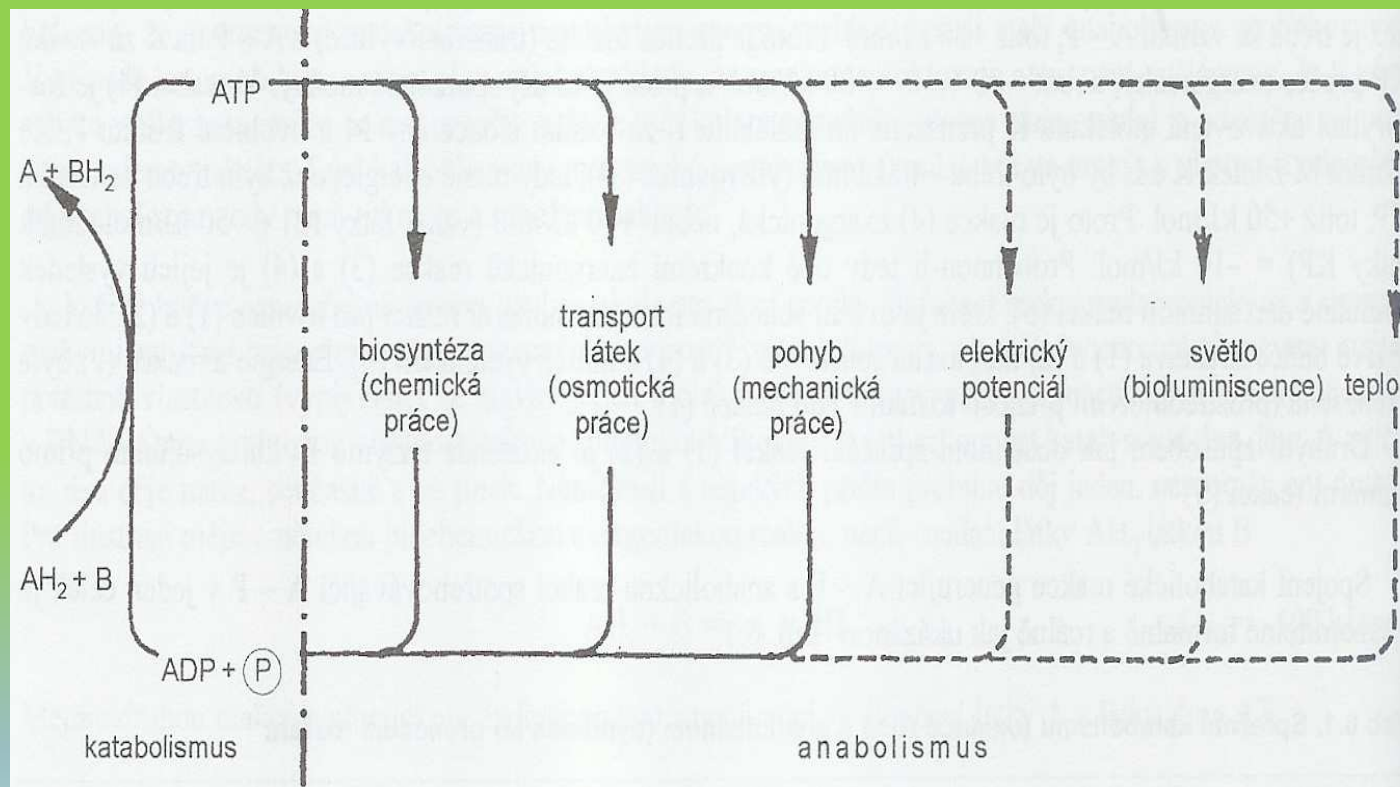
ATP

- ATP – univerzální přenašeč energie – univerzální donor fosfátu v anabolických reakcích
- **Soustava $ADP \leftrightarrow ATP$ je univerzálním “spřahovačem“ katabolizmu a anabolizmu**
- Kterákoliv exergonická reakce může “pohánět“ jakoukoliv endergonickou reakci
- Proto je metabolismus jako celek vysoce spolehlivý

ATP

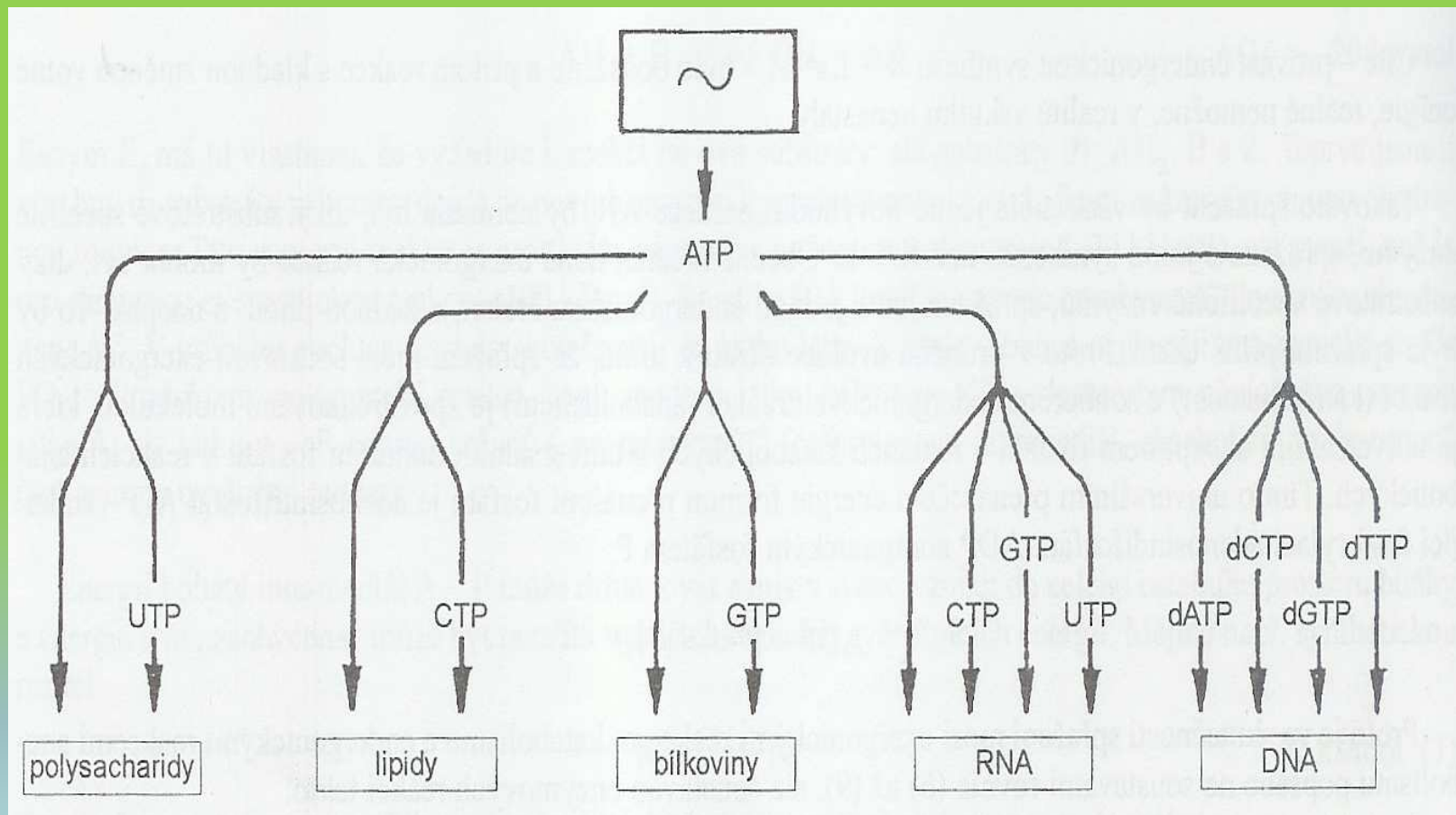
Spřahující úloha ATP v metabolismu buňky

(vazba katabolizmu a anabolizmu)



ATP

Centrální úloha ATP při syntéze biologických makromolekul



ATP

- Tvorba ATP

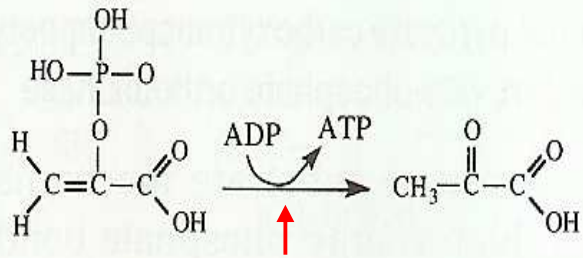
- ☺ na úrovni substrátu

- ☺ na úrovni membrány

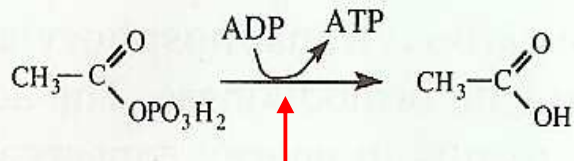
- * u prokaryot na cytoplazmatické membráně

- * u eukaryot na vnitřní membráně mitochondrií

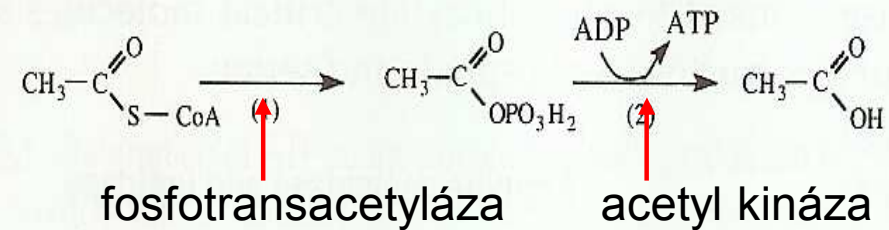
Tvorba ATP na úrovni substrátu



fosfoenol pyruvát kináza

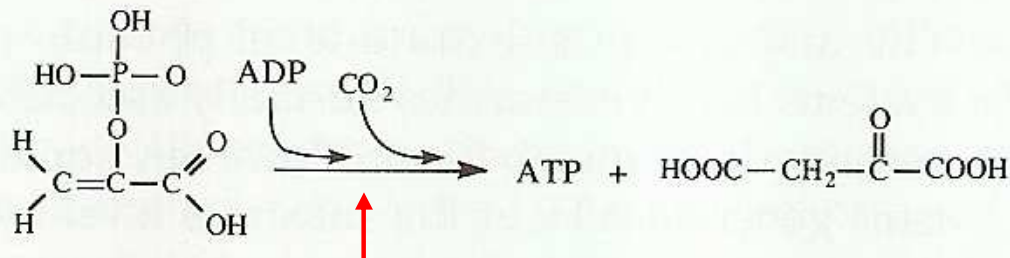


acetyl kináza



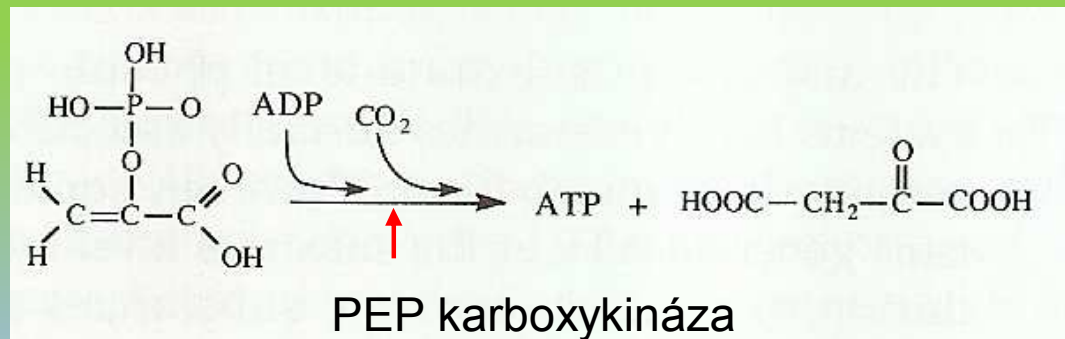
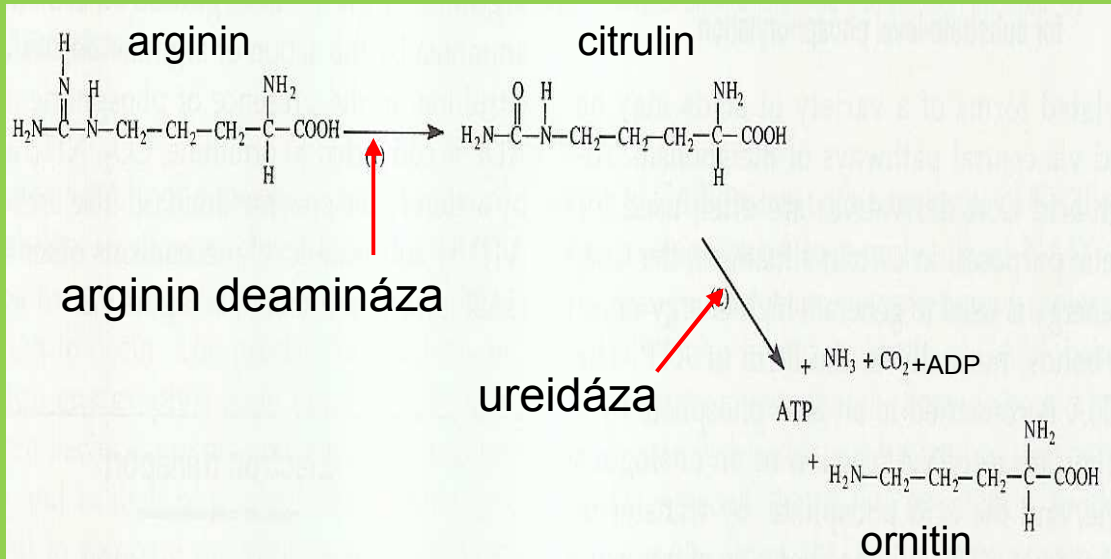
fosfotransacetyláza

acetyl kináza

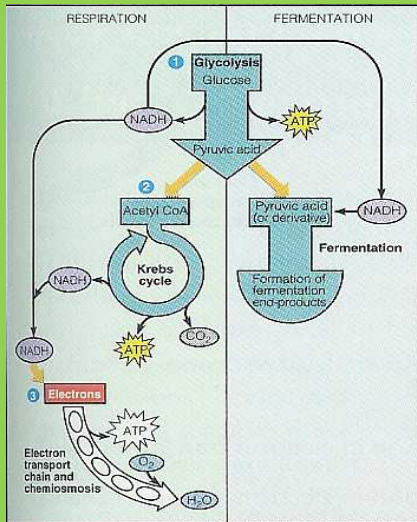


PEP karboxykináza

Tvorba ATP na úrovni substrátu

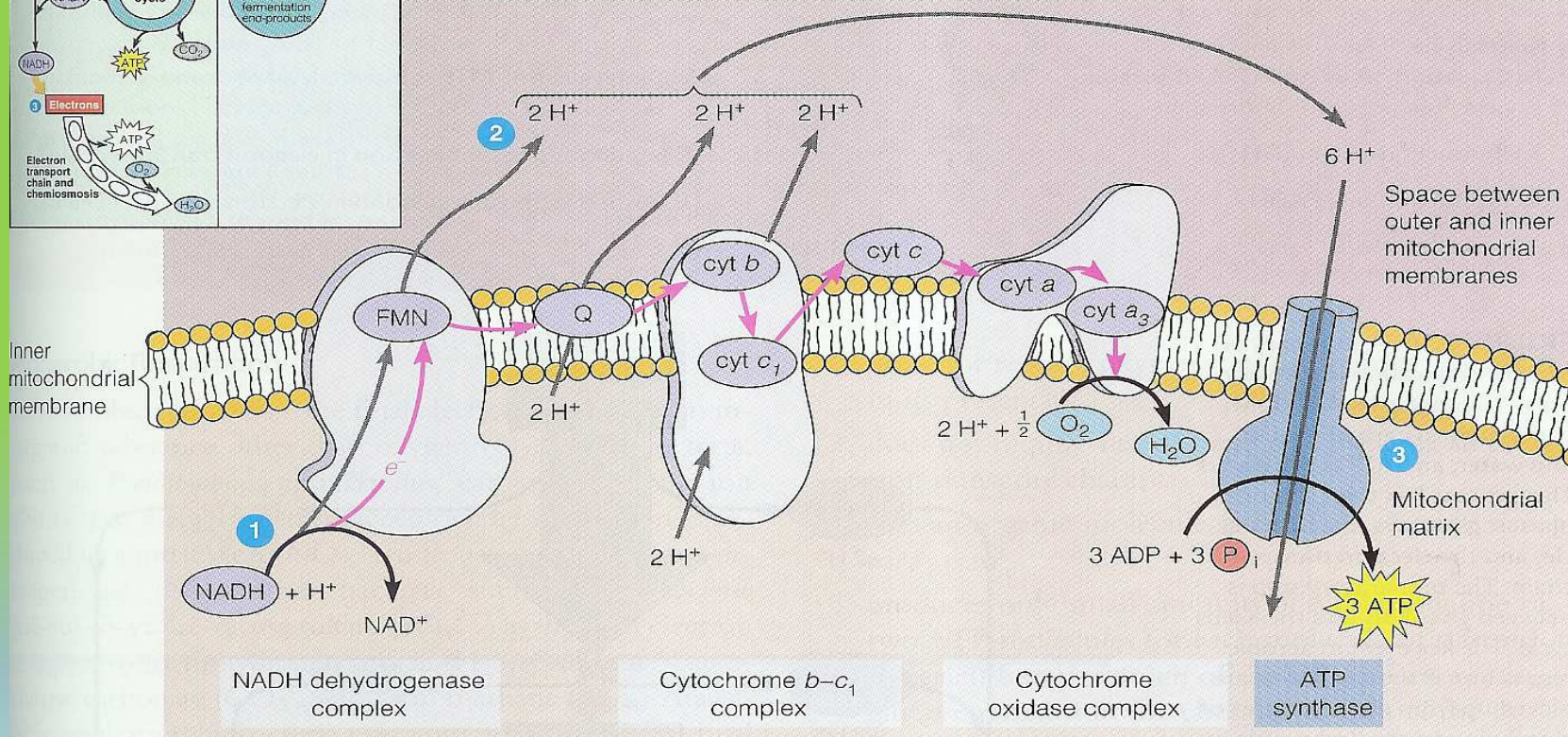


Tvorba ATP na úrovni membrány

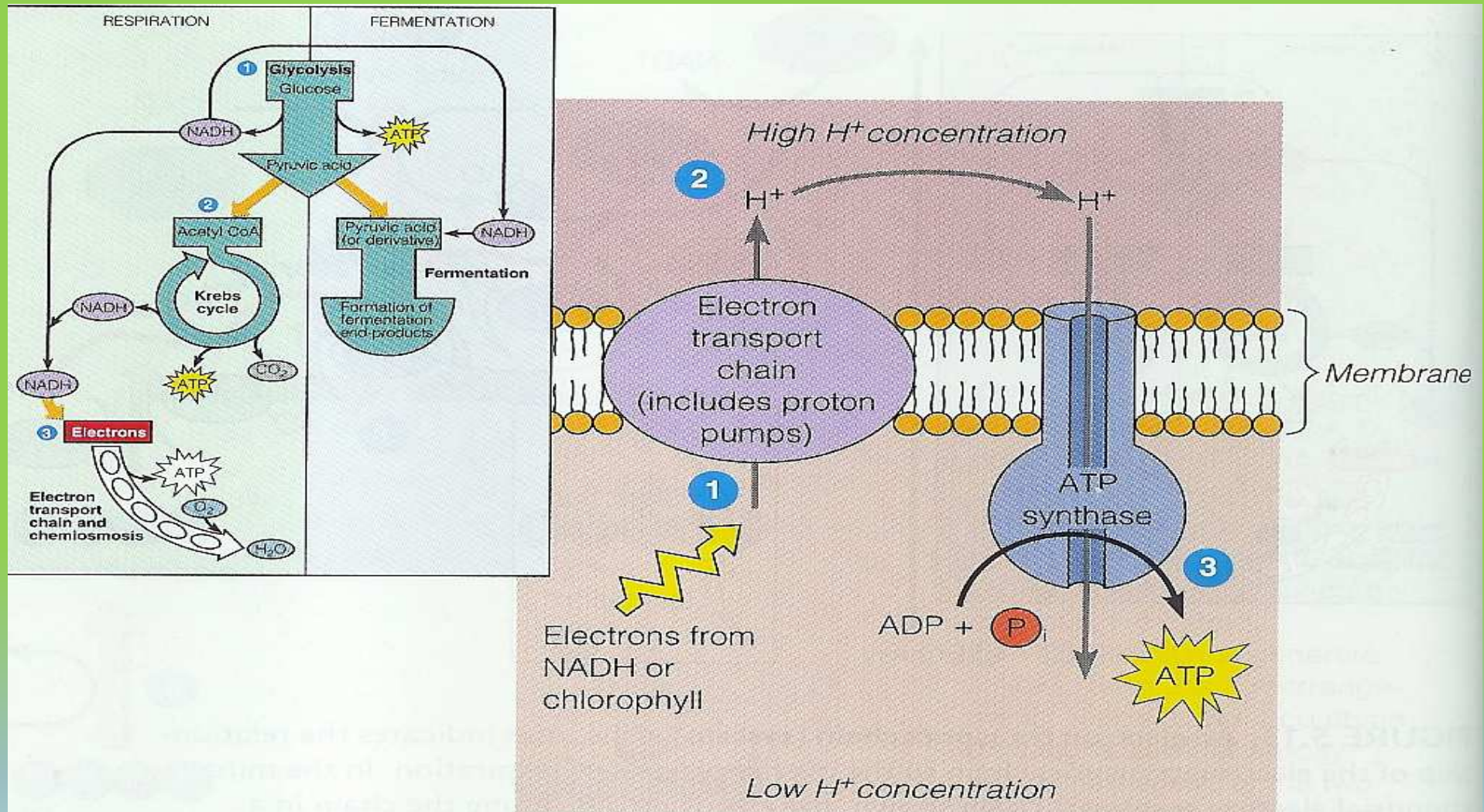


chemiosmóza

elektrontransportní řetězec



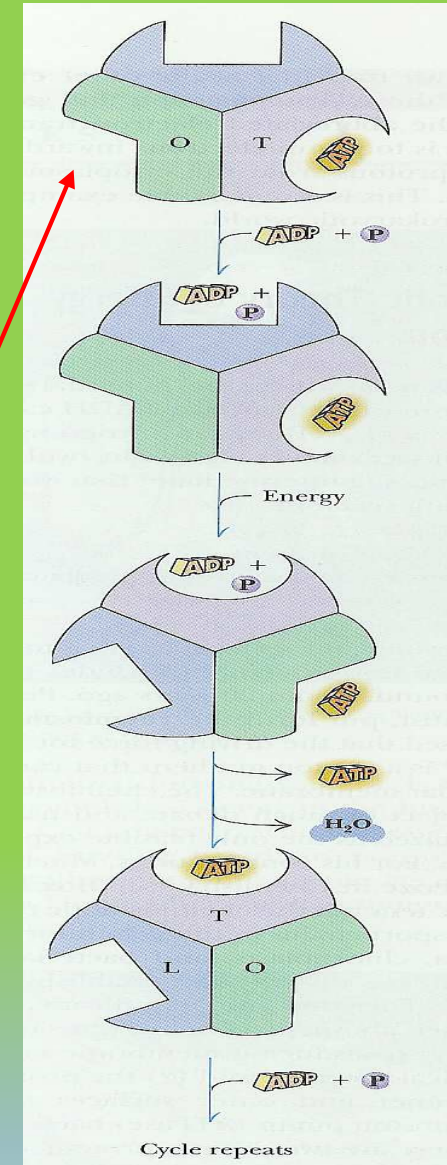
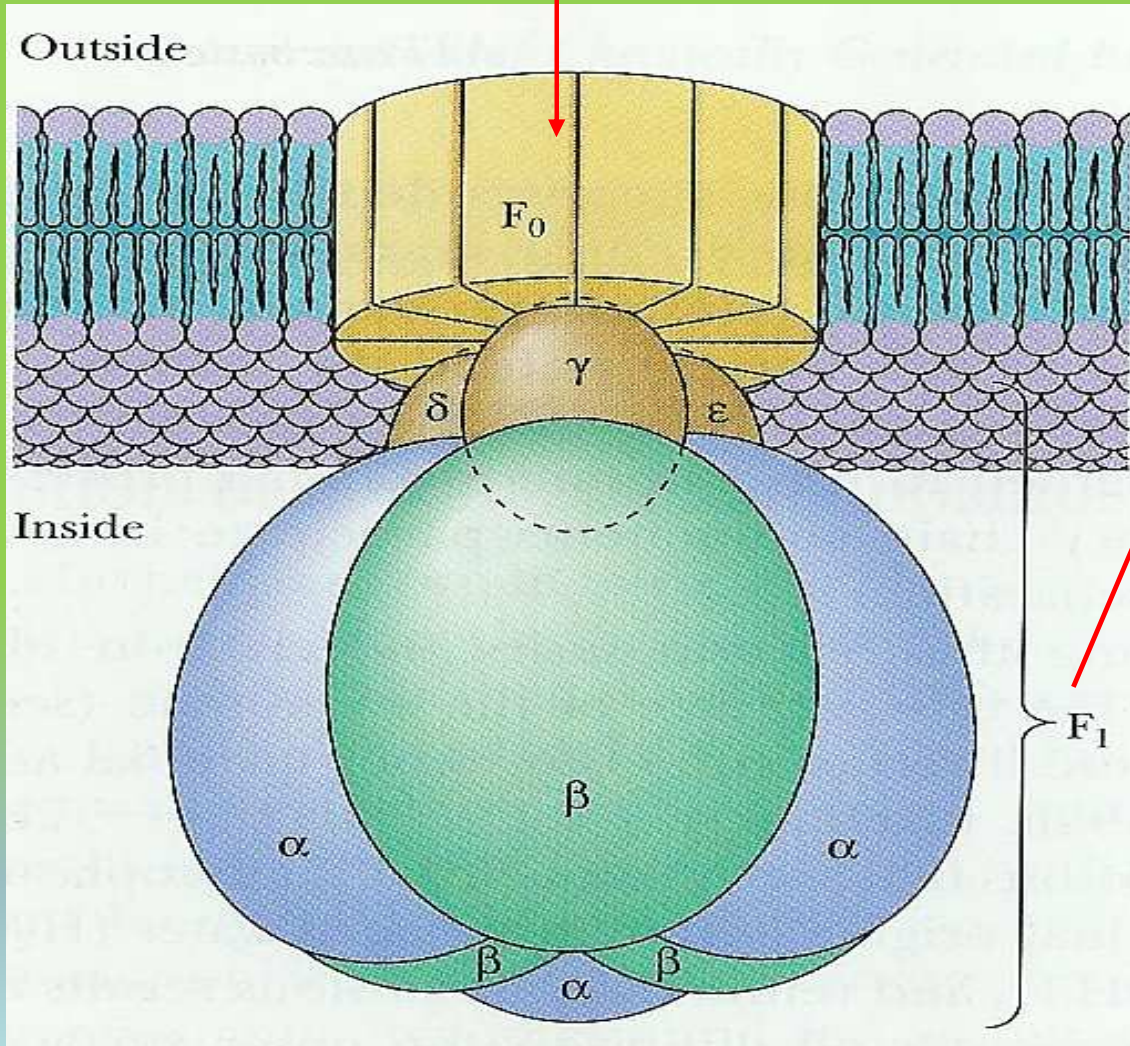
Tvorba ATP na úrovni membrány



Tvorba ATP na úrovni membrány

ATPáza

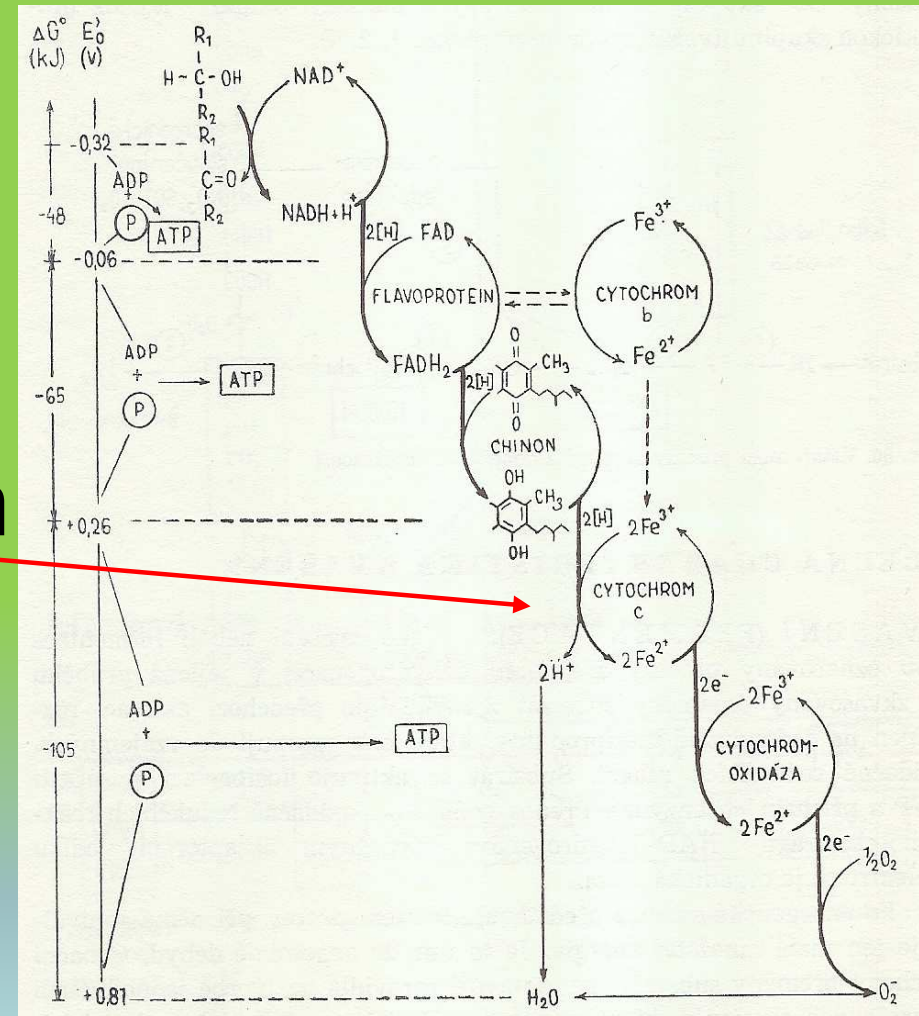
Protonový kanál



O → L → T → O

Tvorba ATP na úrovni membrány

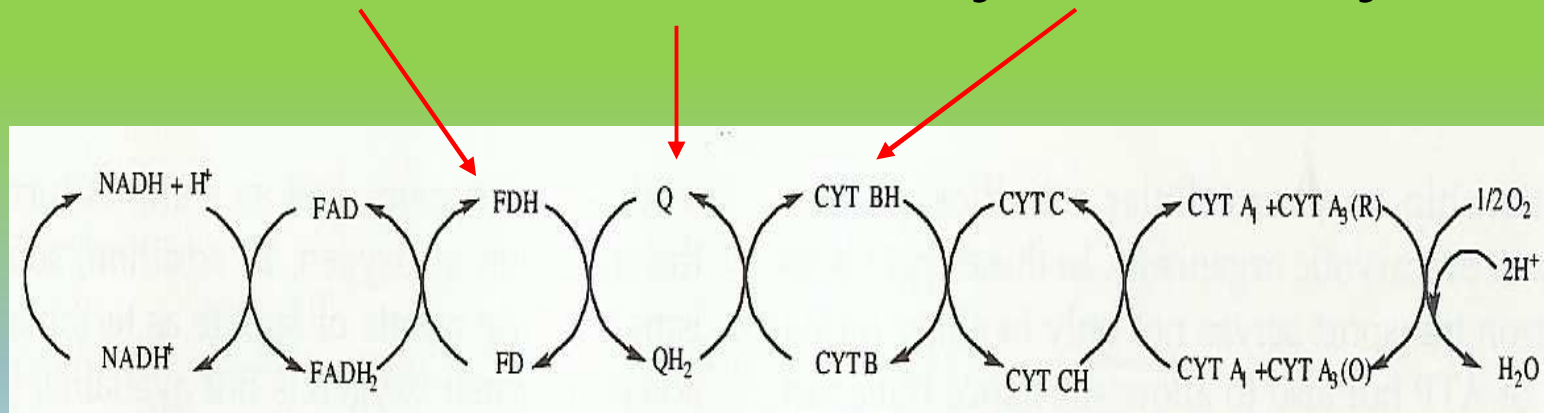
- **Respirační řetězec**
- ATP se generuje vytvářením protonového gradientu a potenciálu na membráně přechodem přes cytochromový řetězec



Tvorba ATP na úrovni membrány

- **Respirační řetězec** u prokaryotických organismů má několik typů

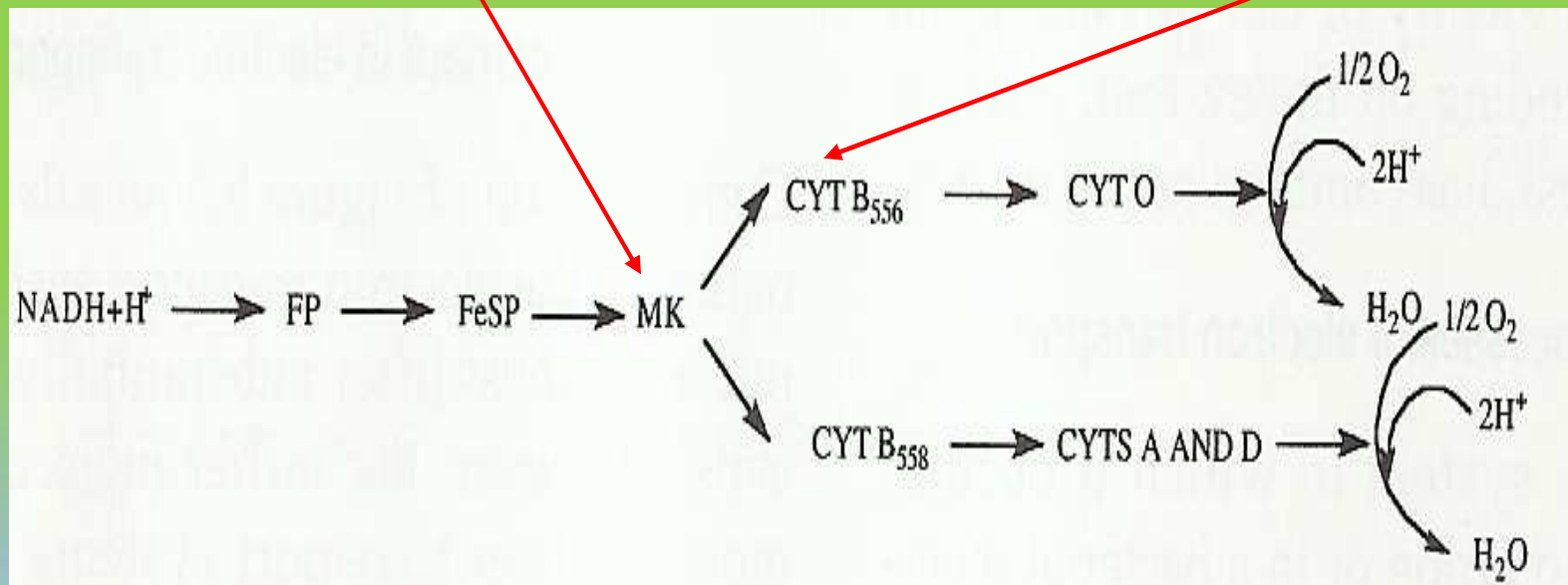
A/ Obecný typ – zahrnující NAD, FAD, feredoxin, chinom a cytochromy



Tvorba ATP na úrovni membrány

- **Respirační řetězec**

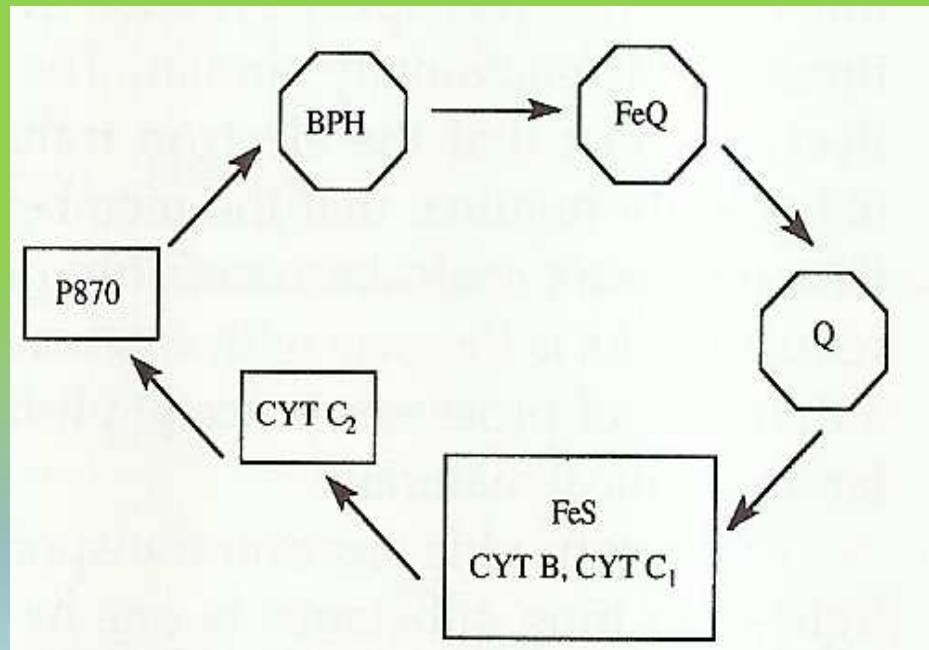
B/ Rozvětvený lineární řetězec s menachinonem a dvěma typy cyt b



Tvorba ATP na úrovni membrány

- **Respirační řetězec**

C/ Cyklický systém u purpurových bakterií



Tvorba ATP na úrovni membrány

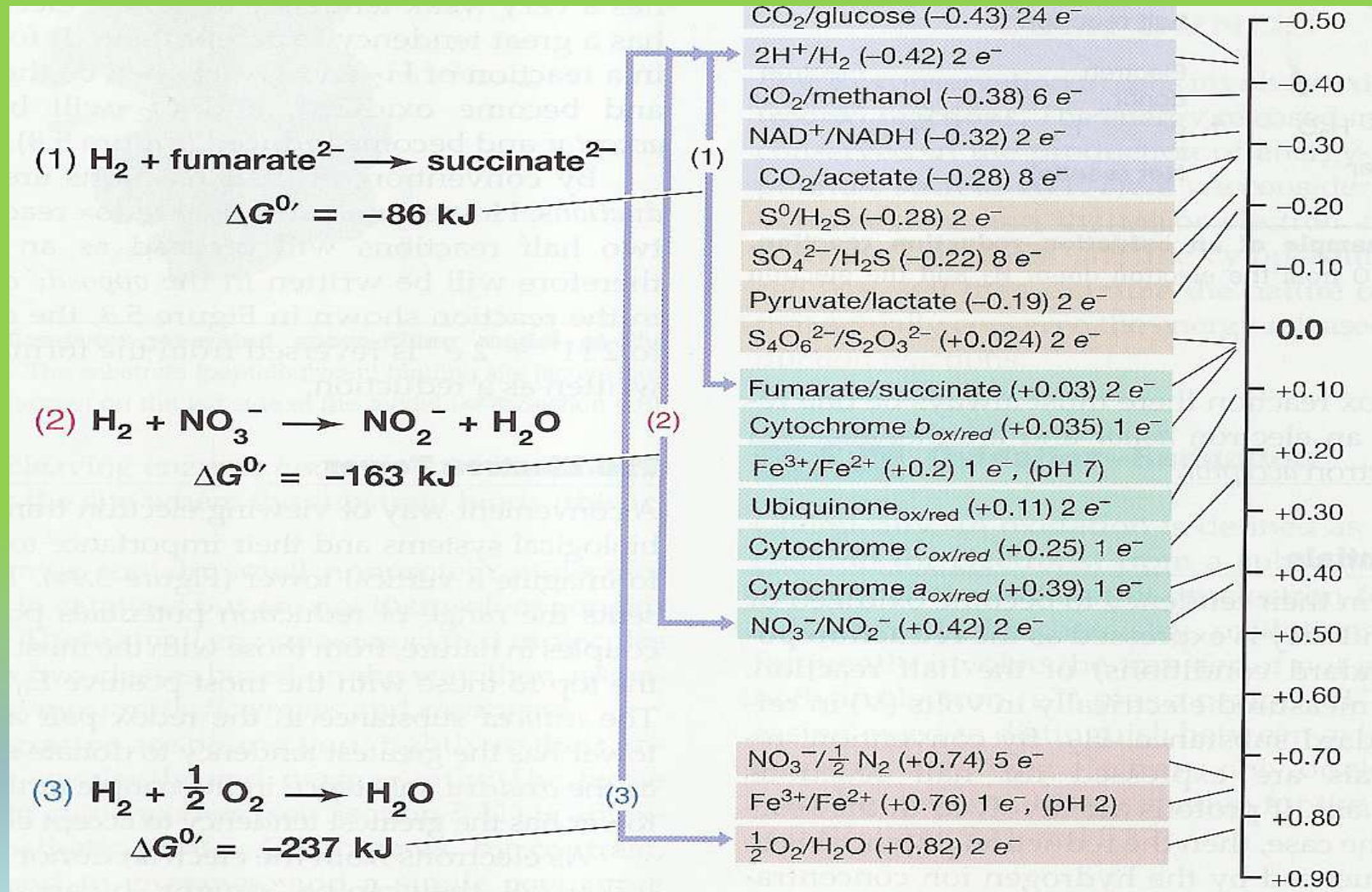
- Standardní oxidační potenciály

		E_0' (V)
NAD/NADH	$+2H^++2e^-$	-0,32
FAD/FADH ₂	$+2H^++2e^-$	-0,22
FMN/FMNH ₂	$+2H^++2e^-$	-0,19
Fumarát/sukcinát	$+2H^++2e^-$	+0,03
Menachinon	$+2H^++2e^-$	-0,07
Ubichinon	$+2H^++2e^-$	+0,11
2cytb _{ox} /cytb _{red}		+0,07
2cytc _{ox} /cytc _{red}		+0,25
2cyta _{ox} /cyta _{red}		+0,38
1/2O ₂ /H ₂ O	$+2H^++2e^-$	+0,82
SO ₄ ²⁻ /SO ₃ ²⁻	$+2H^++2e^-$	+0,20
2NO ₃ ⁻ /N ₂ O ₄	$+2H^++2e^-$	+0,80

Tvorba ATP na úrovni membrány

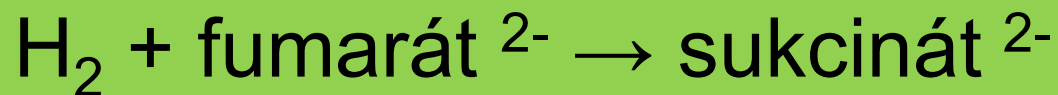
Příklady reakcí, kdy H₂ je donor e⁻

E₀' (V)

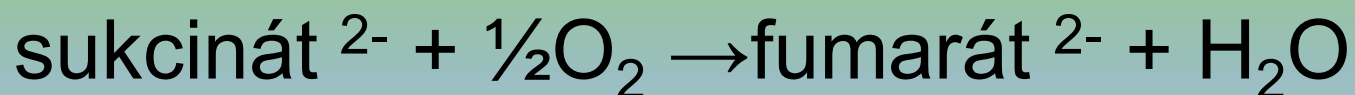
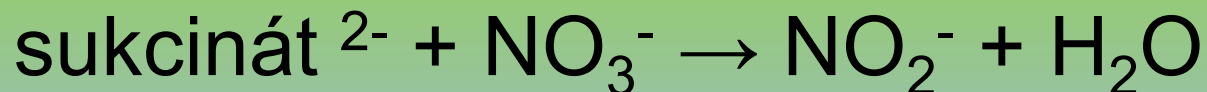


Tvorba ATP na úrovni membrány

- Obecně O_2 je nejvýhodnější terminální akceptor vodíku a elektronů
- Vystupují i jiné látky, v závislosti na reagujícím páru
- Př. $2H^+/H_2$ (-0,42V), fumarát/sukcinát (+0,02V)

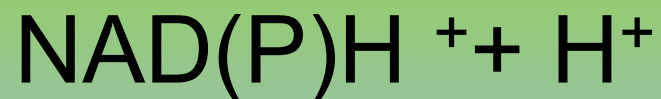


ale



Role NAD(P) v metabolismu

- NAD(P) – univerzální přenašeč vodíku a elektronů
- Jeho redukovaná i oxidovaná forma volně cirkuluje v základní cytoplazmě
- Molekula NAD(P)⁺ je redoxním systémem



$$E'_0 = -0,32\text{V}$$

Role NAD(P) v metabolismu

- NAD(P) – je druhým substrátem řady cytoplazmatických dehydrogenáz (laktát dehydrogenáza, glyceraldehyd-3-P dehydrogenáza,)
- Některé dehydrogenázy využívají jako druhý substrát NAD^+ jiné NADPH^+
- Bakterie a (některé eukaryotické mikroorganismy a živočišné buňky) obsahují NAD(P)^+ -transhydrogenázu, katalyzující reakci



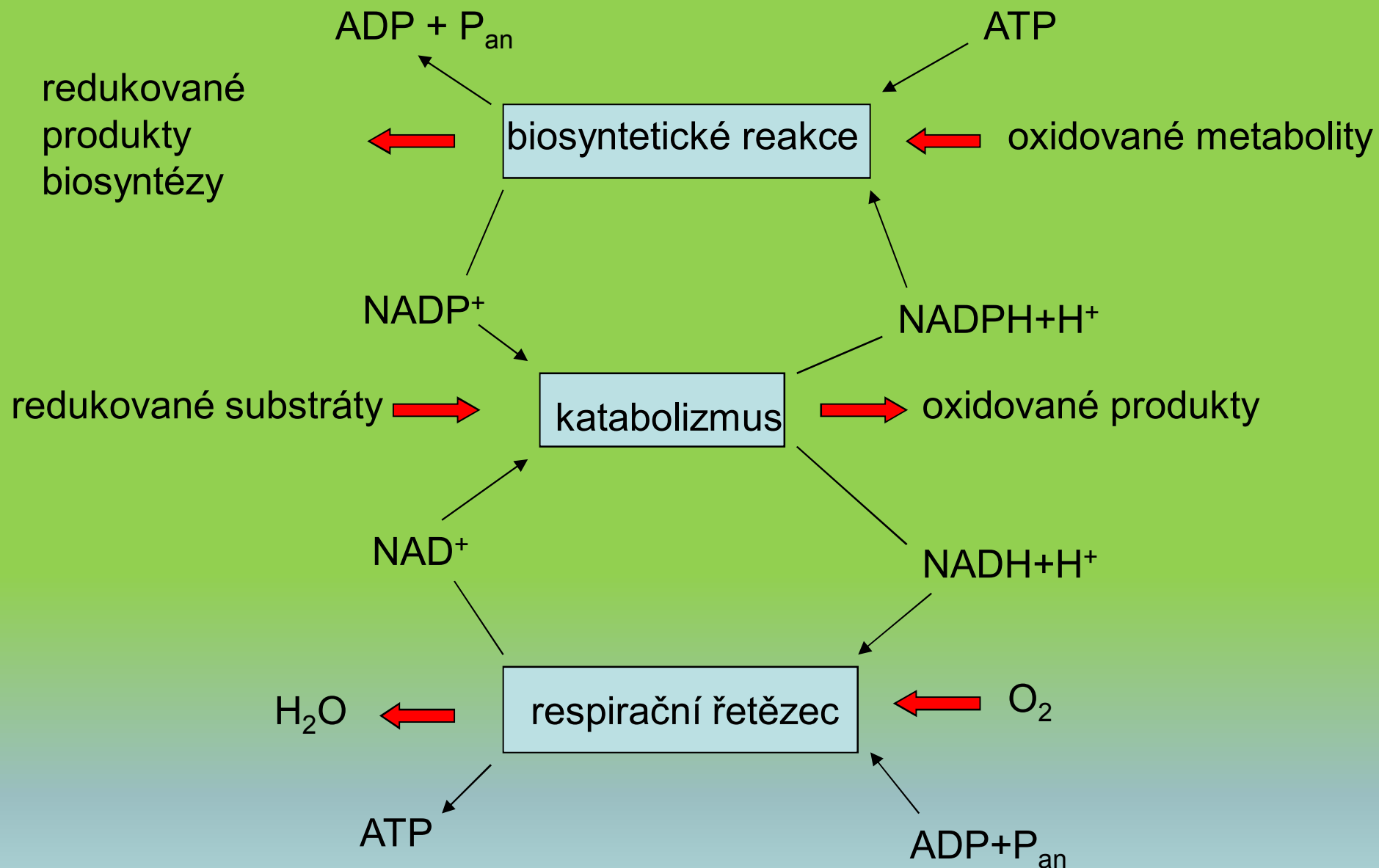
Role NAD(P) v metabolismu

- **Transhydrogenáza** je lokalizovaná u bakterií na cytoplazmatické membráně, u eukaryot v mitochondriích (vnitřní strana vnitřní membrány)
- Standardní elektrodový potenciál poločlánku NAD^+/NADH i $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$
je prakticky stejný $-0,32 \text{ V}$
- Reakce $\text{NADPH} + \text{NAD}^+ \leftrightarrow \text{NADP}^+ + \text{NADH}$
zleva doprava je **exergonická**
zprava doleva je **endergonická** (dodání ATP
nebo protonový gradient)

Role NAD(P) v metabolismu

- **NADH je určeno především k redukci kyslíku a produkci ATP na úrovni membrány (exergonické reakce)**
- **NADPH je určeno především k redukcím v biosyntetických pochodech (endergonické reakce)**

Role NAD(P) v metabolismu



Role NAD(P) v metabolismu

- **Koncentrace**

NAD⁺/NADH

NADP⁺/NADPH

NADH/NADPH

**jsou v buňce konstantní,
a jejich koncentrace se citlivě reguluje,
v závislosti na rychlosti tvorby a spotřeby**

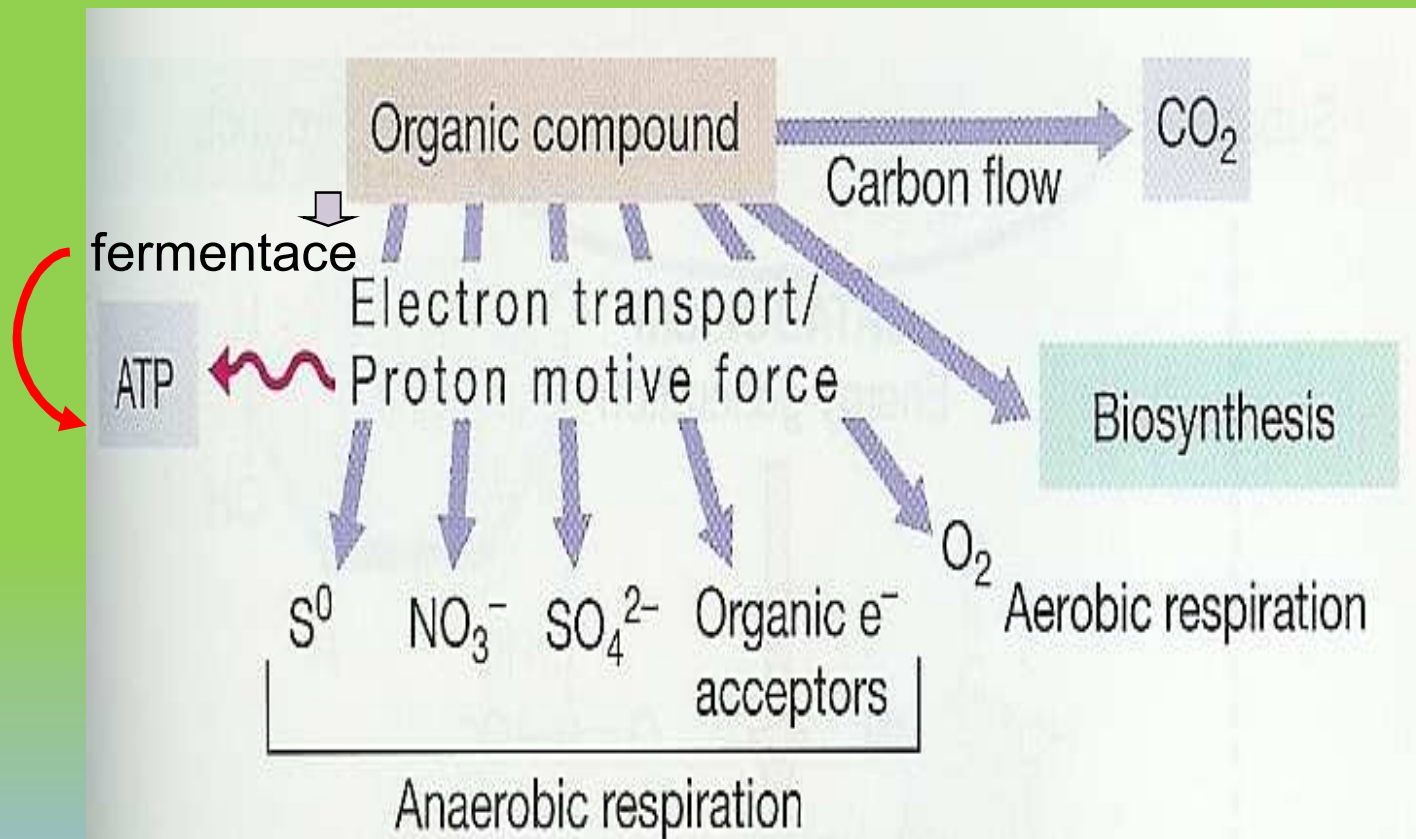
Metabolizmus

Rozdělení organismů ve vztahu ke zdrojům energie

- Chemotrofní
- Fototrofní

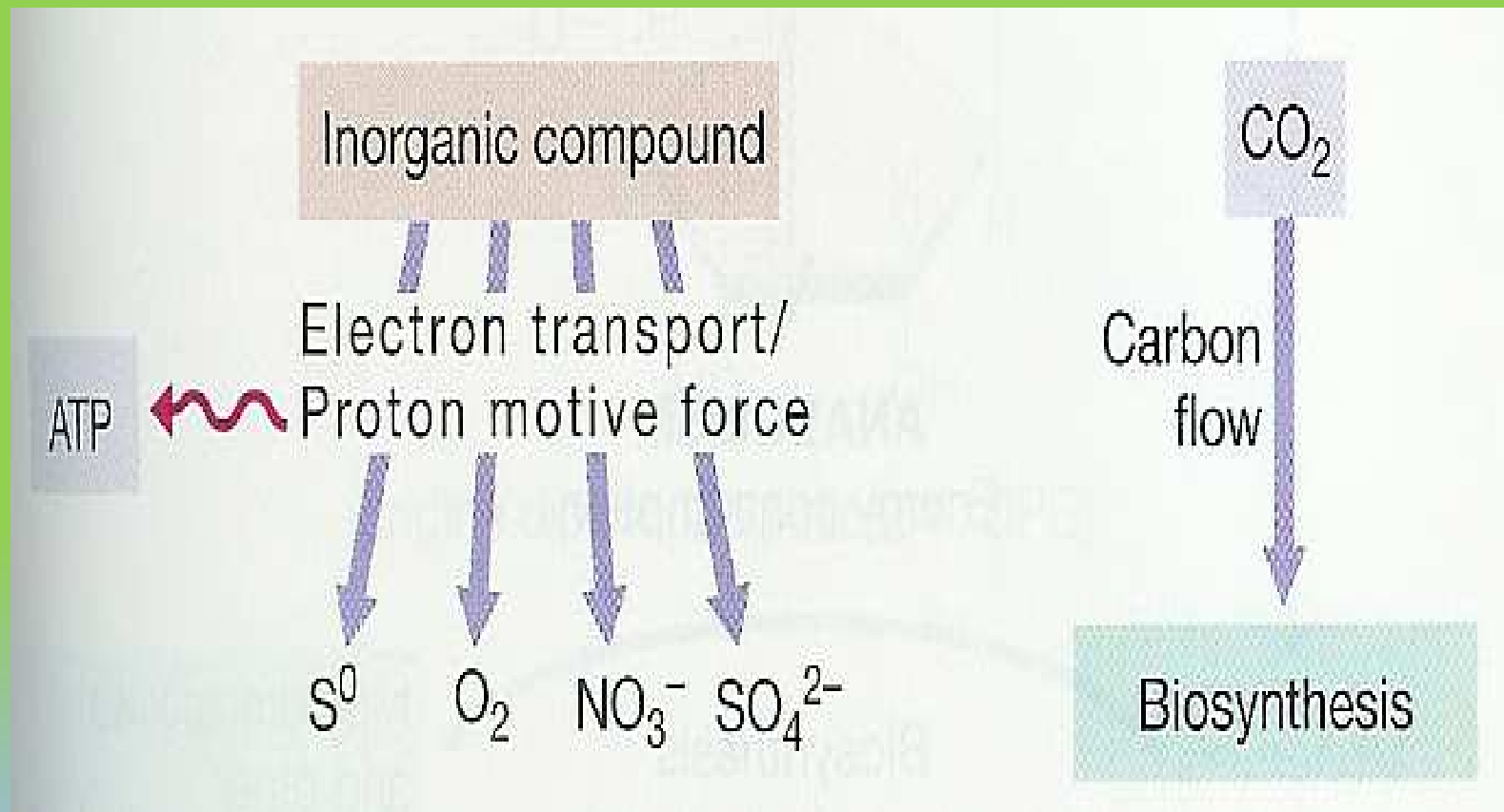
Rozdělení organismů ve vztahu ke zdrojům energie - **chemotrofní**

- chemoorganotrofní

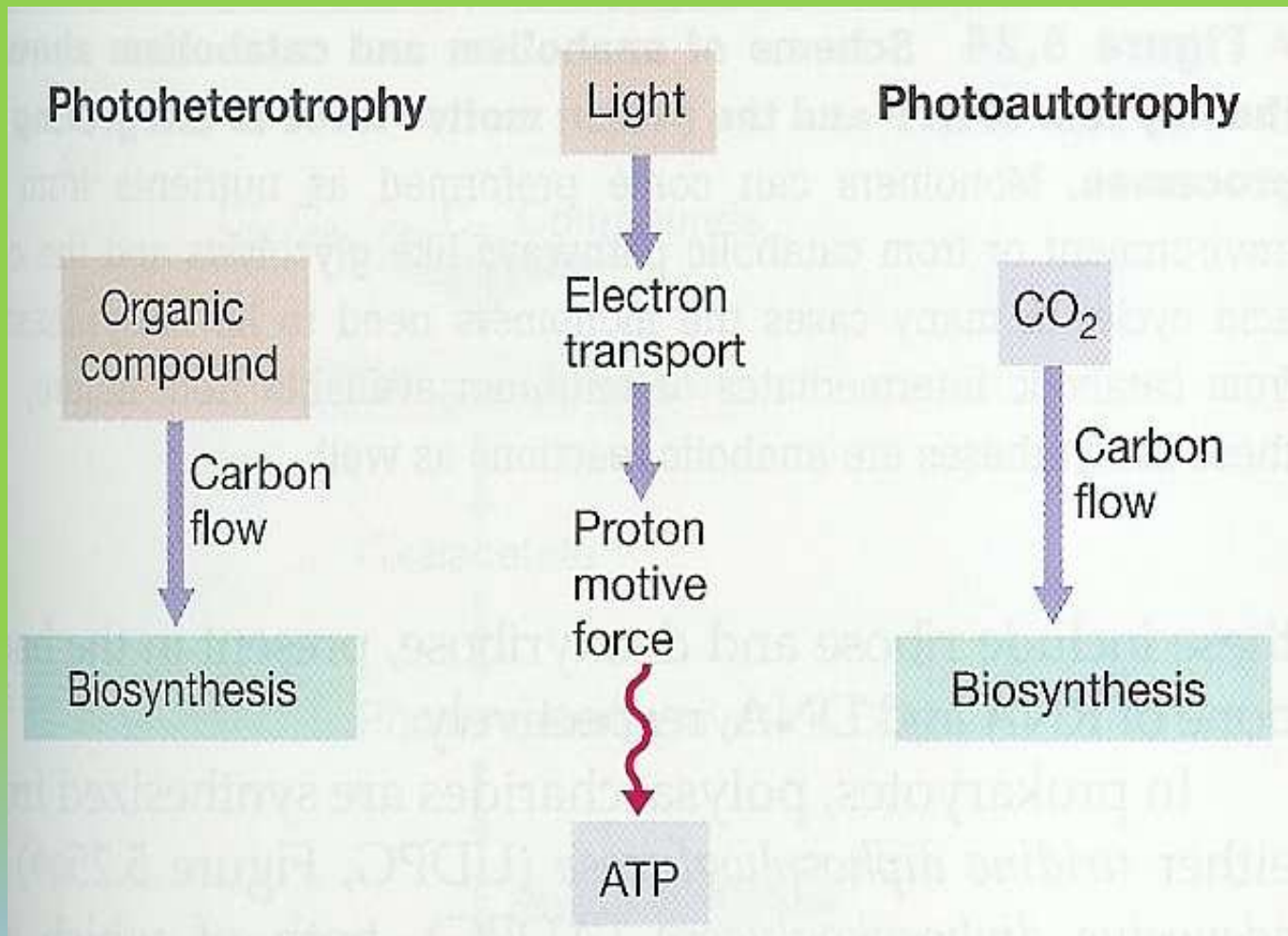


Rozdělení organismů ve vztahu ke zdrojům energie - **chemotrofní**

- chemolitotrofní



Rozdělení organismů ve vztahu ke zdrojům energie - **fototrofní**



Vztah chemotrofů ke kyslíku

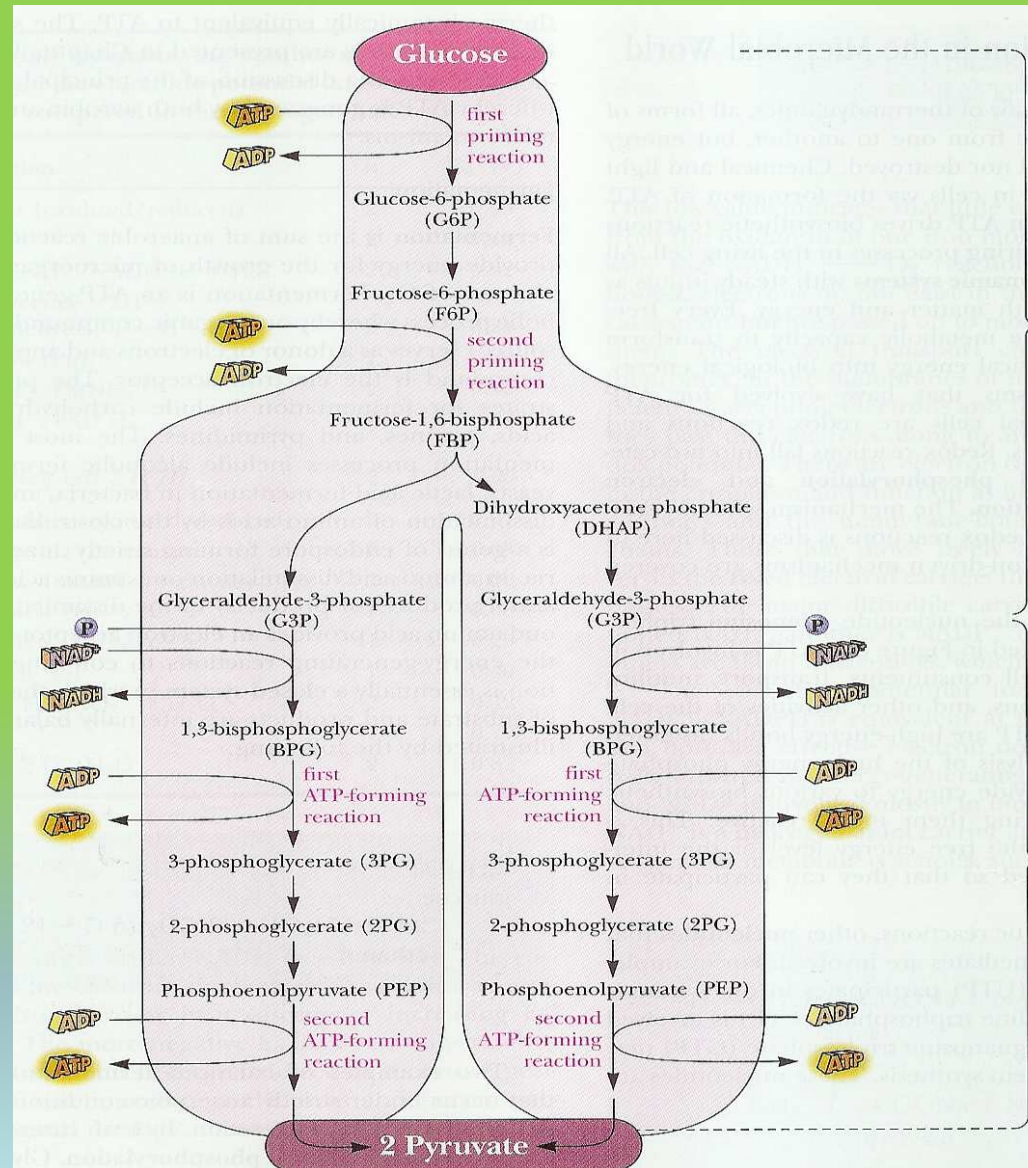
- Obligátně (striktně) aerobní
zisk energie → **aerobní respirace**
- Obligátně (striktně) anaerobní
zisk energie → **anaerobní respirace**
→ **fermentace**
- Fakultativně anaerobní
zisk energie → **aerobní respirace**
→ **anaerobní respirace**
→ **fermentace**
- Mikroaerofilní → **fermentace**
- Aerotolerantní → **fermentace**

Fermentace – kvašení

“Kvašení je život bez vzduchu” – L.Pasteur

- Glykolýza

Ebden
Mayerhof
Parnasova dráha
(EMP dráha)

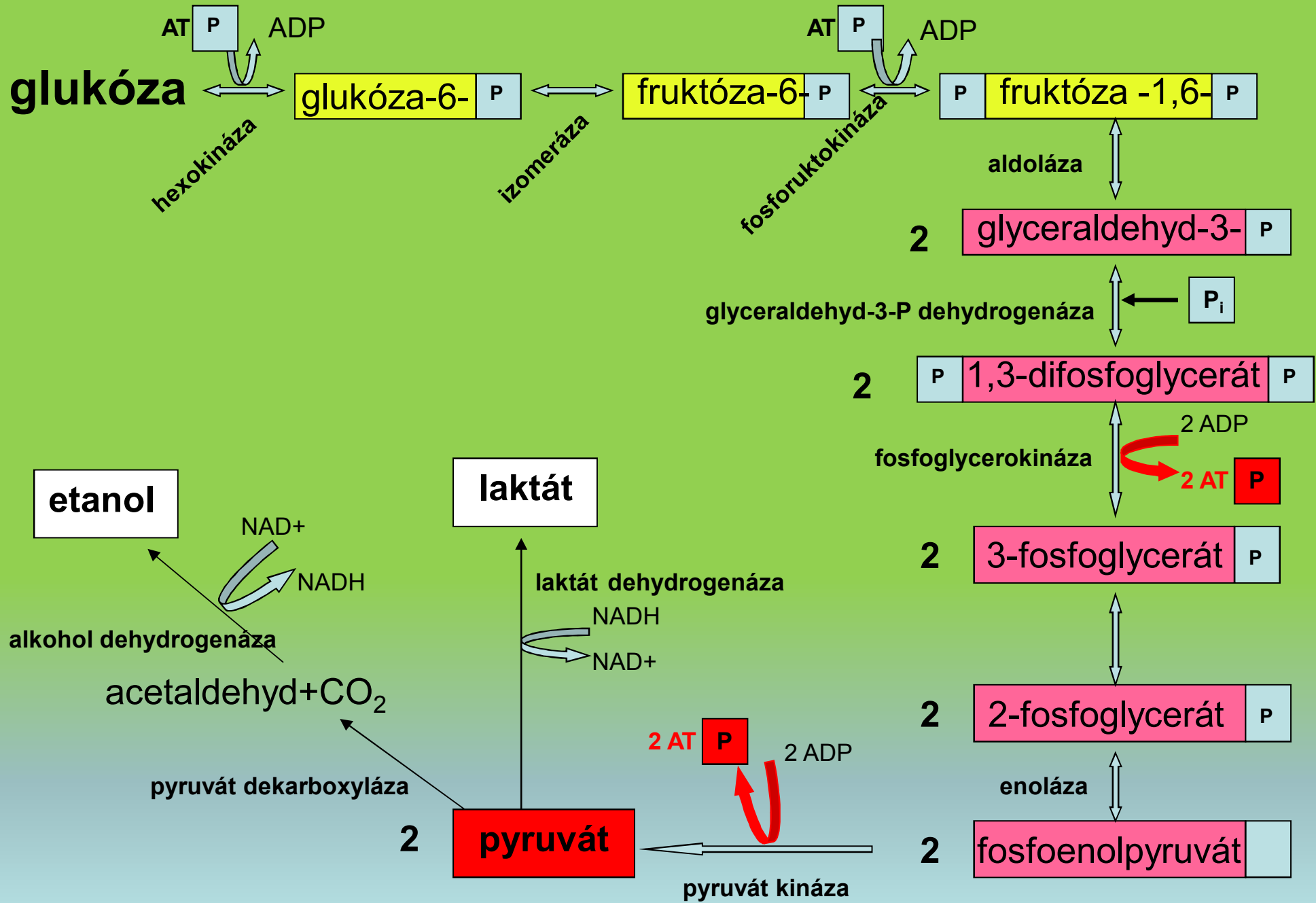


Fosforylace
glukózy
(spotřeba
2 ATP)

Čistý výtěžek :
2 ATP/mol glukózy

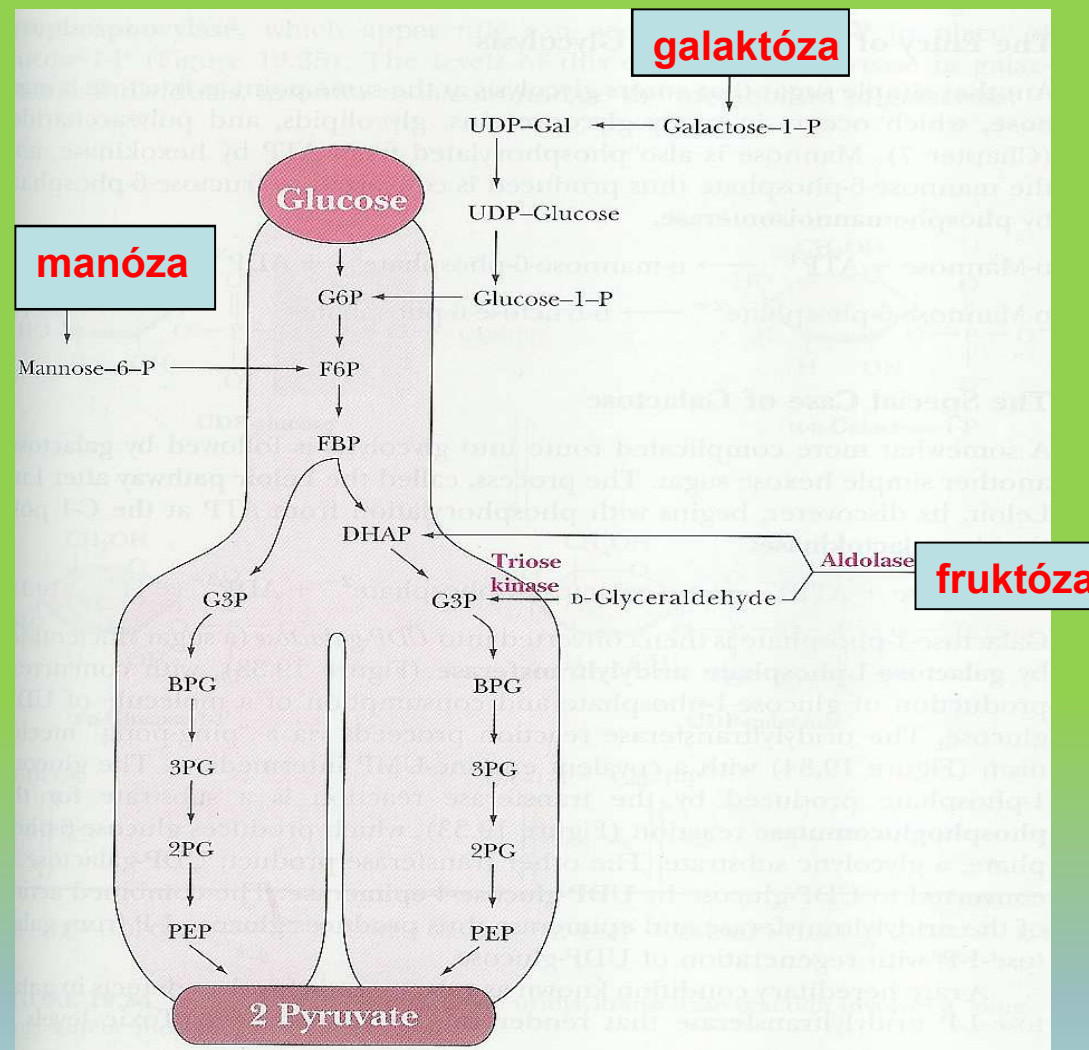
Vznik pyruvátu
(vytvoření
4 ATP)

Glykolýza

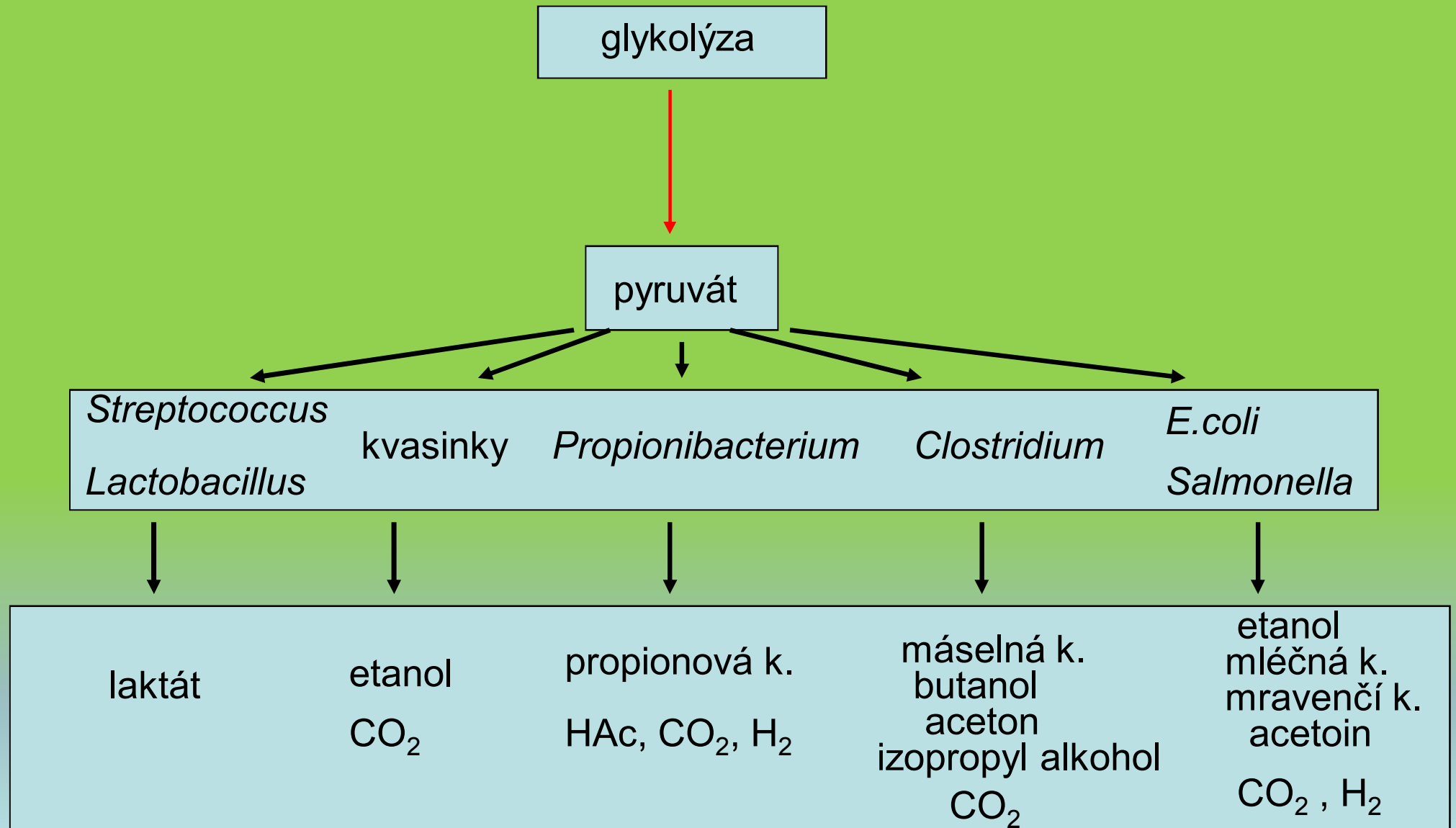


Fermentace

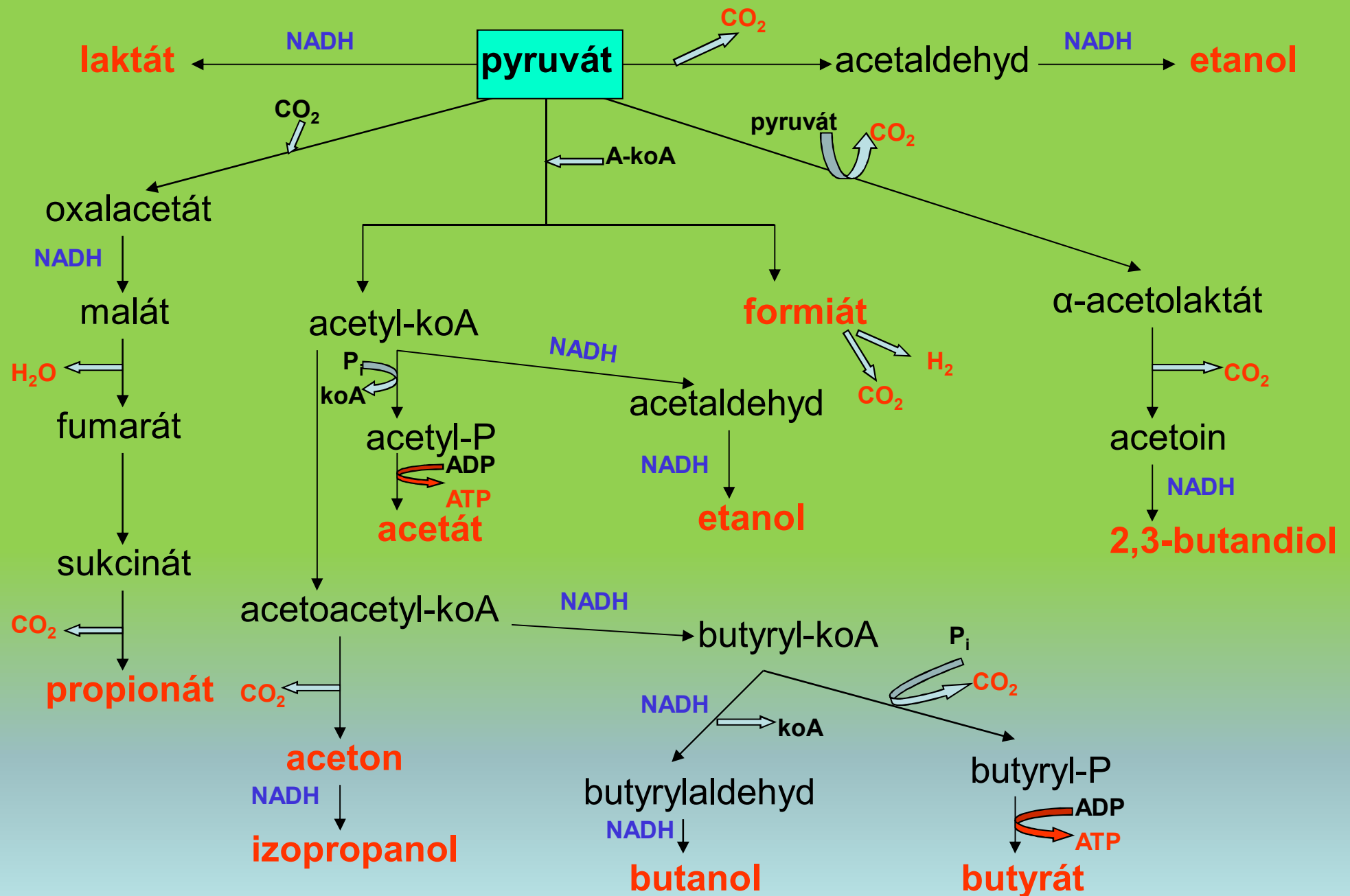
Využití jiných
cukrů v
Glykolýze



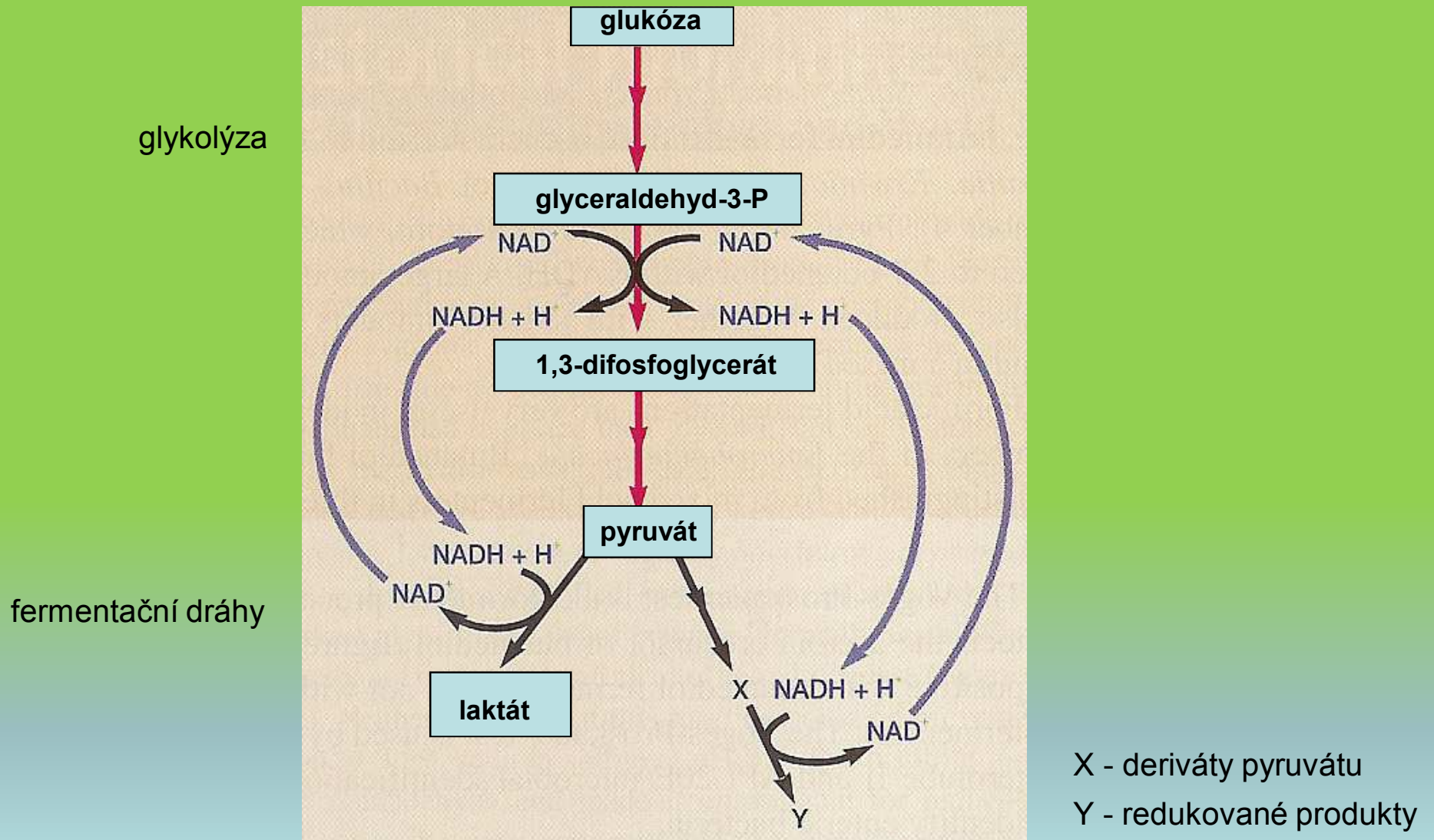
Fermentace – úloha pyruvátu



Některé mikrobiální fermentace



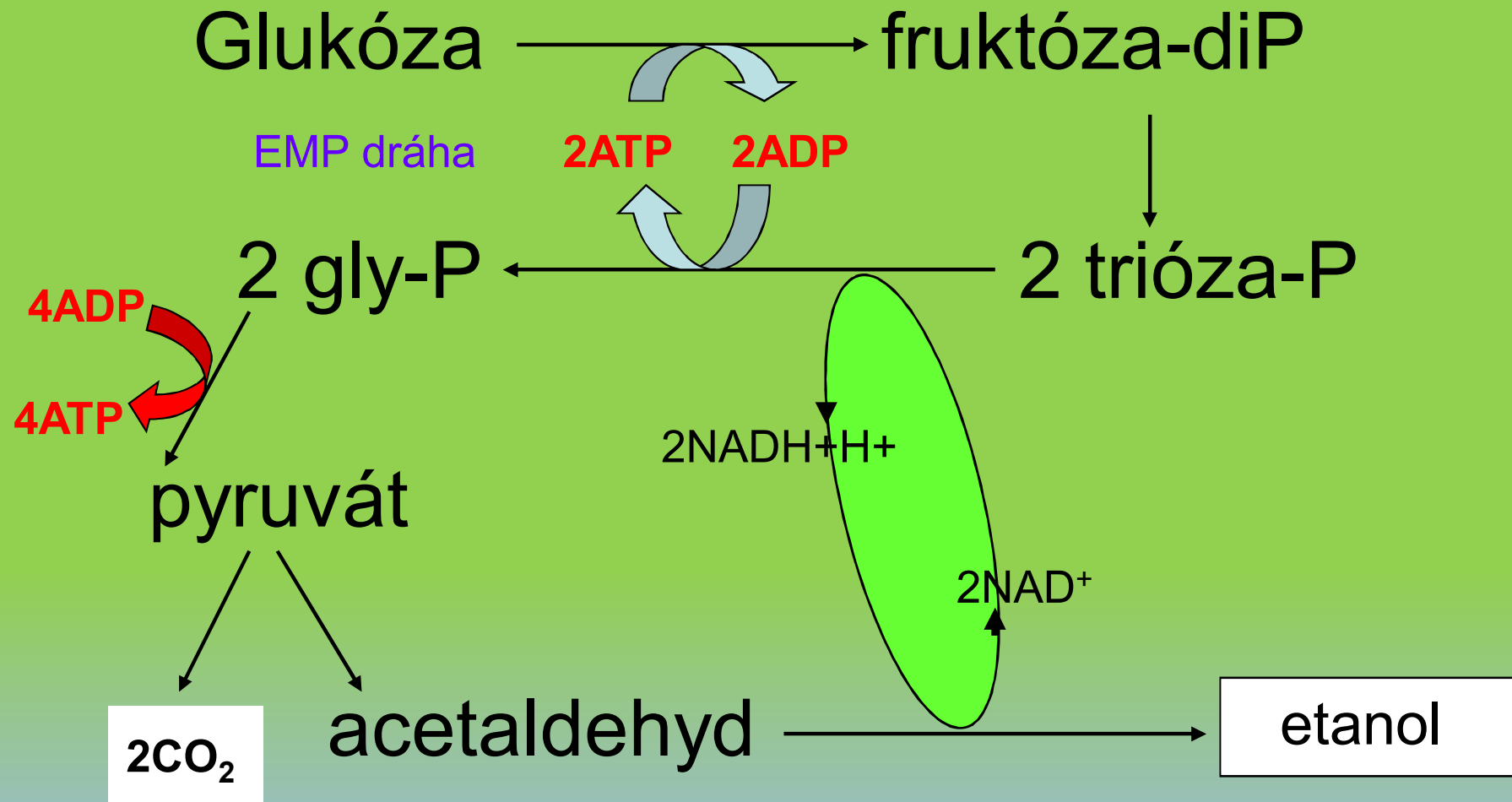
Reoxidace NADH během fermentace



Fermentace

- **Homofermentativní kvašení** – konečným produktem je jedna látka v převažujícím množství (obvykle více než 90%) - homofermentativní mléčné kvašení – *Lactobacillus acidophilus* → kyselina mléčná (acidofilní mléko)
- **Heterofermentativní kvašení** – konečným produktem je několik metabolitů (některý může převažovat) – máselné kvašení - *Clostridium* → kyselina máselná, butanol, izopropyl alkohol, aceton

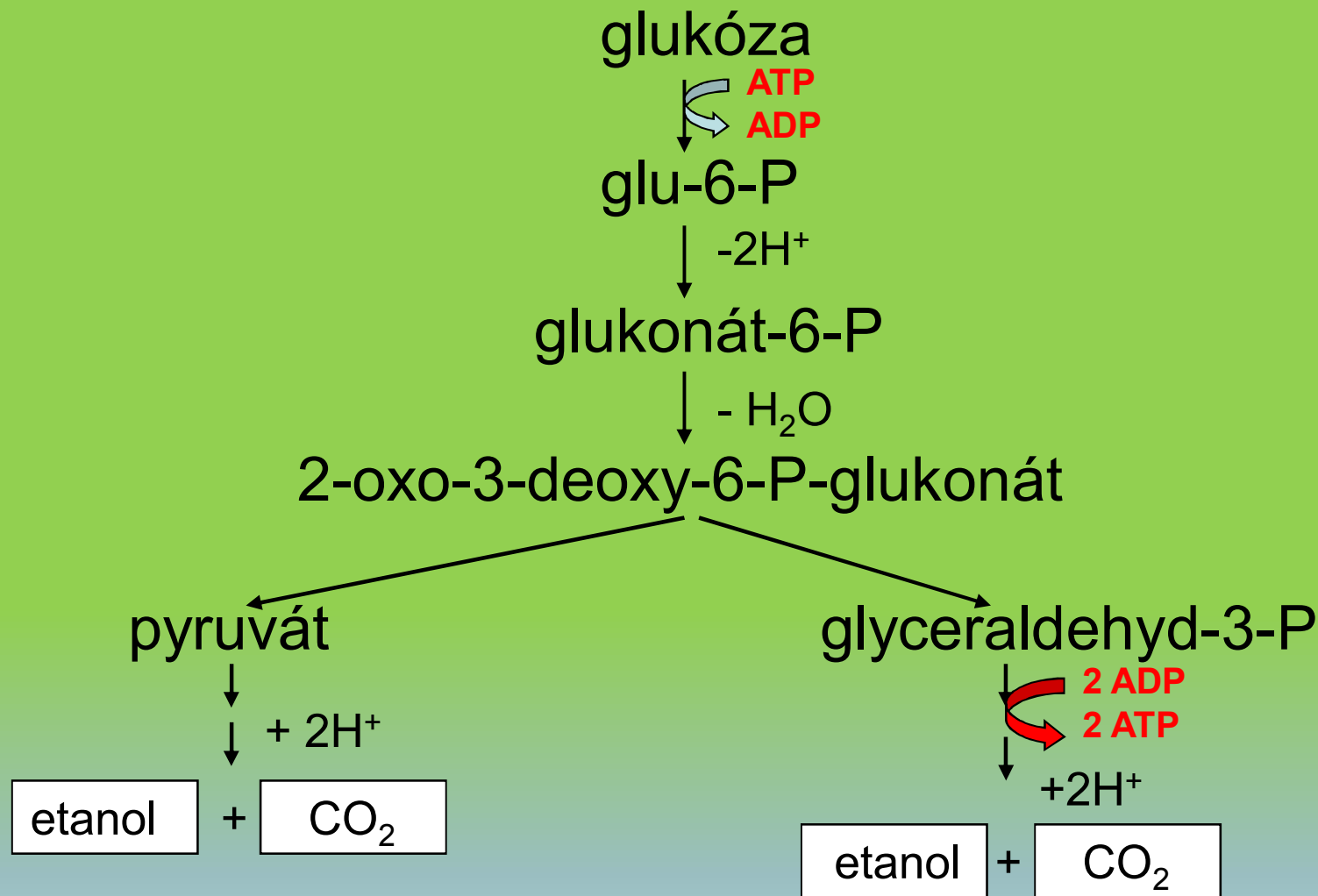
Etanolové kvašení u kvasinek



Čistý výtěžek : 2 ATP/mol glukózy

Etanolvé kvašení u bakterií

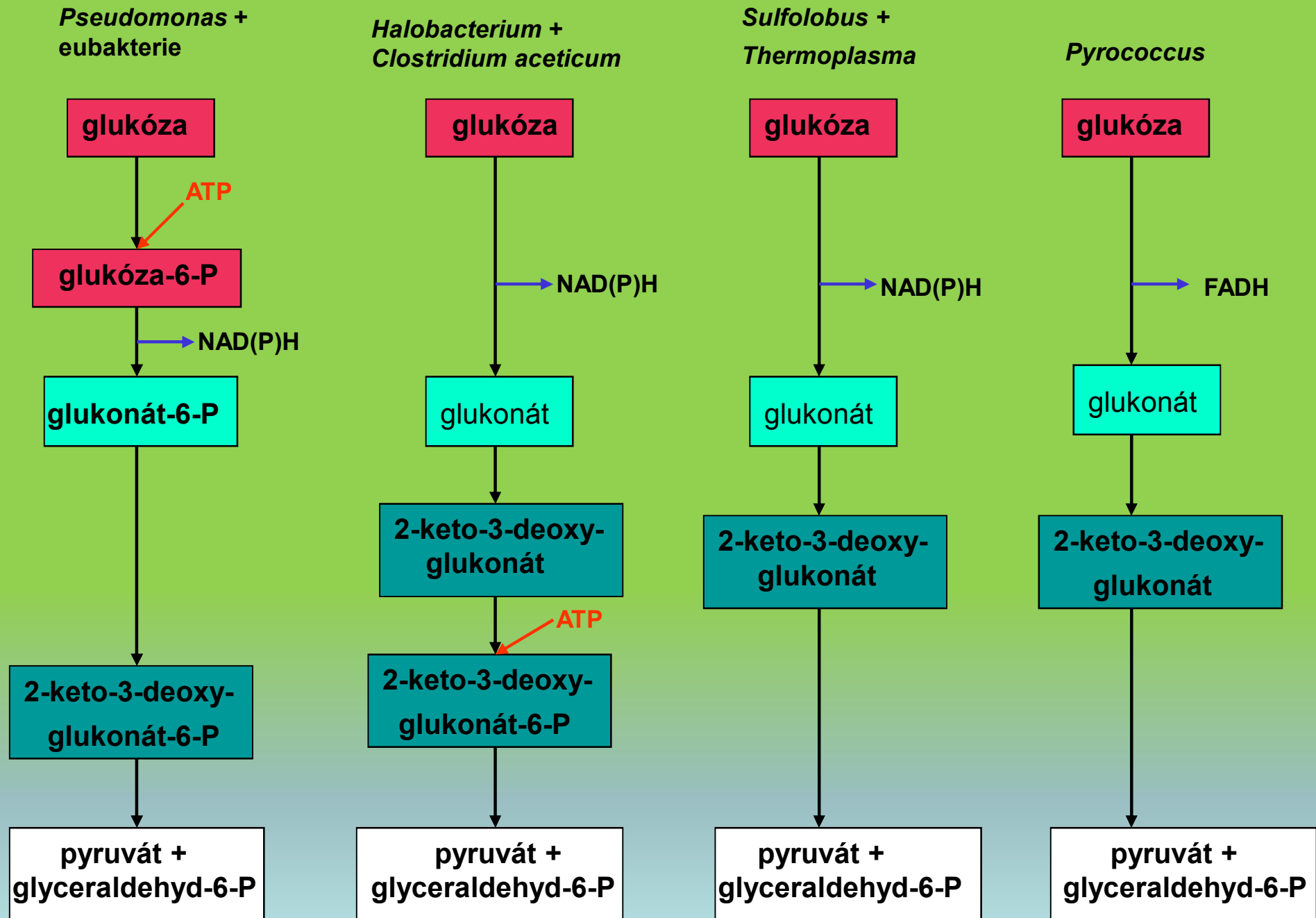
ketodeoxyglukonátová (**Entner-Doudorofova**) dráha



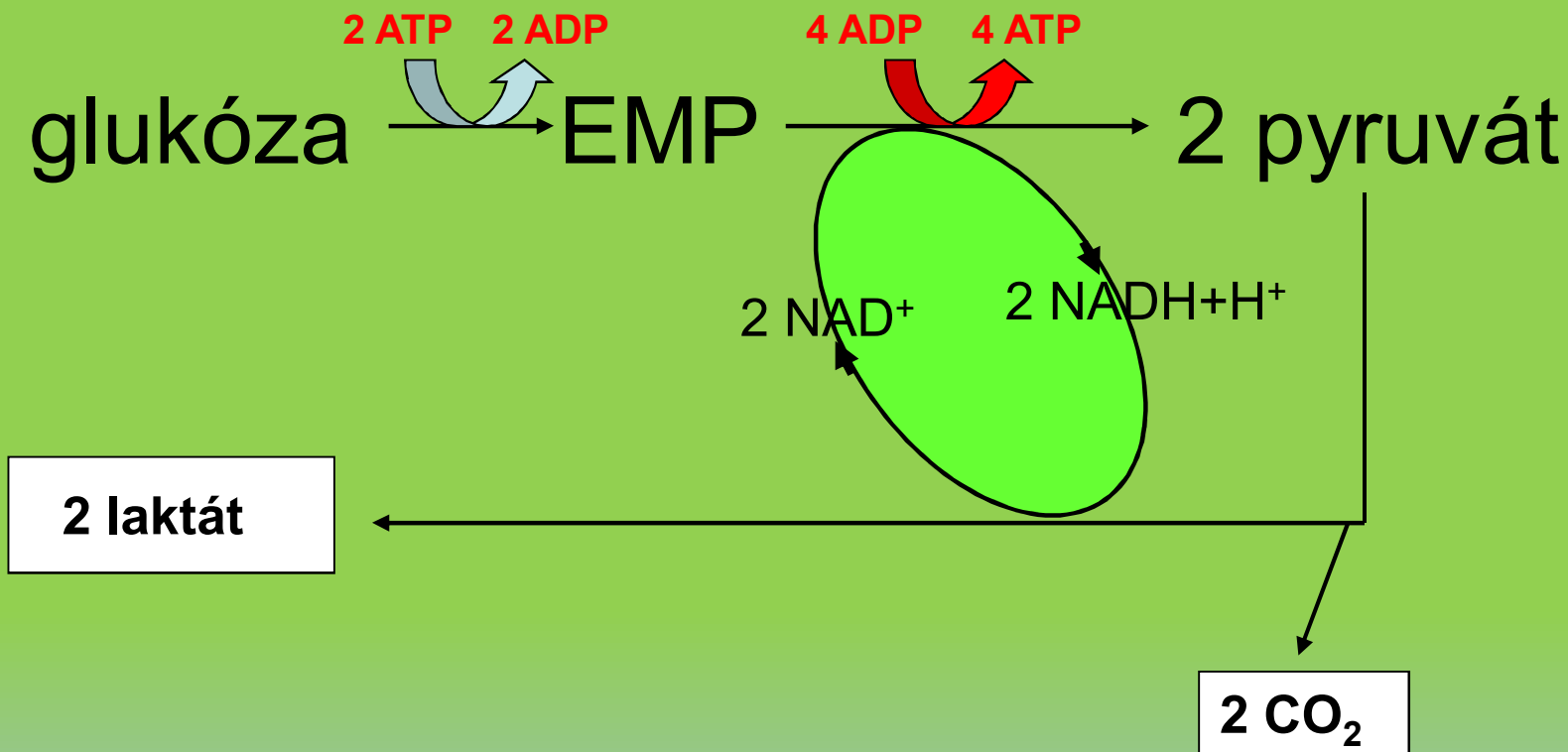
Čistý výtěžek: 1 ATP/ mol glukózy

Organismus: *Zymomonas*

Modifikace Entner-Doudorofovy dráhy



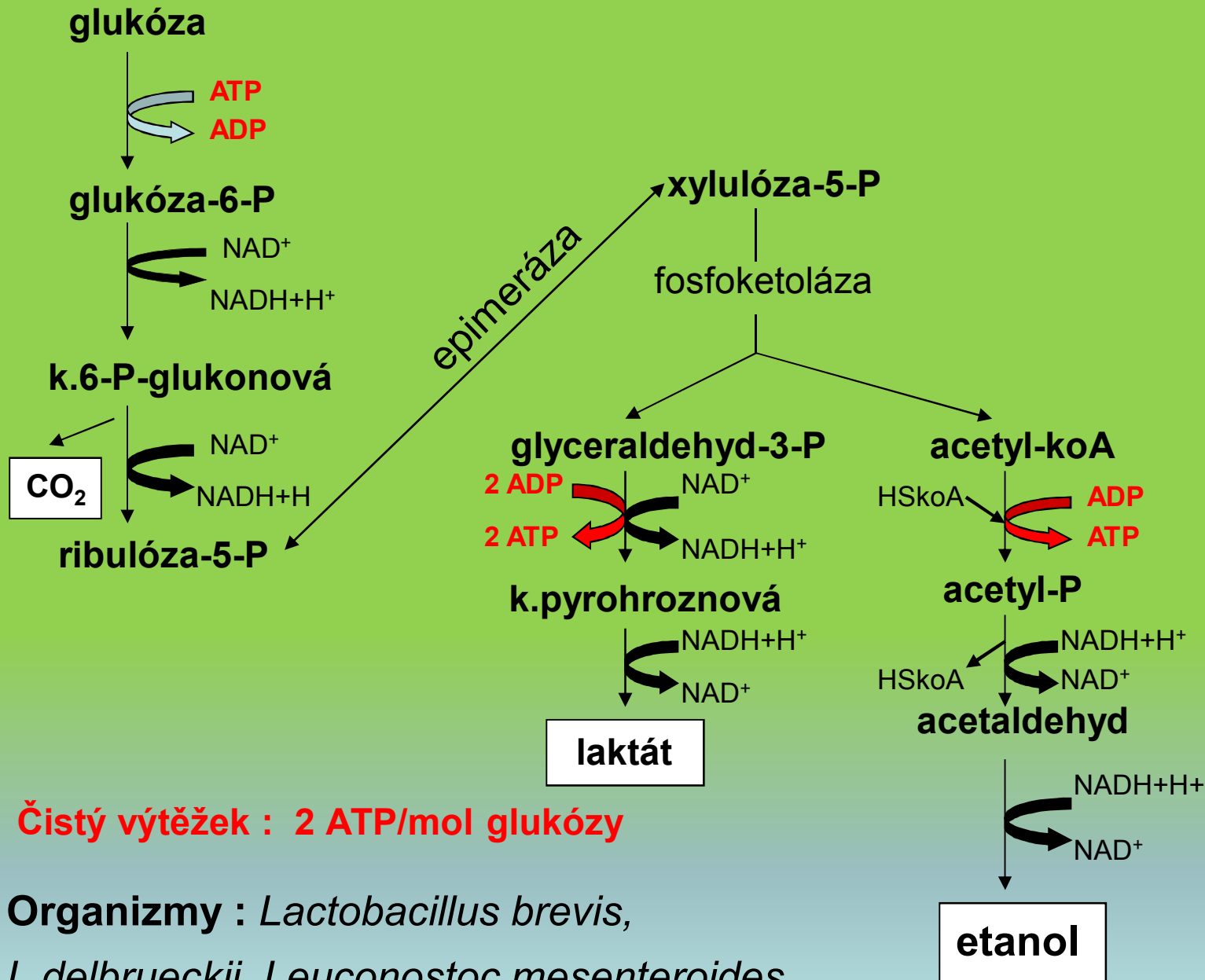
Homofermentativní mléčné kvašení



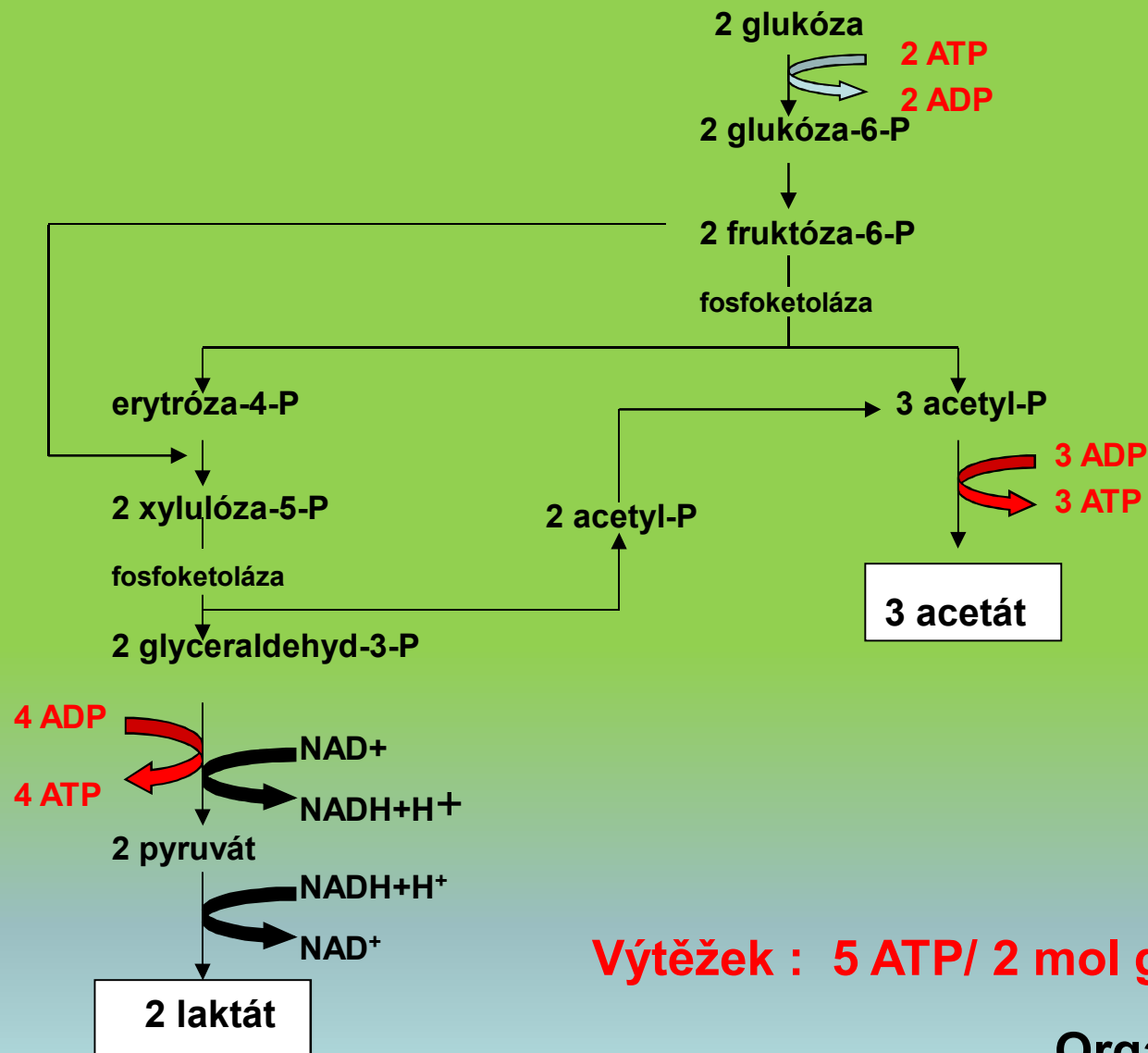
Čistý výtěžek : 2 ATP/mol glukózy

Organizmy : *Lactobacillus acidophilus*, *L.bulgaricus*, *L.casei*,
L. leichmannii, *Streptococcus lactis*

Heterofermentativní mléčné kvašení (fosfoketolázová dráha)



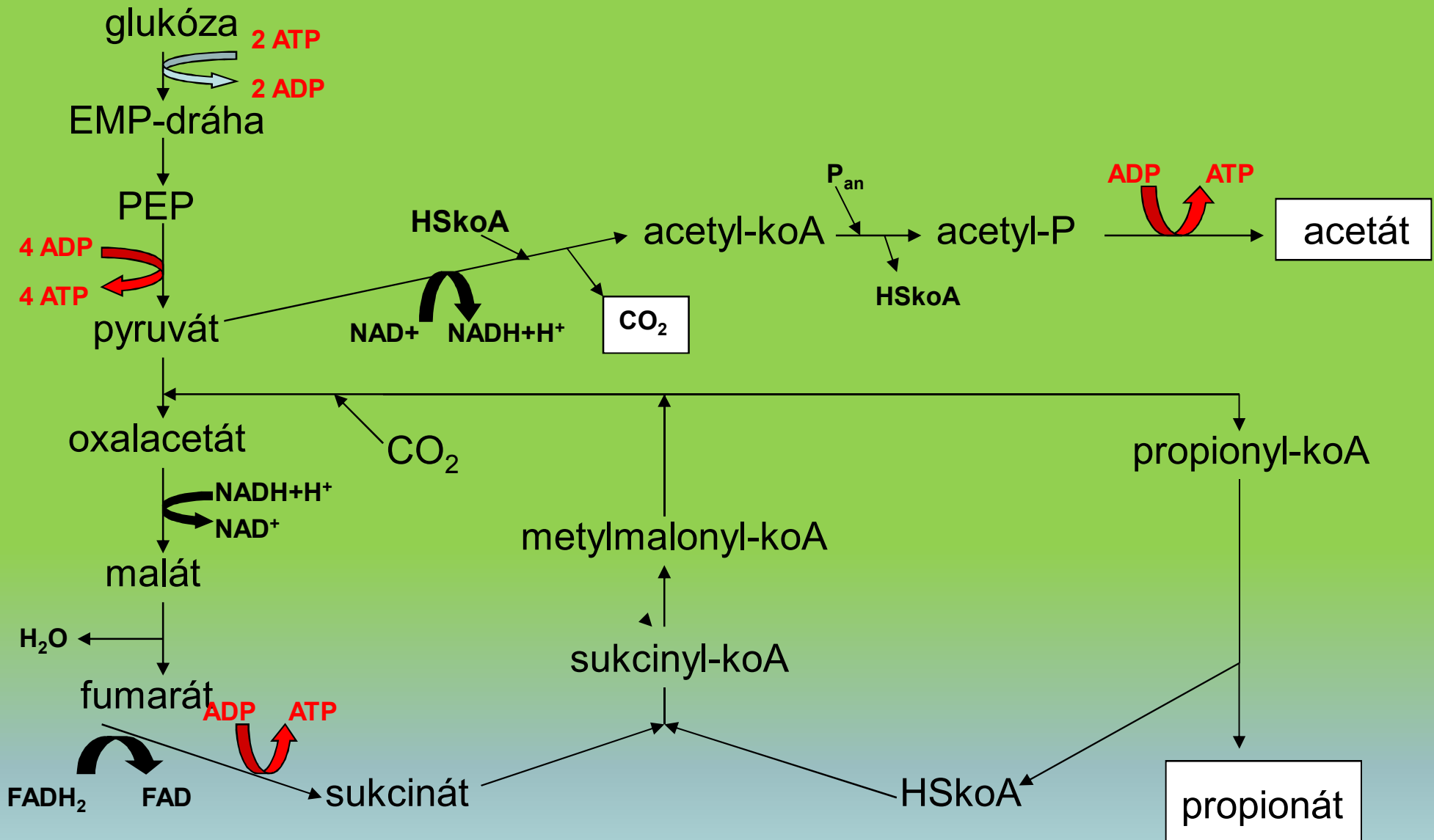
Heterofermentativní zkvašování hexóz (fosfoketolázová dráha)



Výtěžek : 5 ATP/ 2 mol glukózy

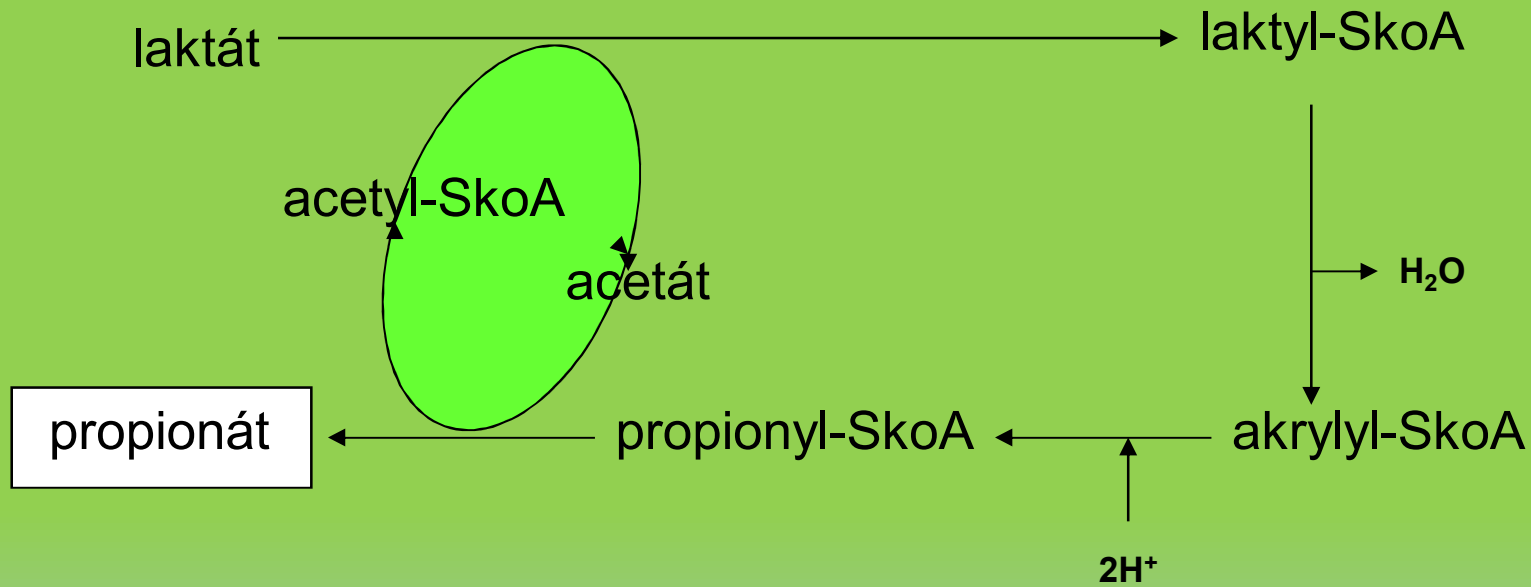
Organismus : *Bifidobacterium bifidum*

Propionové kvašení



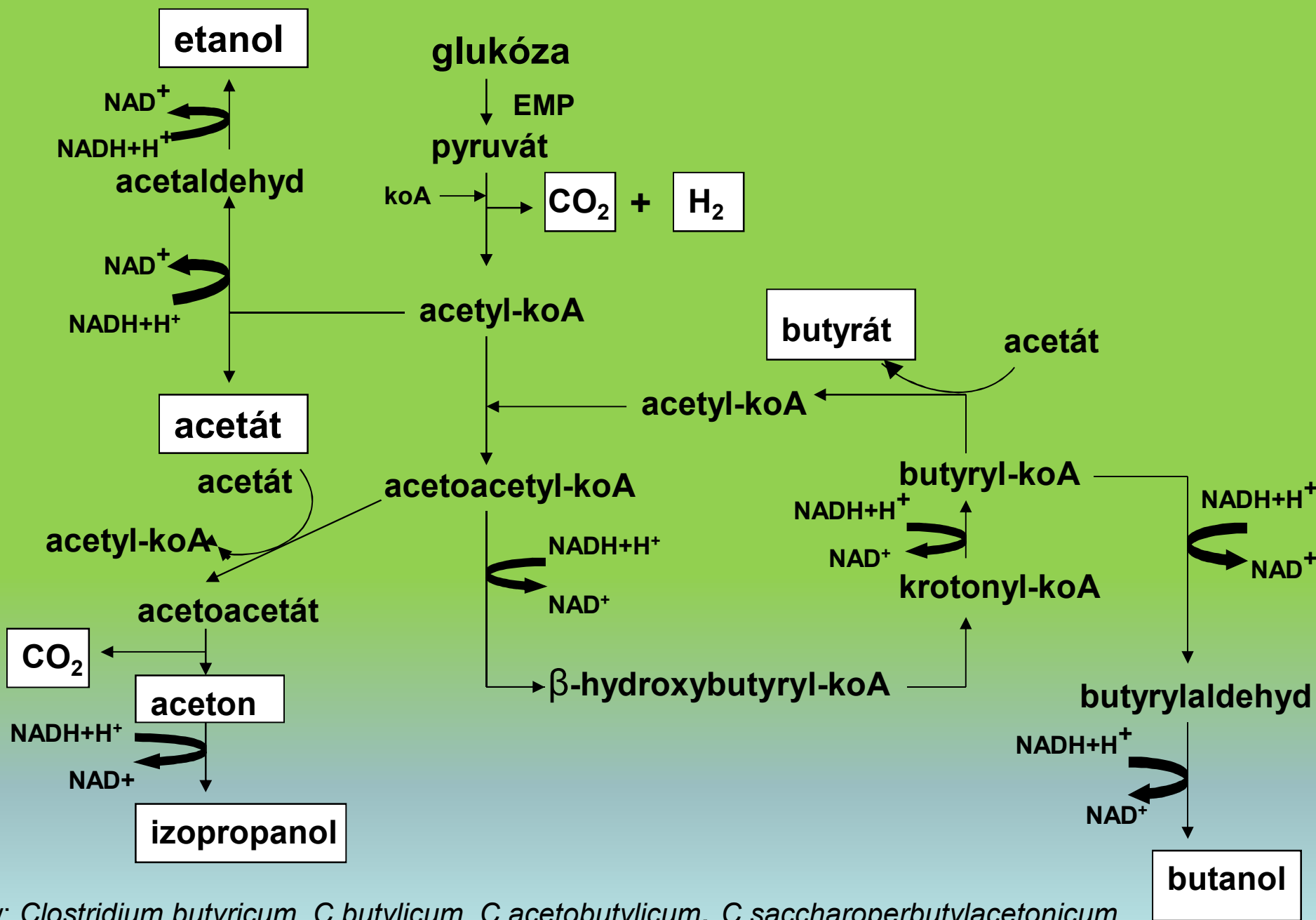
Organizmy: *Propionibacterium*, *Veillonella alcalescens*

Propionové kvašení



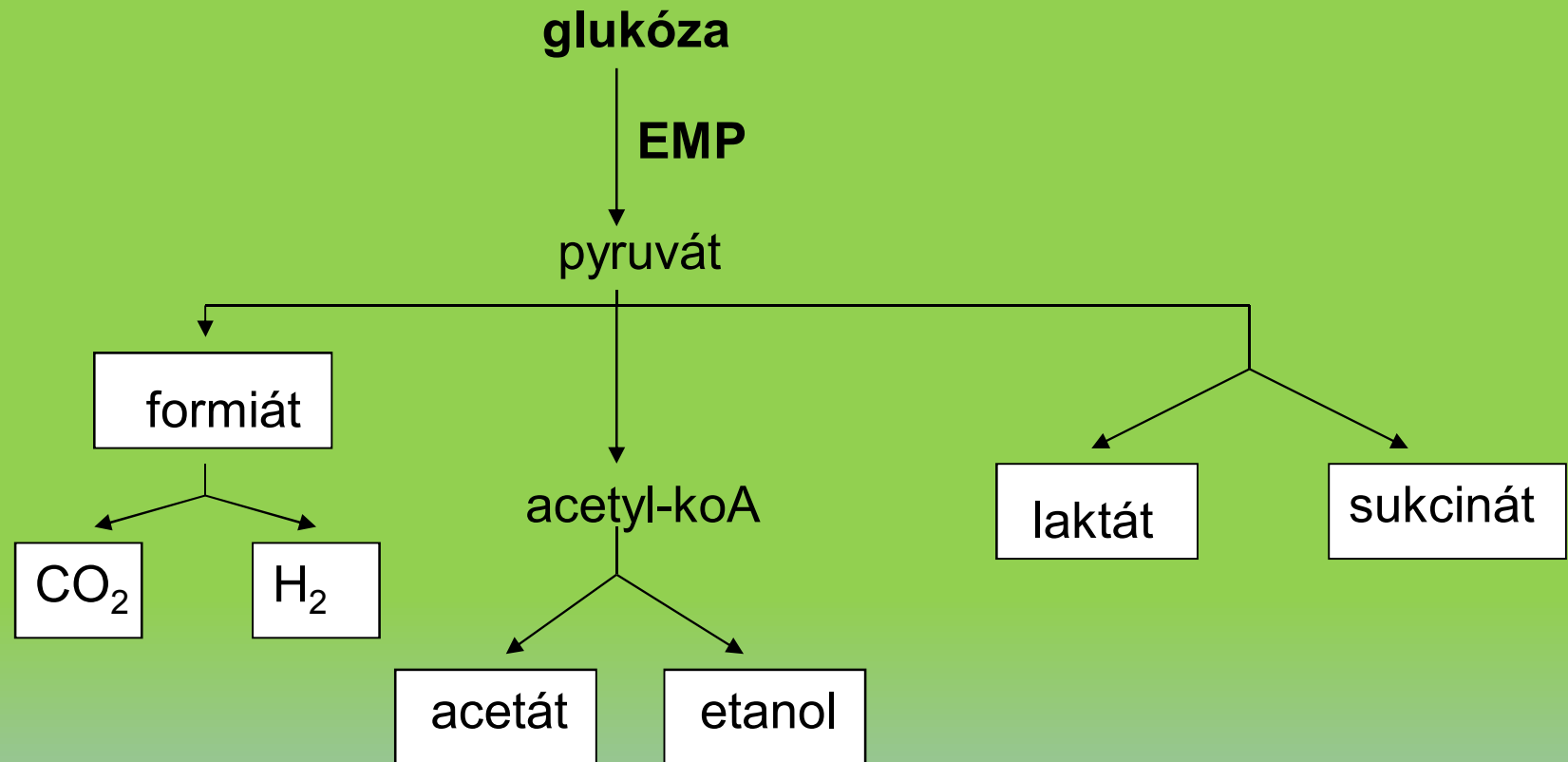
Organismus: *Clostridium propionicum*

Máselné kvašení



Organizmy: *Clostridium butyricum*, *C. butylicum*, *C. acetobutylicum*, *C. saccharoperbutylacetonicum*

Smíšené kvašení sacharidů



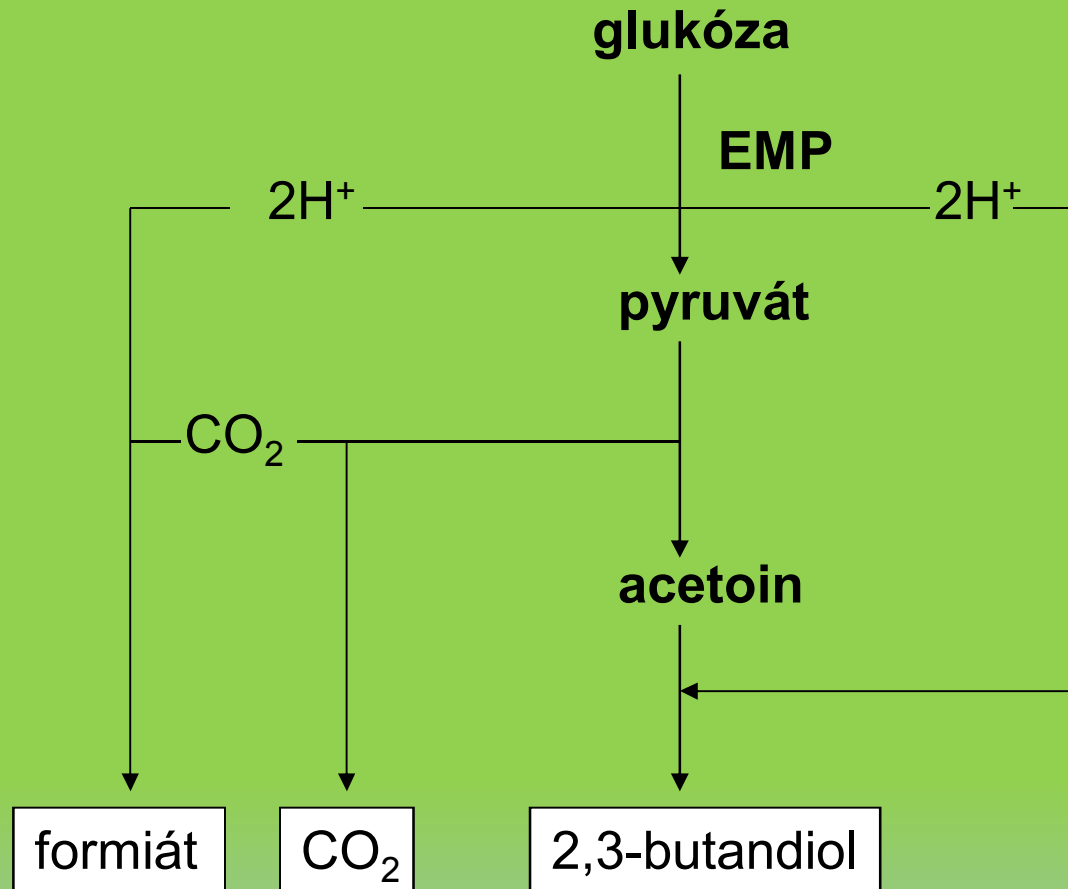
Organizmy: čeleď *Enterobacteriaceae*, někteří zástupci rodů *Bacillus* a *Pseudomonas*

Smíšené kvašení sacharidů

(mol / 100 mol glukózy)

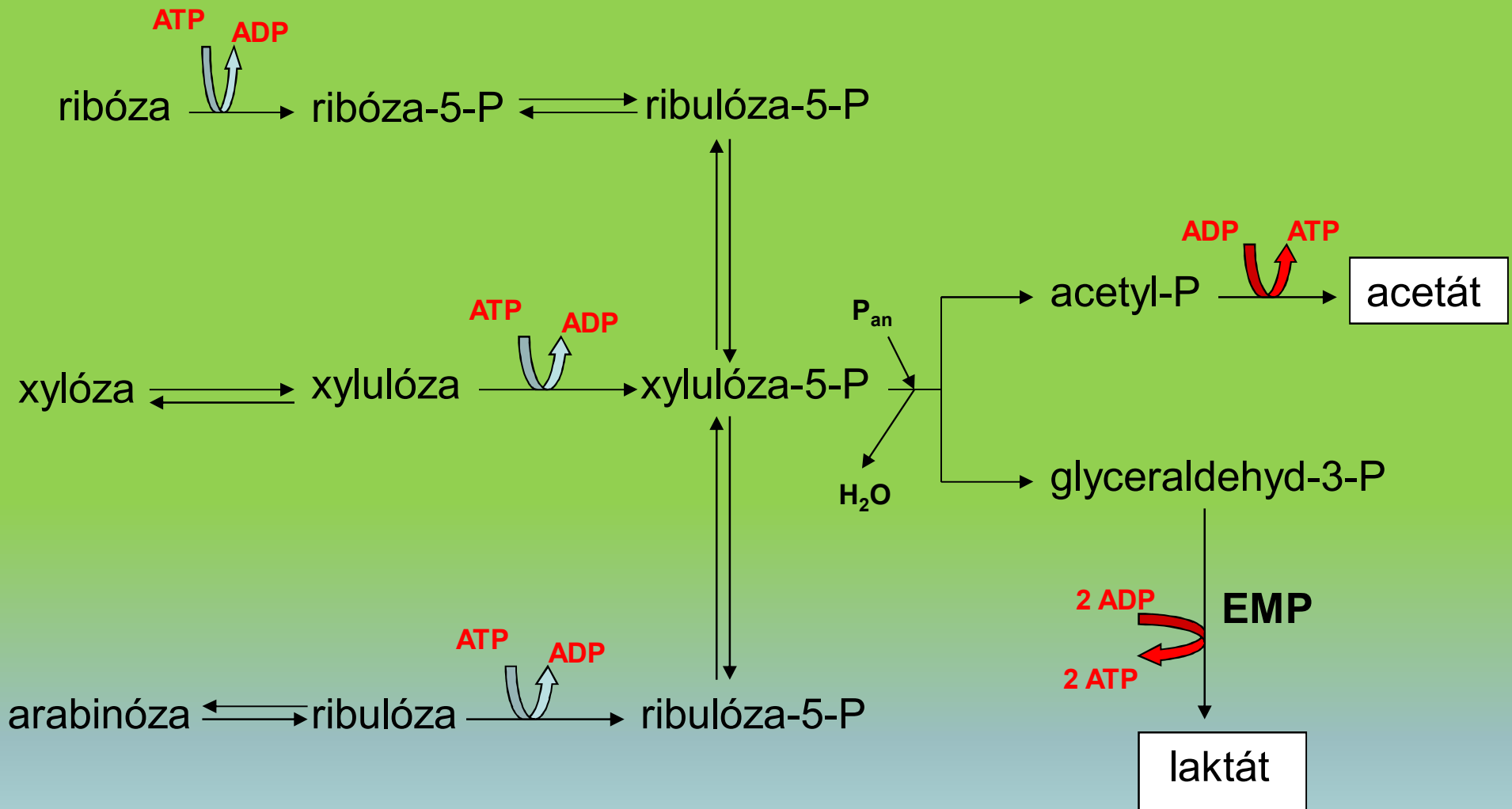
Produkt	<i>E.coli</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i>
Laktát	108,8	53,4	121,7
Etanol	41,3	59,4	25,4
Acetát	32,0	10,1	25,6
Formiát	1,6	5,5	39,3
CO ₂	54,0	126,9	0
H ₂	45,2	44,2	0
Sukcinát	18,0	6,0	10,8
Acetoin	0	0,4	0
2,3-butandiol	0	34,6	0

Smíšené kvašení sacharidů



Organizmus: někteří zástupci rodu *Serratia*

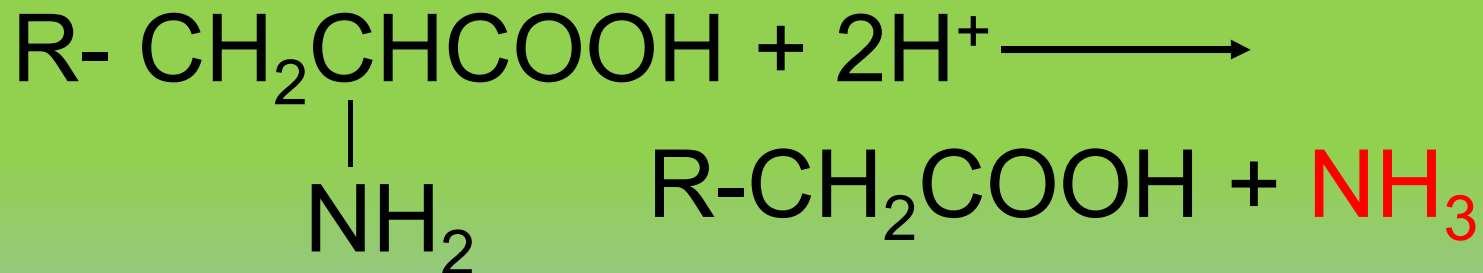
Kvašení pentóz



Organizmy: bakterie mléčného kvašení (výroba produktů mléčné výživy)

Kvašení aminokyselin I.

- Zkvašování jednotlivých aminokyselin
- Zahrnuje **reduktivní deaminaci** podle rovnice

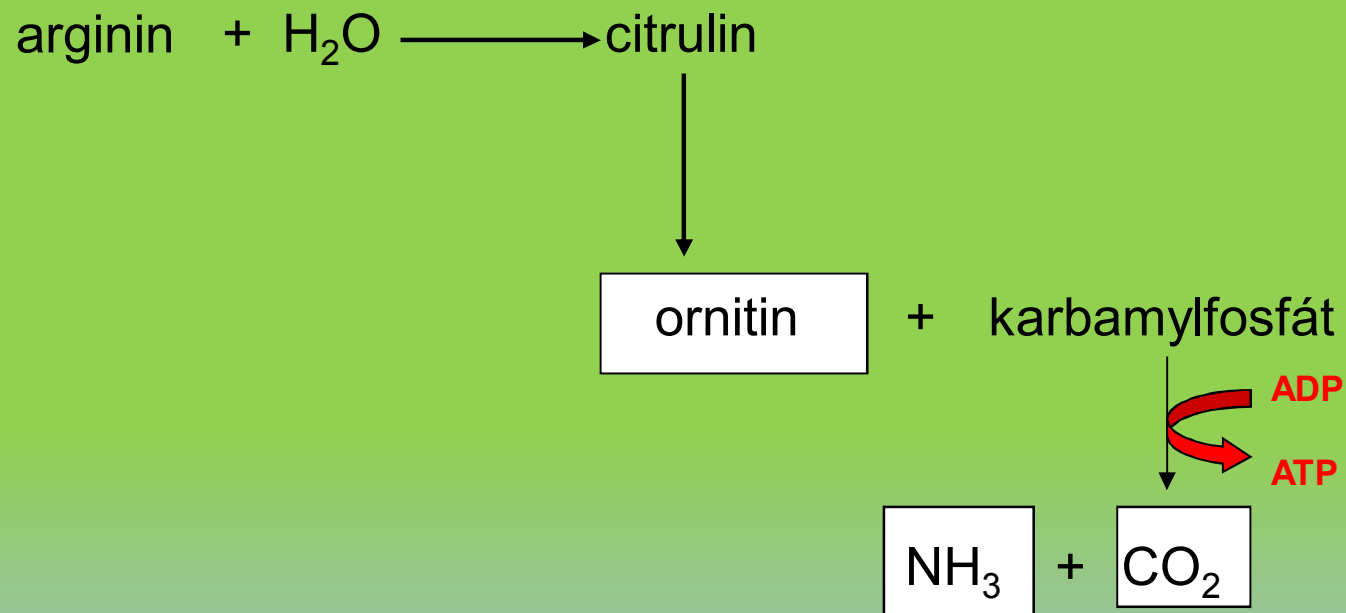


Těmto procesům podléhají především: alanin, arginin, histidin, kys. glutamová, glycin, treonin, metionin, prolin, tryptofan

Kvašení aminokyselin

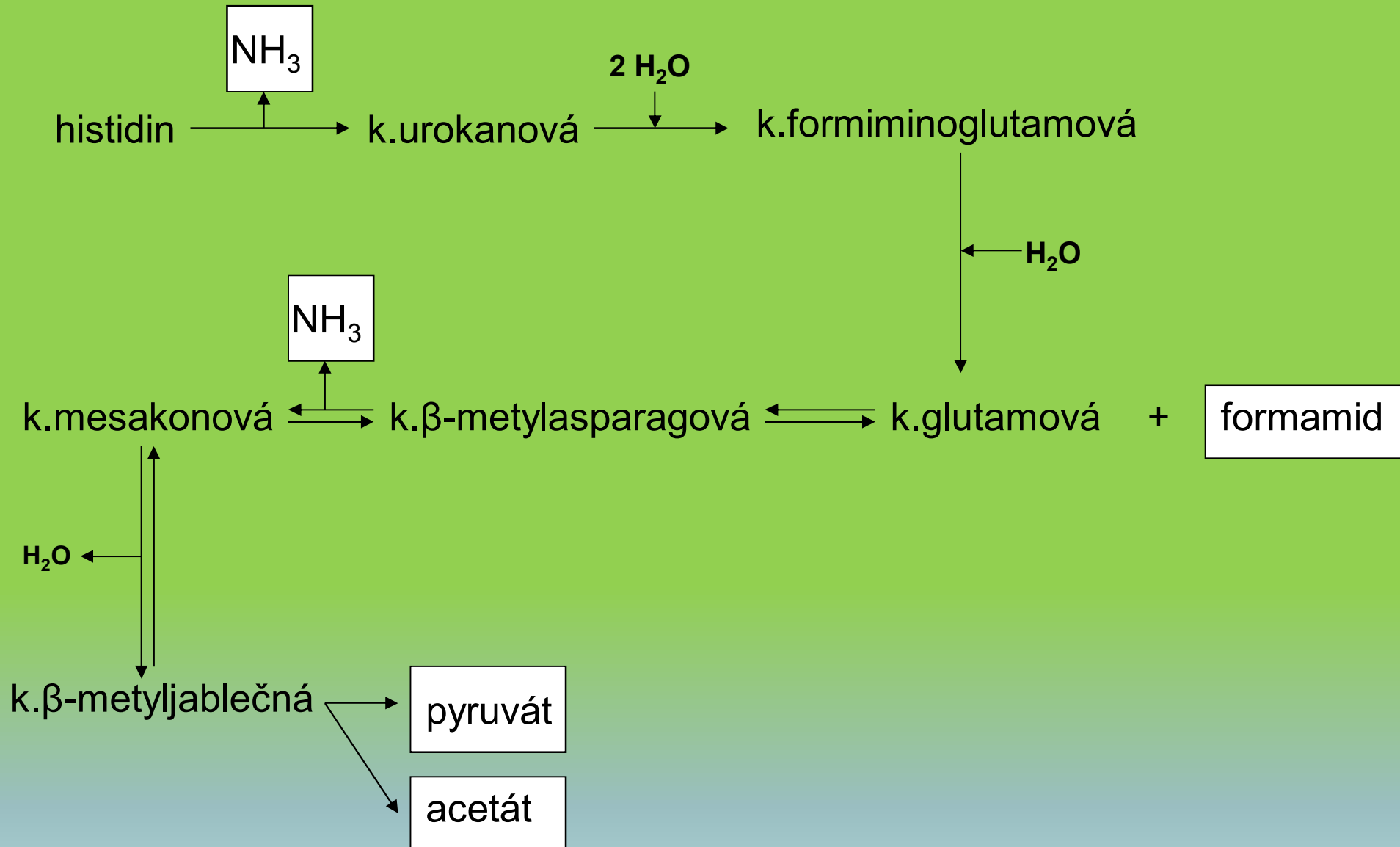
Aminokyselina	Organismus	Produkt
Alanin	<i>Cl. propionicum</i>	acetát, propionát, NH ₃
Arginin	<i>Cl. perfringens</i> r. <i>Streptococcus</i>	ornitin, CO ₂ , NH ₃
Histidin	<i>Cl. tetanomorphum</i>	pyruvát, acetát, NH ₃
Glycin	<i>Peptococcus anaerobius</i>	acetát, CO ₂ , NH ₃
Treonin	<i>Cl. tetanomorphum</i> <i>Veillonella alcalescens</i>	k.α-ketomáselná, NH ₃
Metionin	<i>Cl. sporogenes</i>	k.α-ketomáselná, metylmerkaptan, NH ₃
Prolin	r. <i>Clostridium</i>	k. valerová, propionová, octová, NH ₃
Tryptofan	<i>Cl. sporogenes</i>	k. idolypropionová, NH ₃

Kvašení aminokyselin - arginin



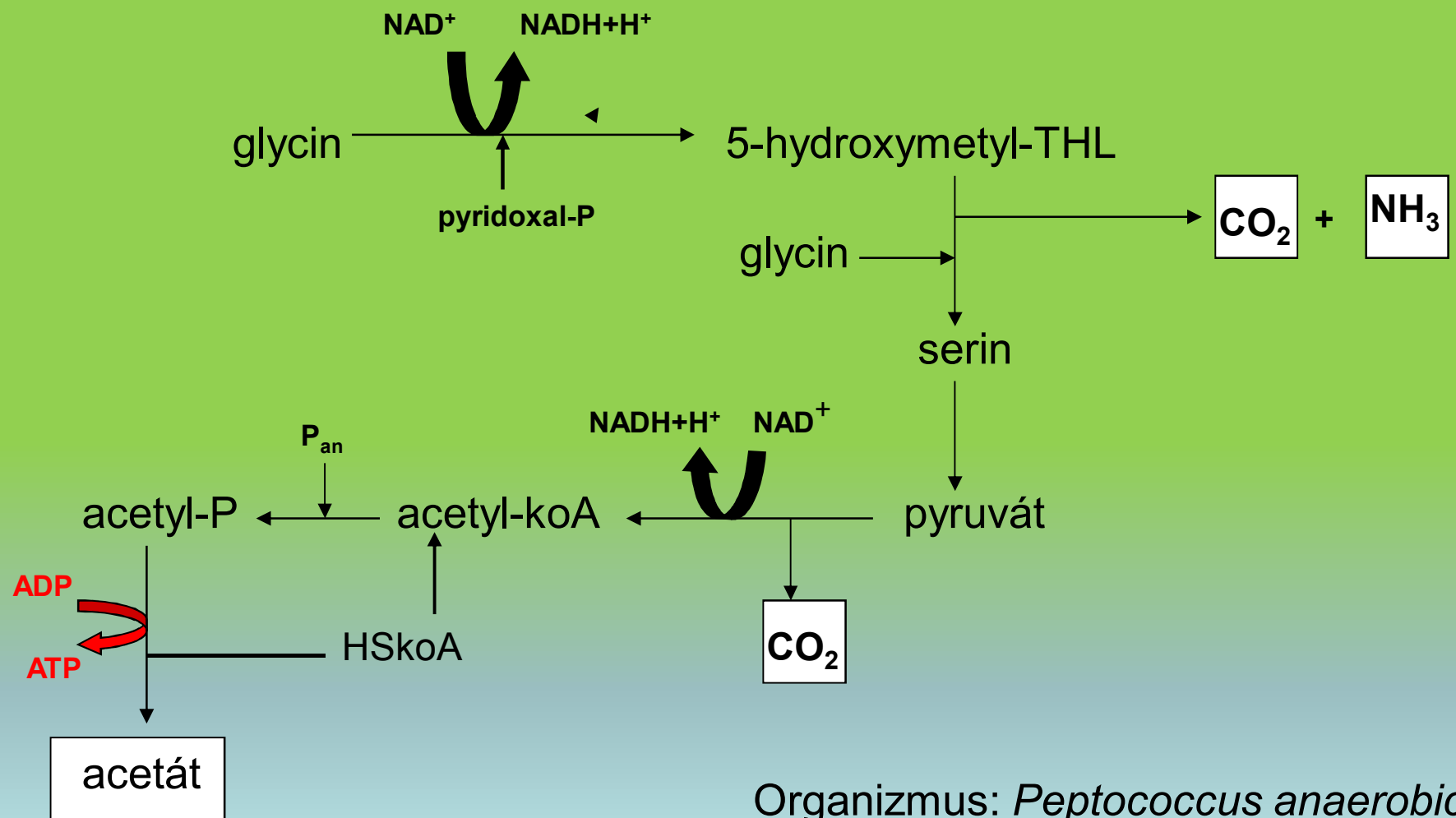
Organizmus: *Cl.perfringens*

Kvašení aminokyselin – histidin+k.glutamová

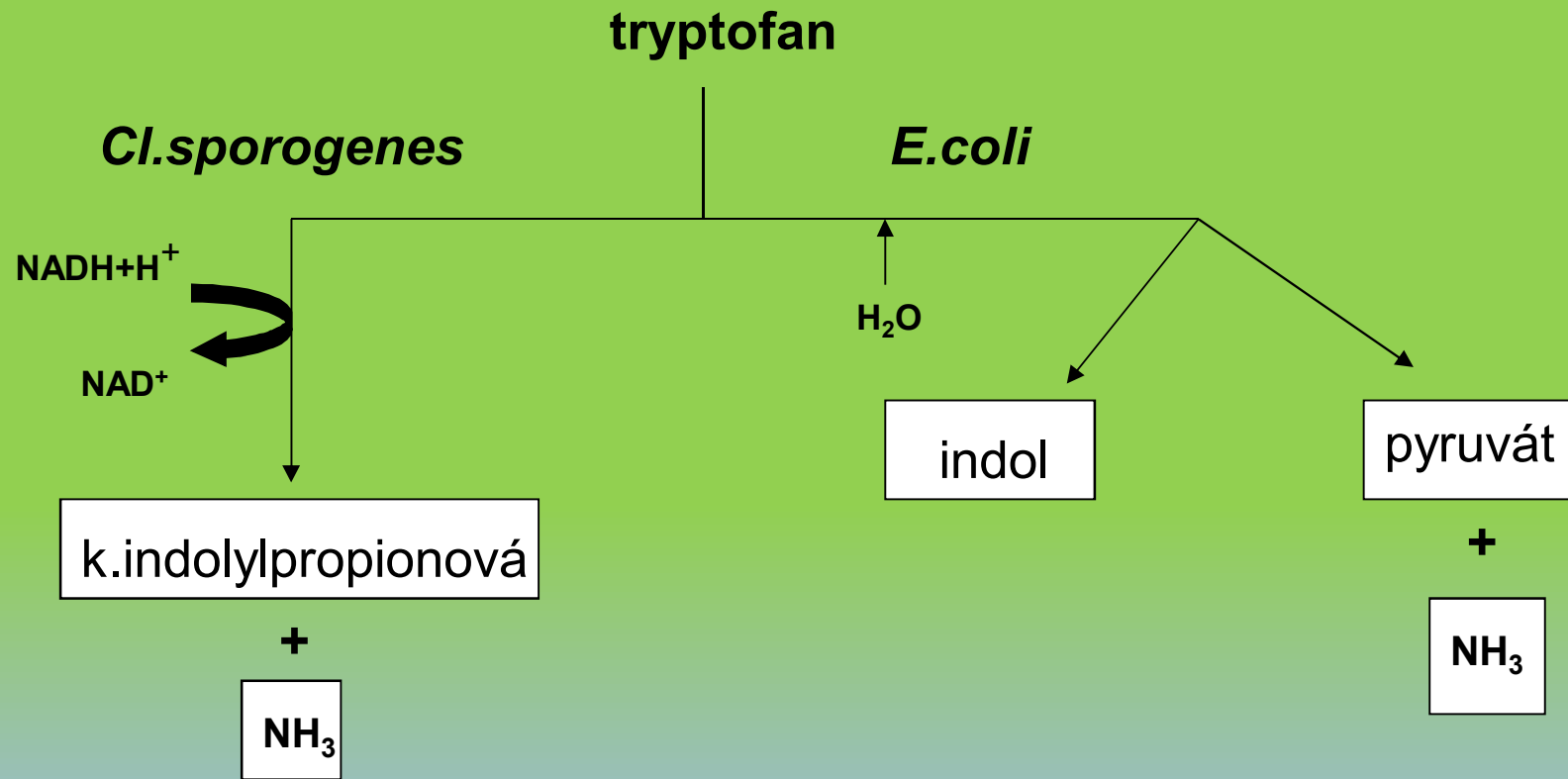


Organizmus: *Cl.tetanomorphum*

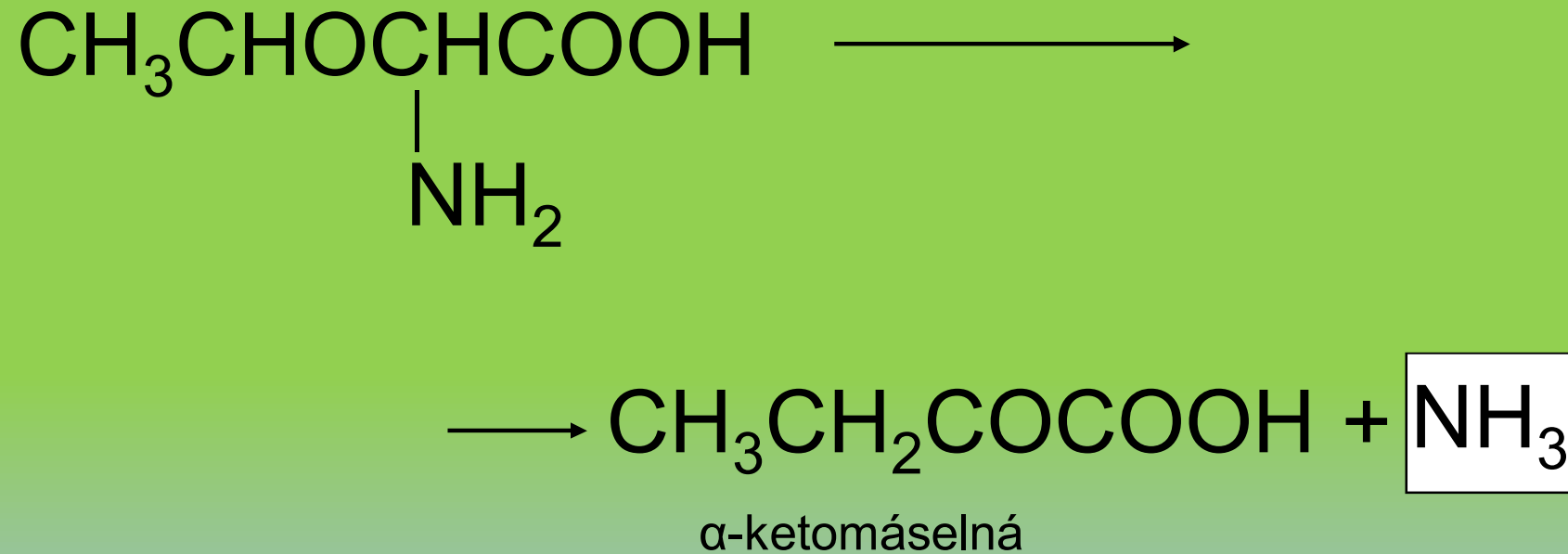
Kvašení aminokyseliny - glycín



Kvašení aminokyselin - tryptofan

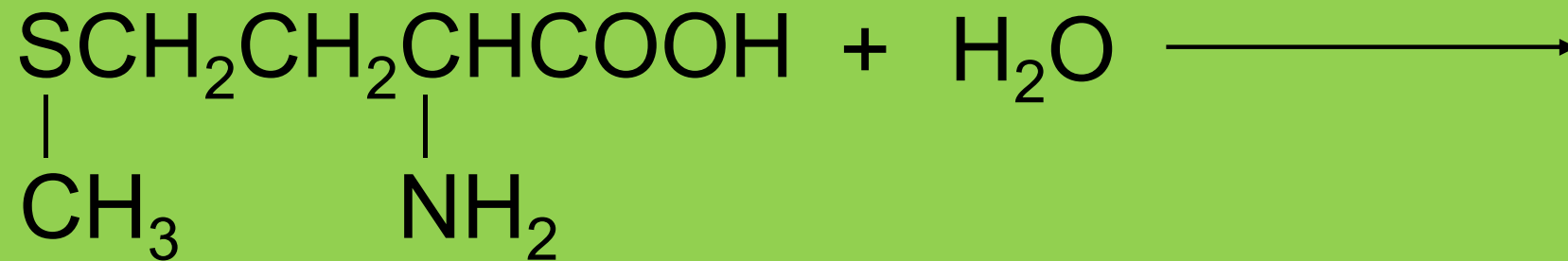


Kvašení aminokyselin - treonin



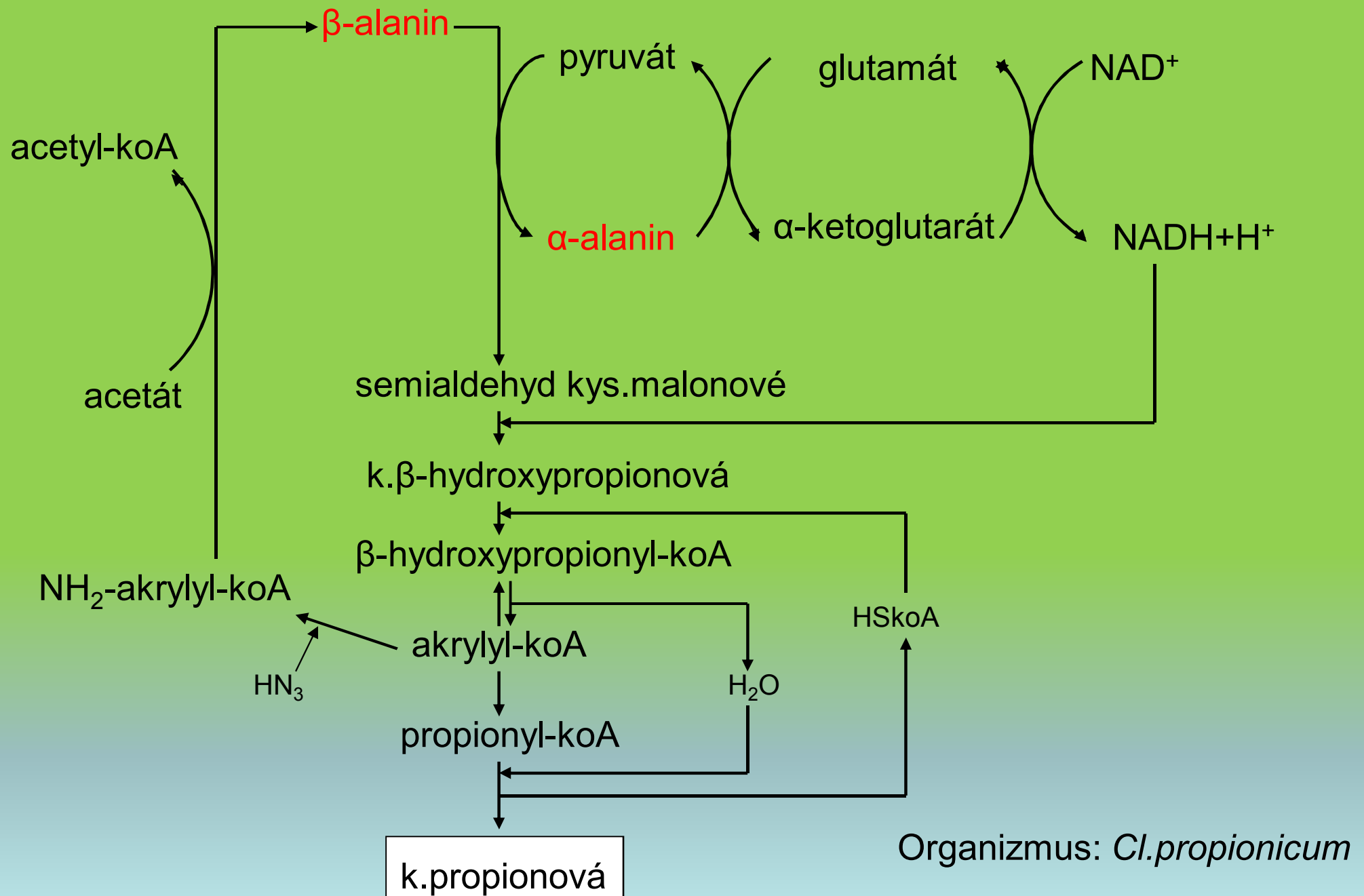
Organizmus: *Cl.tetanomorphum*, *Veillonella alcalescens*

Kvašení aminokyselin - metionin



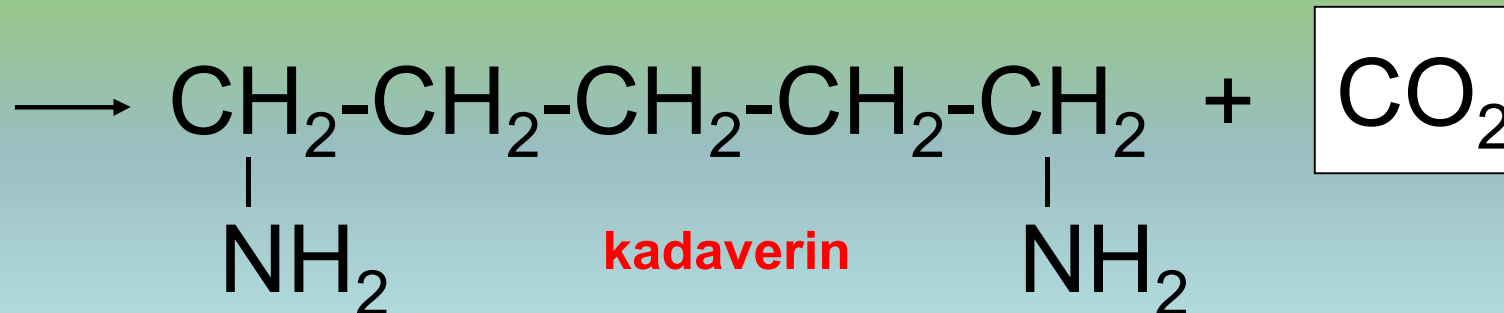
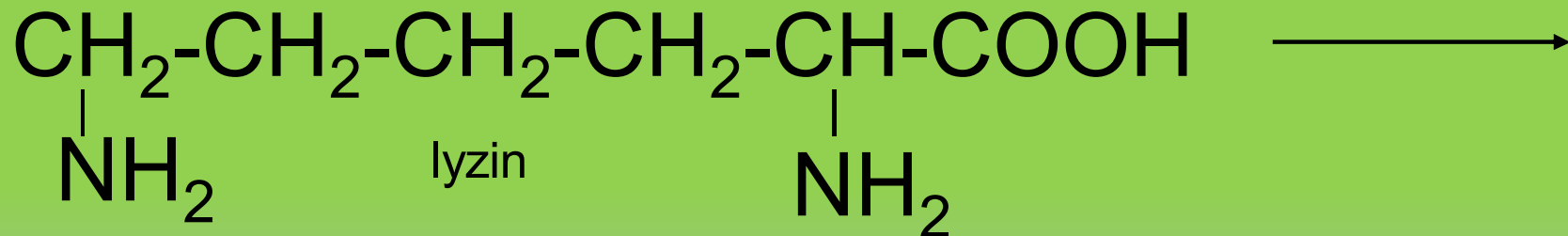
Organizmus: *Cl.sporogenes*

Kvašení aminokyseliny – β -alanin

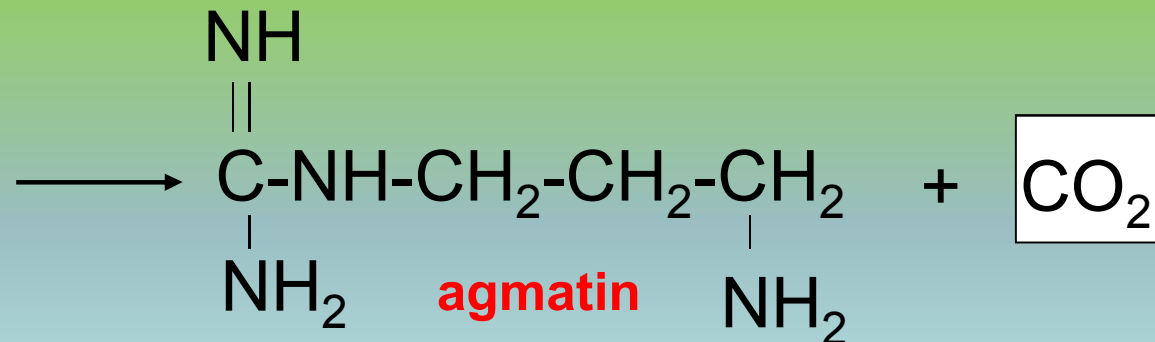
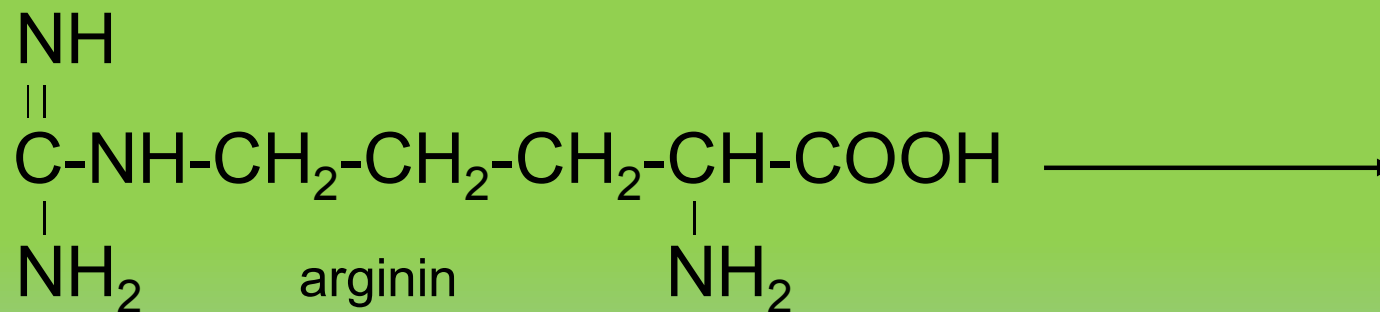
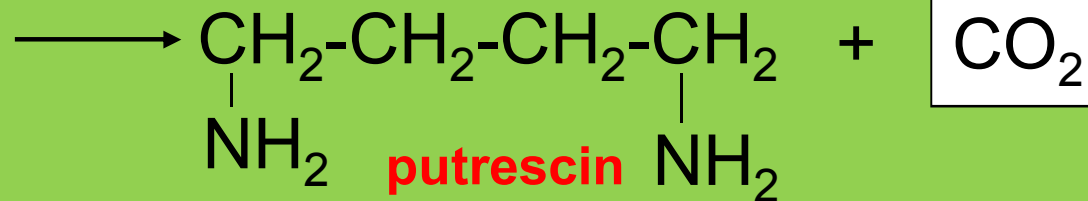
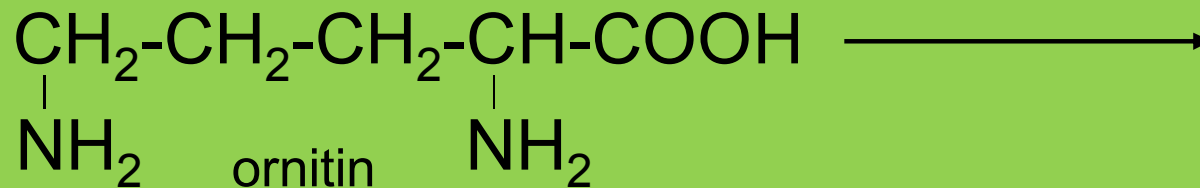


Kvašení aminokyselin II.

- **Anaerobní dekarboxylace** vedoucí k **tvorbě aminů**. Proces je katalyzován substrátově specifickými dekarboxylázami. Reakce jsou příznačné zvláště pro diaminokyseliny.



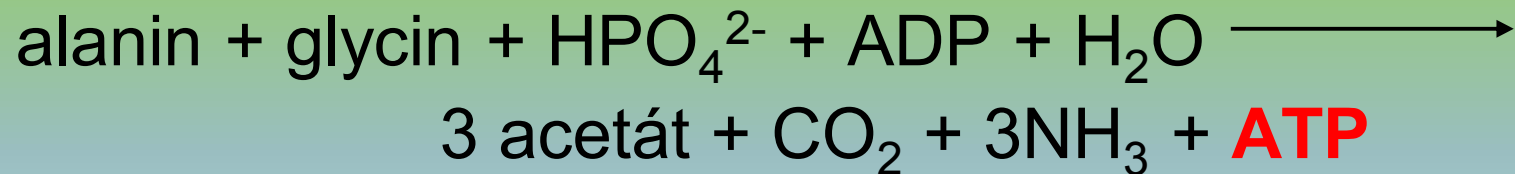
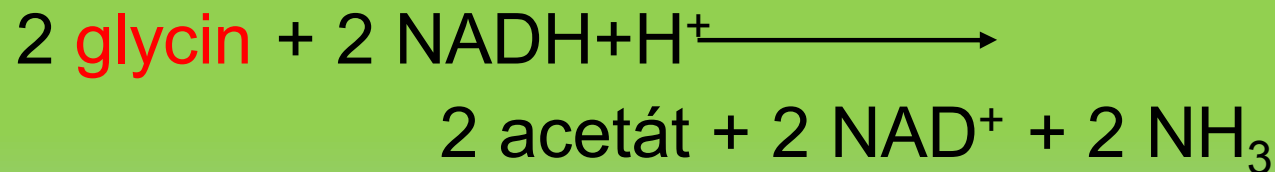
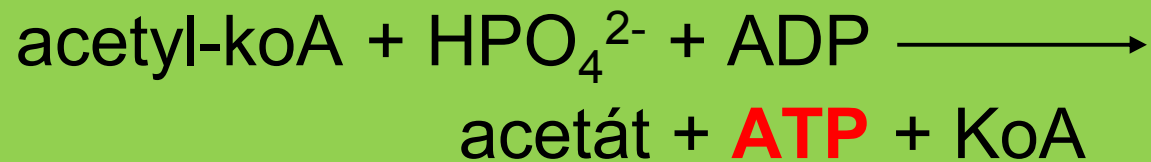
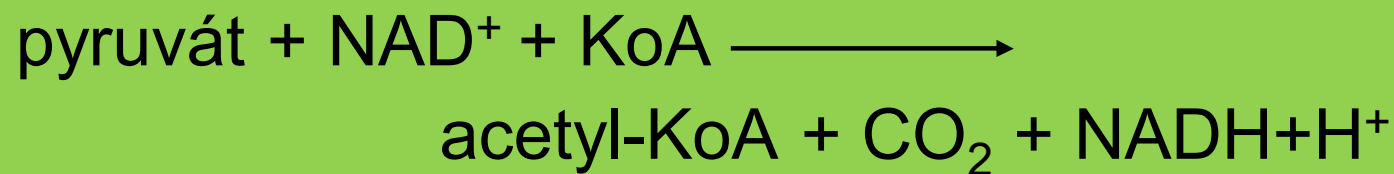
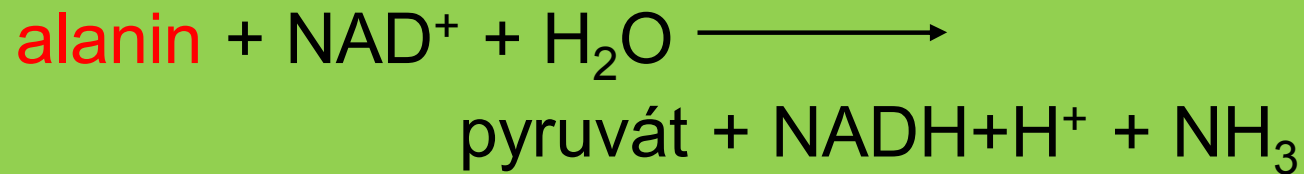
Kvašení aminokyselin II.



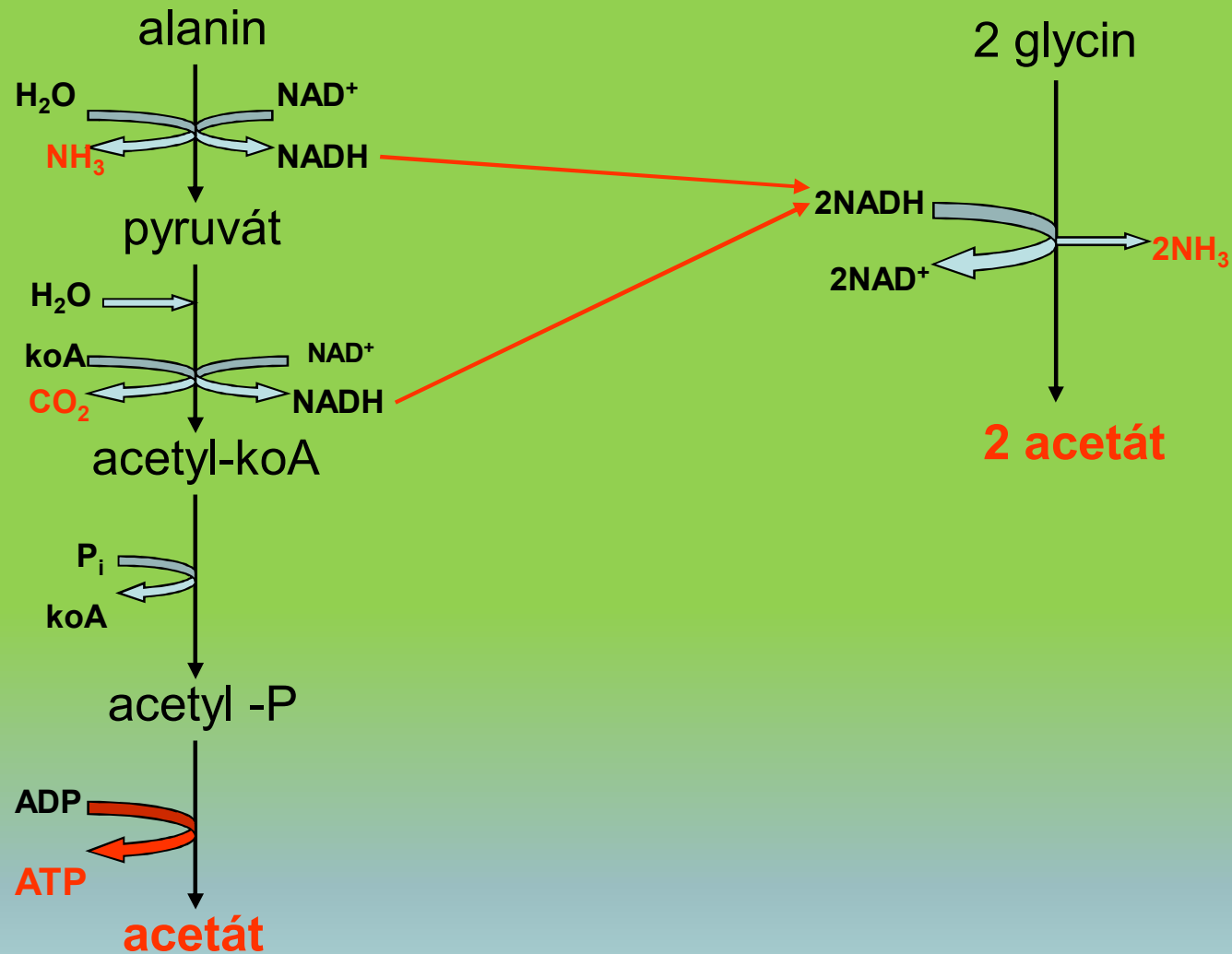
Kvašení dvojic aminokyselin

- **Sticklandovy reakce** (Stickland u *Clostridium* – r.1939)
- Energie je získávána oxidoredukací mezi dvěma vhodnými aminokyselinami
nebo
aminokyselinou a bezdusíkatou látkou

Kvašení dvojic aminokyselin



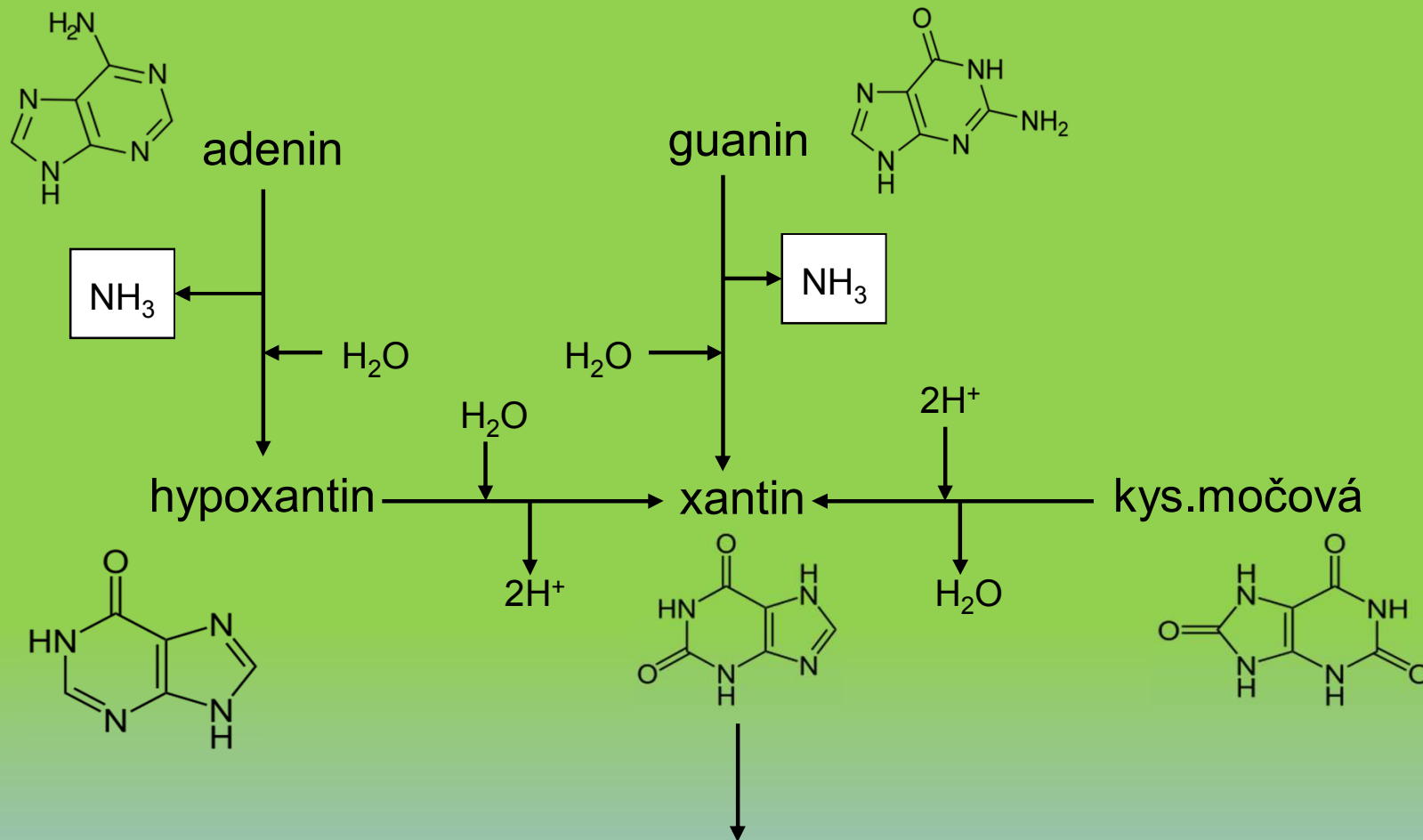
Sticklandovy reakce



Kvašení dvojic aminokyselin

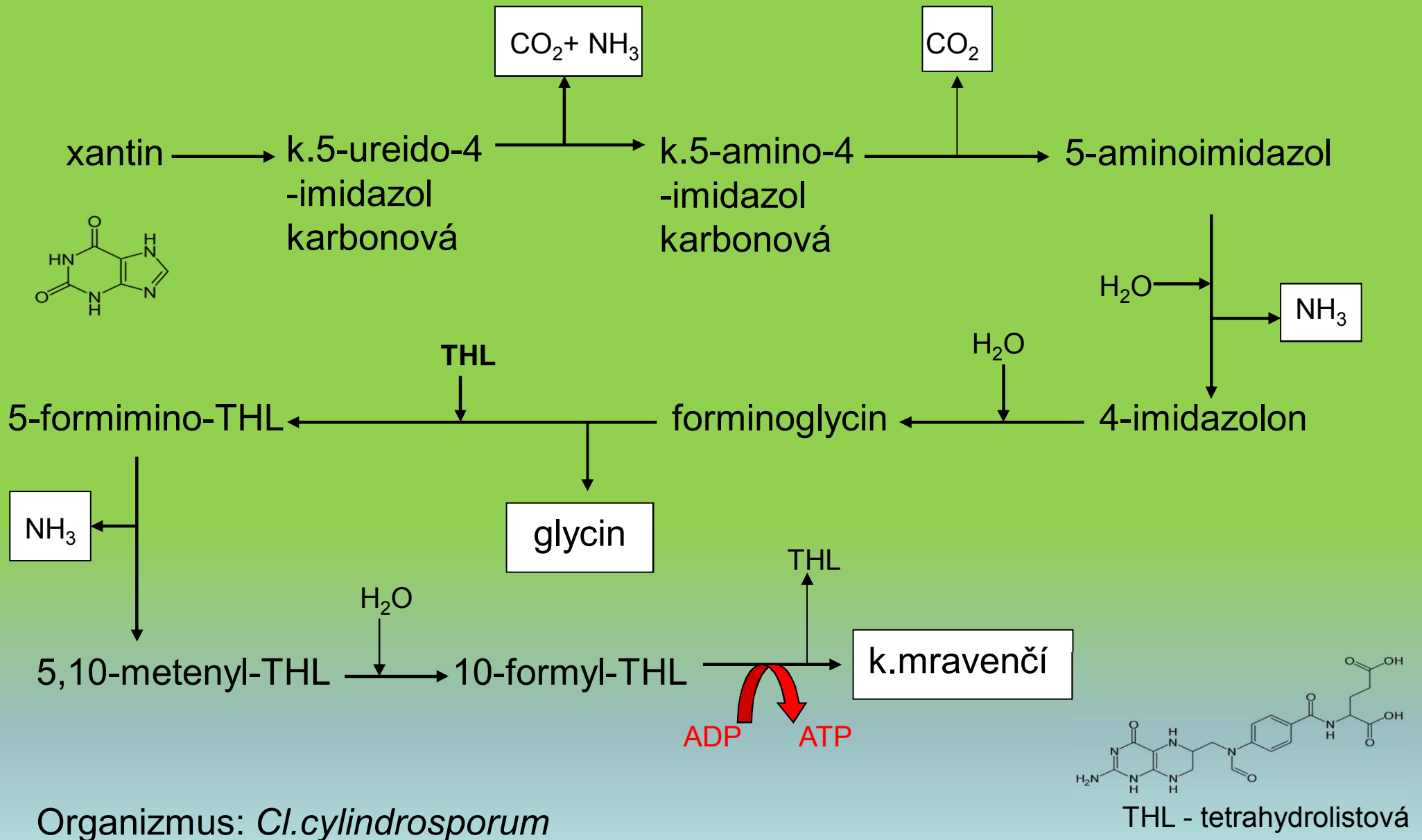
Donor	Akceptor
alanin	glycin
leucin	prolin
izoleucin	ornitin
valin	arginin
histidin	tryptofan
fenylalanin	tyrozin
tryptofan	metionin

Kvašení heterocyklických sloučenin - puriny



Organizmy: *Clostridium acidurici* a *Veilonella alcalescens*

Kvašení heterocyklických sloučenin - puriny

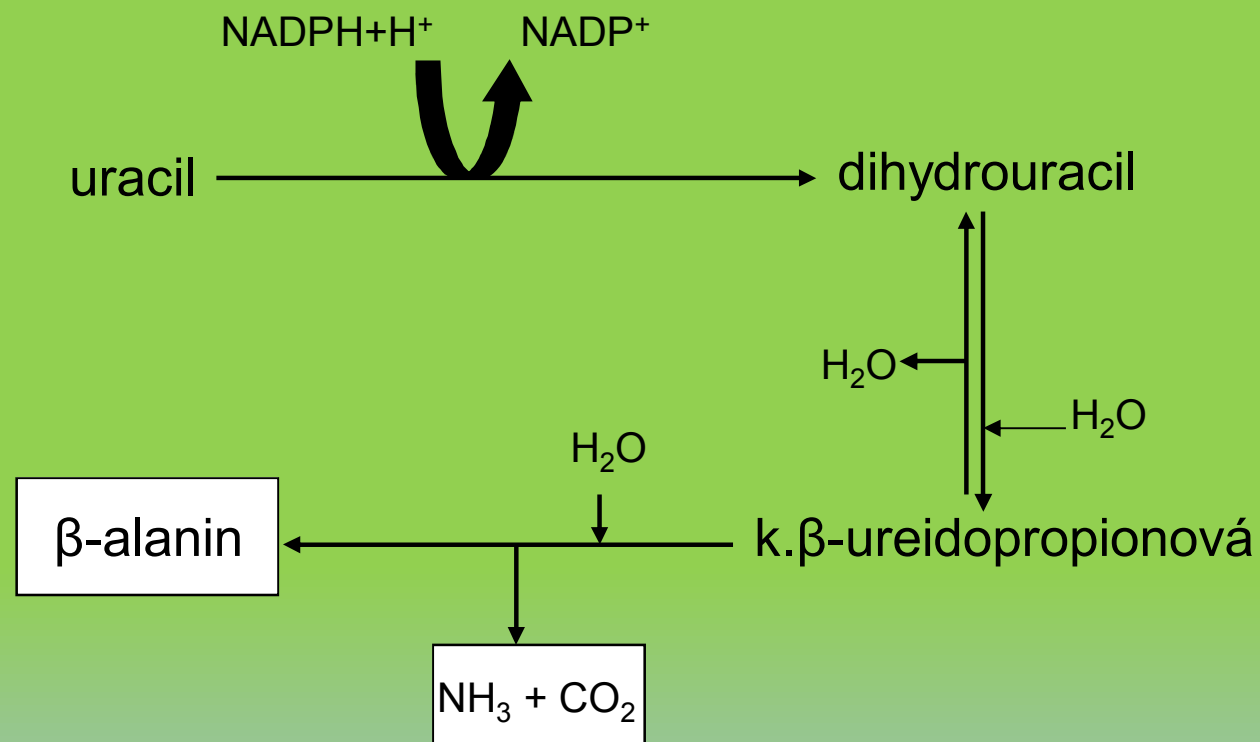


Kvašení heterocyklických sloučenin - puriny



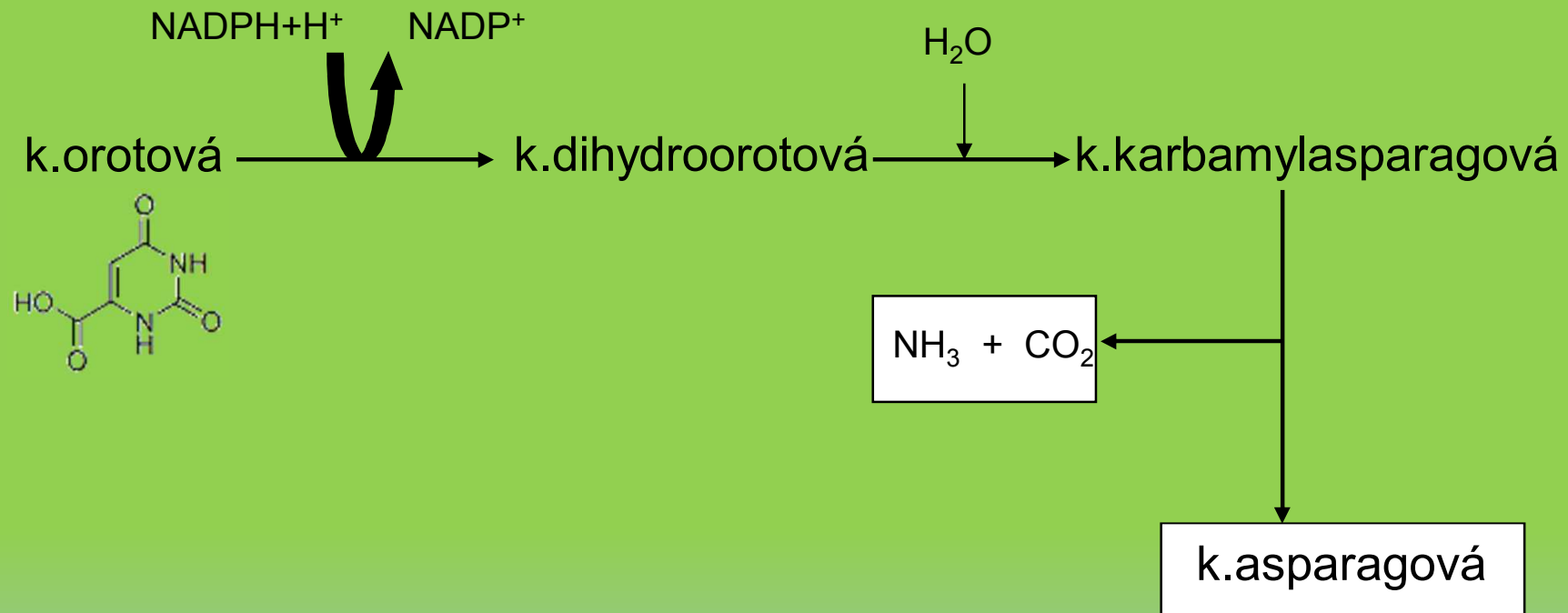
Organismus: *Cl.acidiurici*

Kvašení heterocyklických sloučenin - puriny



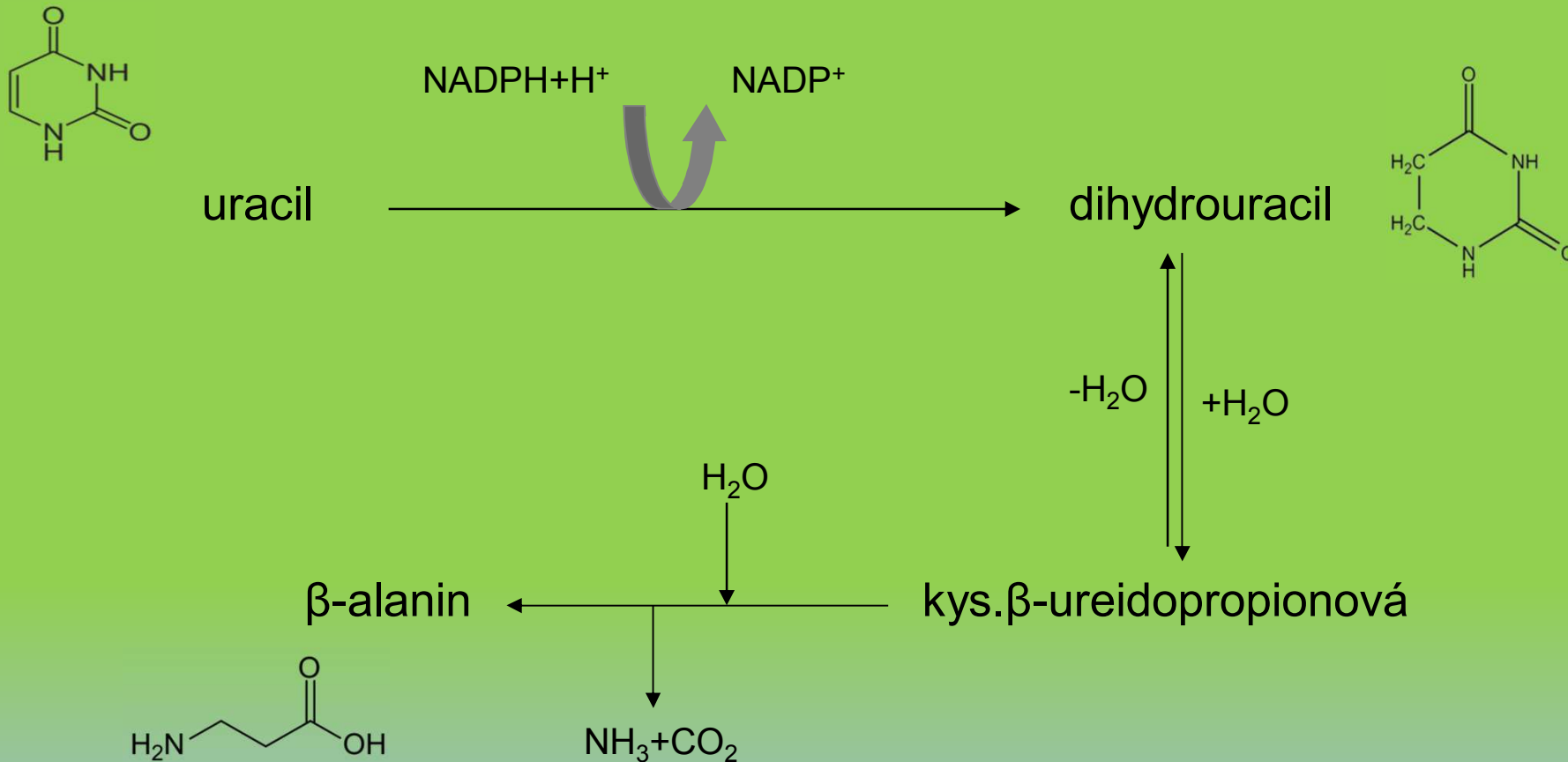
Organismus: *Cl. oroticum*

Kvašení heterocyklických sloučenin - puriny



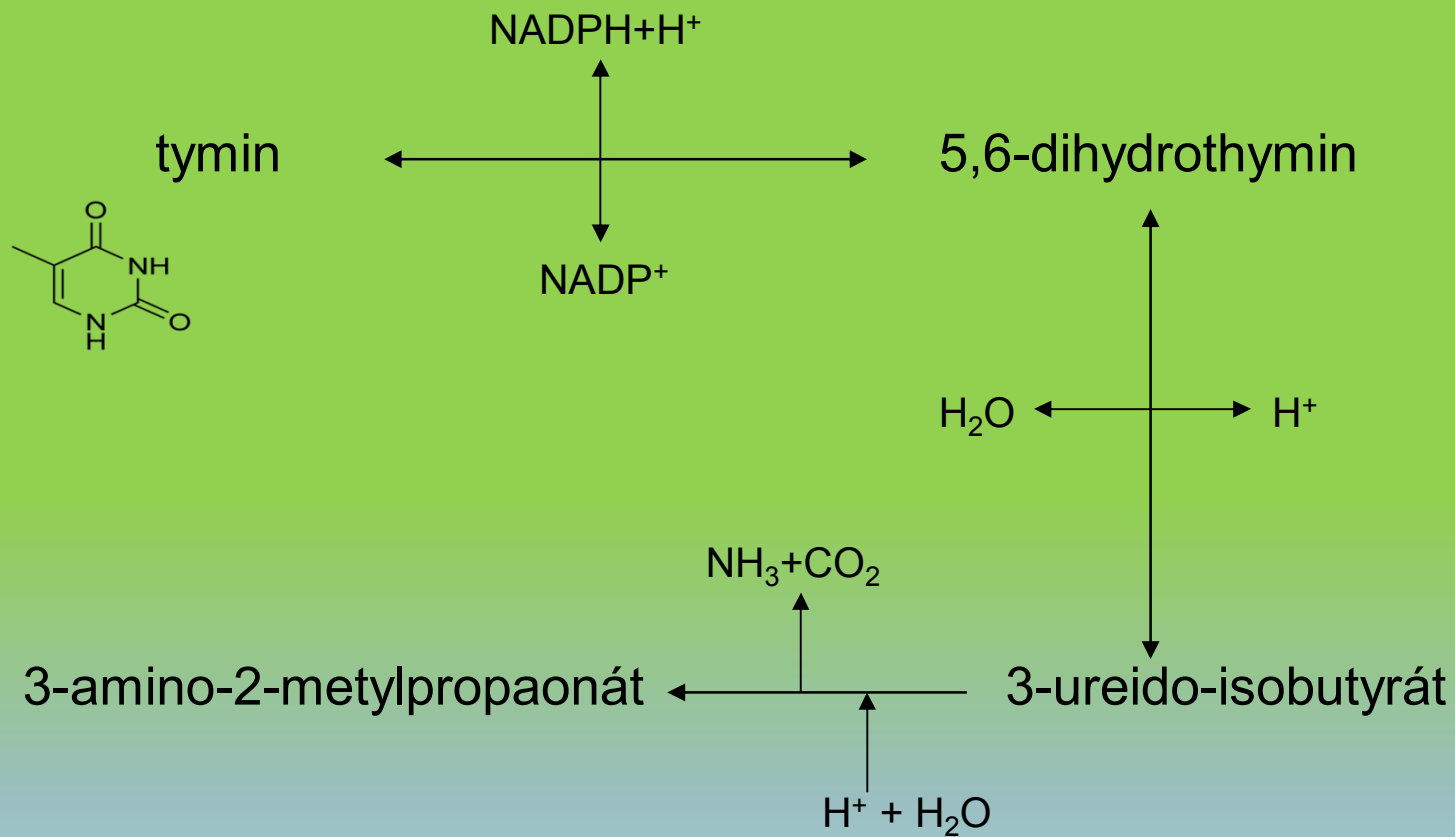
Organismus: *Cl. oroticum*

Kvašení heterocyklických sloučenin - pyrimidiny



Organismus: *Clostridium oroticum*

Kvašení heterocyklických sloučenin - pyrimidiny



Organismus: *E.coli*, *Pseudomonas putida*

Kvašení polysacharidů

- Glykogen a škrob → *amylázy* → oligosacharidy → maltóza → *maltáza* → glukóza (*Clostridium*, *Bacillus*)
- Celulóza → *celuláza* → celobióza → *celobiáza* → glukóza (*Clostridium*)
- Pektin → *protopektinázy* → celulóza + protopektiny → kys. polygalatouronová → *pektináza* → metanol + kys. galaktouronová + arabinóza + galaktóza + xylóza → kys. máselná + octová + CO₂ + H₂ (*Clostridium*, *Bacillus macerans*)

Tvorba energie na úrovni membrány

- **Aerobní respirace**
- Anaerobní respirace
- Fototrofie

Tvorba energie na úrovni membrány

- **Aerobní respirace**

- neúplná oxidace substrátu

- primárních alkoholů

- glukózy

- úplná oxidace substrátu

- Krebsův cyklus

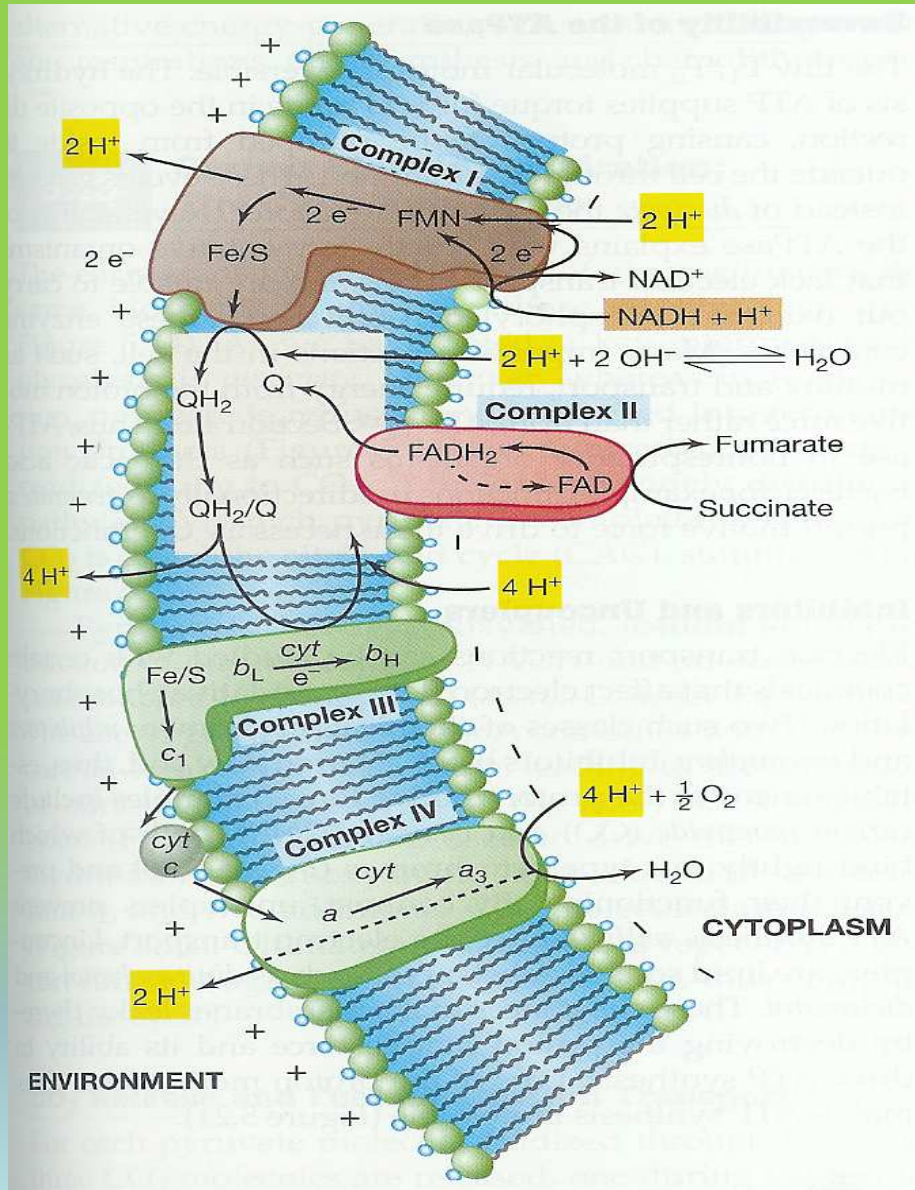
- Cyklus dikarbonových kyselin

- Cyklus kyseliny glyoxalové

- Pentózový cyklus

- (hexózomonofosfátová dráha)

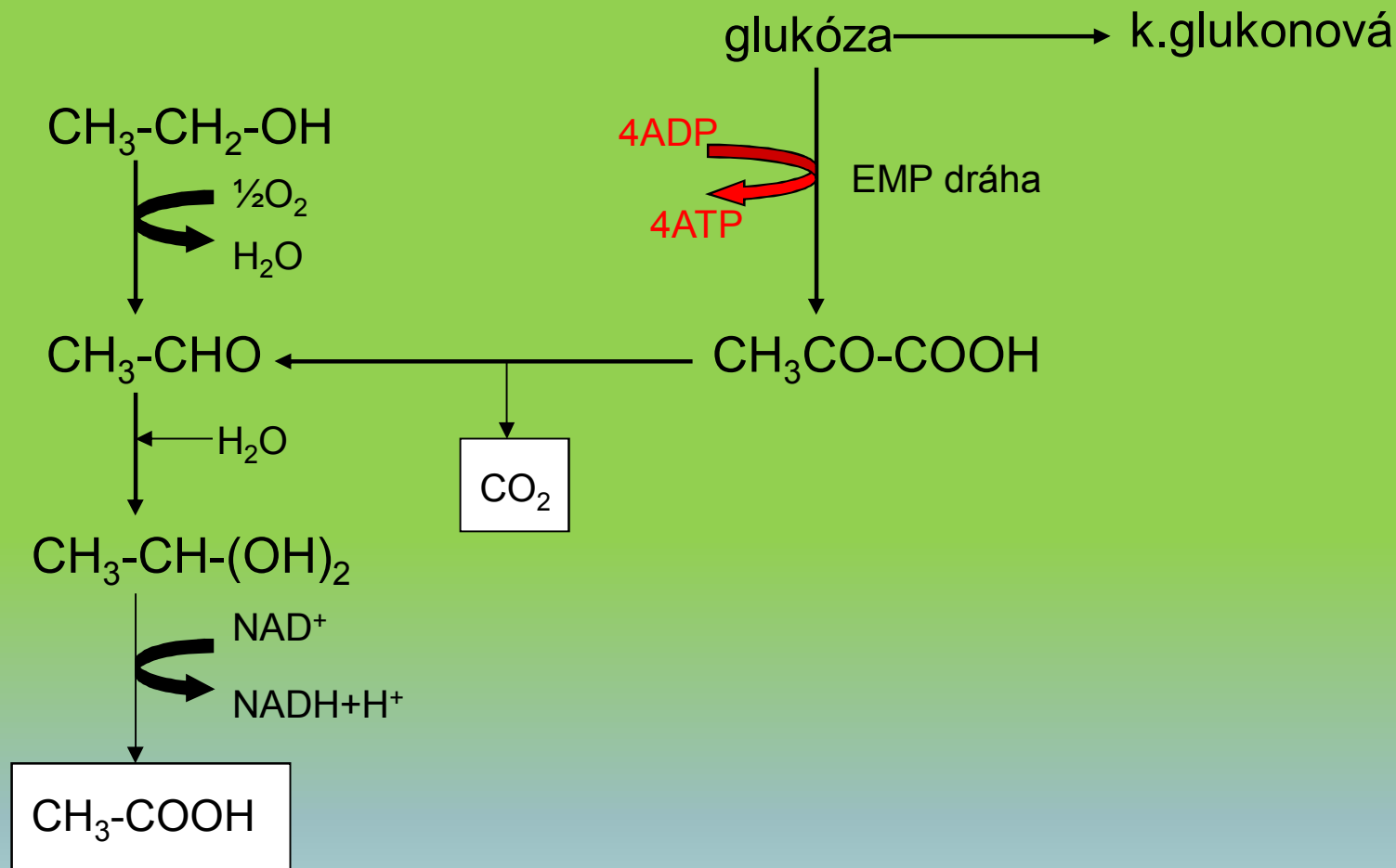
Tvorba proton promotivní síly při aerobní respiraci



Neúplná oxidace alkoholů

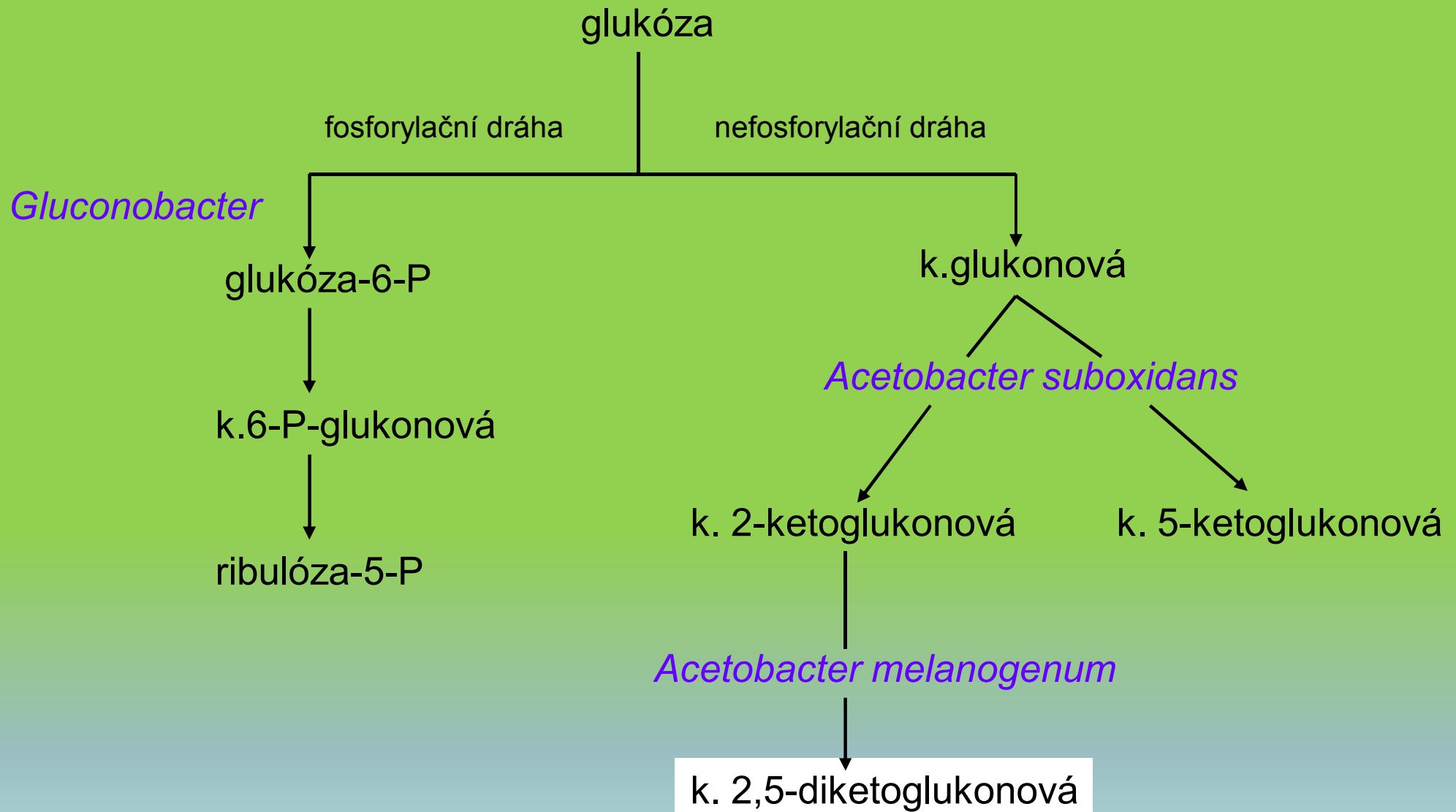
- Oxidace primárních alkoholů →
kyseliny
- Oxidace sekundárních alkoholů →
ketony

Neúplná oxidace alkoholů

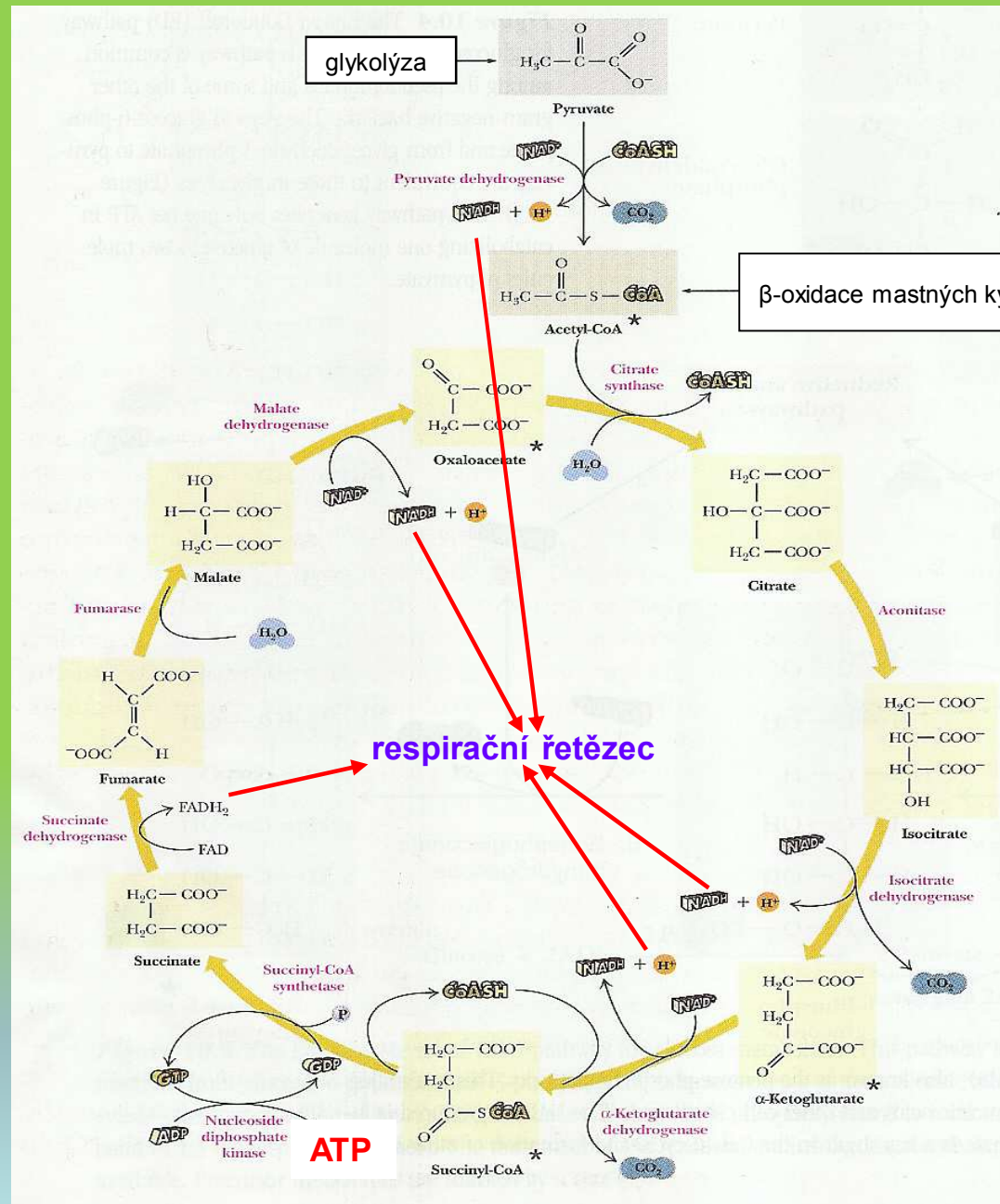


Organizmy: *Acetobacter*, *Gluconobacter*

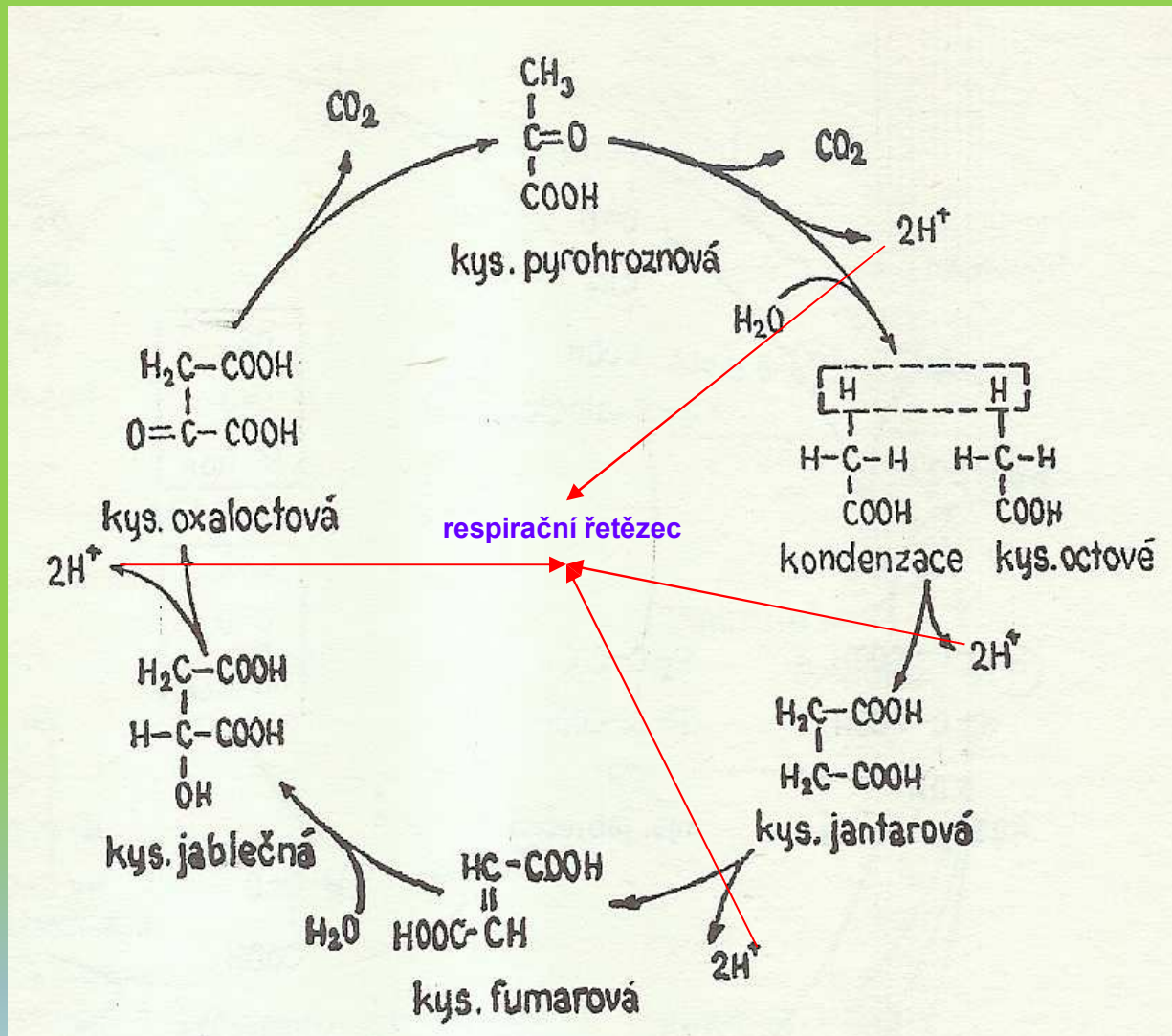
Neúplná oxidace glukózy



Úplná oxidace substrátu Krebsův cyklus



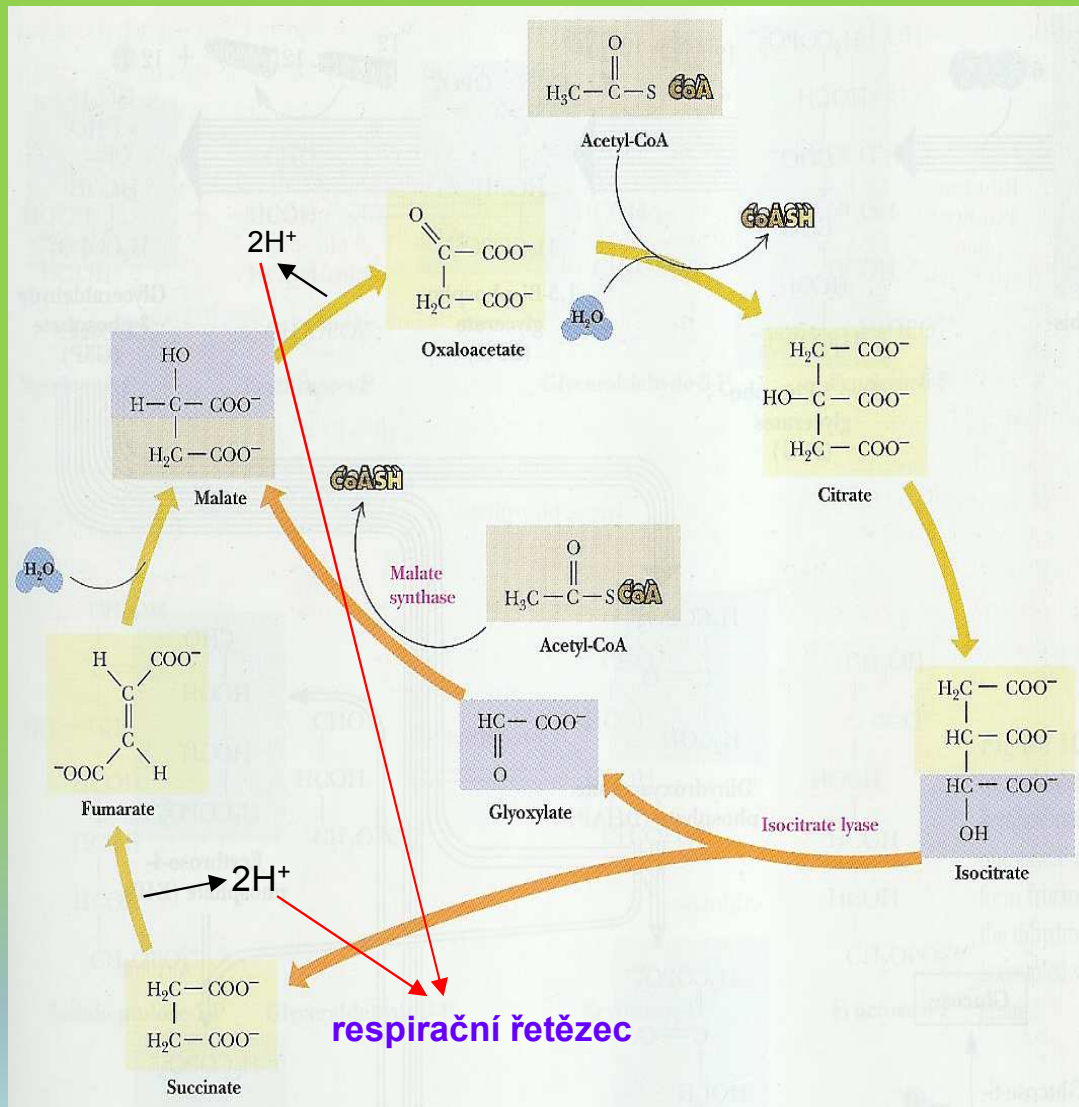
Úplná oxidace substrátu - cyklus dikarbonových kyselin



Zkrácený cyklus kyseliny citronové (**Thumberg-Knopova dráha**). Přítomnost této dráhy nevyklučuje využití Krebsova cyklu.

Organismus: *E.coli*, *Arthrobacter globiformis*, *E.aerogenes* – při růstu na acetátu

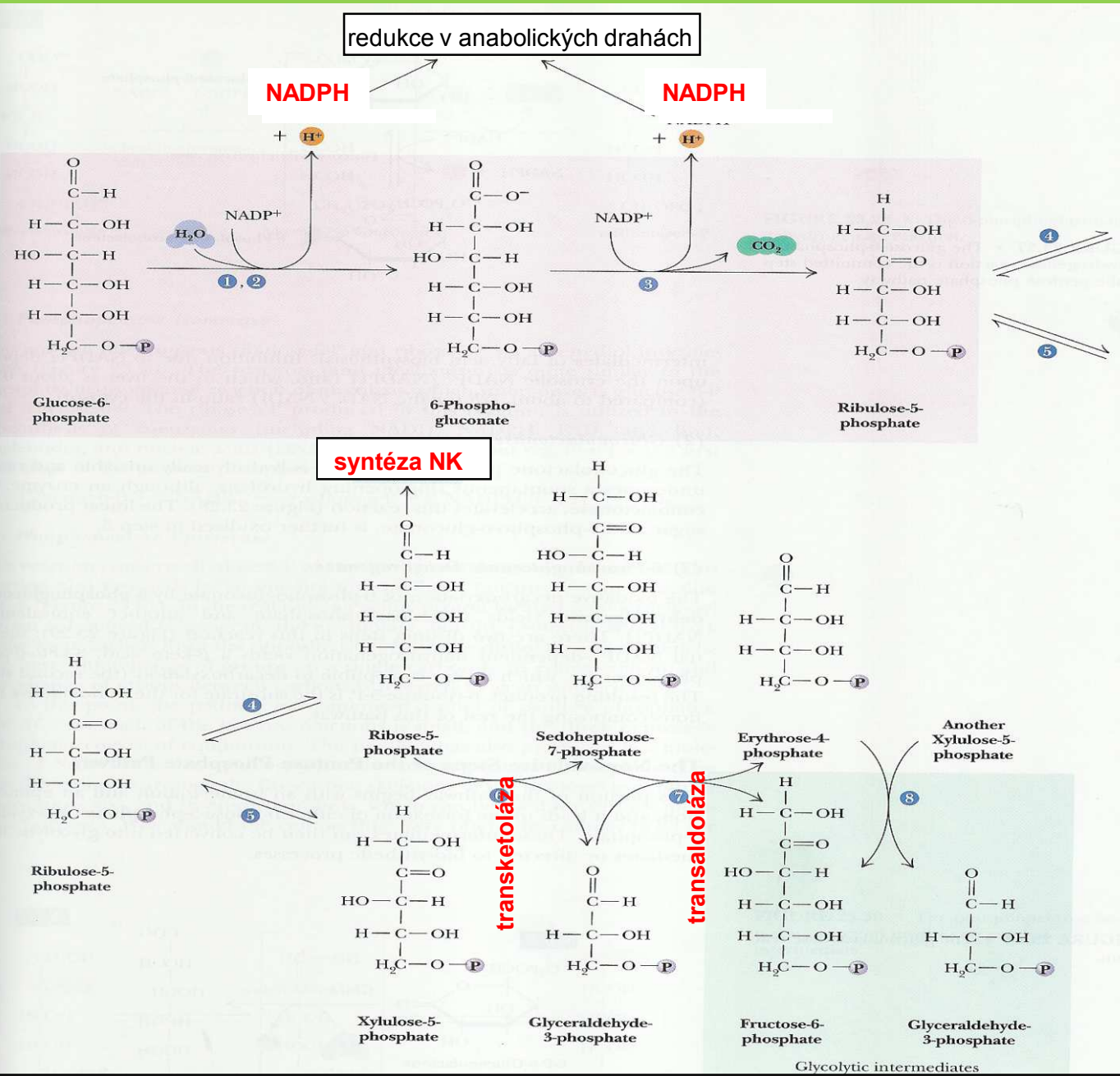
Úplná oxidace substrátu - cyklus kyseliny glyoxalové



Přeměna kys. jantarové je podle Krebsova cyklu (fumarová, jablečná, oxaloctová). Kyselina glyoxalová kondenzuje v přítomnosti acetyl-koA a malátsyntetázy na kys. jablečnou.

Význam této metabolické dráhy je ve zvýšené tvorbě kyseliny jablečné a oxaloctové pro syntetické pochody

Úplná oxidace substrátu – hexózomonofosfátová dráha



Pentózový cyklus, ribulózafosfátová dráha – zejména u fakultativně anaerobních bakterií.

Oxidací glukóza-6-P vzniká k.3-keto-6-fosfoglukonová → oxidativní dekarboxylace → ribulóza-5-P, ribóza-5-P, xylulóza-5-P. **Rovnováhu mezi ribózou a ribulózou udržuje fosforiboizomeráza** (poměr 3:1). Současně se vytváří rovnovážný stav mezi **ribulózou a xylulózou** (2:3) udržovaný **fosfoketoepimerázou**. **Transaldolázou** se přenesse 3-C na glyceraldehyd-3-P a vznikne erytróza a fruktóza-P.

Úplná oxidace substrátu – hexózomonofosfátová dráha

- Sumárně

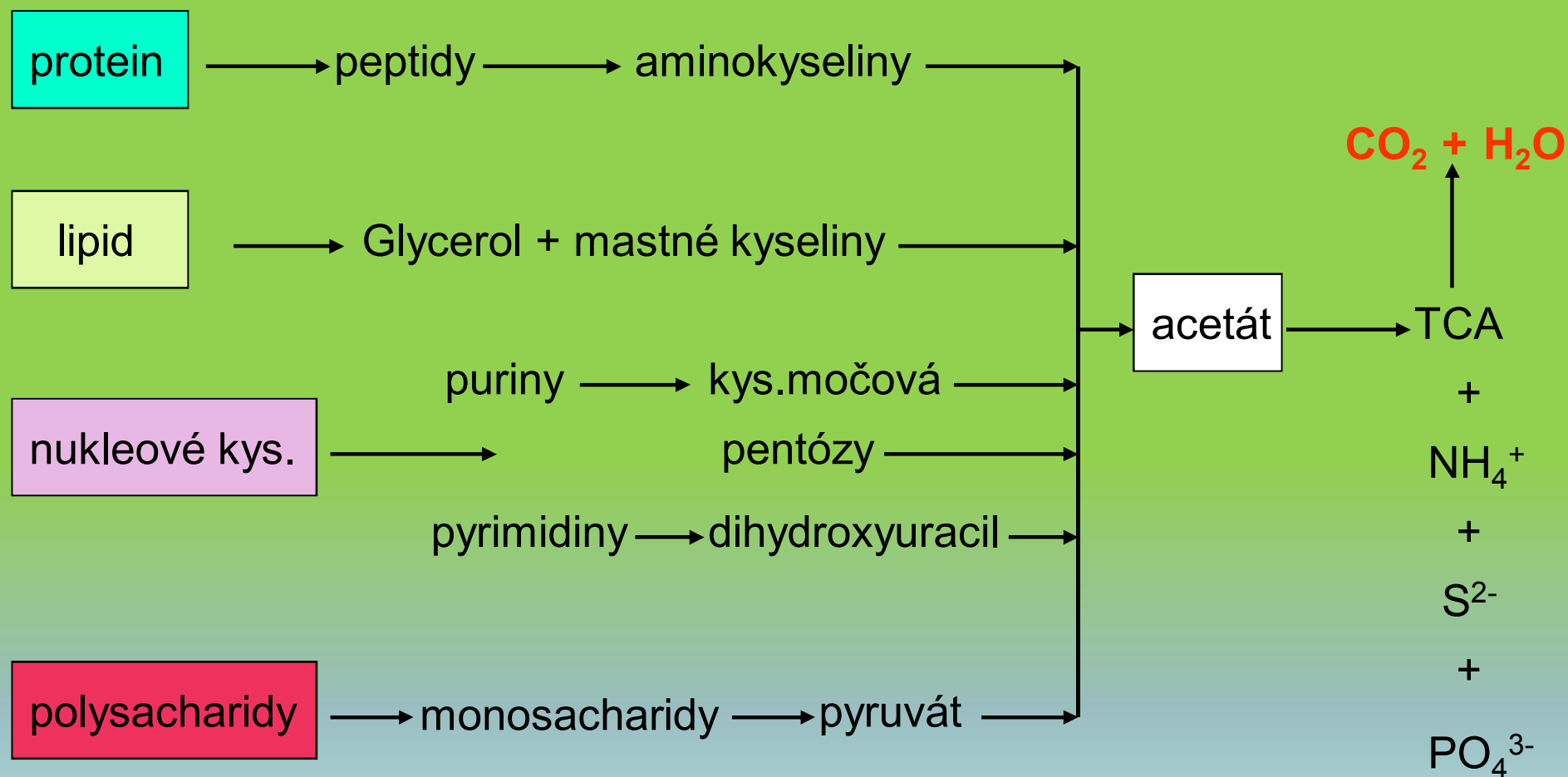


K úplné oxidaci 1 molu glukózy musí cyklus proběhnout dvakrát.

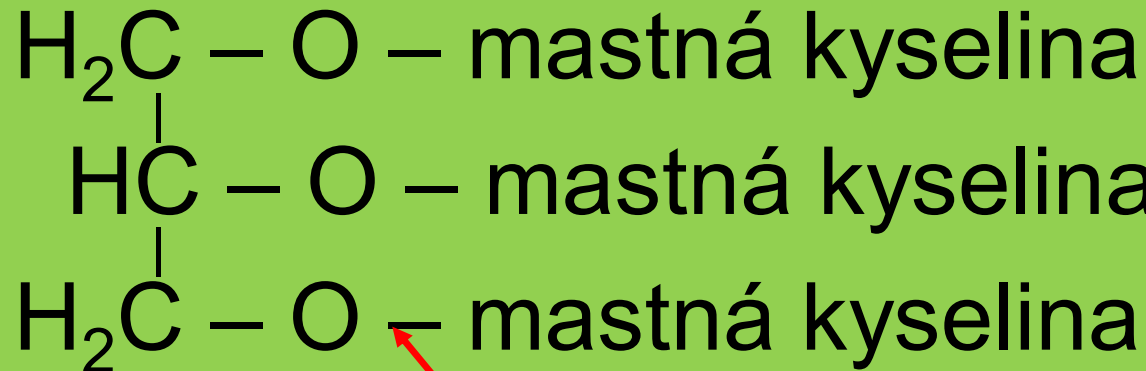
Jeden cyklus odpovídá rovnici



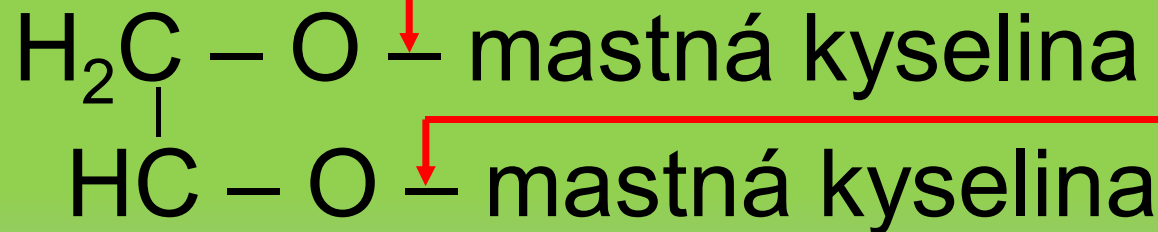
Oxidace biomolekul



Aerobní oxidace lipidů



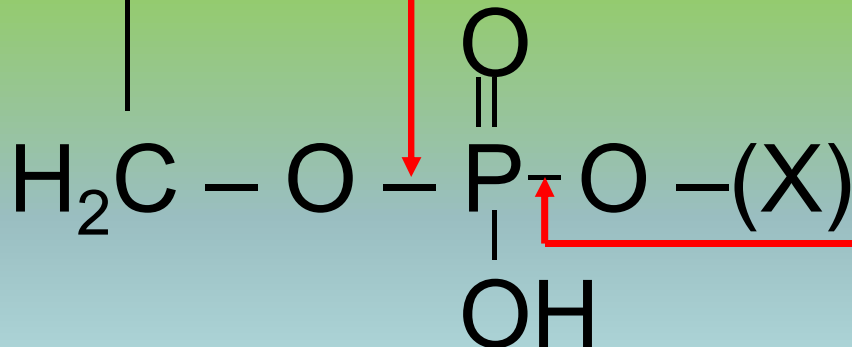
lipáza



fosfolipáza B

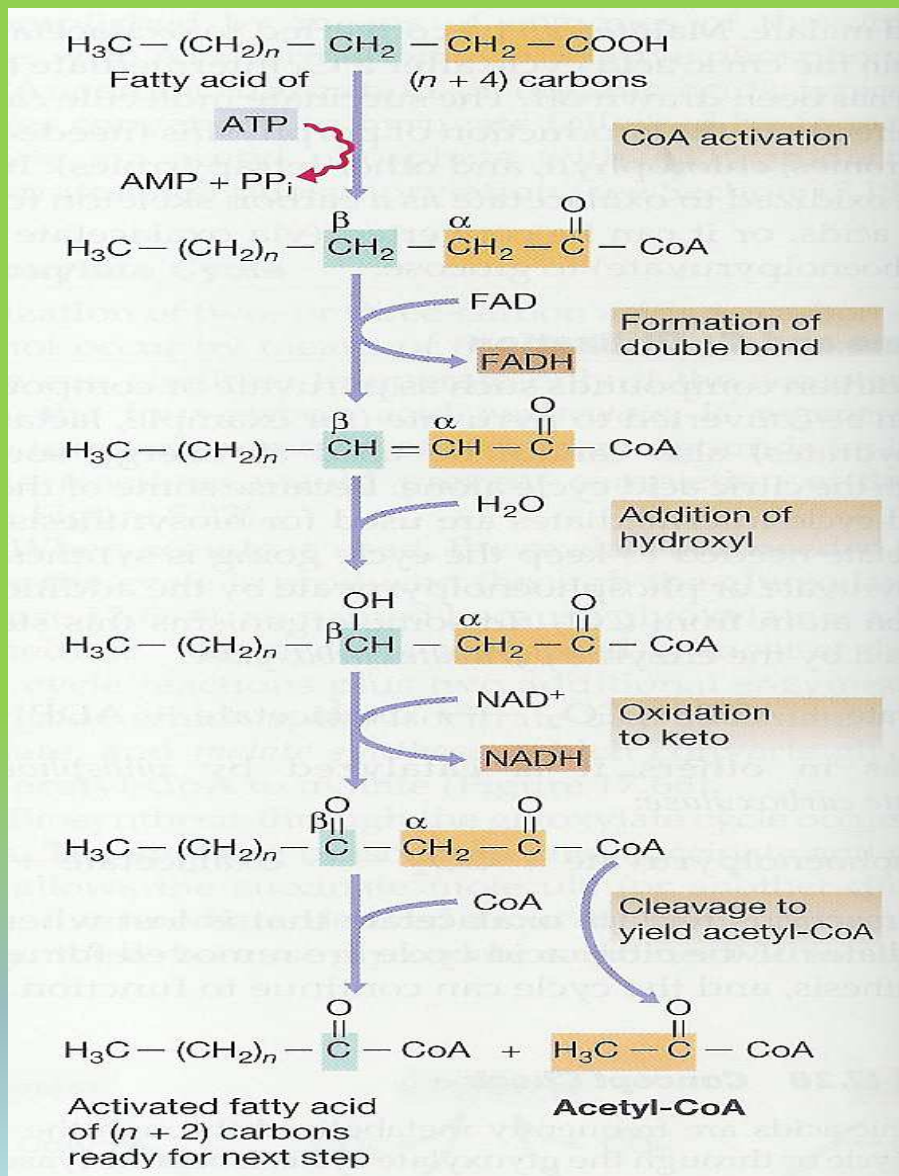
fosfolipáza A

fosfolipáza C



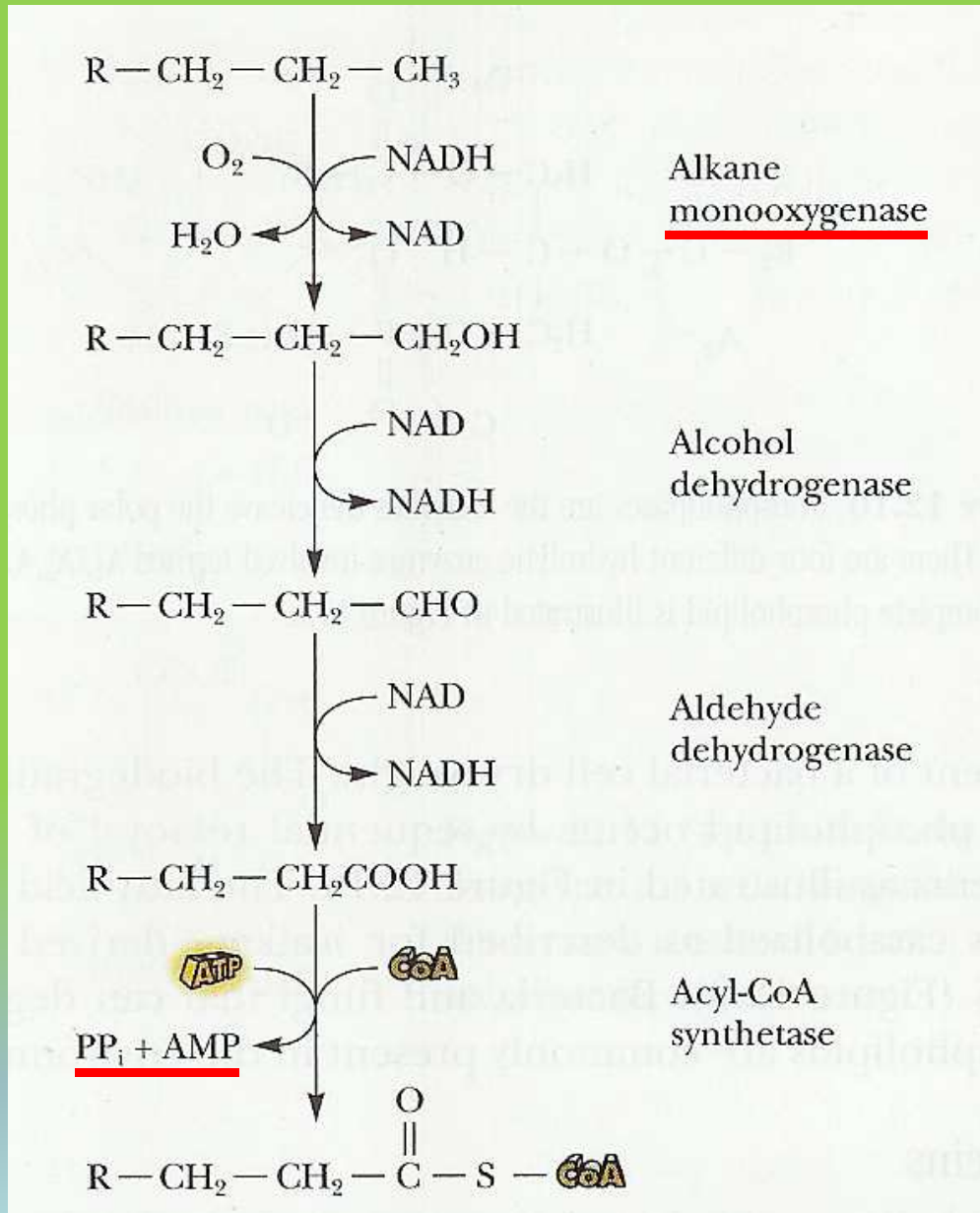
fosfolipáza D

β -oxidace mastných kyselin



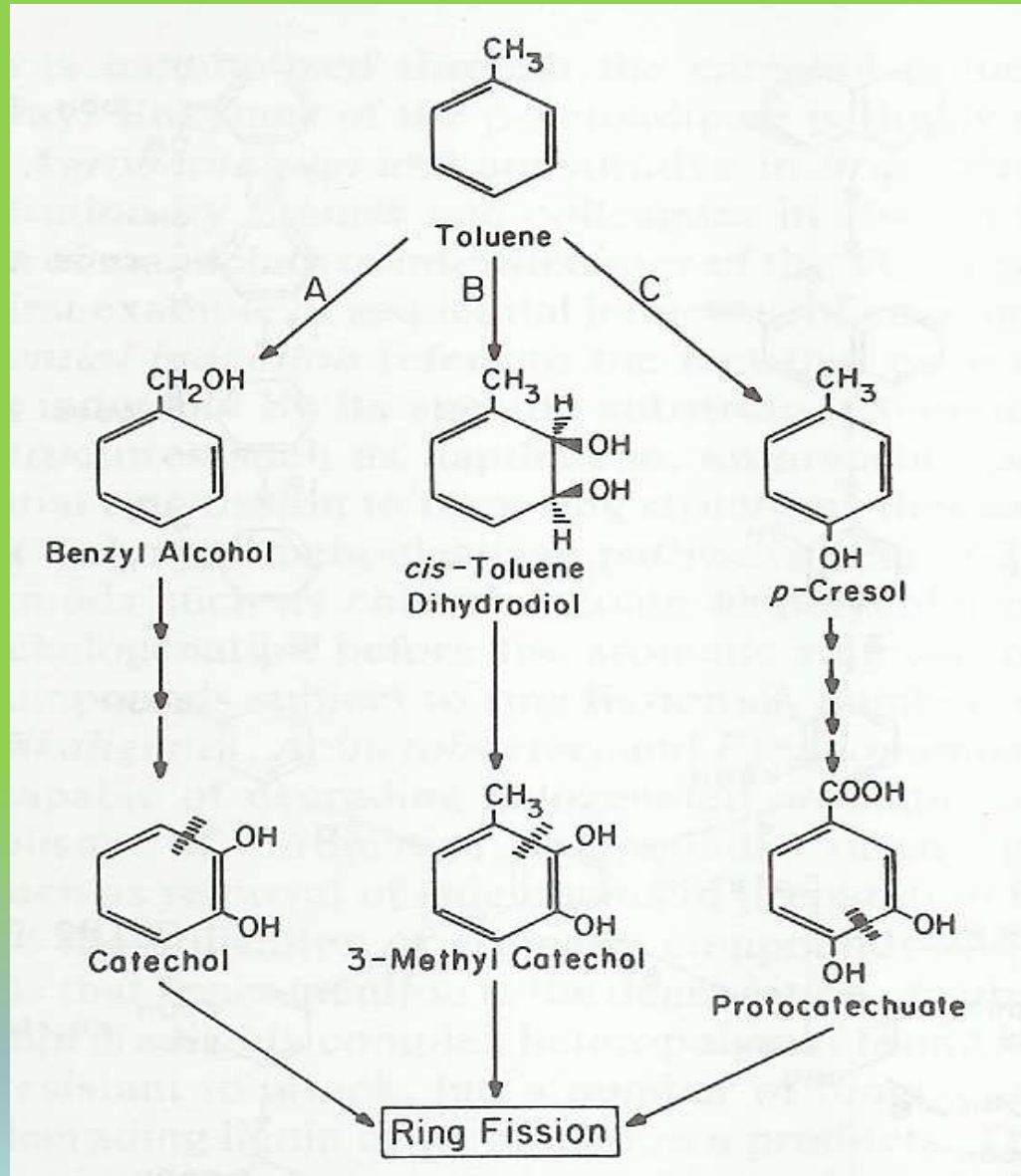
- β -oxidace je zahájena **dehydrogenací** mastné kyseliny tvorbou dvojné vazby. **Acetyl-koA** je odštěpen β -ketotiolázou a zbytek mastné kyseliny zahajuje nový cyklus
- Při **ω -oxidaci** vznikají dikarbonové kyseliny. Hydroxylačními reakcemi za účasti $\text{NADPH} + \text{H}^+$ vznikají nejprve **ω -hydroxymastné kyseliny**. Jejich oxidace vyžaduje NAD^+ .

Oxidace n-alkanů

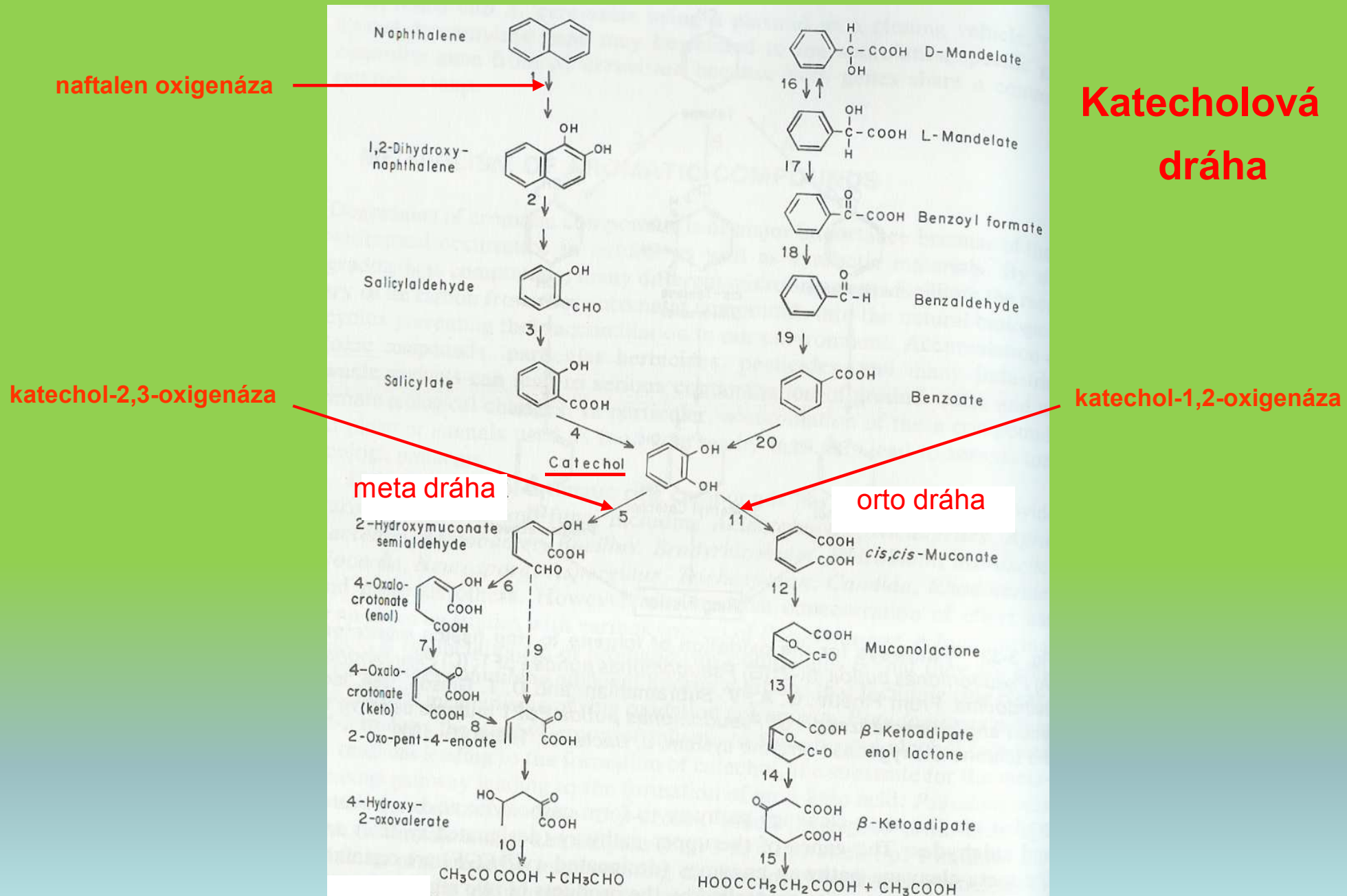


- **Monotereminální oxidace** – první uhlík alkohol kyselina β-oxidace
- **Diterminální oxidace** – jsou oxidovány oba terminální uhlíky za vzniku směsi kyselin

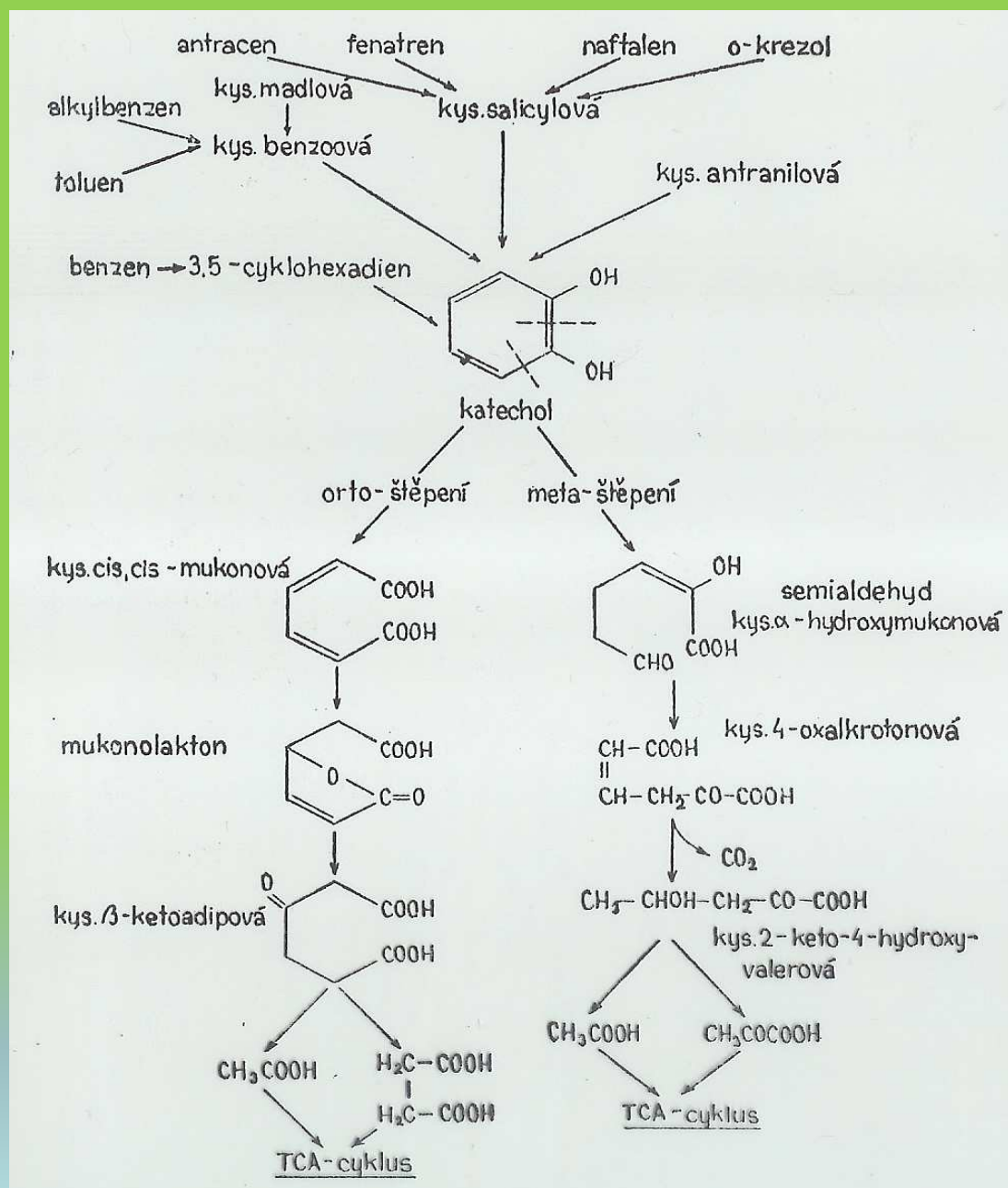
Oxidace toluenu



Oxidace aromatických sloučenin

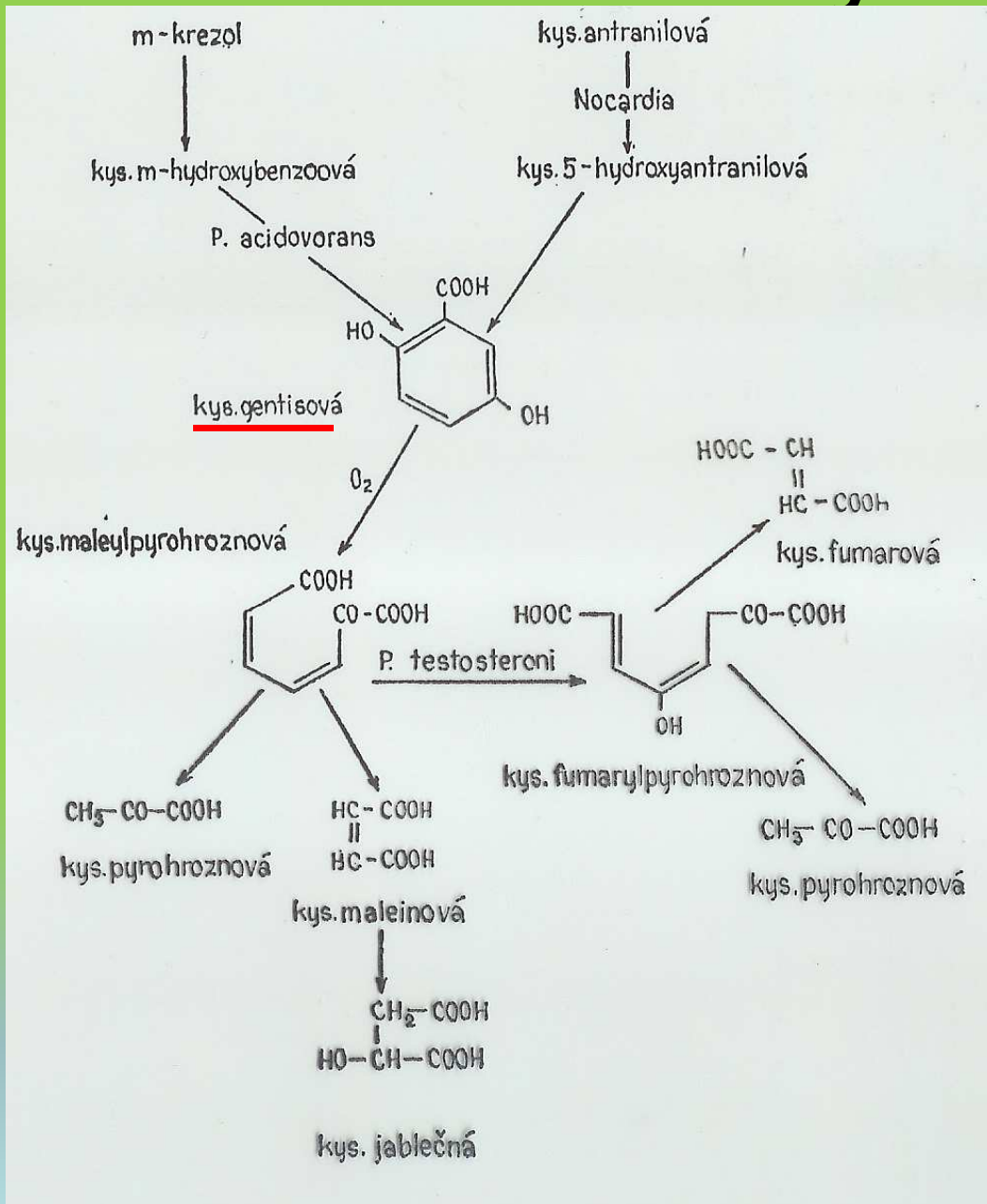


Oxidace aromatických sloučenin



Katecholová dráha

Oxidace aromatických sloučenin



**Dráha
kyseliny
gentisové**

Oxidace polysacharidů

- Prvním krokem je hydrolýza na mono-
nebo di-sacharidy

Oxidace škrobu a glykogenu

- Škrob i glykogen je tvořen proměnlivým podílem

amylózy – lineární řetězec α -1,4-glukozid

a

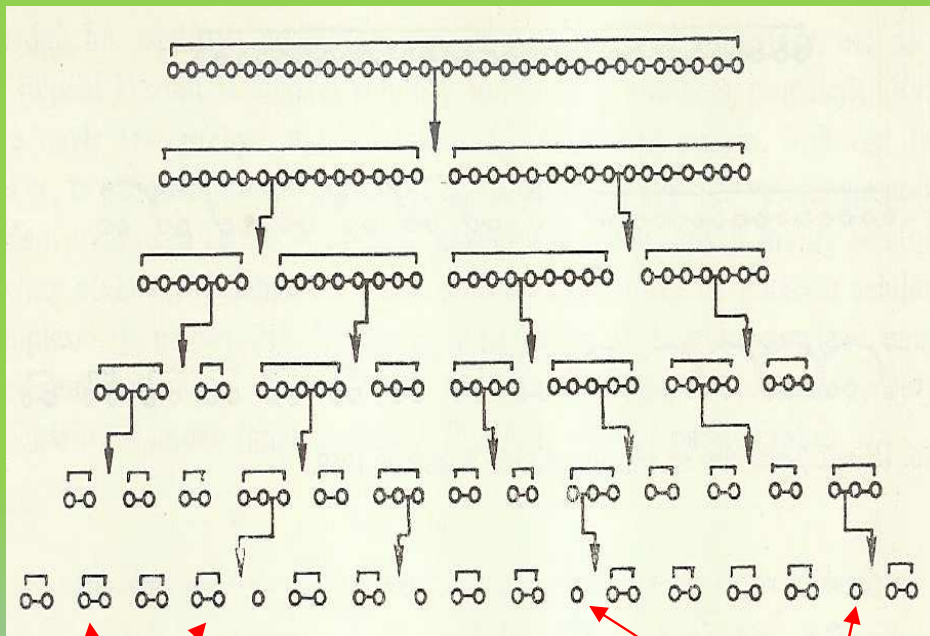
amylopektinu – rozvětvený řetězec α -1,4-glukozid s větvením 1,6

*hydrolýza větvení vazby 1,6 → specifický enzym α -1,6-glukozidáza

- α -amyláza, β -amyláza, γ -amyláza
 - **α -amyláza** štěpí škrob na kterémkoliv místě
 - **β -amyláza** štěpí škrob z obou konců
 - **γ -amyláza** štěpí z neredukujícího konce po glukózových jednotkách
- α -amyláza + amylóza \longrightarrow dextrin
 \longrightarrow maltóza + glukóza (6:1)
- Účinek α -amylázy na amylopektin závisí na stupni větvení (vazby 1,6 nehydrolyzují)

Účinek α -amylázy

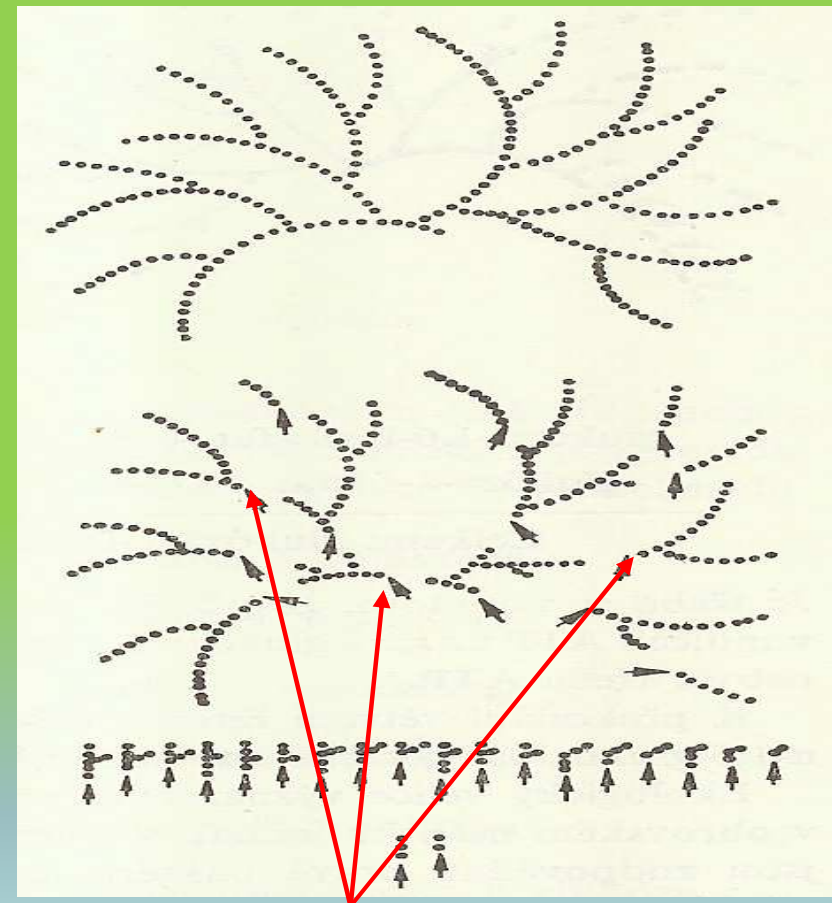
na amylozu



maltóza

glukóza

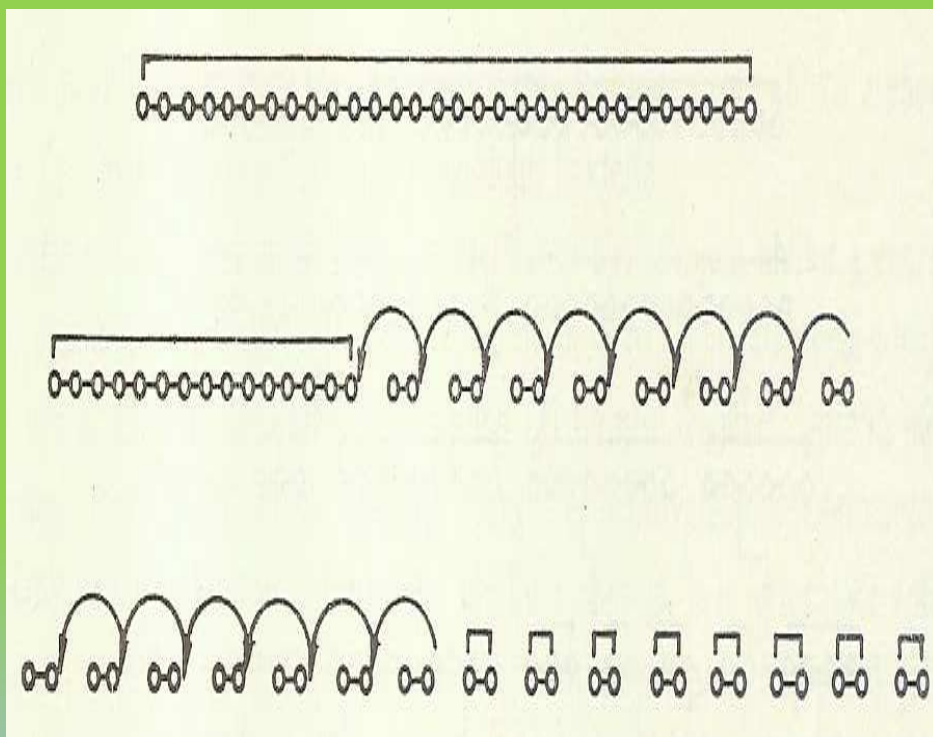
na amylopektin



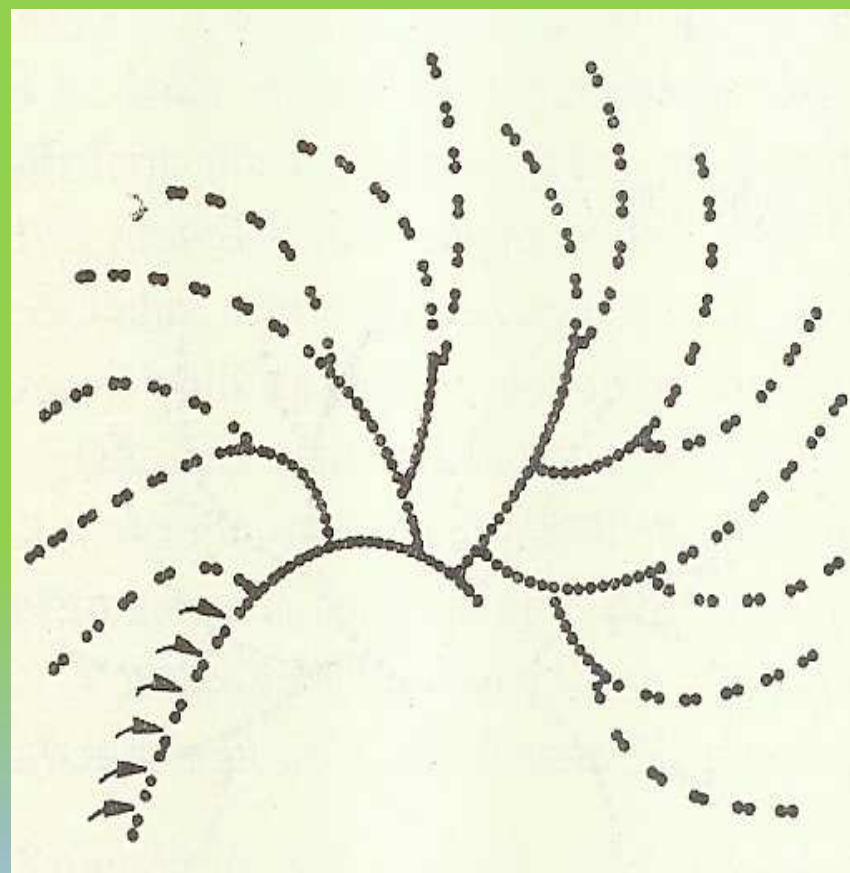
konec redukujícího řetězce

Účinek β -amylázy

na amylozu



na amylopektin

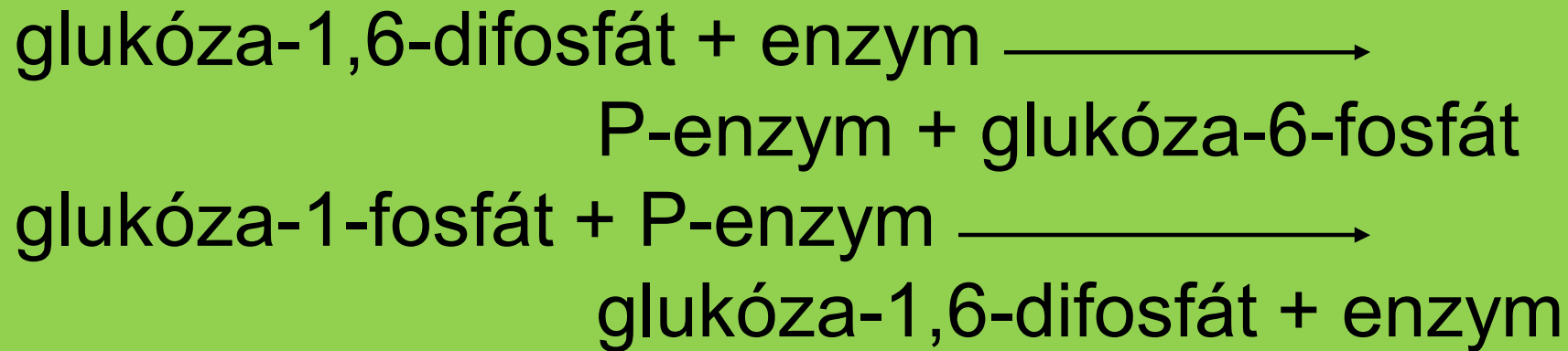


Oxidace škrobu a glykogenu

- Fosforolytické štěpení řetězce s vazbami 1,4
Začíná u neredukujícího konce působením
polysacharidfosforylázy →
 α -D-glukóza-1-fosfát →
fosfoglukomutáza →
glukóza-1,6-difosfát

Oxidace škrobu a glykogenu

fosforolytické štěpení



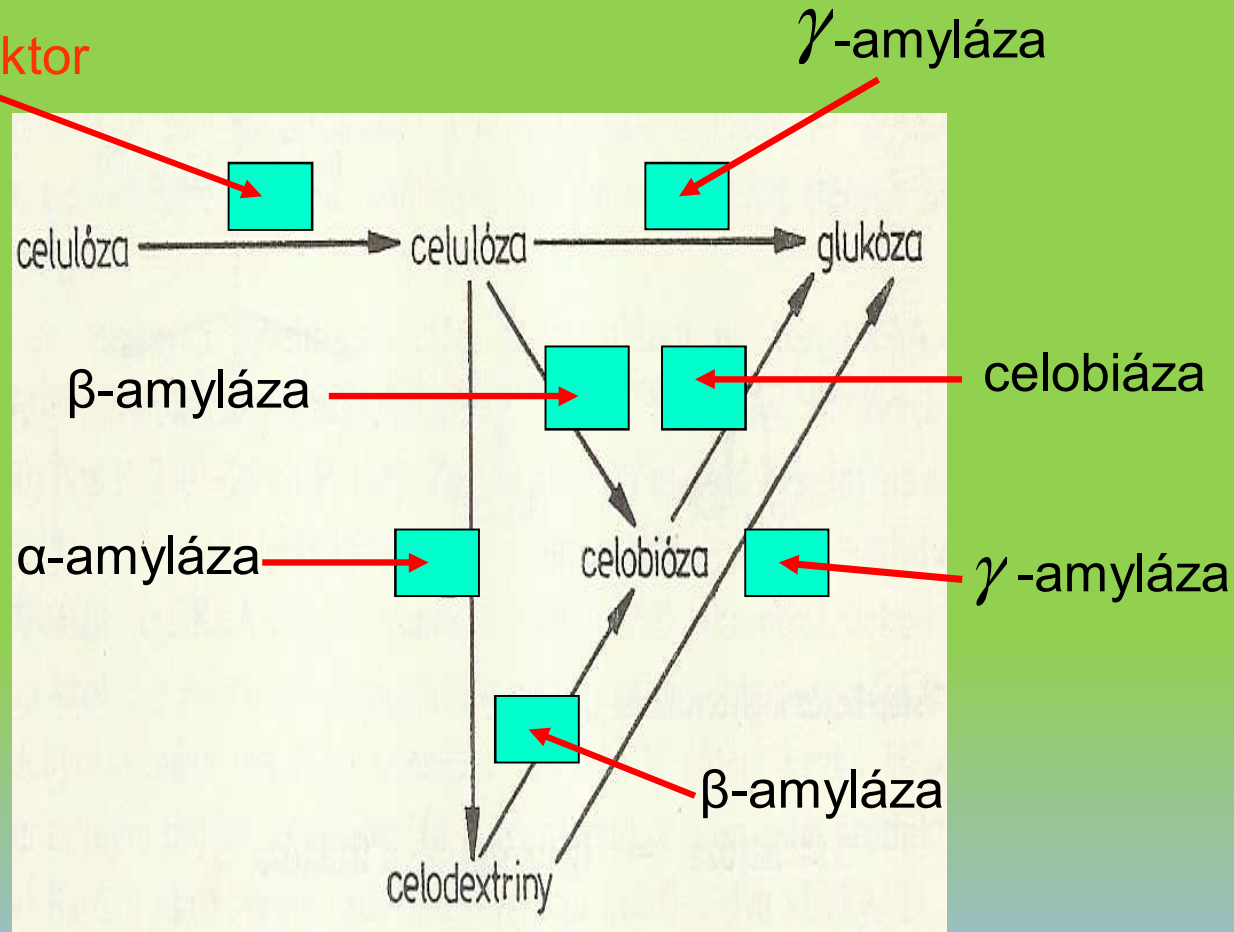
Celkem :



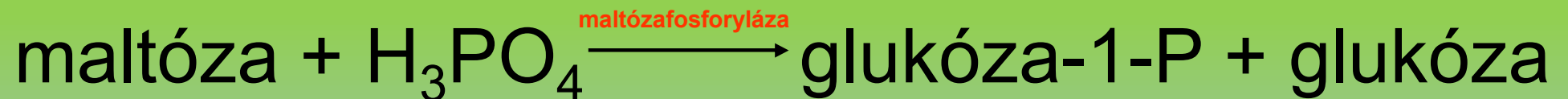
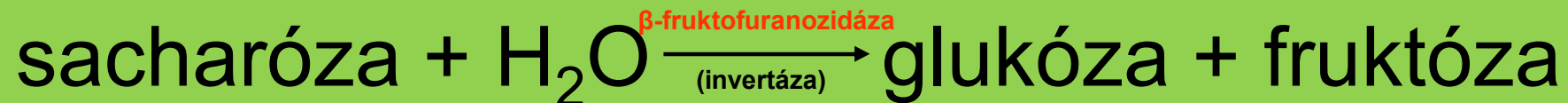
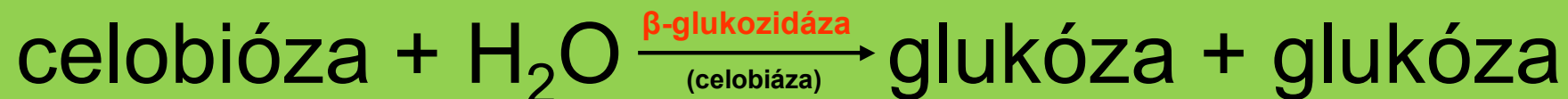
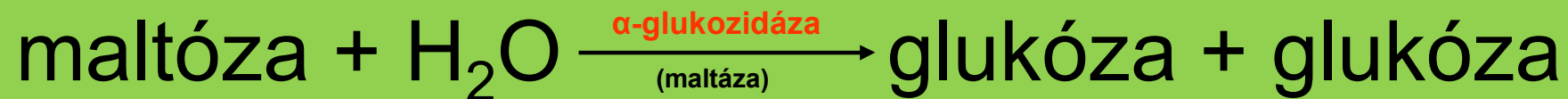
- Při fosforolýze škrobu nebo glykogenu je energetický výtěžek na 1 mol glukózy o 1 ATP větší (na vznik glukóza-6-fosfátu není třeba ATP)

Štěpení celulózy (vazba 1,4) celulázovým komplexem

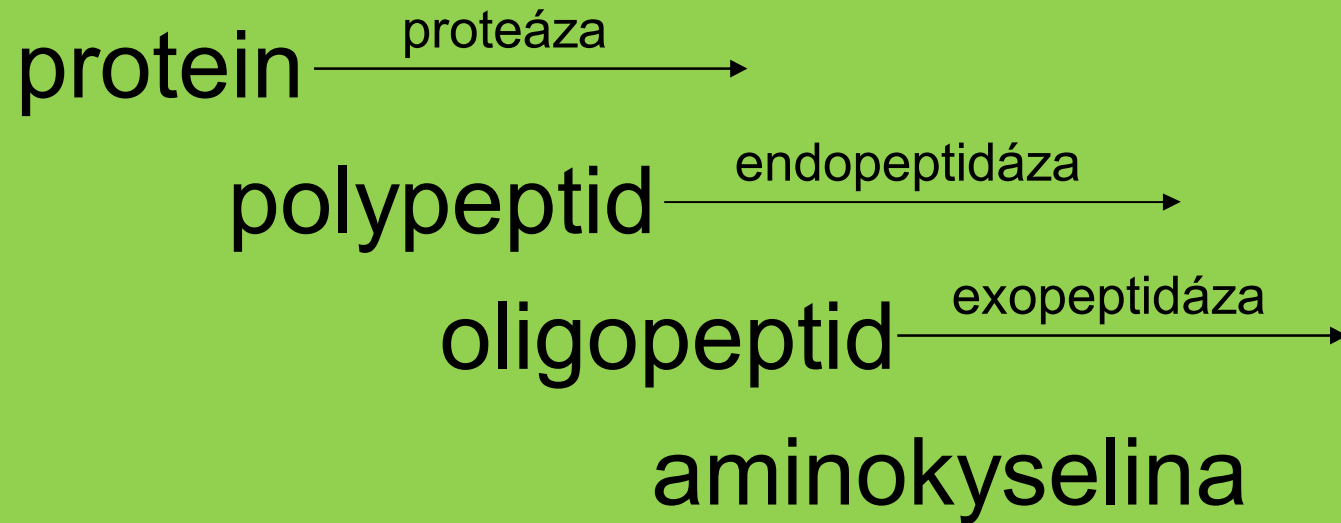
prehydratační faktor
(aktivační faktor,
bobtnací faktor)



Štěpení disacharidů



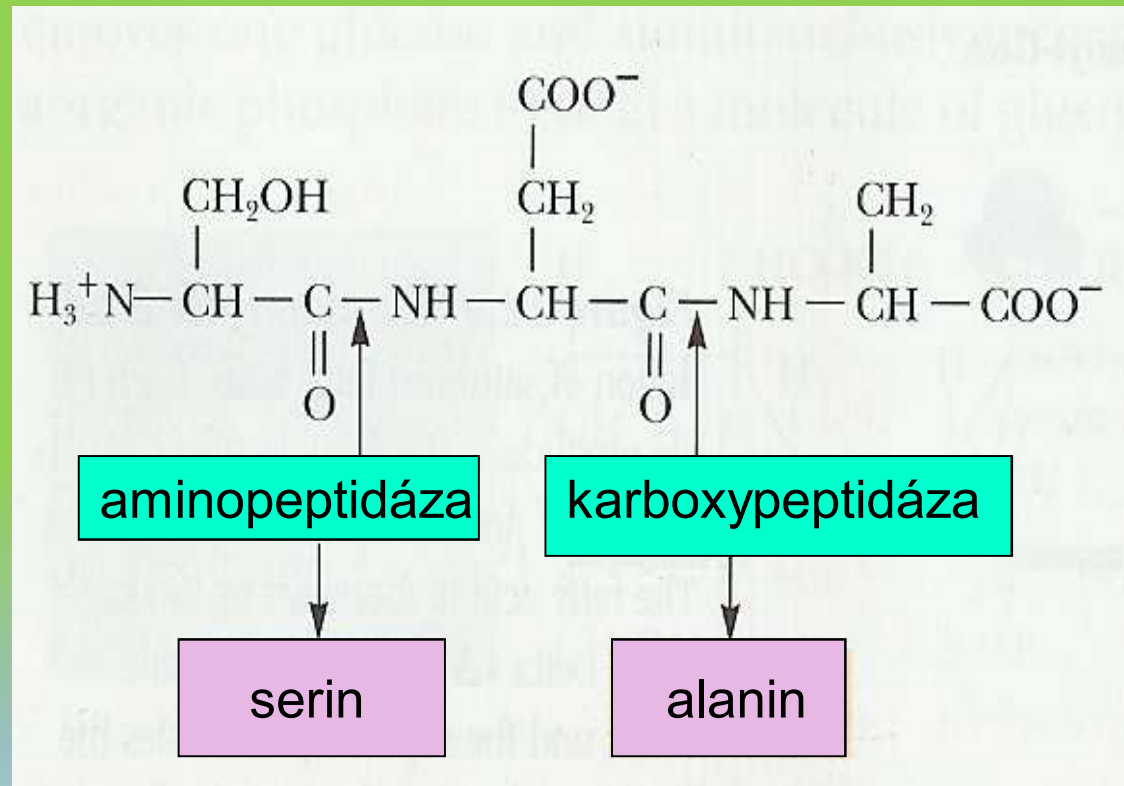
Štěpení bílkovin



Atak z aminového konce
bílkovinného řetězce

Štěpení bílkovin

Atak z karboxylového konce
bílkovinného řetězce



Oxidace aminokyselin

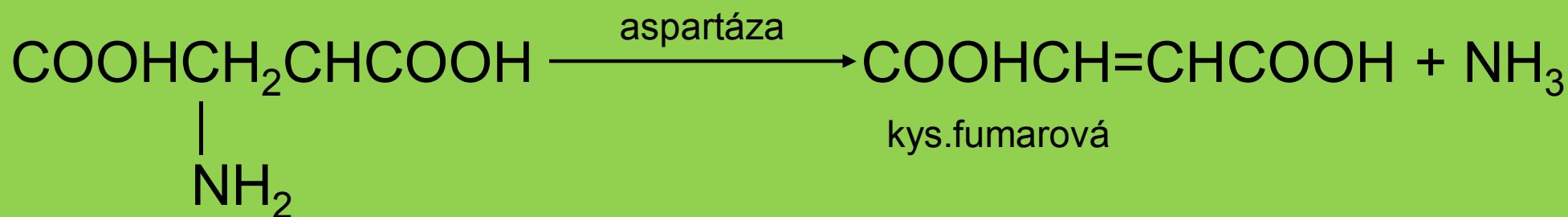
- Oxidace aminokyselin v aerobních podmínkách začíná **oxidativní deminací**



- Aminokyseliny mohou být oxidovány jednotlivě nebo několik současně

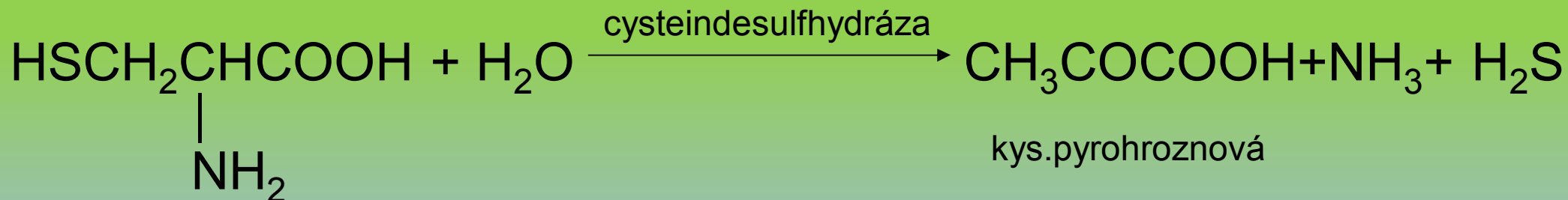
Oxidace aminokyselin

Desaturační deaminace kys.asparagové



Organizmy: fakultativně anaerobní bakterie

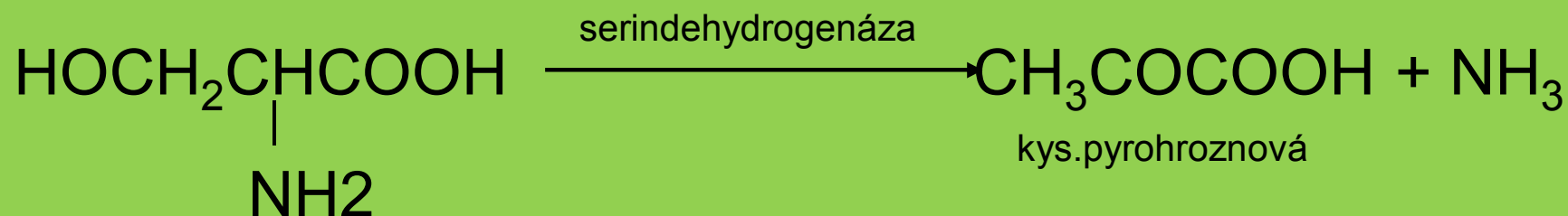
Oxidace cysteinu



Organizmy: *P.vulgaris*, *P.morganii*, *E.coli*, *B.sutilis*,

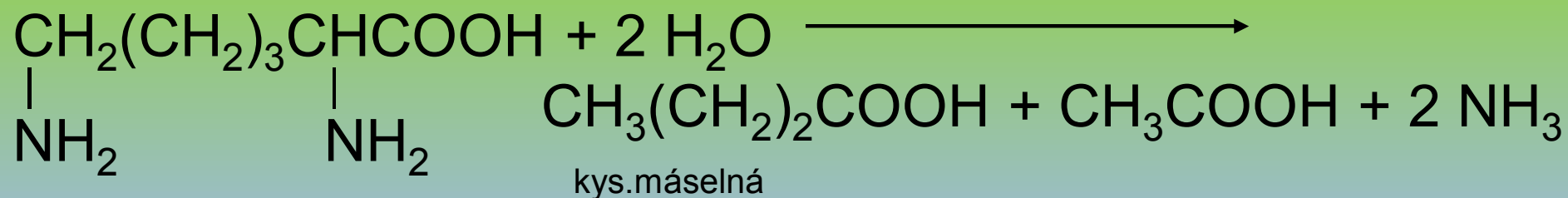
Oxidace aminokyselin

Oxidace serinu



Organizmy: *Peptococcus*, *E.coli*, ...

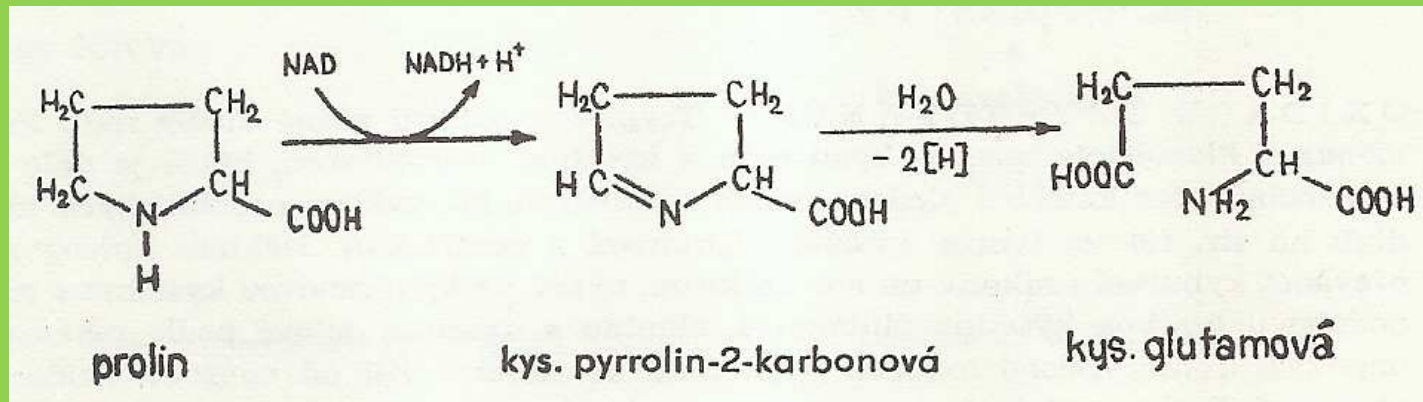
Oxidace lyzinu



Organizmy: *Cl.sticklandii*

Oxidace aminokyselin

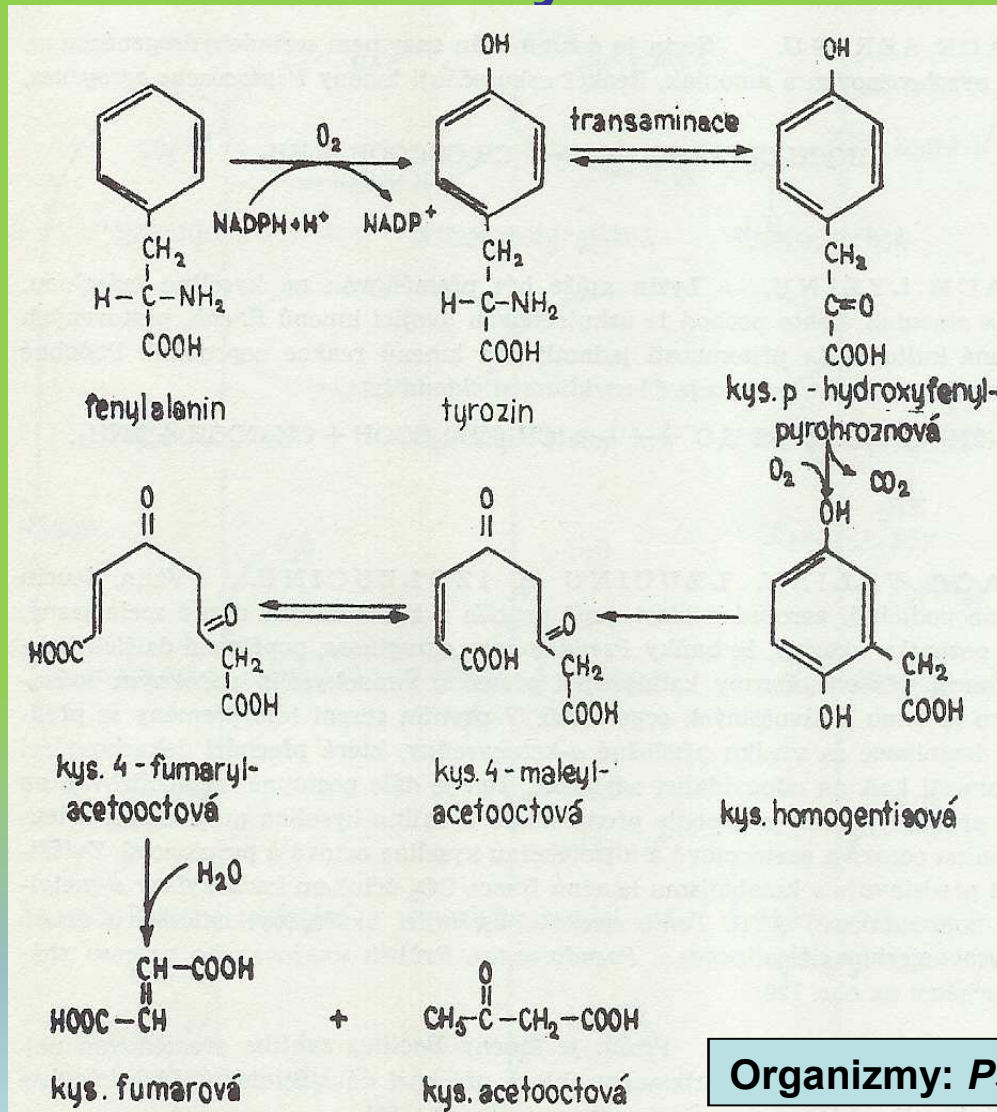
Oxidace prolinu



Organizmy: *B. subtilis*

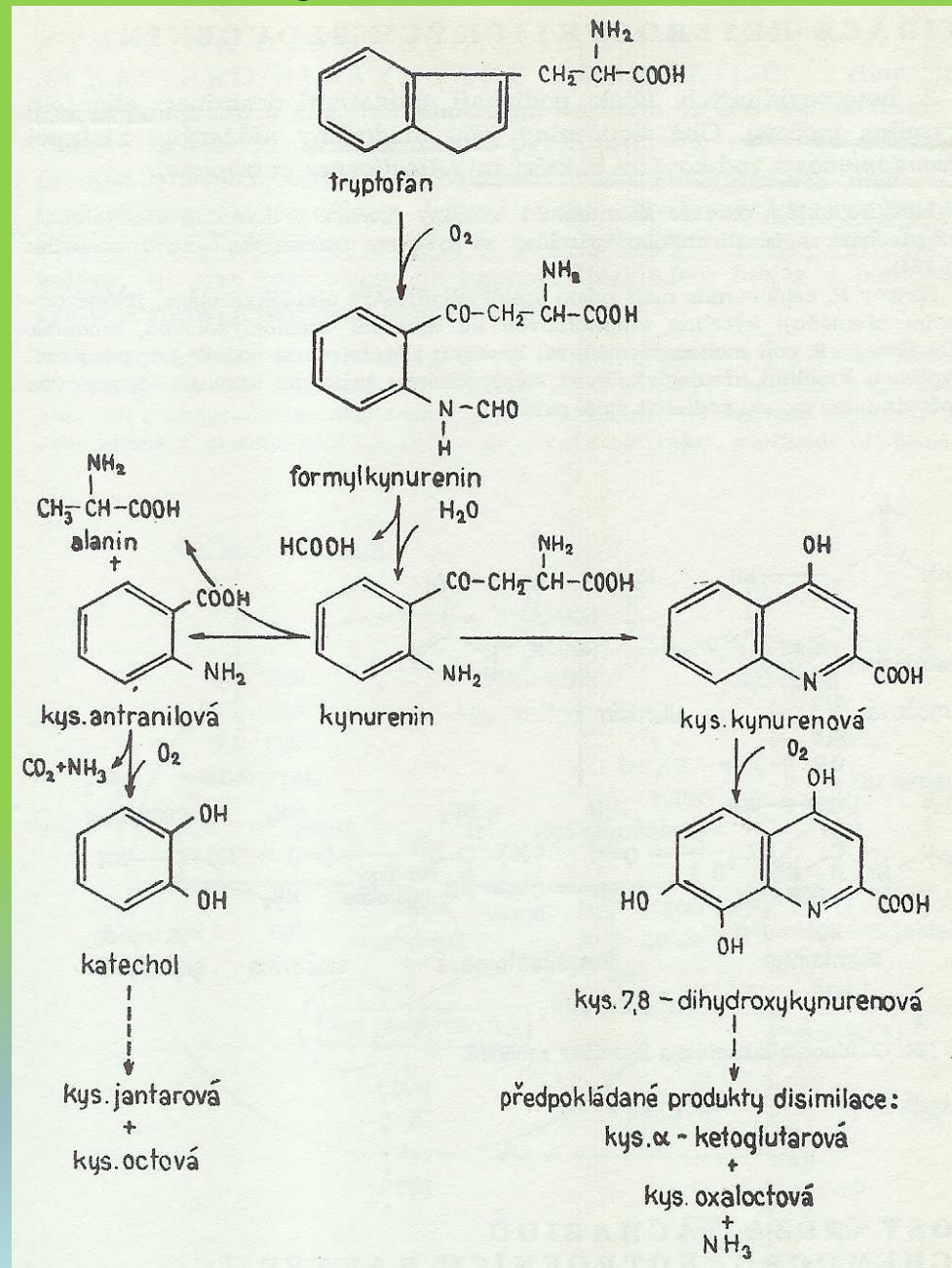
Oxidace aminokyselin

Oxidace fenylalaninu a tyrozinu



Oxidace aminokyselin

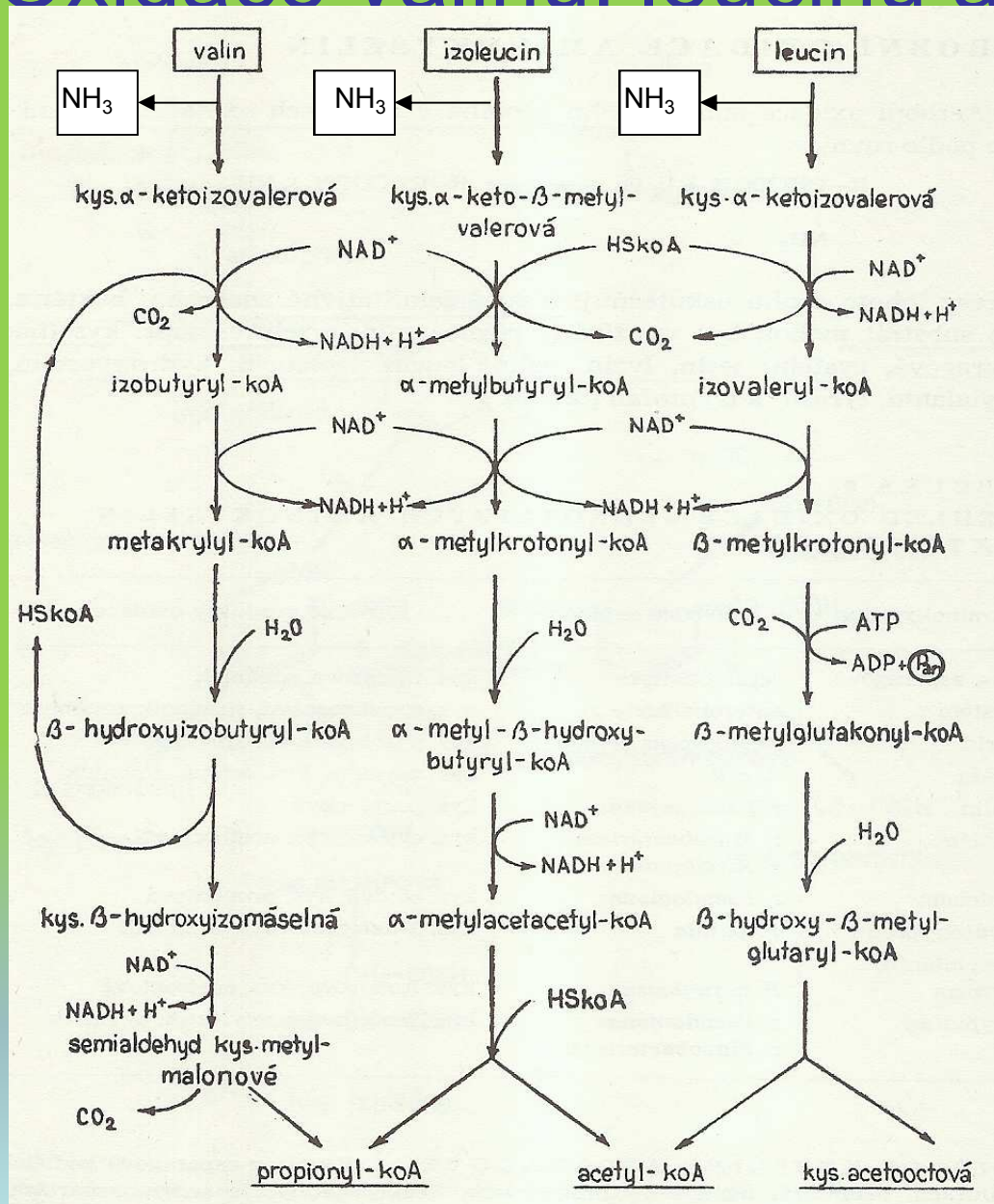
Oxidace tryptofanu



Organizmy: *Pseudomonas*, *Flavobacterium*

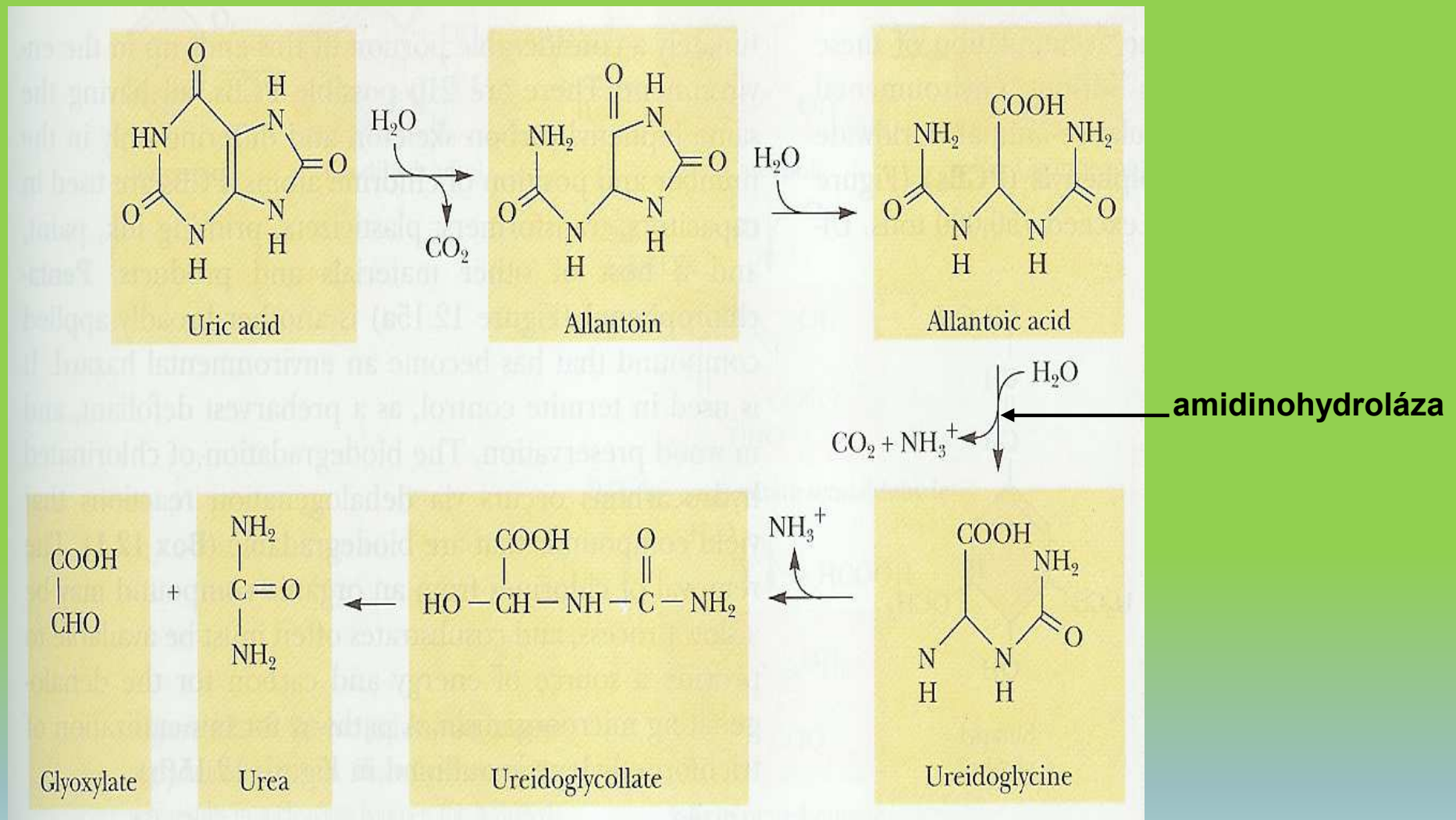
Oxidace aminokyselin

Oxidace valinu, leucinu a isoleucinu



Organizmy: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*

Oxidace heterocyklických sloučenin



Organizmy: *Pseudomonas*, *Alcaligenes*

Anaerobní respirace

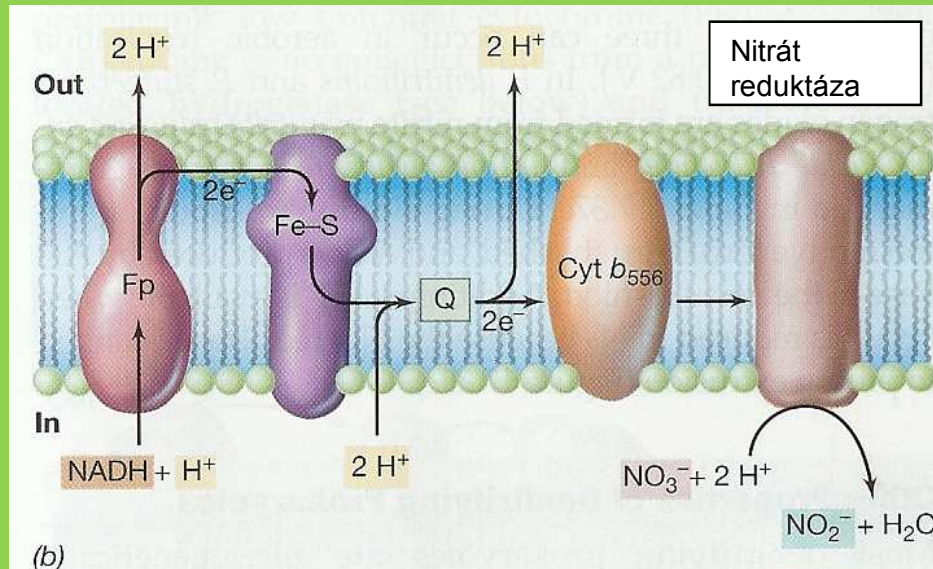
- Při anaerobní respiraci je organický substrát oxidován přenosem protonů a elektronů na kyslík vázaný v anorganické látce
- Přenos elektronů na vázaný kyslík uskutečňují příslušné **cytochromreduktázy**
- Tímto způsobem získávají energii **chemoorganotrofní bakterie**, vyjimečně chemolitotrofní
- U **chemoorganotrofních bakterií** je organická látka současně zdrojem energie i uhlíku

Anaerobní respirace

Procesy anaerobní respirace

- * redukce dusičnanů na dusitany
- * denitrifikace
- * desulfurikace
- * redukce CO_2 (metanové kvašení)

Redukce dusičnanů na dusitany



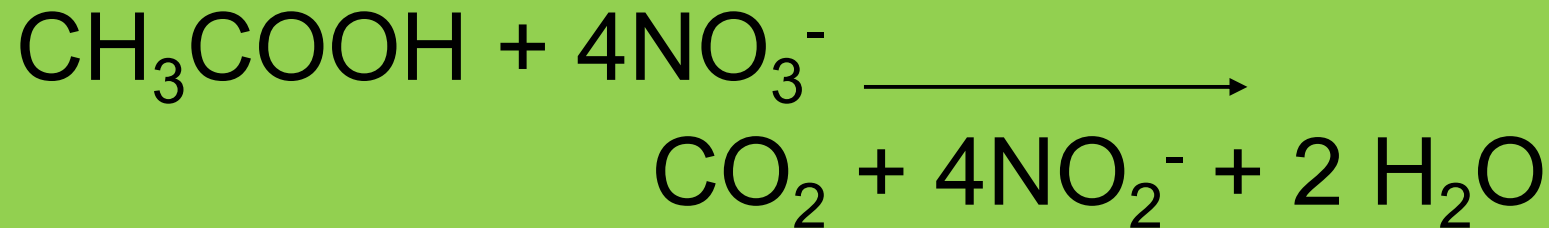
- Nitrát reduktáza je membránově vázaný enzym obsahující molybden
- Syntéza nitrát reduktázy je striktně blokována molekulovým kyslíkem
- Na 1 mol NO_3^- - 2 ATP
- Hromadění vytvořeného dusitanu potlačuje růst bakterií
- Organizmy: *E.coli*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus aureus* a další fakultativně anaerobní bakterie

Fp - flavoprotein

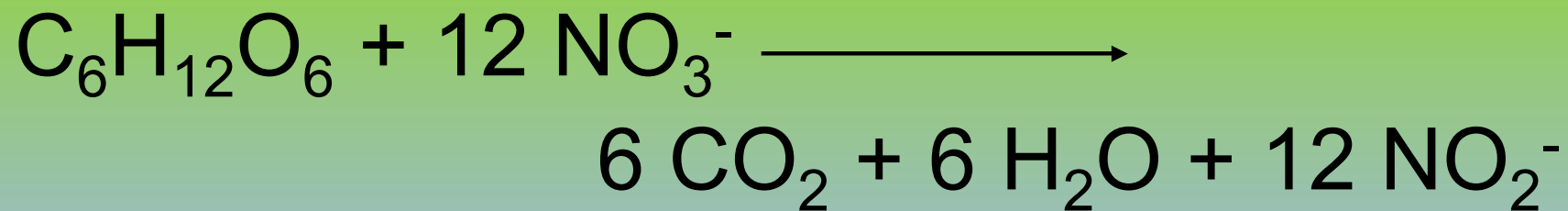
FeS – bílkovina s nehemově vázaným Fe-S

Redukce dusičnanů na dusitany

- Zdrojem vodíku a elektronů může být jakákoliv organická látka

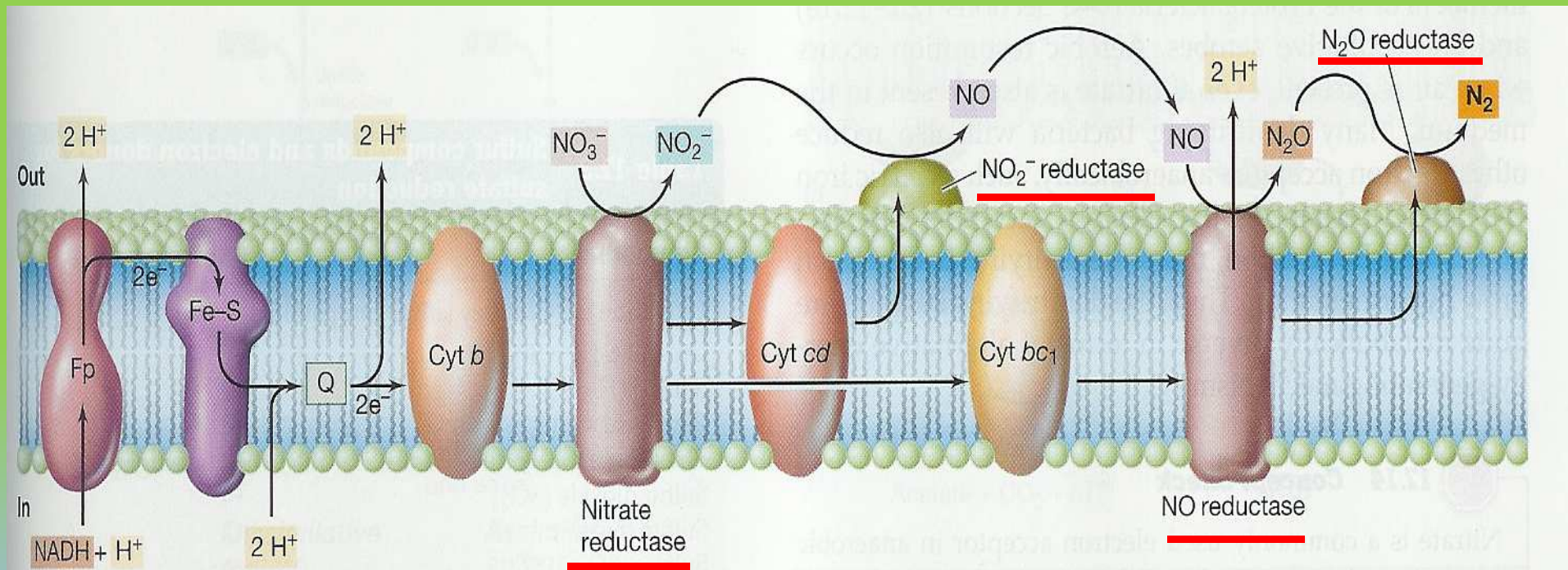


nebo



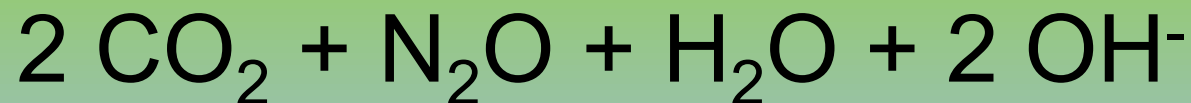
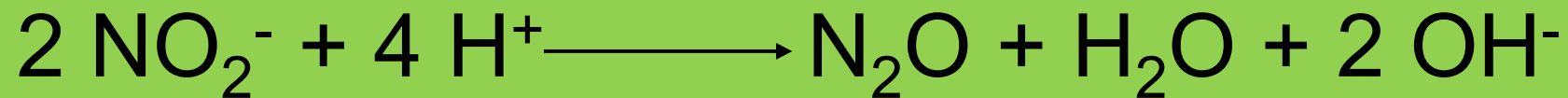
Redukce dusičnanů

- U *Pseudomonas stutzeri* je možná redukce dusičnanů až na N_2

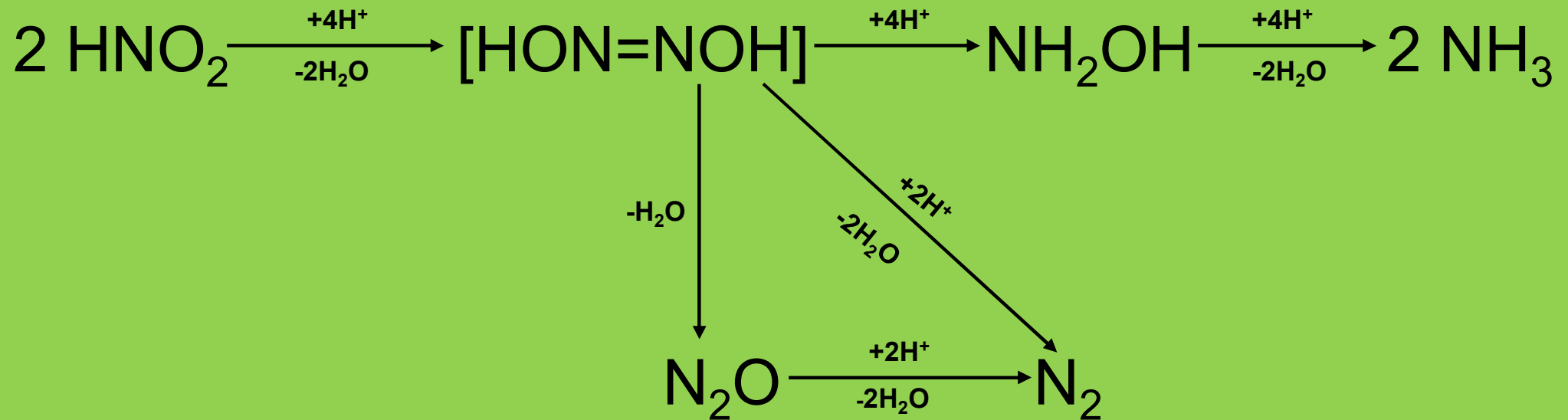


Denitrifikace

- Denitrifikace – proces redukce dusitanů na N_2 nebo N_2O nebo směs obou plynů



Denitrifikace

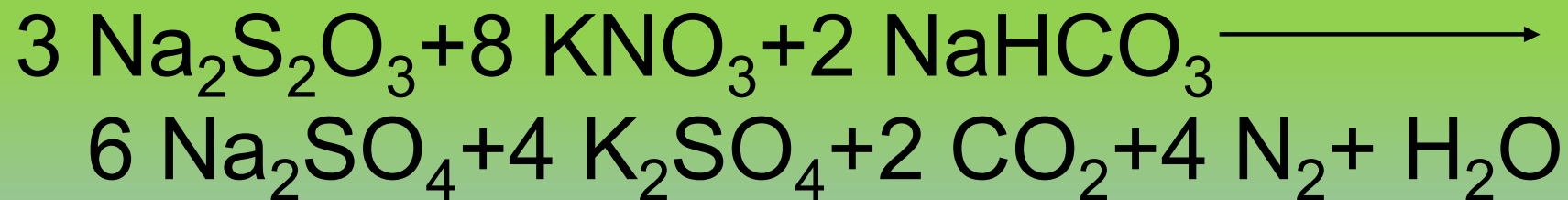


Tento pochod vychází z předpokladu, že se redukce na amoniak uskutečňuje působením příslušné reductázy (*nitrit-, hyponitrit-, hydroxylaminreduktázy*). Způsob přenosu elektronů při denitrifikaci není dosud jasný.

Denitrifikace

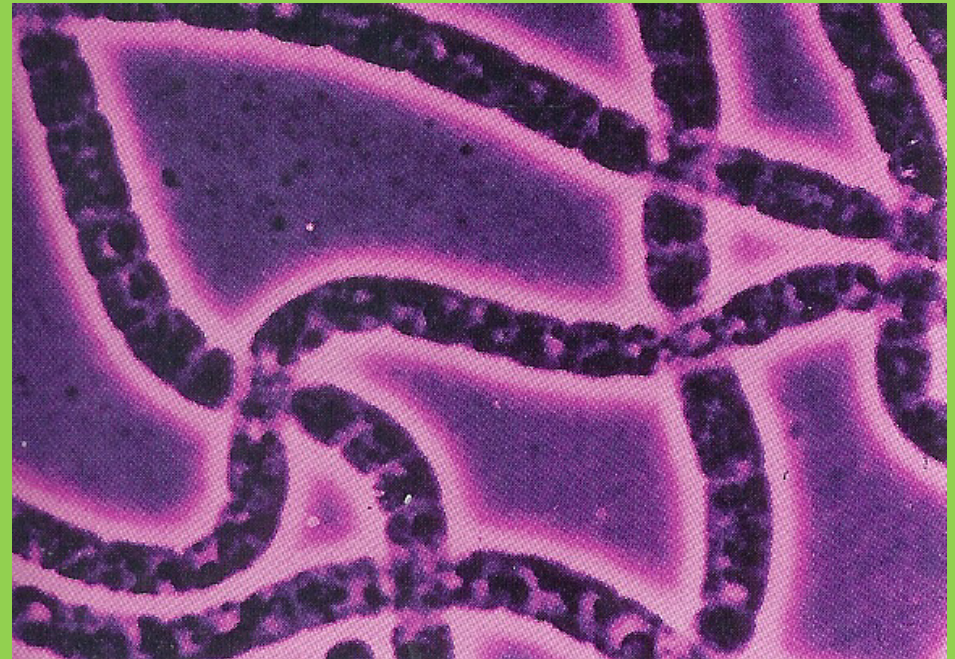
- Denitrifikace u chemolitotrofů –
Thiobacillus denitrificans

vedle denitrifikace současně oxiduje
thiosíran na síran



Desulfurikace

- Donorem elektronů a protonů je organická látka nebo plynný vodík
- Jako akceptor vystupuje síran, siřičitan, thiosíran, tetrathionát,
- Redukci těchto látek uskutečňují především anaerobní bakterie – zástupci rodů
Desulfovibrio,
Desulfotomaculum,
Desulfosarcina,
Desulfonema
a některé *Archaea*



Desulfonema sp.

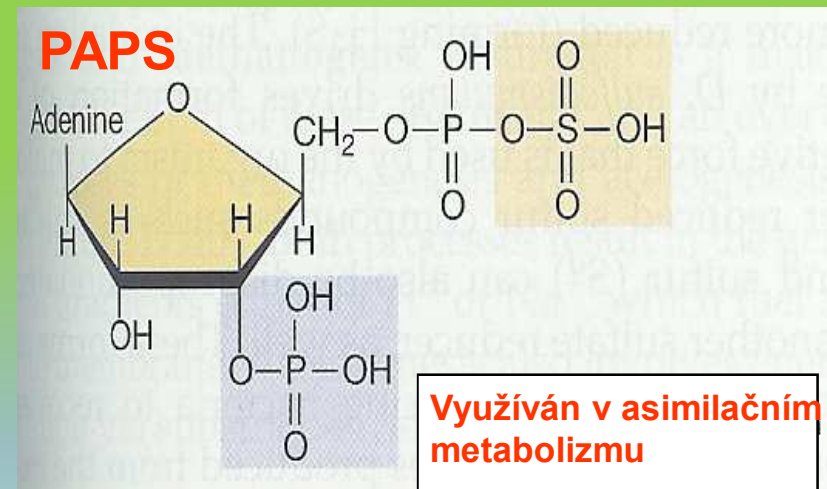
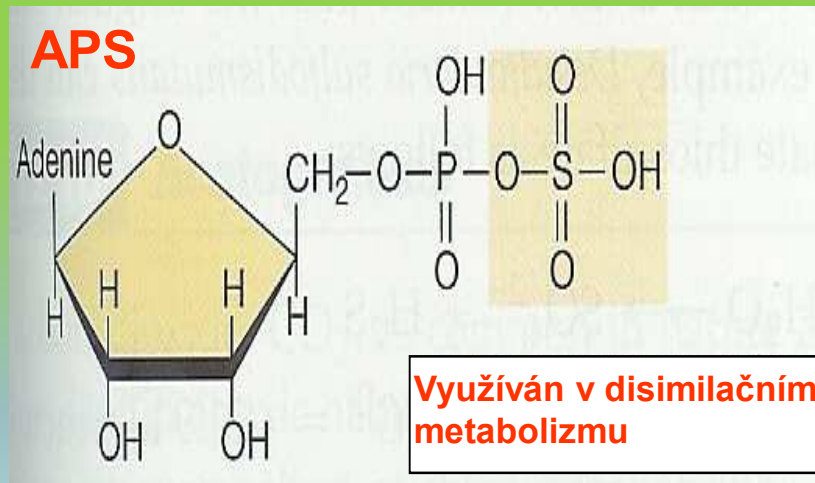
Desulfurikace

Při procesu desulfurikace vznikají energeticky bohaté sloučeniny

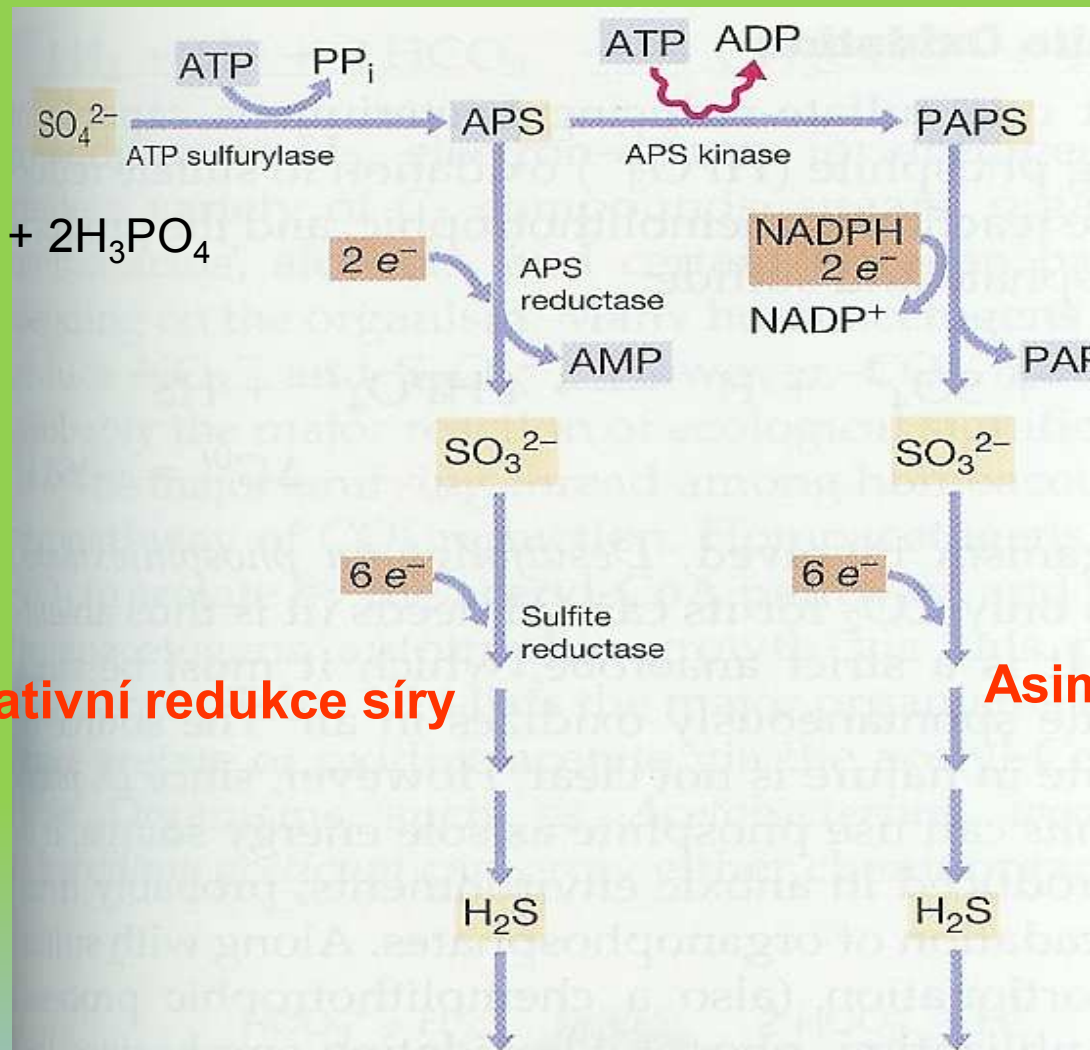
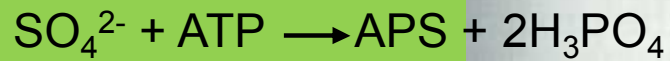
APS - adenosin 5'-fosfosulfát

a

PAPS – fosfoadenozin-5'-fosfosulfát



Desulfurikace - biochemie



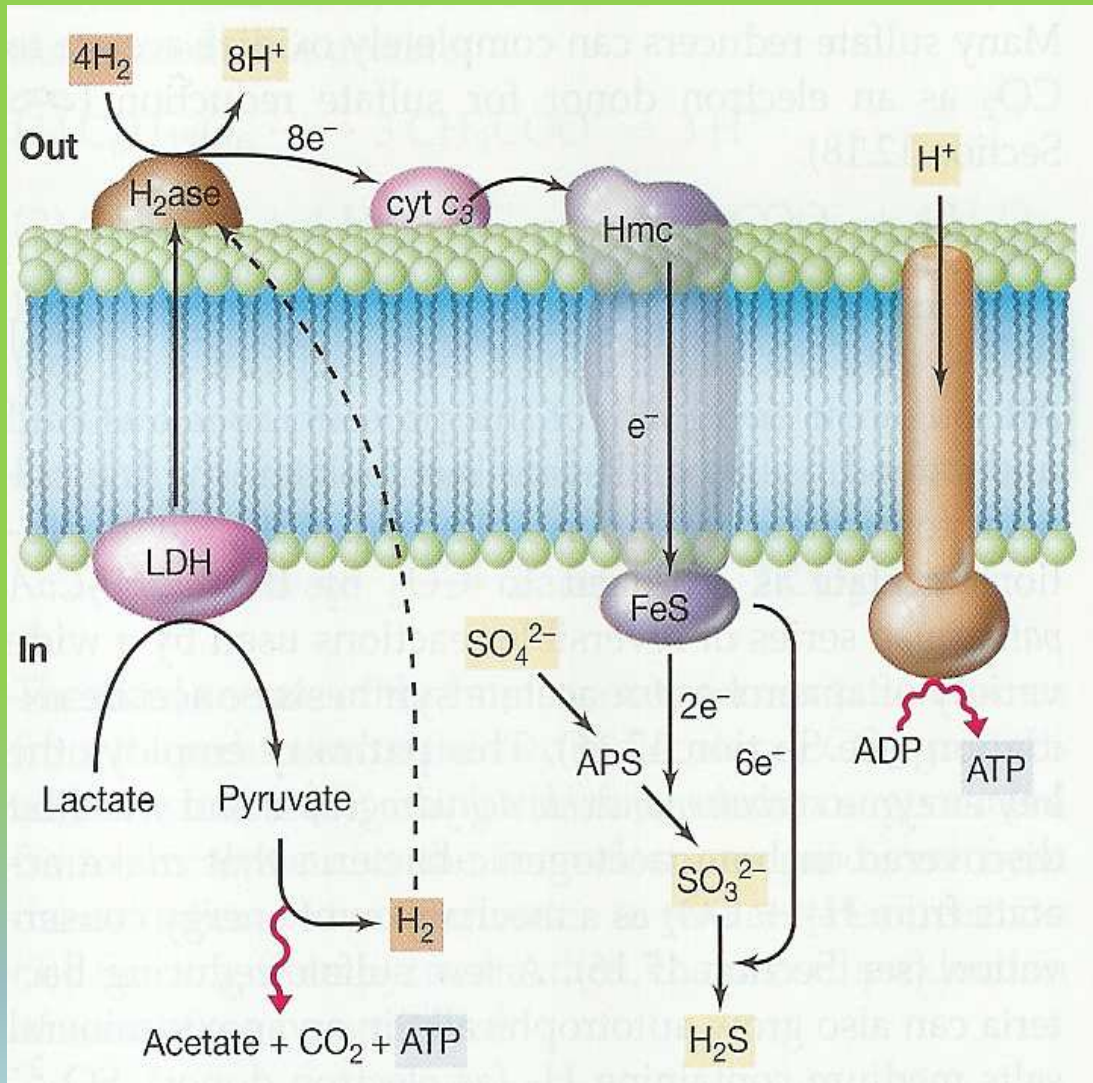
Disimilativní redukce síry

Asimilativní redukce síry

sekrece

Organické látky s obsahem síry
(cystein, methionin,..)

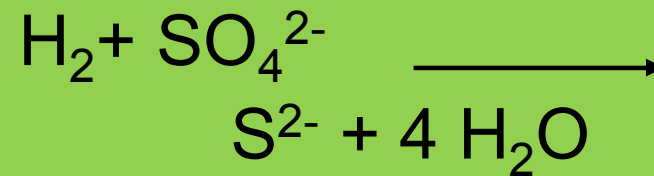
Desulfurikace – transport elektronů



- Enzym H₂ áza, cytochrom c₃ a cytochromový komplex-Hmc

jsou
periplazmatické
bílkoviny

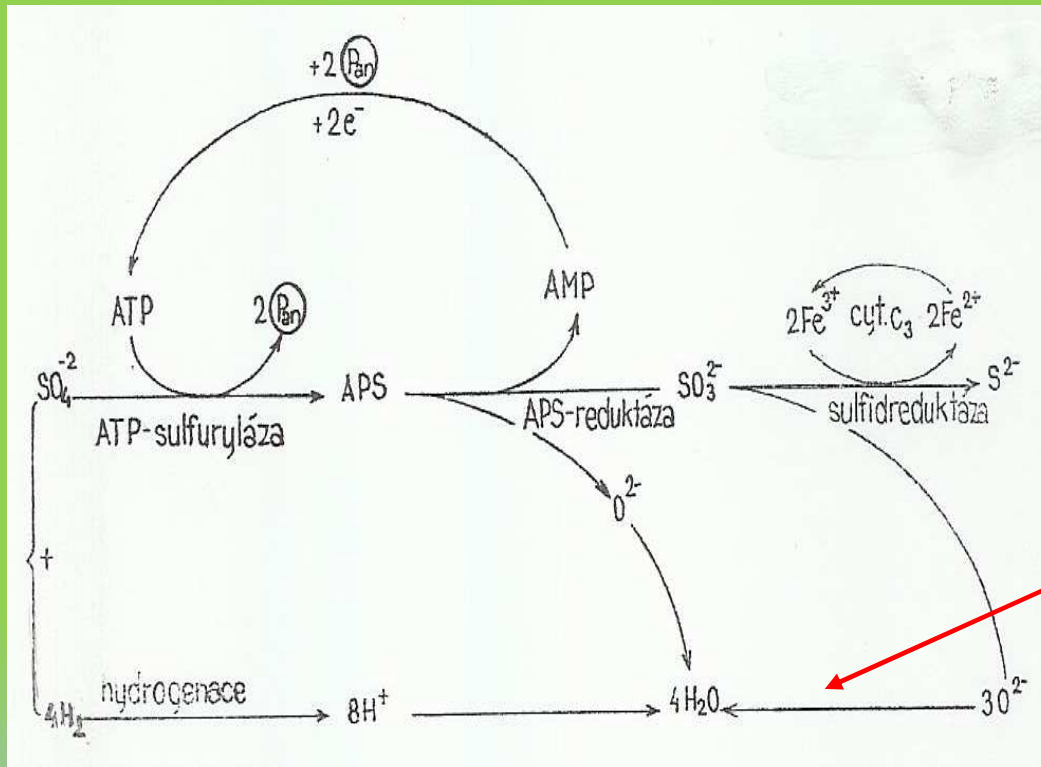
Desulfurikace – redukce síranů plynným vodíkem



Na každý redukovaný SO_4^{2-} se vytváří 1 ATP

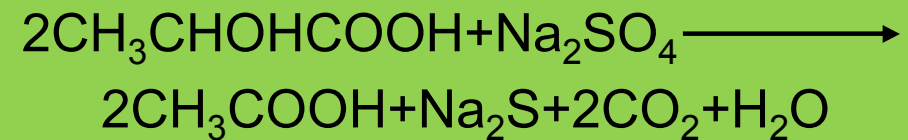
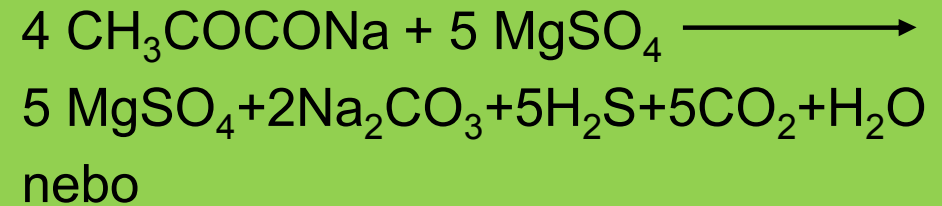
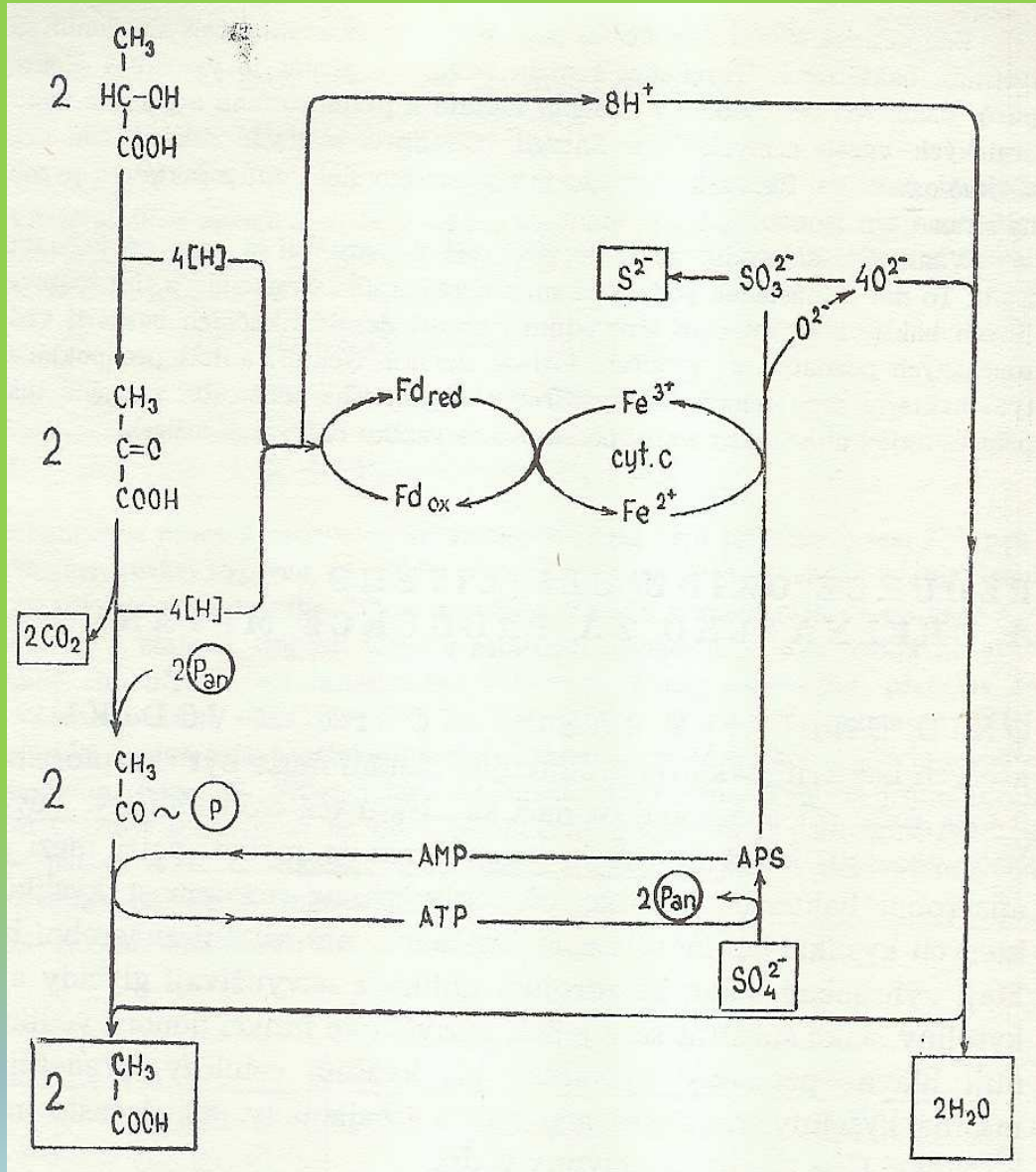
Reakce probíhá v několika stupních

*U *Desulfovibrio gigans* může probíhat oxidativní fosforylace spojená s oxidací vodíku (rozdíl od aerobů - přítomnost pouze jednoho cytochromu - c)



Organismus: *Desulfovibrio desulfuricans*

Desulfurikace – redukce síranů vodíkem z organických látek



Výtěžek:

1 ATP redukcí SO_4^{2-}

2 ATP oxydací pyruvátu na acetát
(přes acetyl-koA a acetyl fosfát)

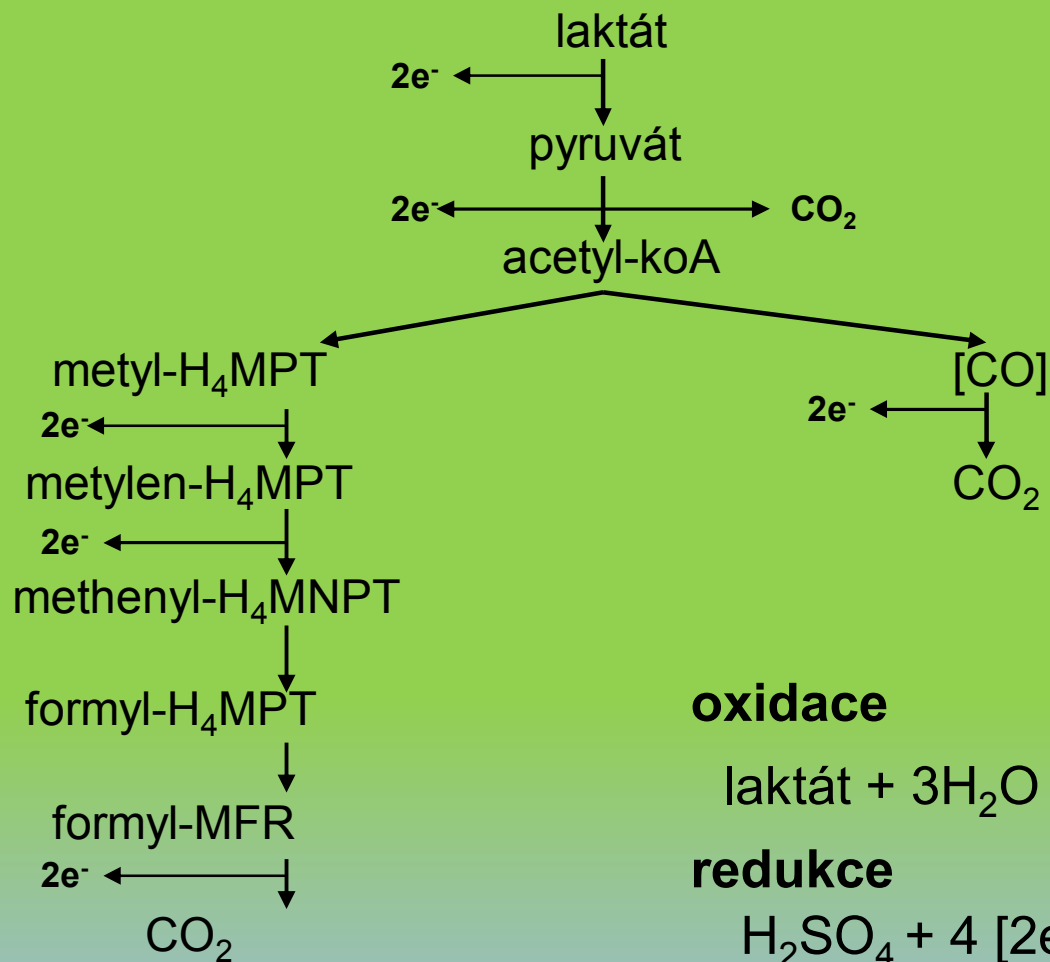
Hromadění velkého množství sirovodíku
až 2 g/l \longrightarrow

snížení redox potenciálu \longrightarrow
zastavení růstu jiných bakterií

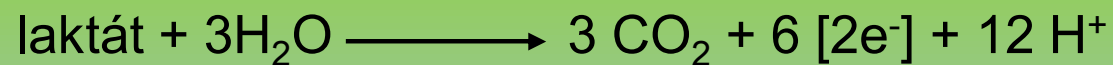
Organismus: *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*

Redukce síranů u archebakterií

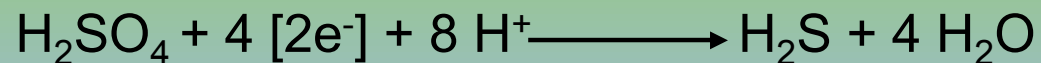
Organismus: *Archaeoglobus*



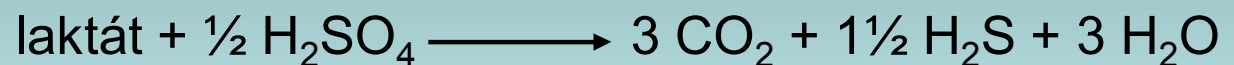
oxidace



redukce



Sumárně



MFR-metanoruran

H₄MPT-tetrahydrometanopterin

Redukce CO₂ a CO

- Konečným produktem je metan
- Organizmy jsou **striktní** anaerobové (jsou podstatně citlivější ke kyslíku než denitrifikační nebo desulfurikační bakterie)
- Jsou dvě skupiny metanogenních organizmů využívajících jako akceptor protonů a elektronů CO₂

metanogenní

homoacetogenní

- Jako zdroj vodíku a elektronů **nikdy** nevyužívají cukry a aminokyseliny
- Jako substrát slouží H₂, nižší mastné kyseliny, primární alkoholy, izoalkoholy.

Typické substráty přeměňované na metan

I. Typ CO_2 substrátů

CO_2 (s elektrony z H_2), některé alkoholy nebo pyruvát

II. Metyl substráty

metanol

metylamin CH_3NH_3^+

dimetylamin $(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2^+$

trimetylamin $(\text{CH}_3)_3\text{NH}^+$

metylmerkaptan CH_3SH

dimetylsulfoxid $(\text{CH}_3)_2\text{S}$

III. Acetotrofní substráty

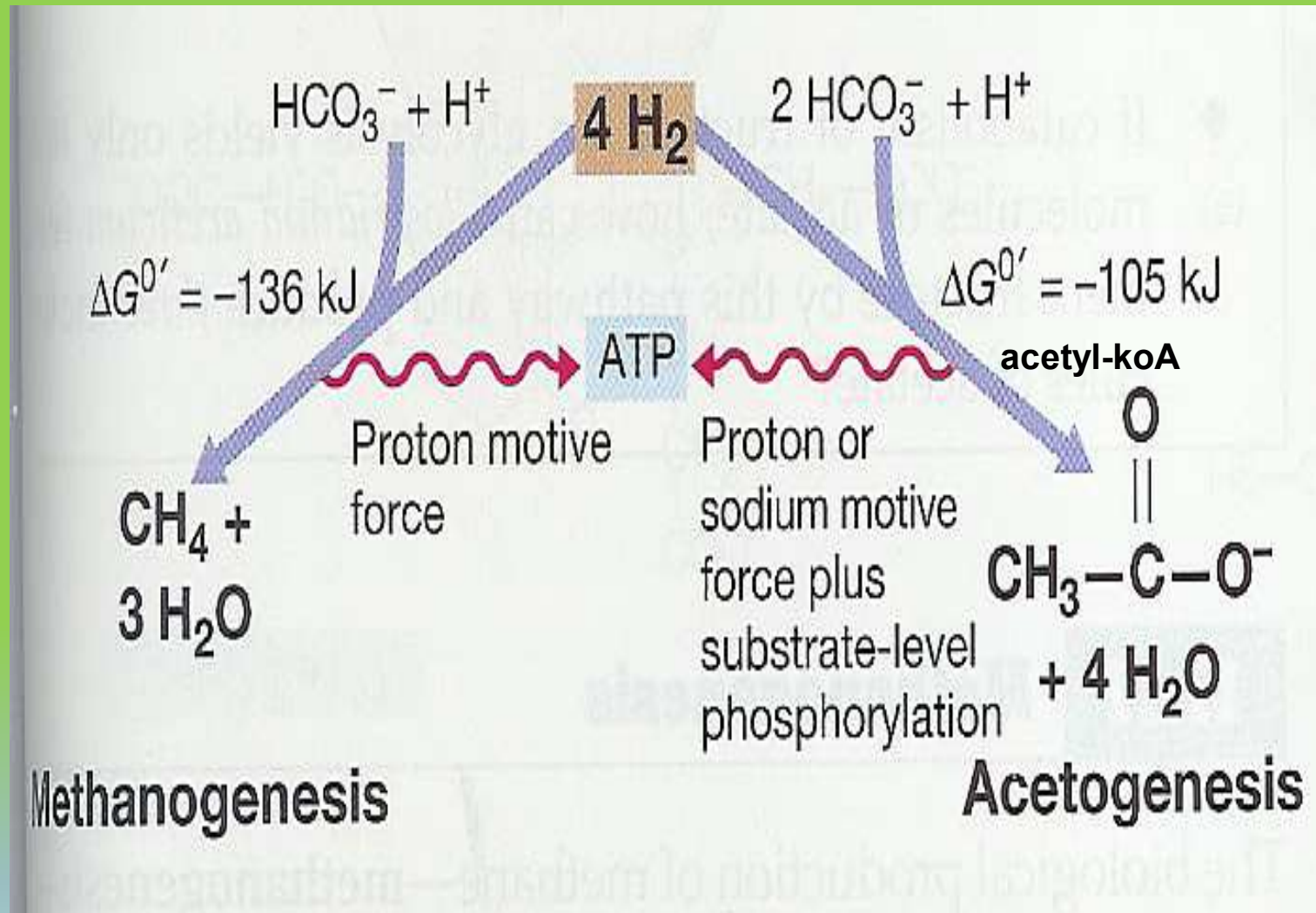
acetát

pyruvát

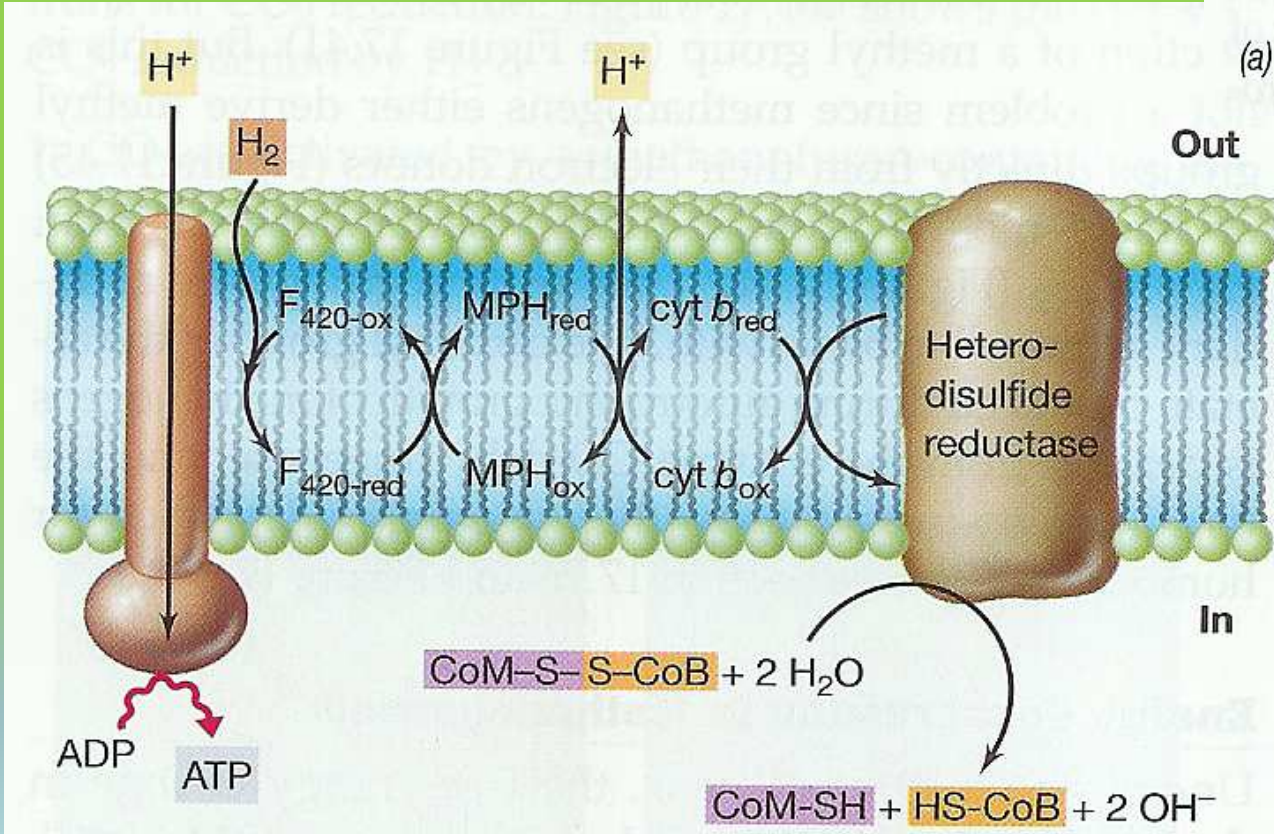
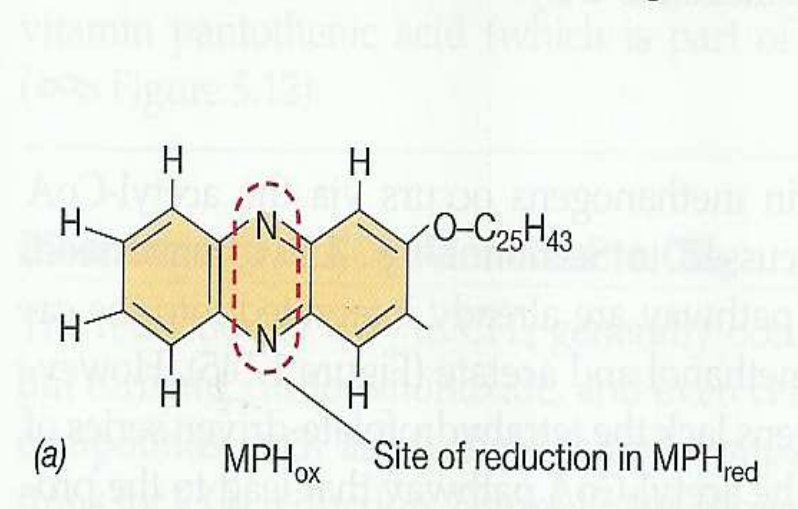
Volná energie typických metanogenních reakcí

	ΔG° (kJ/mol CH ₄)
<i>* Typ 1</i>	
$\text{CO}_2 + 4 \text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$	-130
$4 \text{HCOOH} \longrightarrow \text{CH}_4 + 3\text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	-120
$\text{CO}_2 + 4(\text{izopropanol}) \longrightarrow \text{CH}_4 + 4(\text{aceton}) + 2\text{H}_2\text{O}$	-37
<i>* Typ 2</i>	
$\text{CH}_3\text{OH} + \text{H}_2 \longrightarrow \text{CH}_4 + \text{H}_2\text{O}$	-113
$4\text{CH}_3\text{OH} \longrightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$	-103
$2(\text{CH}_3)_2\text{S} + 2\text{H}_2\text{O} \longrightarrow 3\text{CH}_4 + \text{CO}_2 + 2\text{H}_2\text{S}$	-49
<i>* Typ 3</i>	
$\text{CH}_3\text{COOH} \longrightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$	-33

Rozdíly mezi metanogenezí a acetogenezí

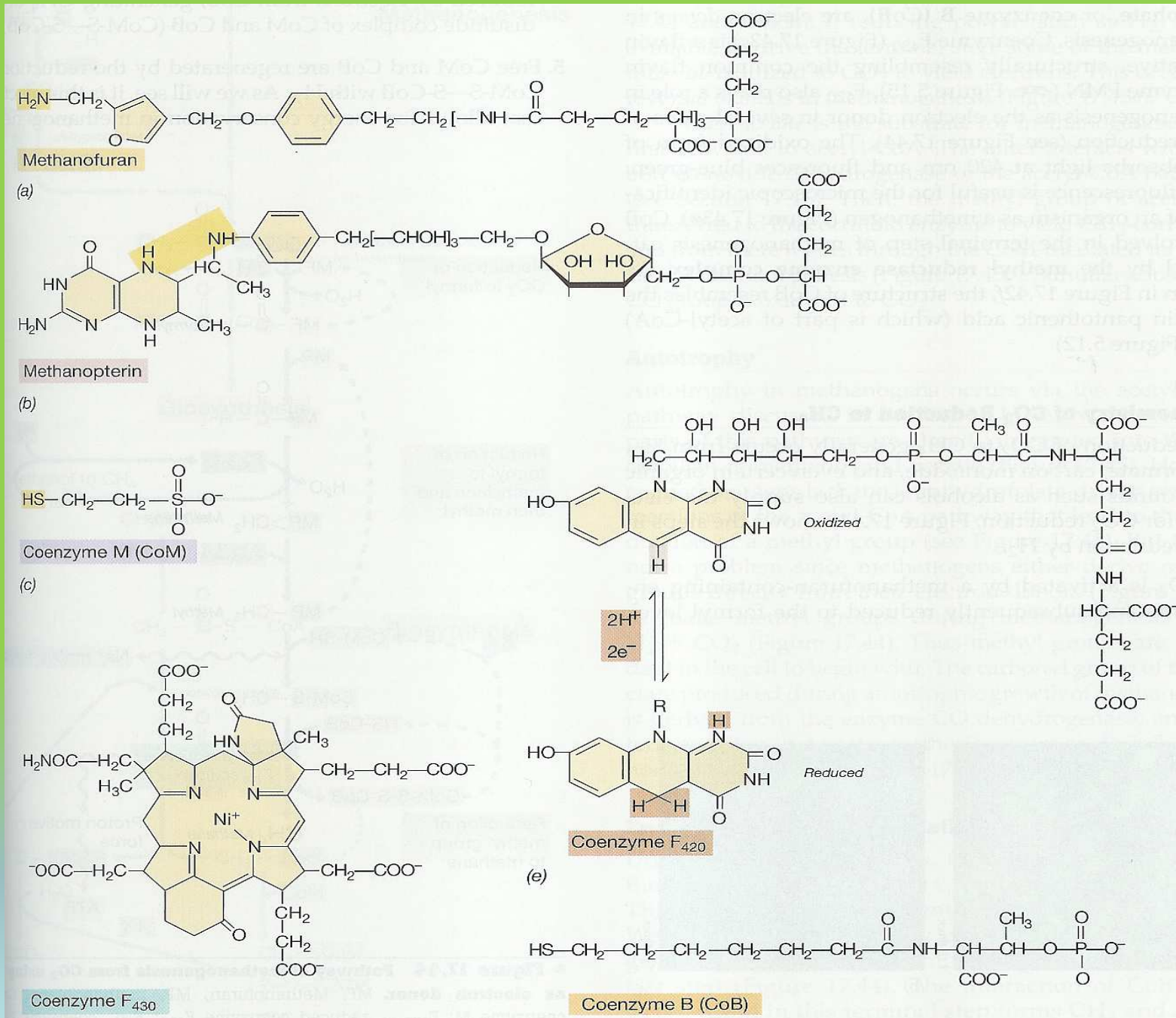


Tvorba energie u metanogenů

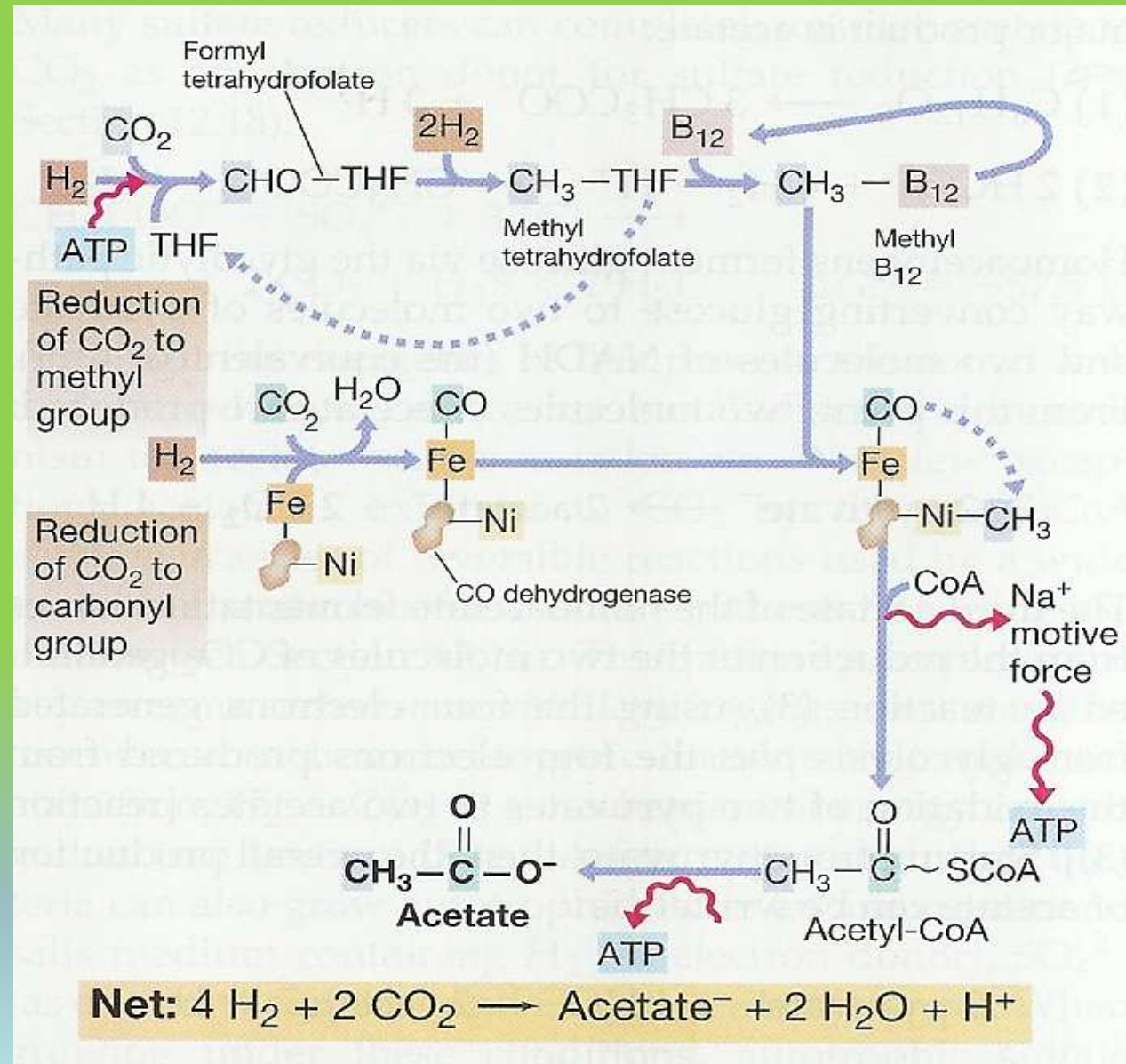


metanofenazin

Koenzymy metanogenních *Archaea*

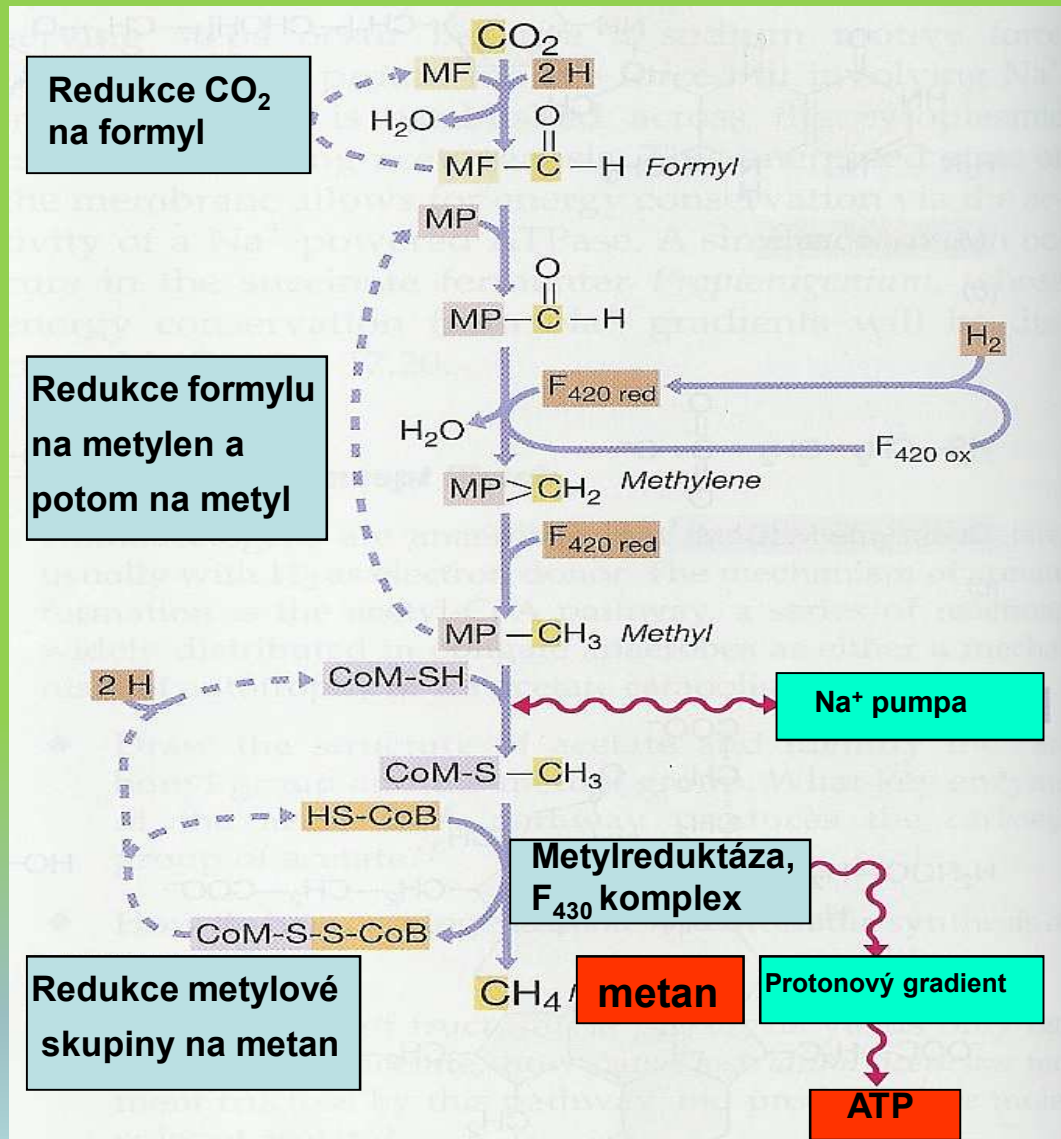


Redukce CO₂ plynným vodíkem *acetyl-koA drahou*



Organizmus:
Methanobacterium formicum

Redukce CO₂ plynným vodíkem *metanogeneze*

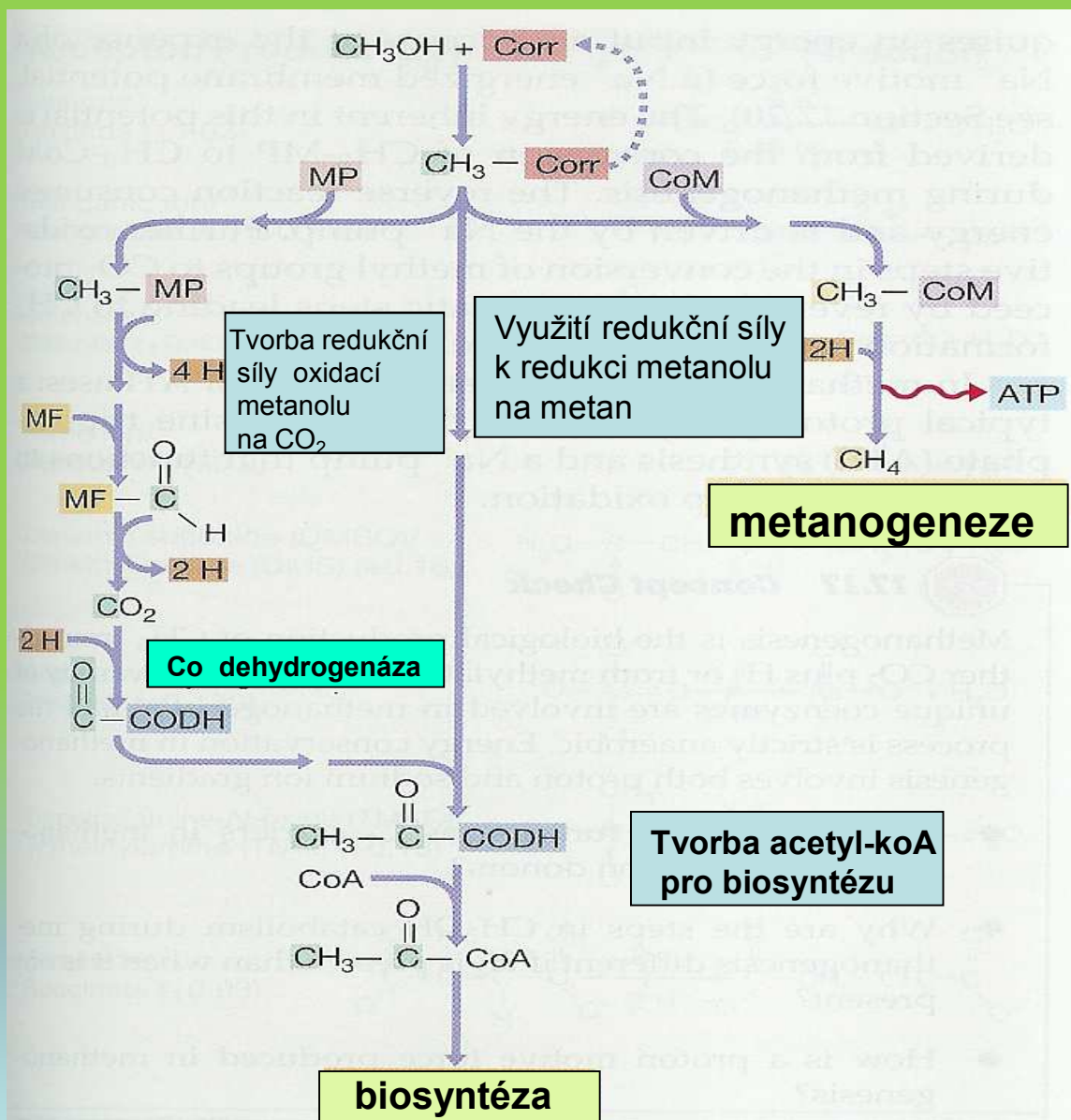


Organismus:
Methanosarcina barkeri

MF – metanofuran
MP – metanopterin
CoM – koenzym M
CoB – koenzym B

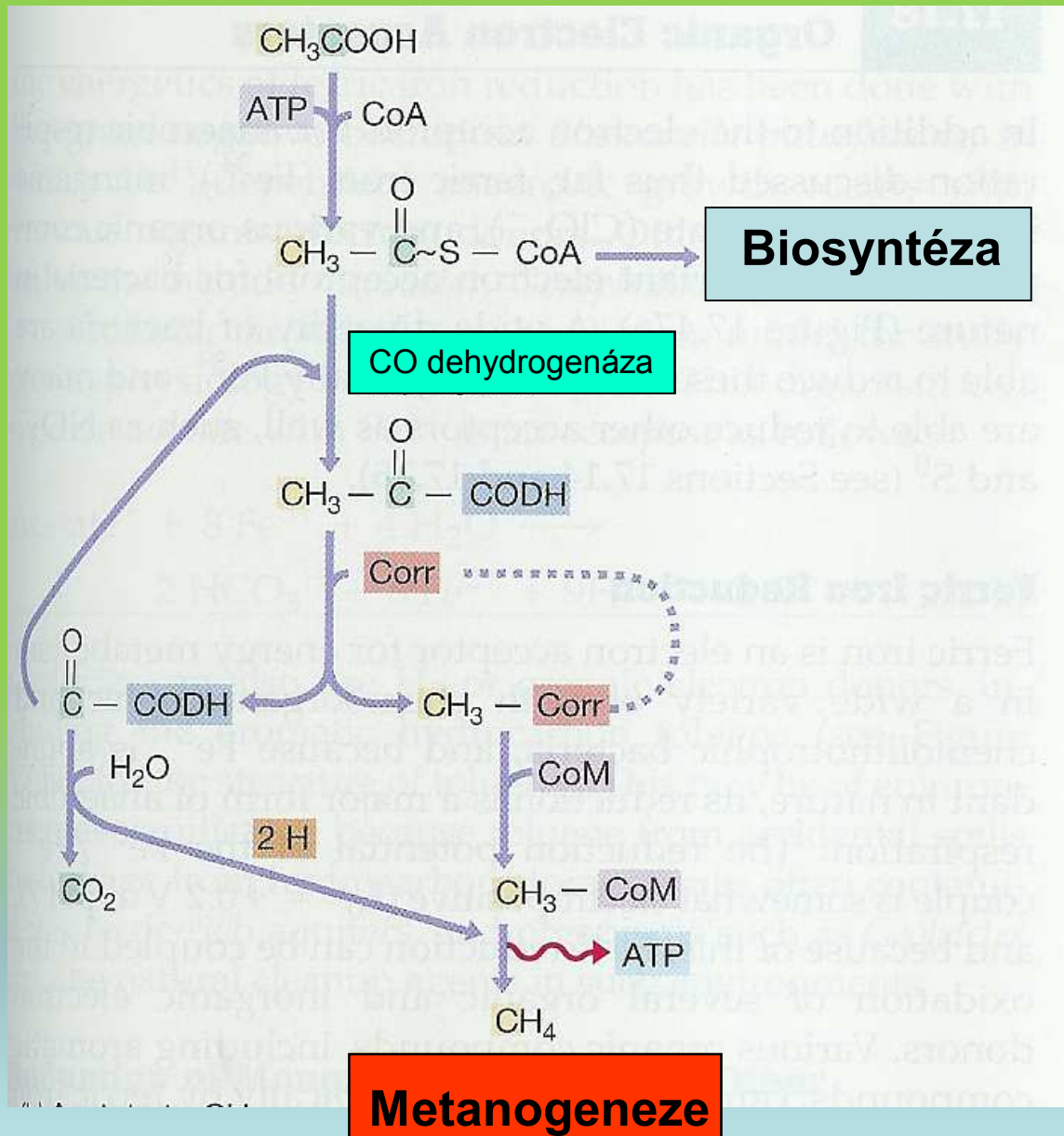
Redukce CO₂ - donor metanol

metanogeneze



Corr – protein obsahující korrinoid
 CODH – karbonmonooxid dehydrogenáza

Redukce CO₂ - donor acetát *metanogeneze*



Corr – protein obsahující korrinoid
CODH – karbonmonooxid
dehydrogenáza
CoM – koenzym M

Redukce CO

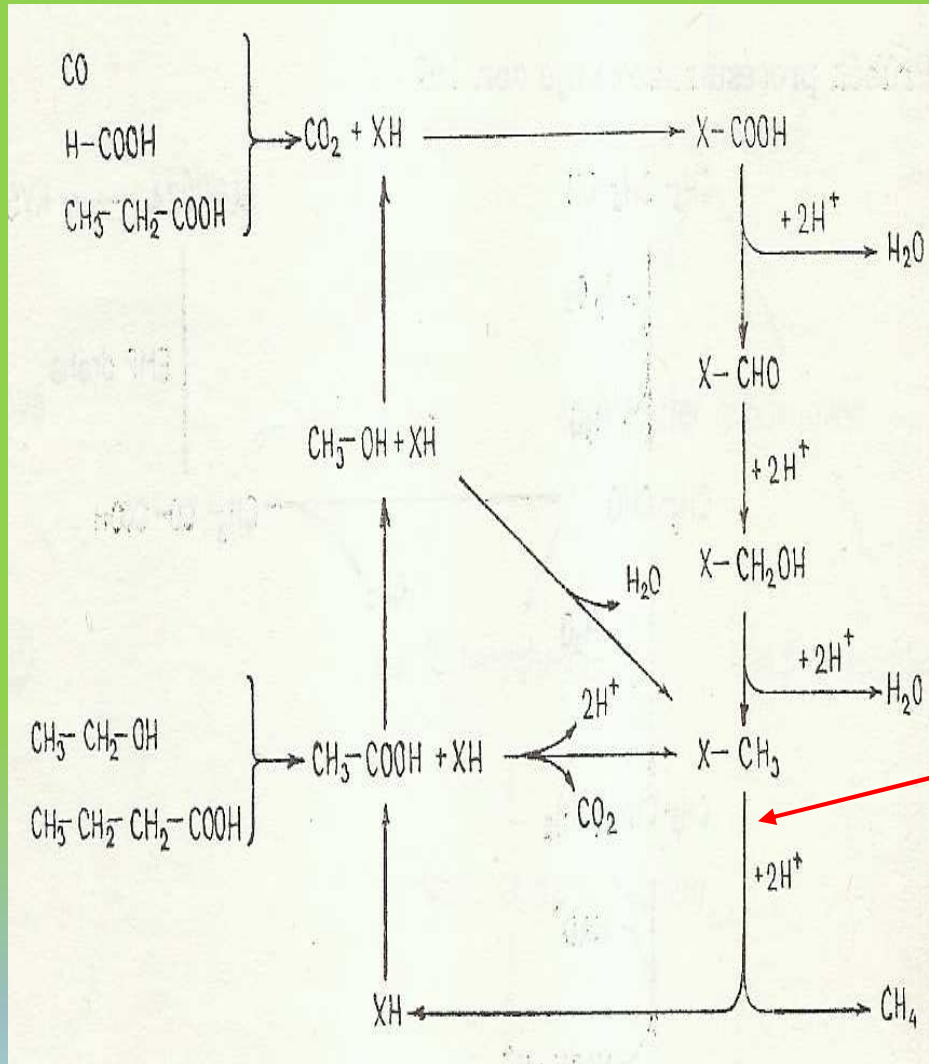


Sumárně



Redukce CO

Mechanismus není dostatečně popsán

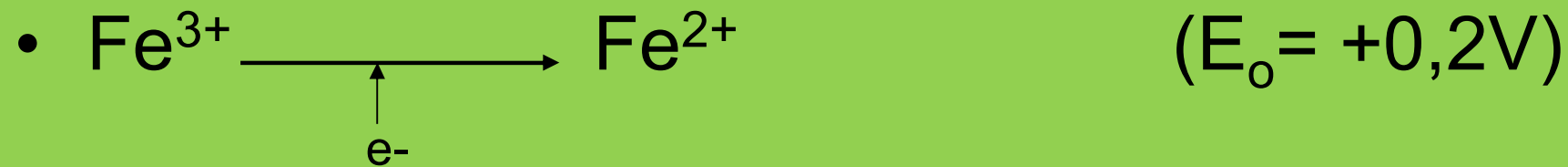


metyltransferáza (obsahující: metylkobalamin
nebo
⁵N, ¹⁰N-metyltetrahydrolistová kyselina)

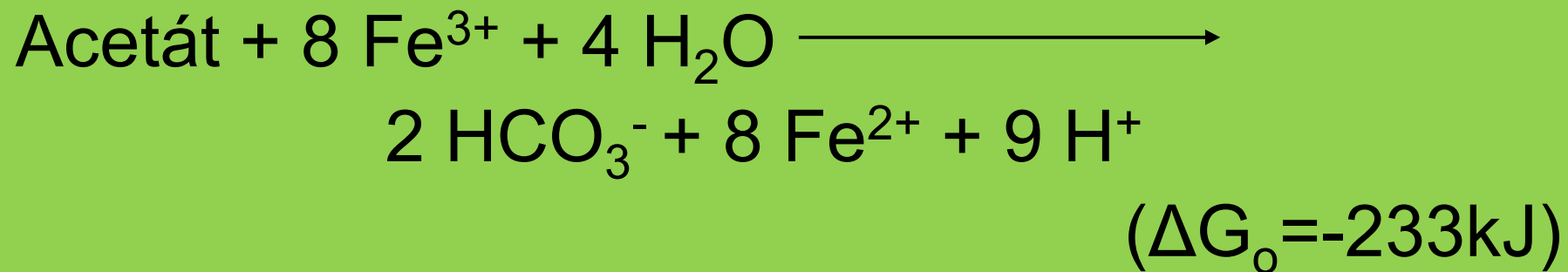
Součástí redukčního pochodu
je pravděpodobně i koA

Organismus: *Methanobacterium formicum*

Některé alternativní akceptory elektronů v anaerobní respiraci

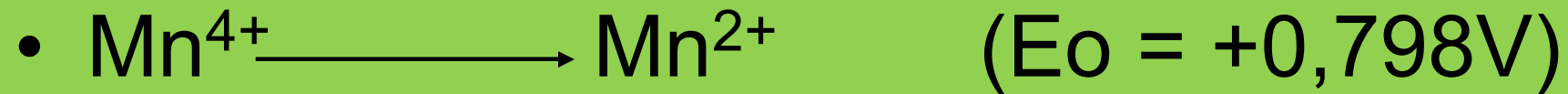


Geobacter metallireducens



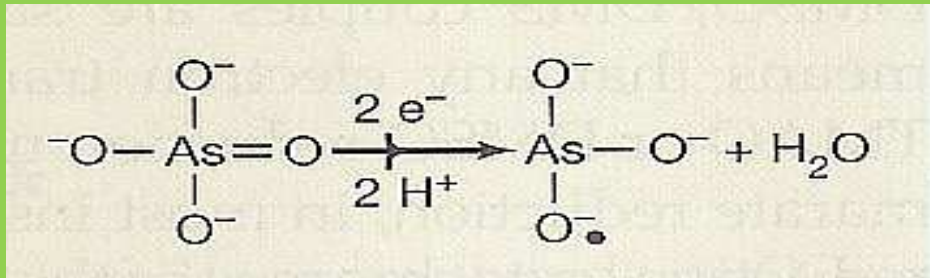
Ostatní organizmy redukující Fe^{3+} : *Geobacter*,
Geospirillum, *Geovibrio*

Některé alternativní akceptory elektronů v anaerobní respiraci

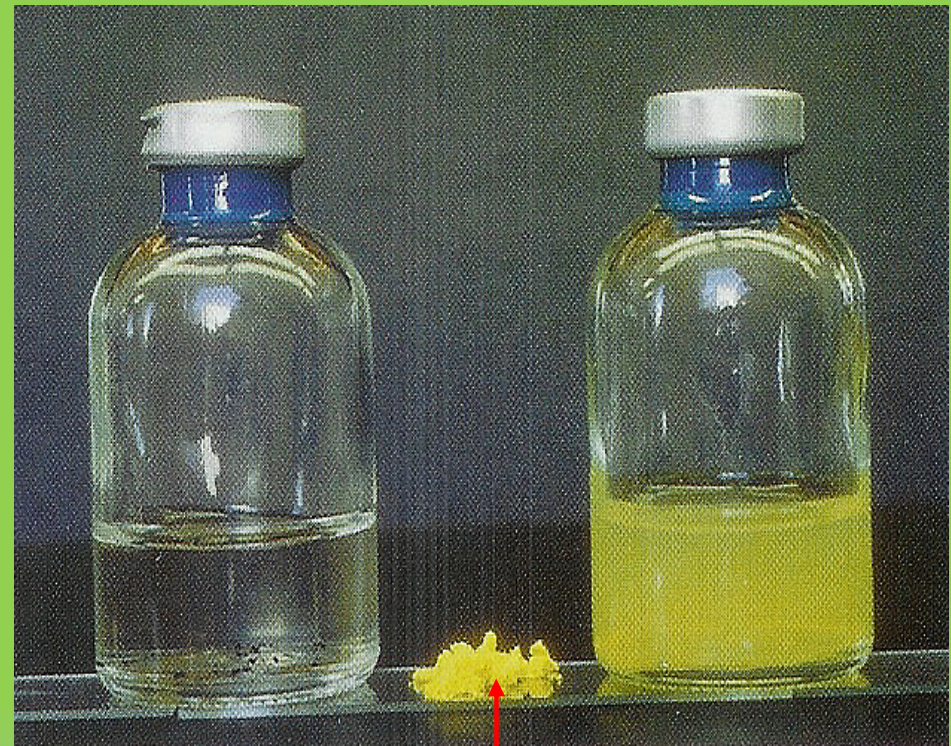


Organizmus: *Shewanella putrefaciens*

Některé alternativní akceptory elektronů v anaerobní respiraci



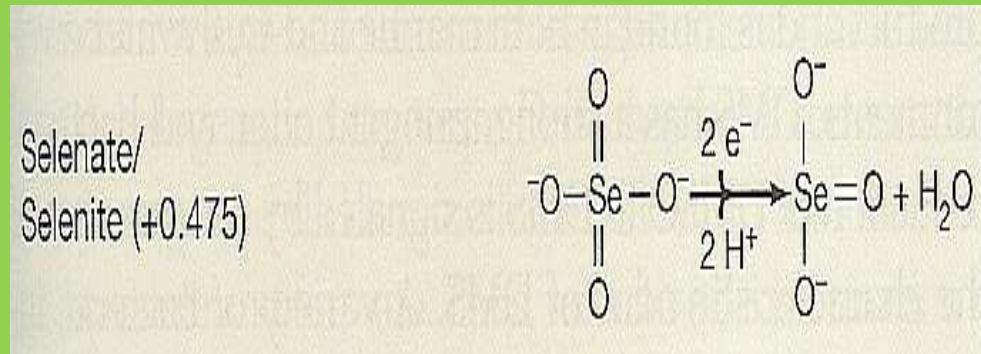
- *Desulfotomaculum auripigmentum* redukuje arsenát v po redukci síranů – As_2S_3 – je vytvářen intracelulárně i extracelulárně. Produkce “minerálů“ se označuje jako **biomineralizace**.



As_2S_3

Tvorba As_2S_3 v prostředí je součástí detoxifikačních procesů v prostředí

Některé alternativní akceptory elektronů v anaerobní respiraci



Redukce selenátu může jít přes seleničitan až na kovový Se.

Tímto způsobem je možné odstraňovat toxické sloučeniny selenu z vody nebo půdy.

Organizmus: *Shewanella*, *Geospirillum*

Energetický metabolismus chemolitotrofních bakterií

- Chemolitotrofní bakterie získávají energii procesy aerobní respirace
- Zdrojem energie je redukovaná anorganická látka
- Konečným akceptorem vodíku a elektronů je molekulový kyslík
- Zdrojem uhlíku je CO_2

Energetický metabolismus chemolitotrofních bakterií

Podle povahy substrátu

Oxidace amoniaku (nitrifikace)

Oxidace sloučenin síry (sulfurikace)

Oxidace sloučenin železa

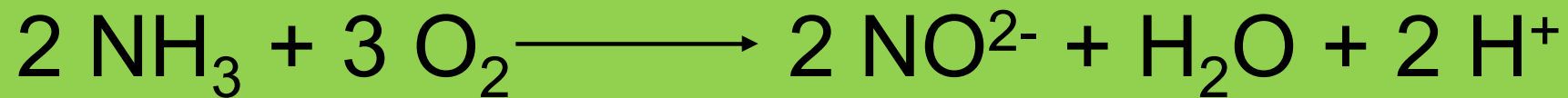
Oxidace vodíku

Oxidace metanu

Energetický metabolismus - nitrifikace

- Oxidace amoniaku probíhá ve dvou stupních

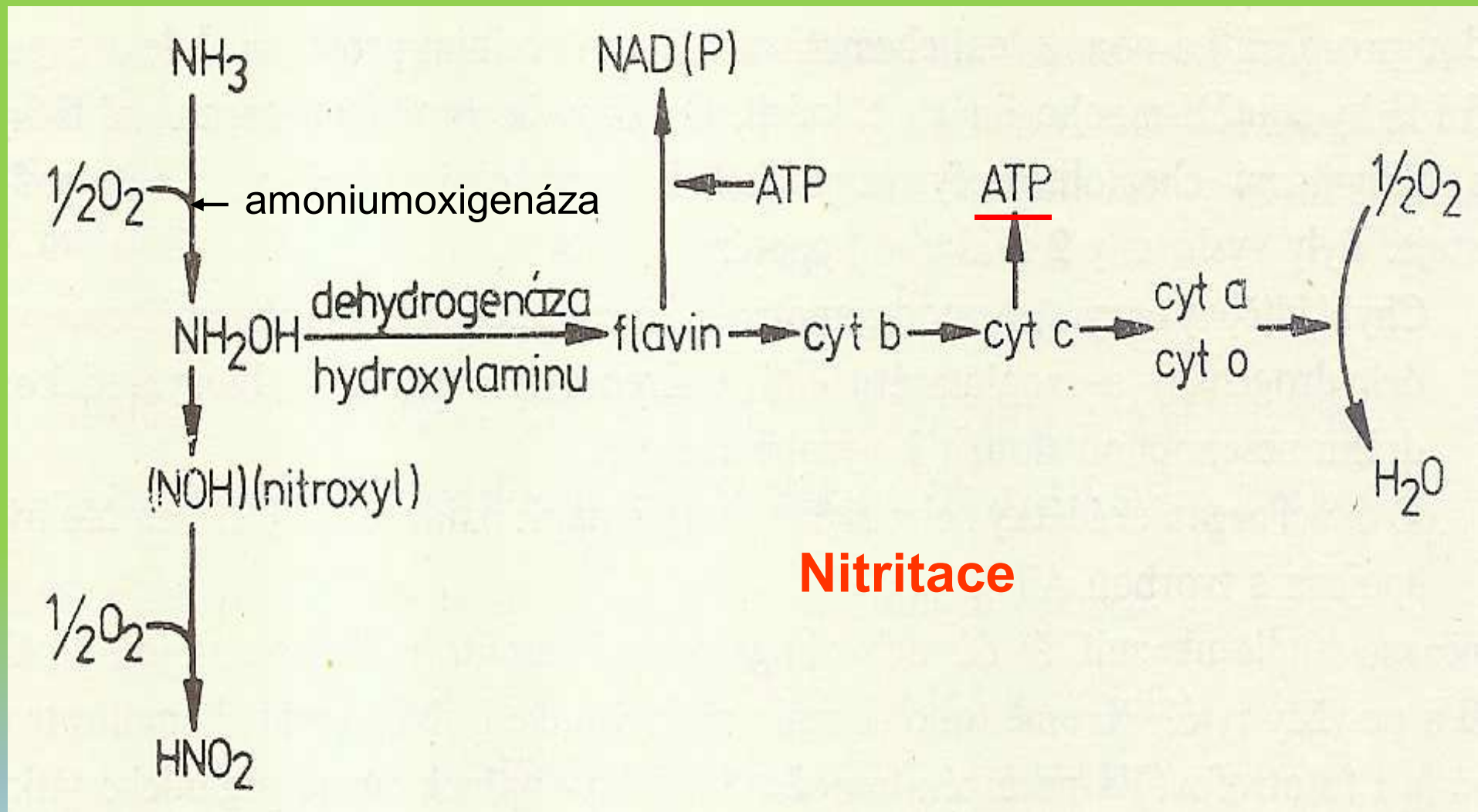
nitritace



nitratace



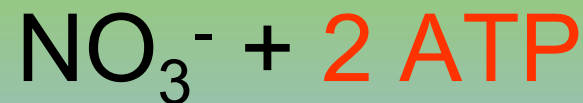
Energetický metabolismus - nitrifikace



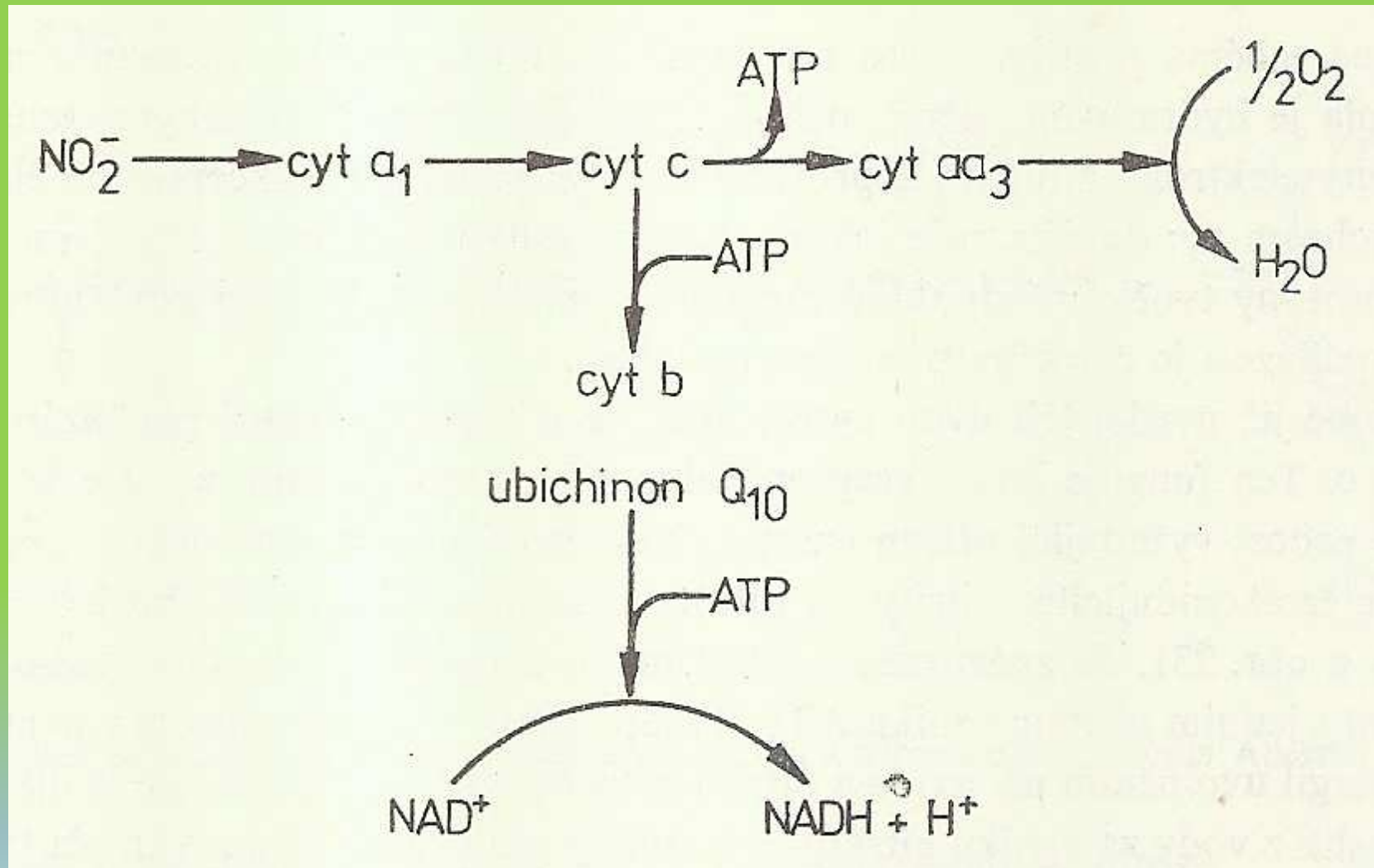
Organizmus: *Nitrosomonas* (obligatorní chemolitotrof a autotrof), *Nitrosococcus*

Energetický metabolismus - nitrifikace

Nitratace

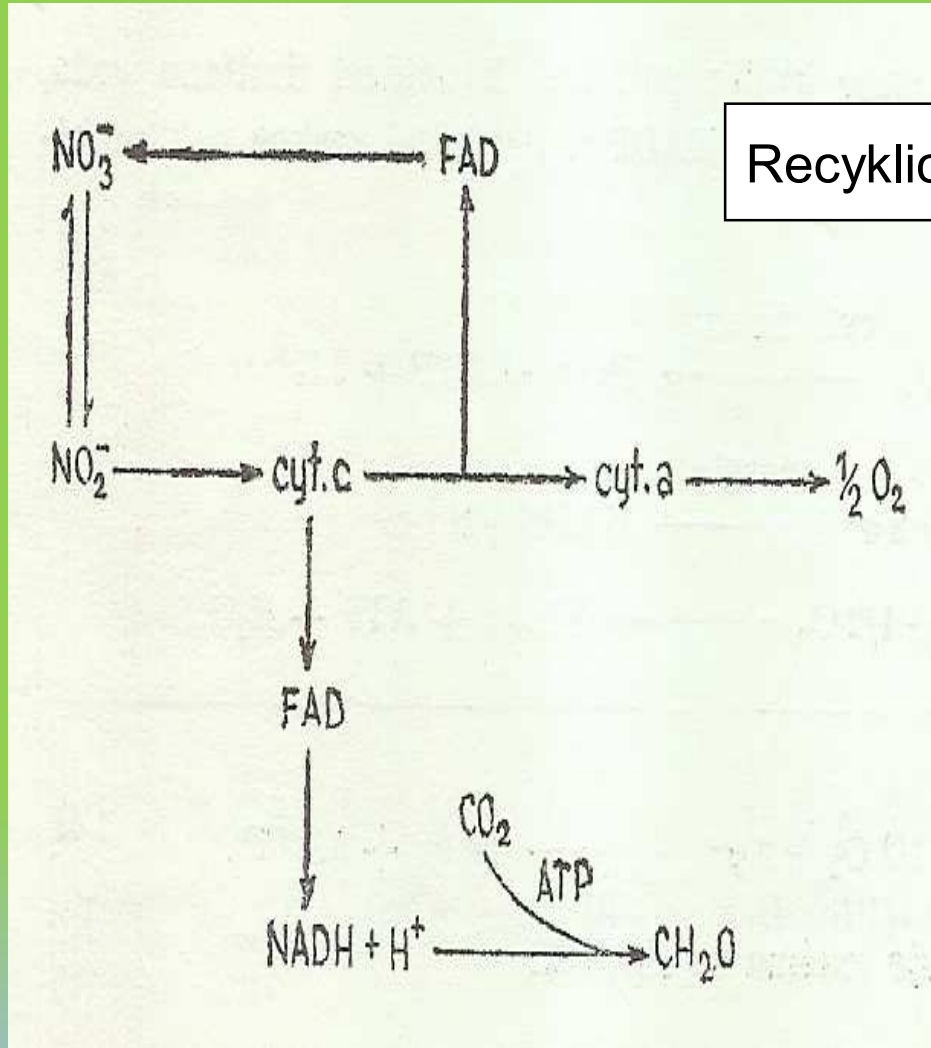


Energetický metabolismus - nitrifikace



Organismus: *Nitrobacter* (fakultativní chemolitotrof)

Energetický metabolismus - nitrifikace

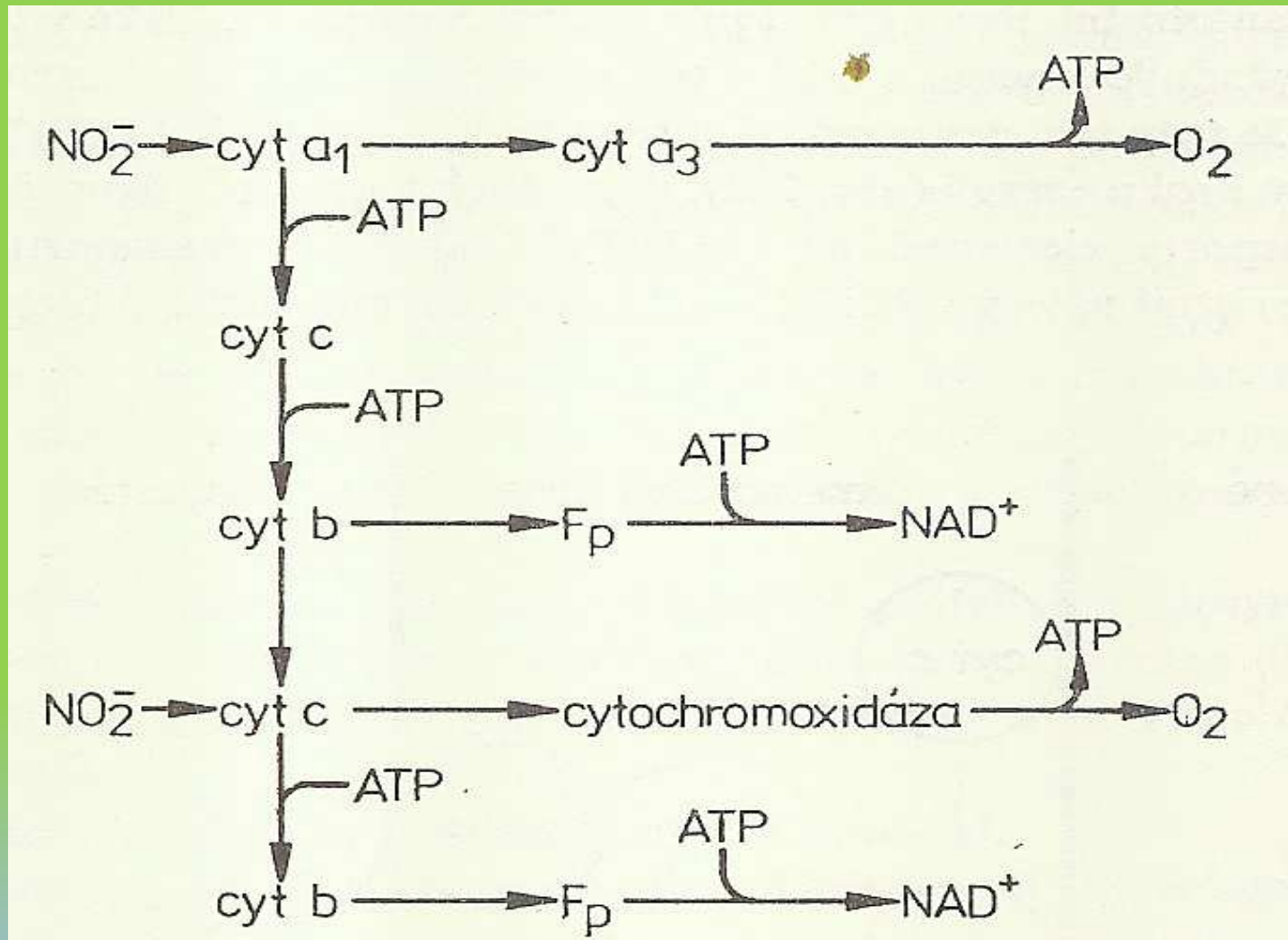


Recyklický proces oxidace dusitanu

Hromadění dusičnanu v buňce vede k inhibici spotřeby kyslíku a omezení další oxidace nitritu. Proto je část dusičnanů přeměňována na dusitan (cytochrom c reductázou a nitrát reductázou)

Nitrifikační (zejména nitratační) bakterie jsou velmi citlivé na přítomnost některých organických látek

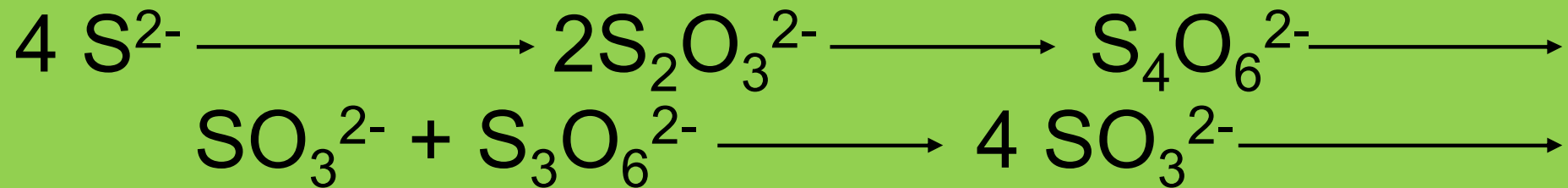
Energetický metabolismus - nitrifikace



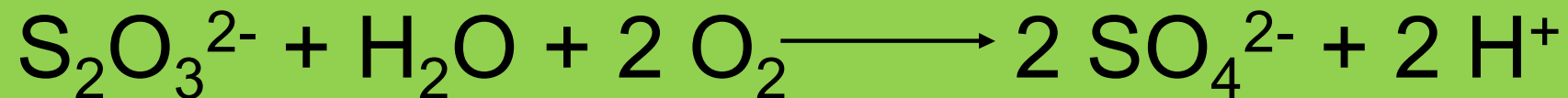
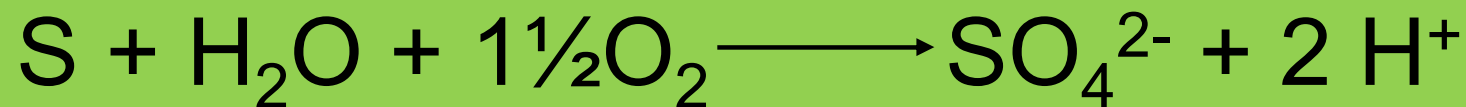
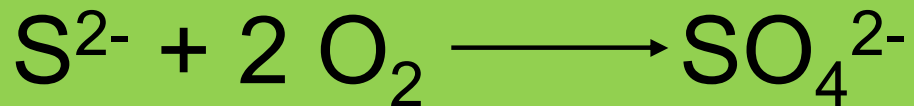
Elektrontransportní řetězec *Nitrobacter* – předpokládá se, že cyt c vystupuje pouze v toku k NAD^+ nikoliv ke kyslíku

Energetický metabolismus - sulfurikace

- Biochemismus oxidace redukovaných sloučenin síry není dostatečně znám
- Sekvence reakcí



Energetický metabolismus - sulfurikace



Energetický metabolismus - sulfurikace

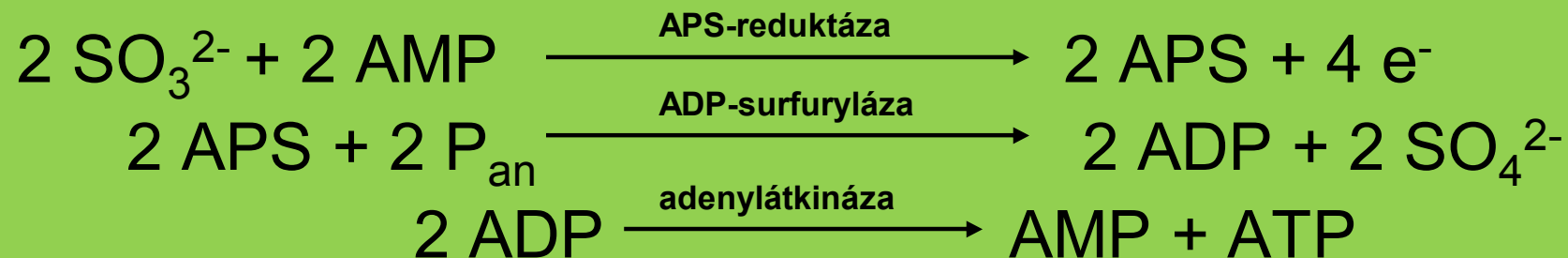
- Kmeny *Thiobacillus thioparus* a *Thiobacillus thiooxydans*

oxidují thiosíran nejprve na siřičitan



Energetický metabolismus - sulfurikace

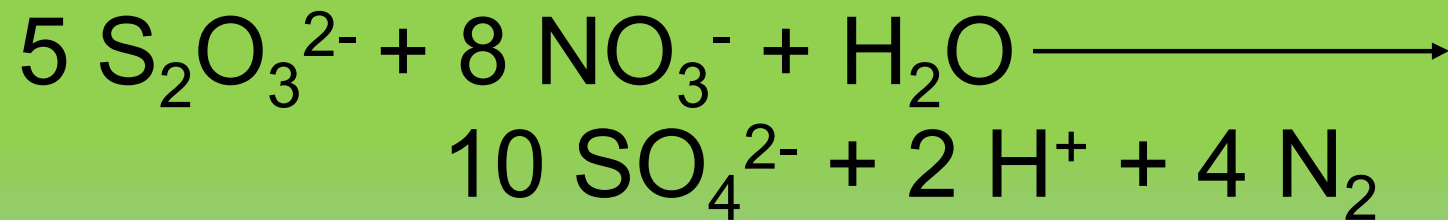
- Mimo tvorbu ATP na úrovni membrány, byl prokázán vznik ATP na úrovni substrátu



- Je to jediný příklad tvorby ATP u chemolitotrofů na úrovni substrátu (první dvě reakce jsou opačné než u desulfurikačních bakterií)**

Energetický metabolismus - sulfurikace

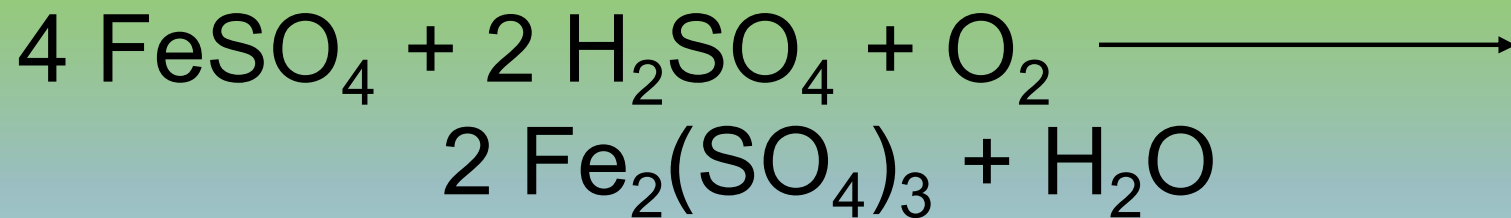
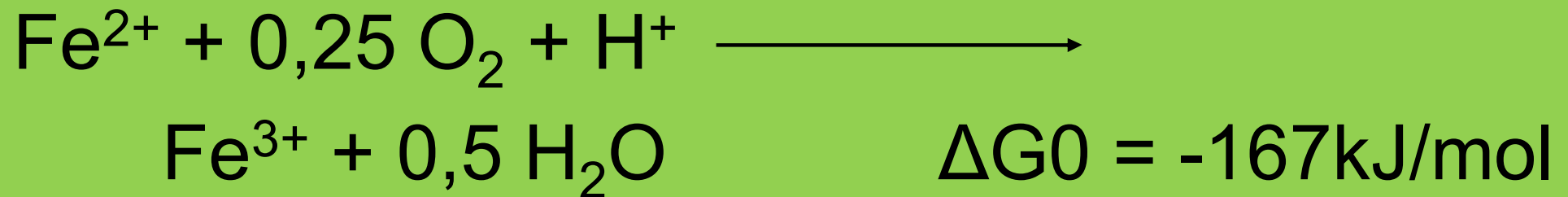
- *Thiobacillus denitrificans* vedle aerobní respirace má i anaerobní respiraci nitrátu (denitrifikační typ)



Energetický metabolismus - sulfurikace

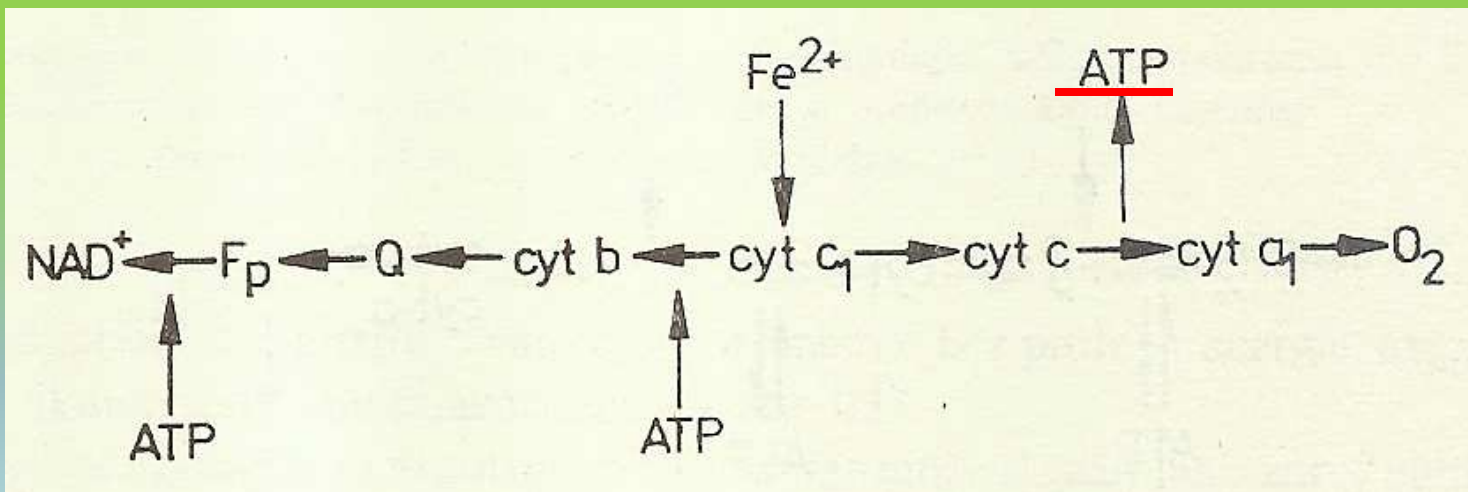
- *Thiobacillus ferrooxidans*

(obligatorně chemolitotrofní) vedle oxidace sloučenin síry oxiduje i Fe^{2+}



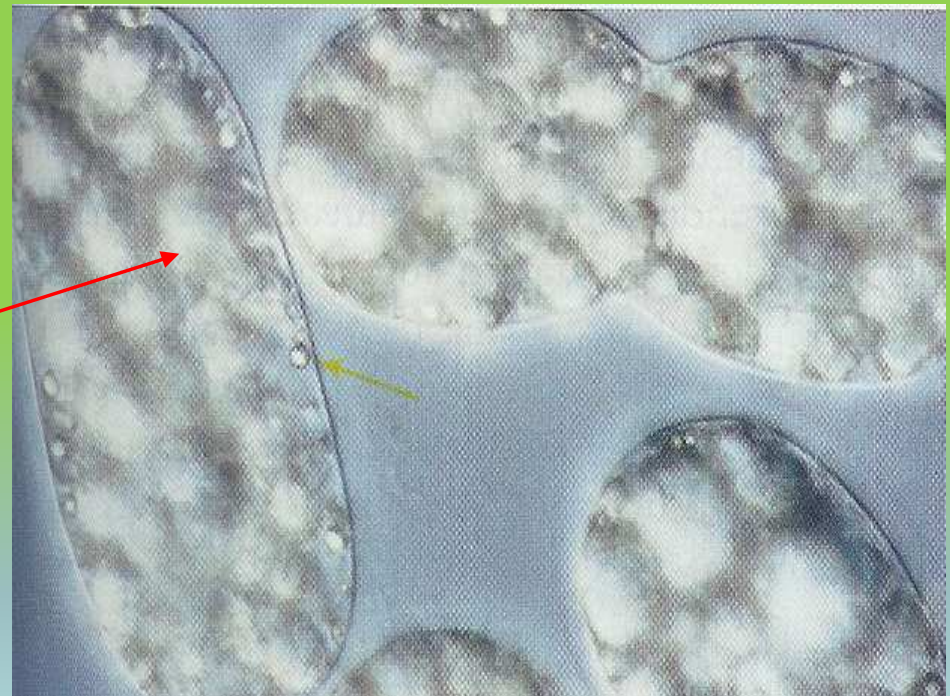
Energetický metabolismus - sulfurikace

- *Thiobacillus ferrooxidans*
- Respirační řetězec pokrývá veškerou spotřebu energie vysoká koncentrace cytochromů c_1 , c , a_1 ve srovnání s koncentrací cytochromu b



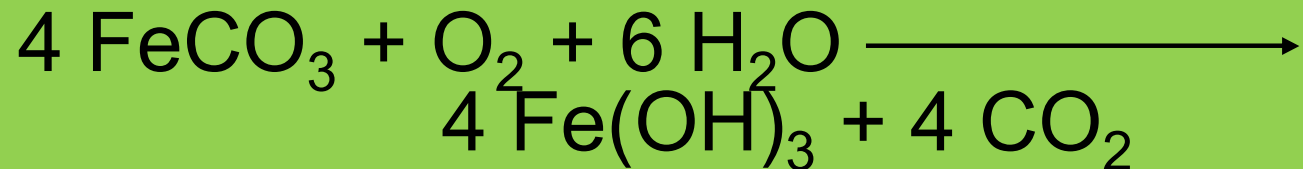
Energetický metabolismus - sulfurikace

- ***Achromatium*** – velké koky (10-100 μ m) – gama *Proteobacteria*
- Striktní chemolitotrof
- Vyskytují se v sedimentech čistých vod s obsahem sulfidů (poprvé v Německu v malých jezerech)
- Buňky obsahují značný počet velkých granulí CaCO_3 (slouží pravděpodobně jako zdroj uhlíku)



Energetický metabolismus – oxidace Fe

- Železité bakterie oxidují sloučeniny Fe^{2+} na hydroxid železitý

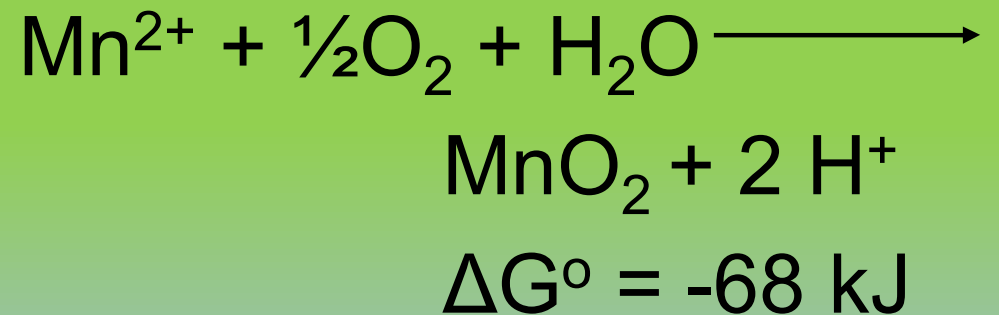


- *Thiobacillus ferrooxidans* – jediný striktní chemolitotrof (oxidace síry probíhá podstatně pomaleji)
- Ostatní druhy, *Sphaerotilus* a *Leptotrix*, vytvářejí koloidní inkluze umístěné v buňce nebo v pochvě
- *Gallionella* – ukládá hydroxid železitý na povrchu vláken. K tvorbě $\text{Fe}(\text{OH})_3$ může docházet i nespecifickou cestou

Energetický metabolismus – oxidace Fe



- *Leptothrix* je schopný oxidovat vedle železa i mangan



Energetický metabolismus

oxidace vodíku

- Obligatorní chemolitotrofní vodíkové bakterie nejsou známy
- Fyziologické skupiny chemoorganotrofních bakterií schopných získávat energii oxidací H_2

	Terminální akceptor vodíku a e^-
<i>Pseudomonas</i>	O_2
<i>Paracoccus denitrificans</i>	NO_3^-
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	SO_4^{2-}
<i>Methanobacterium</i>	CO_2

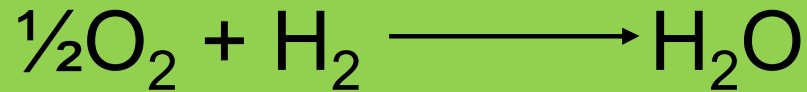
Energetický metabolismus

oxidace vodíku

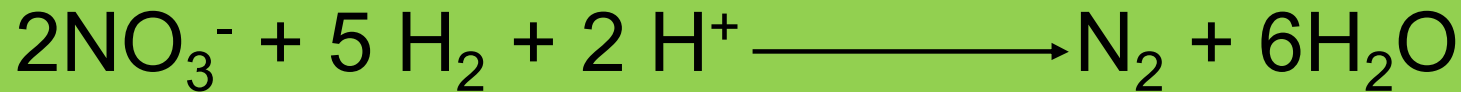
- Bakteriální dehydrogenázy plynného vodíku
- vodík:NAD⁺-oxidoreduktáza (dehydrogenáza vodíku) – rozpustná – tvorba redukčních ekvivalentů pro biosyntézu a membránově vázaná – oxidace vodíku za tvorby ATP
- vodík:ferricytochrom c₃-oxidoreduktáza (cytochrom c₃-hydrogenáza)-membránově vázaná, reagující na úrovni ubichinon-cyt.b přes cyt. c (*Paracoccus denitrificans*)
- vodík:ferredoxin-oxidoreduktáza (ferredoxin-hydrogenáza). Vyskytuje se u řady fakultativně anaerobních bakterií (*E.coli*, *P. vulgaris*, ...)

Energetický metabolismus

oxidace vodíku



Pseudomonas



Paracoccus



Desulfovibrio



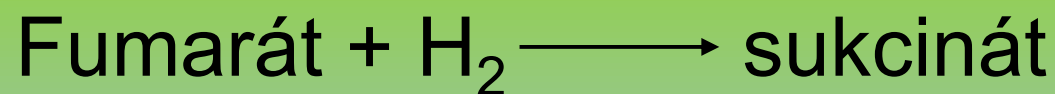
Campylobacter



Methanobacterium



Acetobacter



Vibrio

Energetický metabolismus

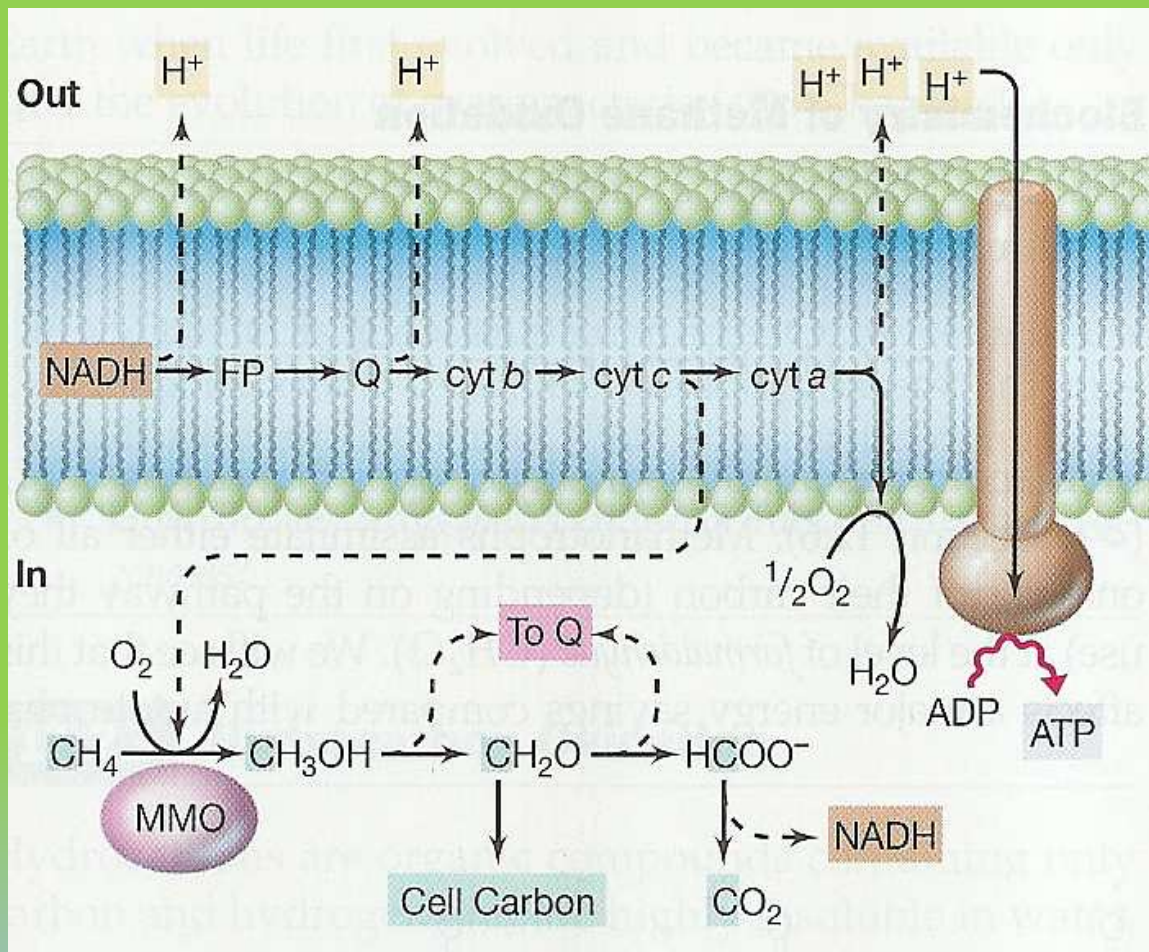
oxidace metanu

- Metan je oxidován metanovými bakteriemi (rod *Methylomonas* – chemolitotrofní, *Hyphomicrobium* – chemoorganotrofní)



- Mezi etapami oxidace je formaldehyd

Energetický metabolismus oxidace metanu

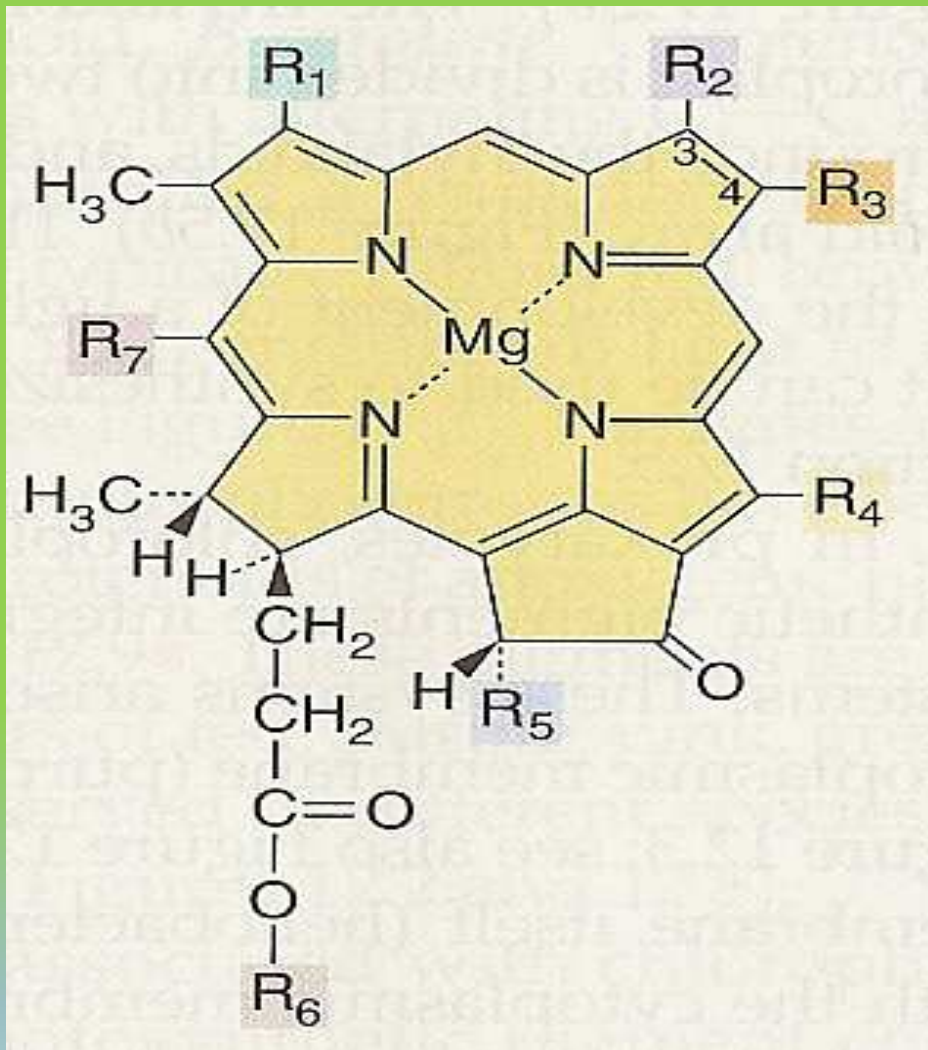


MMO – metan monooxygenáza
(membránově vázaná)
jeden atom kyslíku je vnesen na
substrát,
druhý redukován na H_2O

Energetický metabolismus fototrofních bakterií

- Fotofosforylace - proces transformace energie světelného kvanta do energie makroergické vazby
- Fototrofní mikroorganismy
 - purpurové nesírné bakterie
 - heliobakterie
 - zelené sírné bakterie
 - purpurové sírné bakterie
 - cyanobakterie
 - halobakterie (bez bakteriochlorofylu)

Bakteriochlorofyl



Bakteriochlorofyl

a – purpurové (805, 830-890nm)

b – purpurové (835-850, 1020-1040)

c – zelené sírné (745-755)

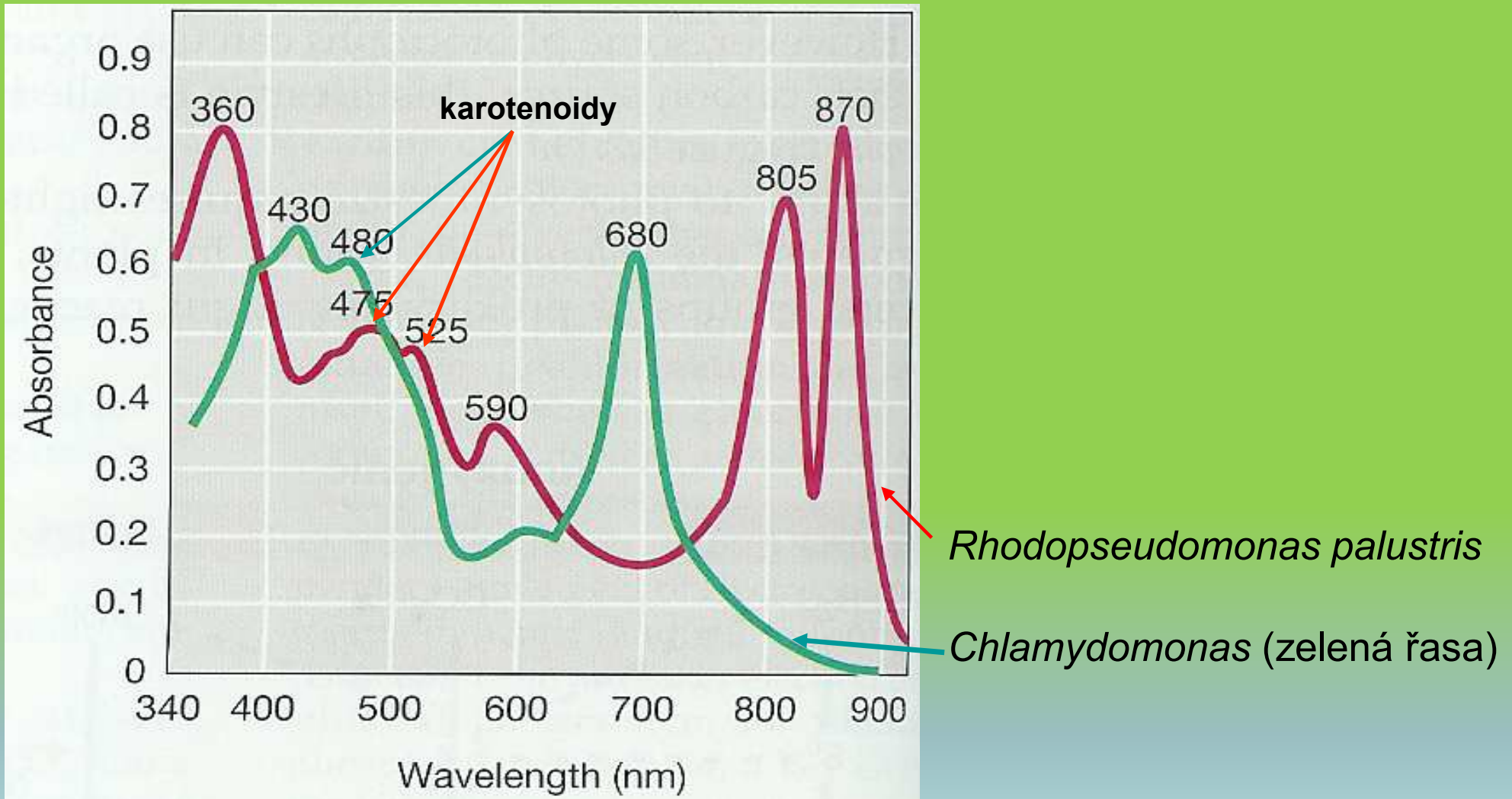
c_s – zelené nesírné (740)

d – zelené sírné (705-740)

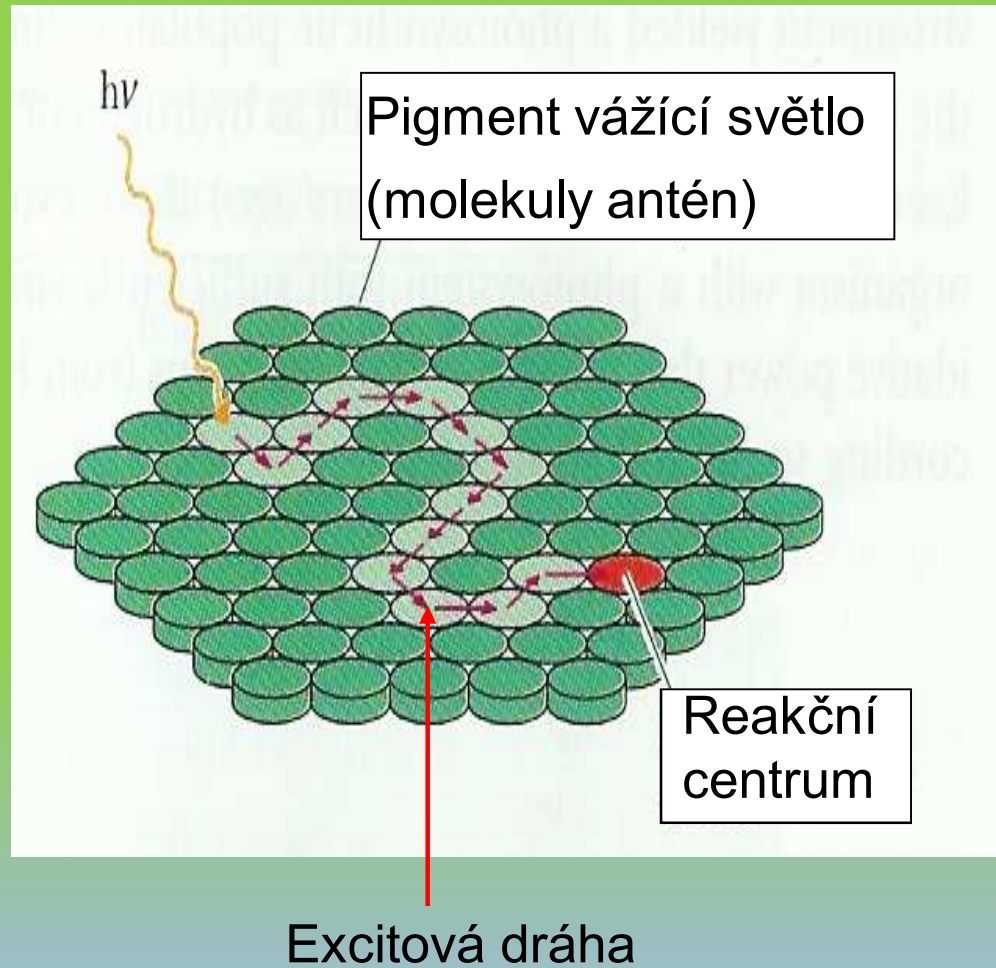
e – zelené sírné (719-726)

g – halobakterie (670, 788)

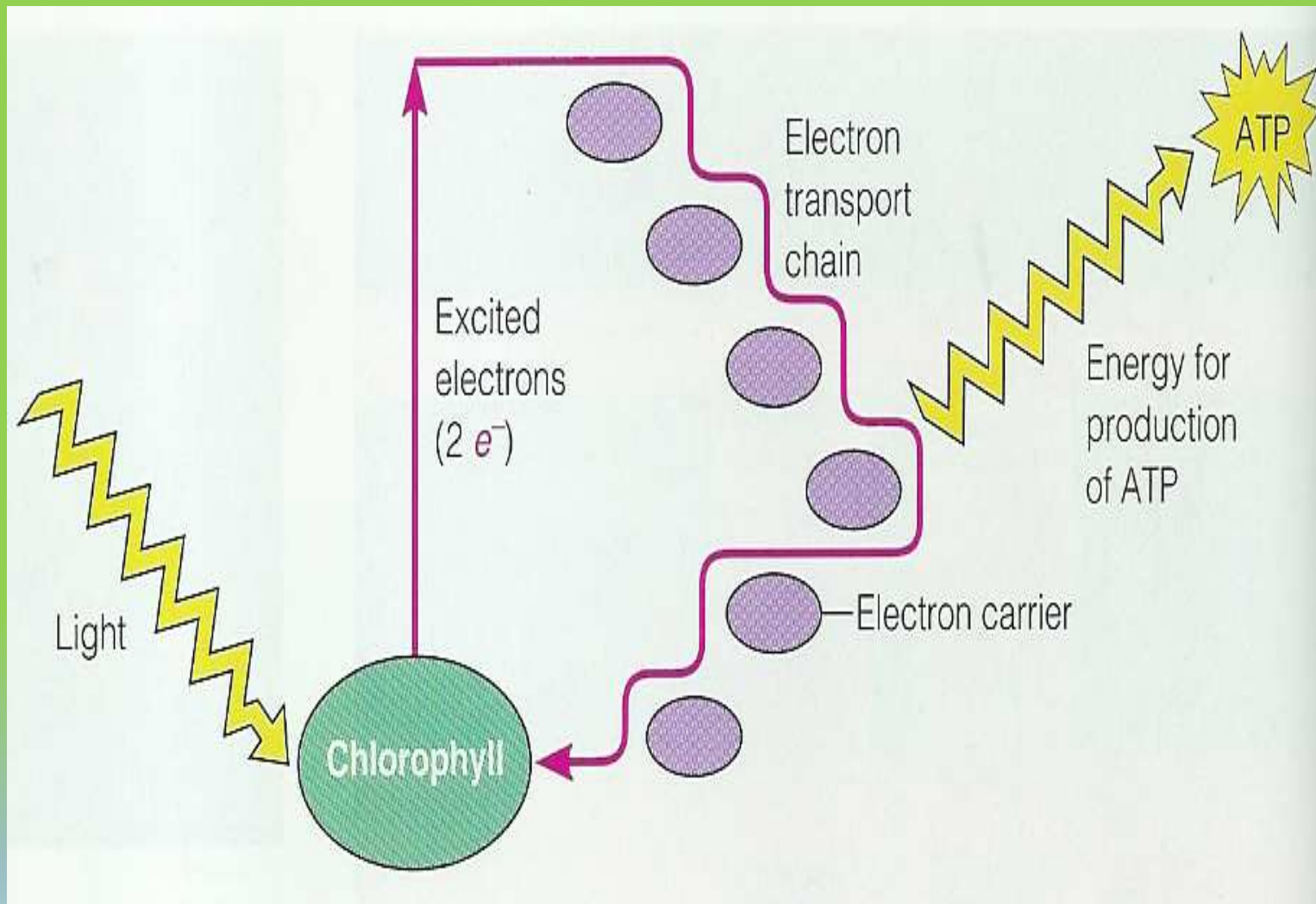
Absorpční spektra (chlorofyl *a* ,bakteriochlorofyl *a*)



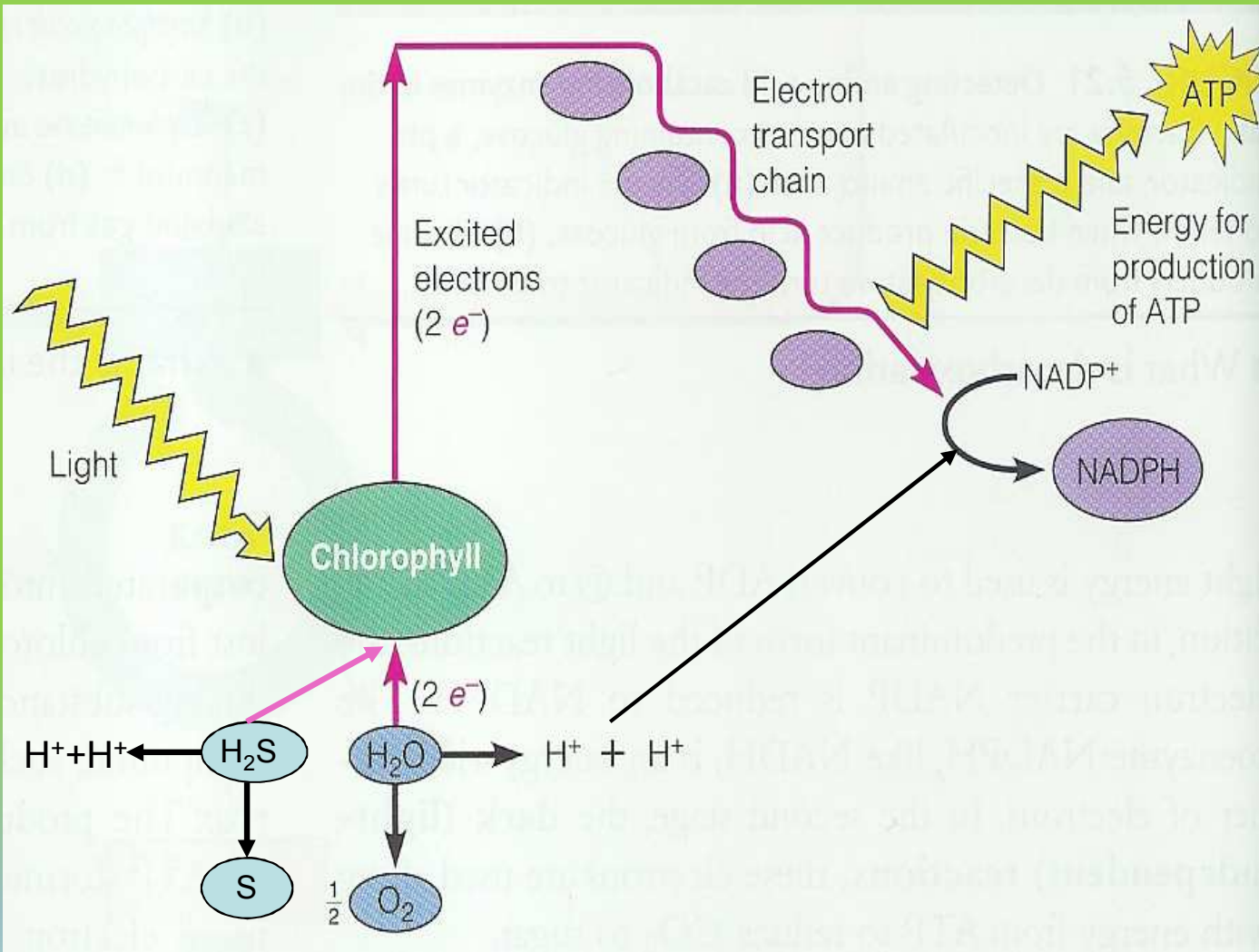
Fotosyntetická jednotka



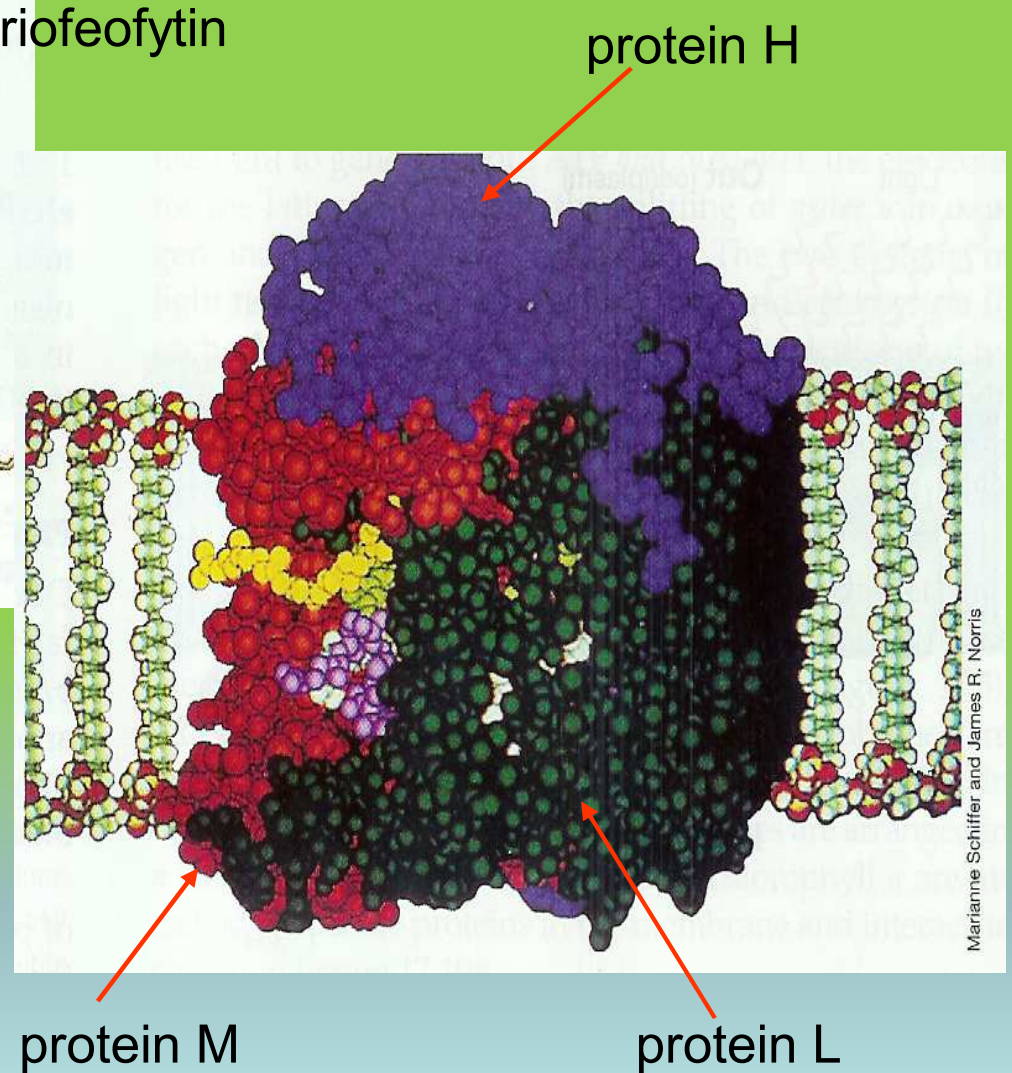
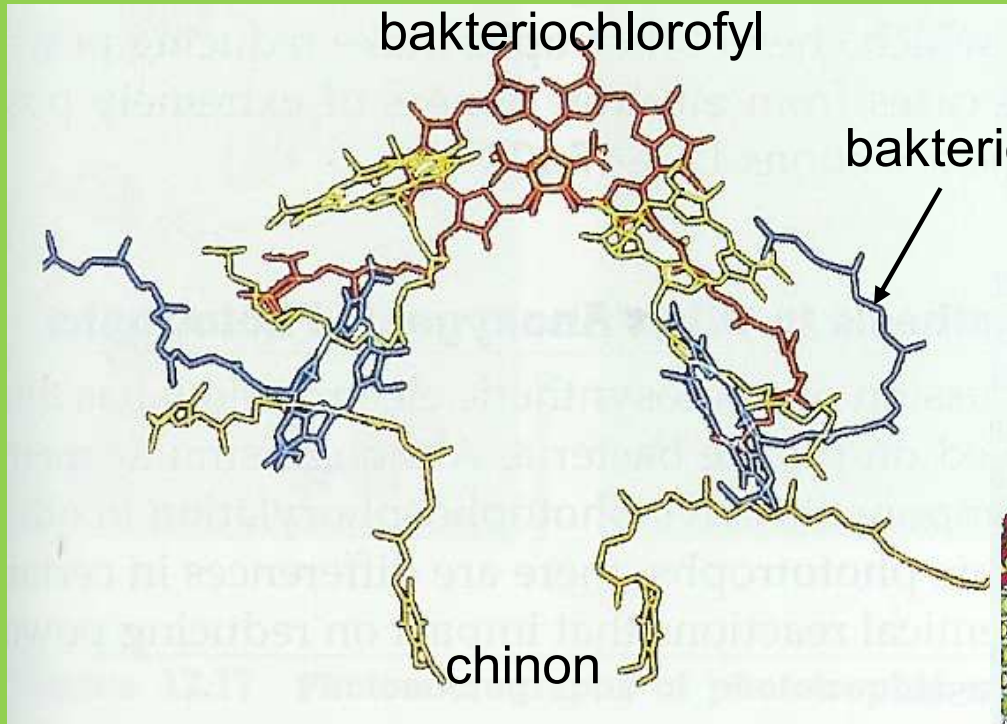
Cyklická fosforylace



Necyklická fosforylace

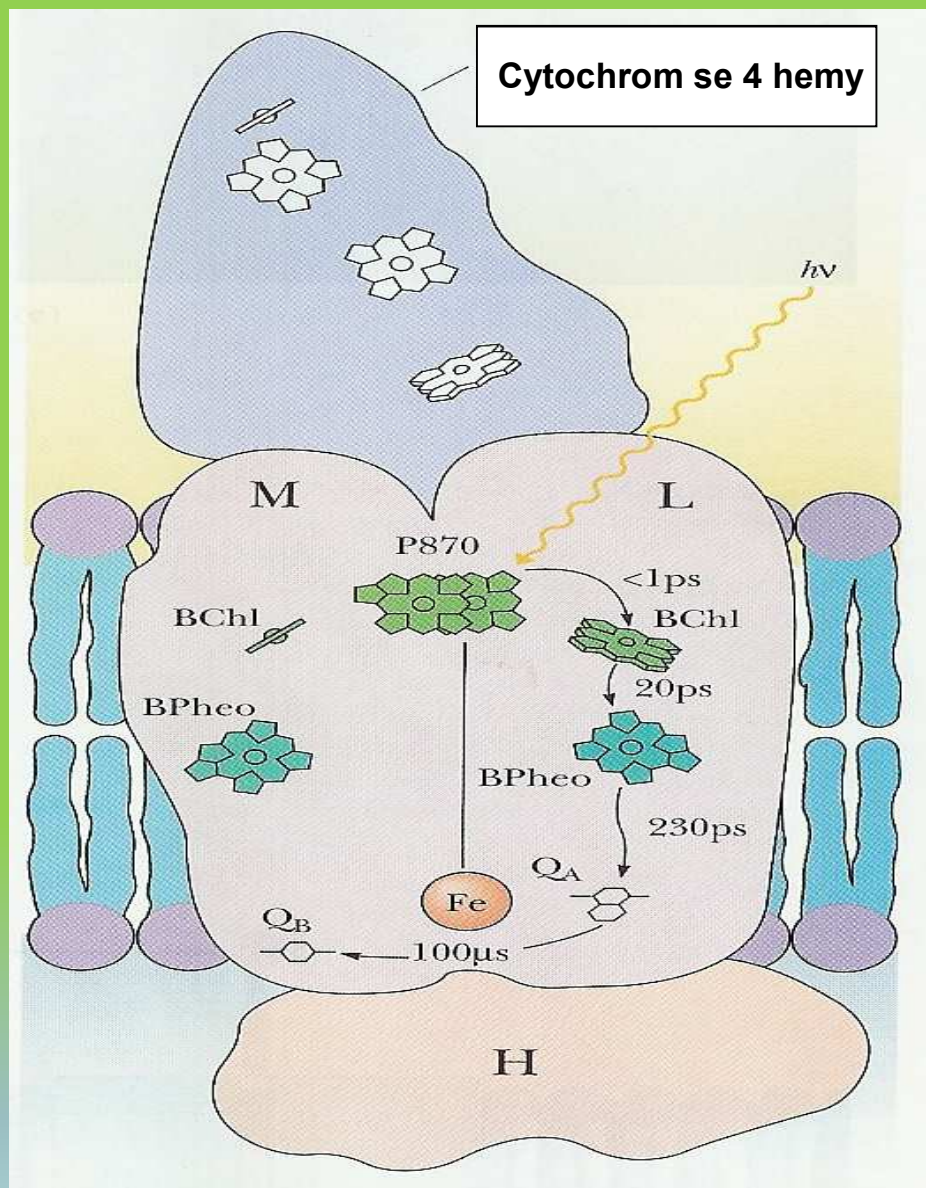


Struktura reakčního centra



Reakční centrum komplexu pigment-protein je lokalizováno ve fosfolipidové dvojvrstvě

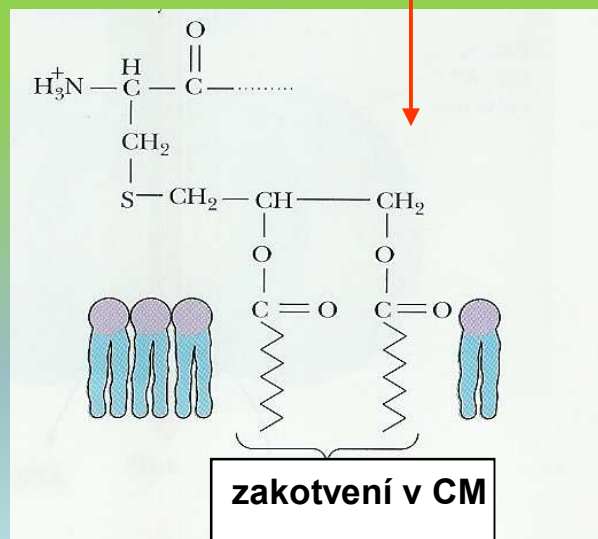
Model reakčního centra



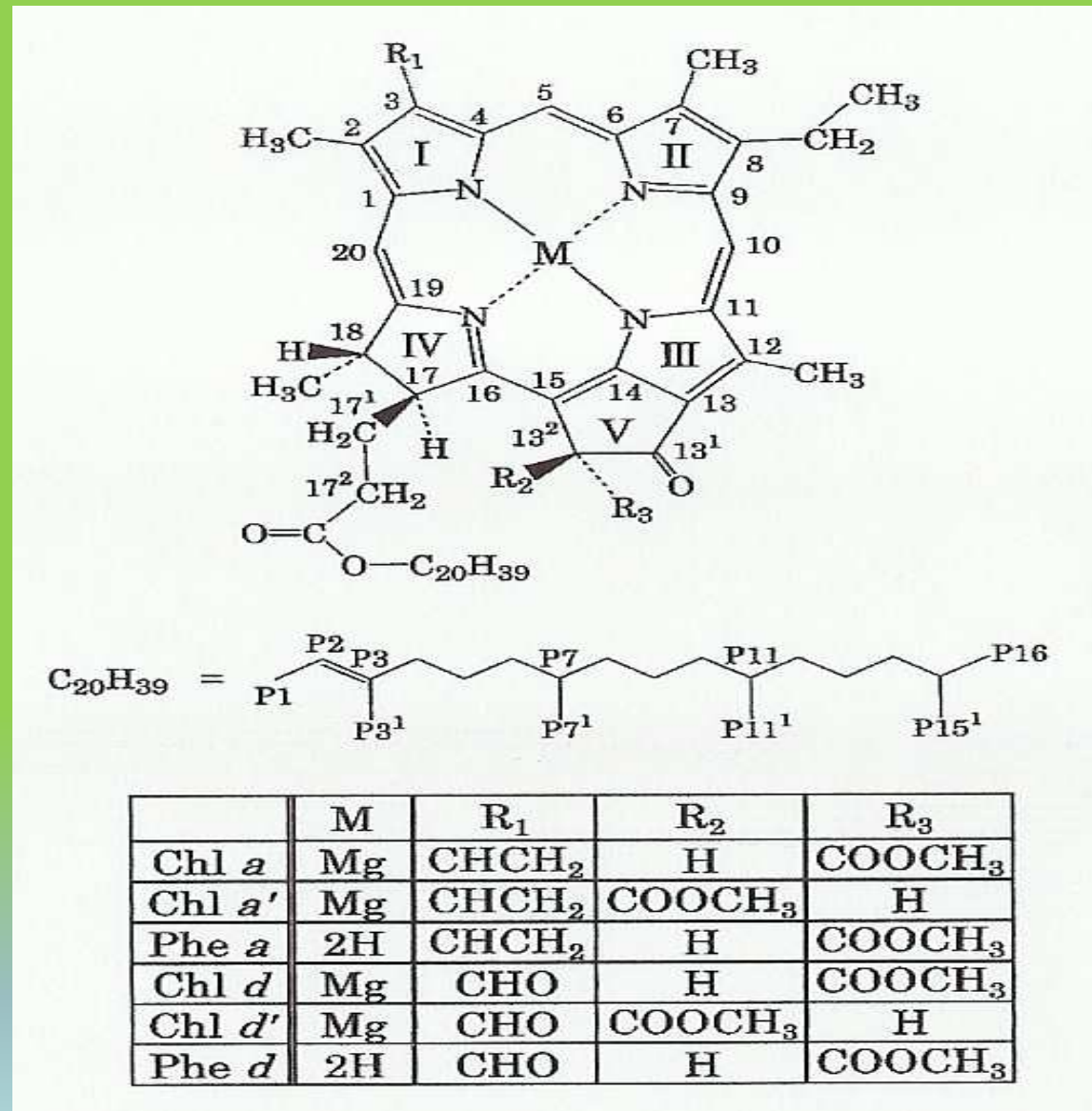
BCh1 – bakteriochlorofyl, Bpheo – bakteriofeofitin,
 $Q_{A B}$ - chinon

Polypeptid M a H - obsahuje 5 α helix segmentů
 polypeptid L – tvořen globulární doménou

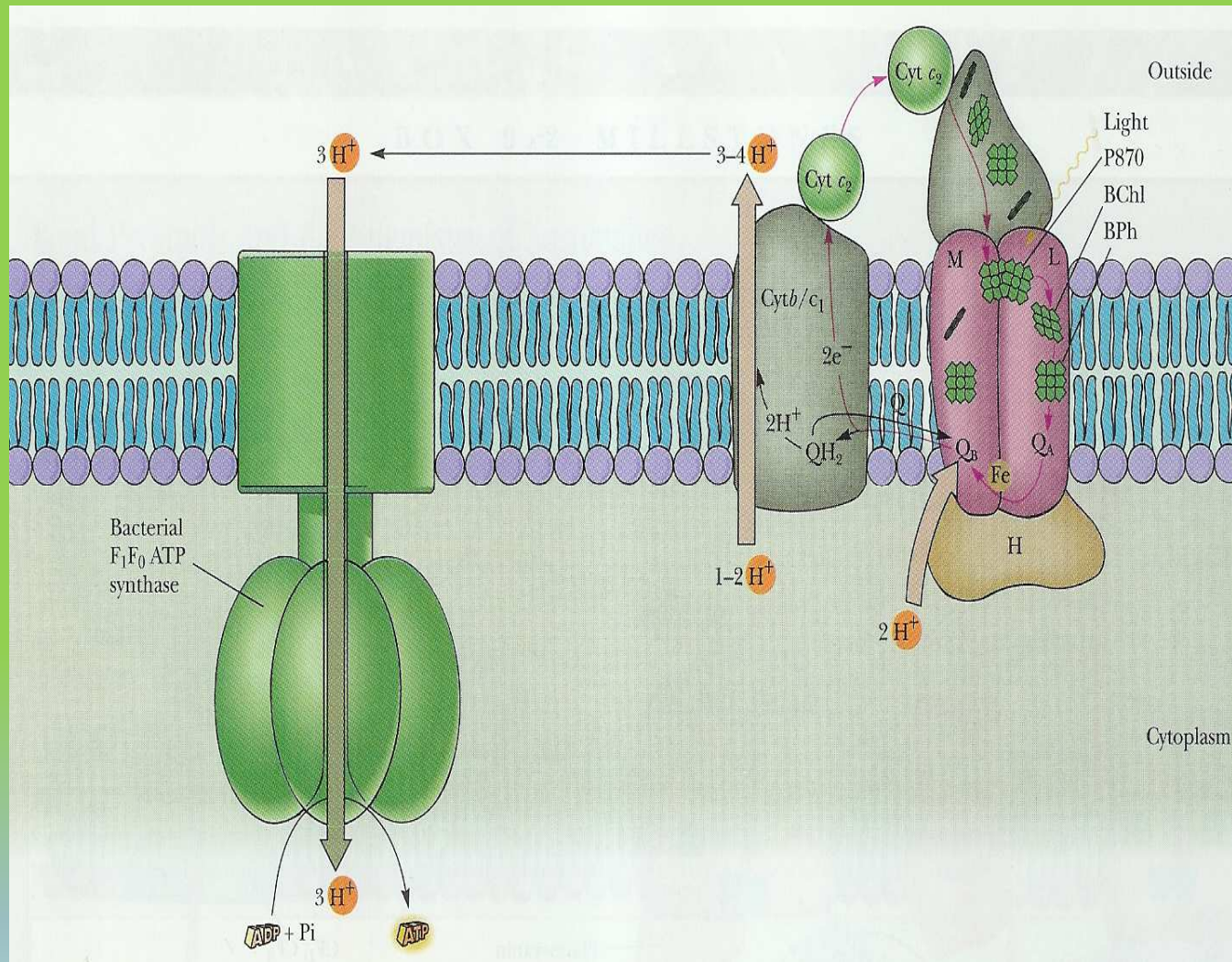
Cytochromová podjednotka je
 spojena s membránou
 diacylglycerol vazbou na N-konci
 Cys zbytku



Struktura chlorofylu a feofitinu

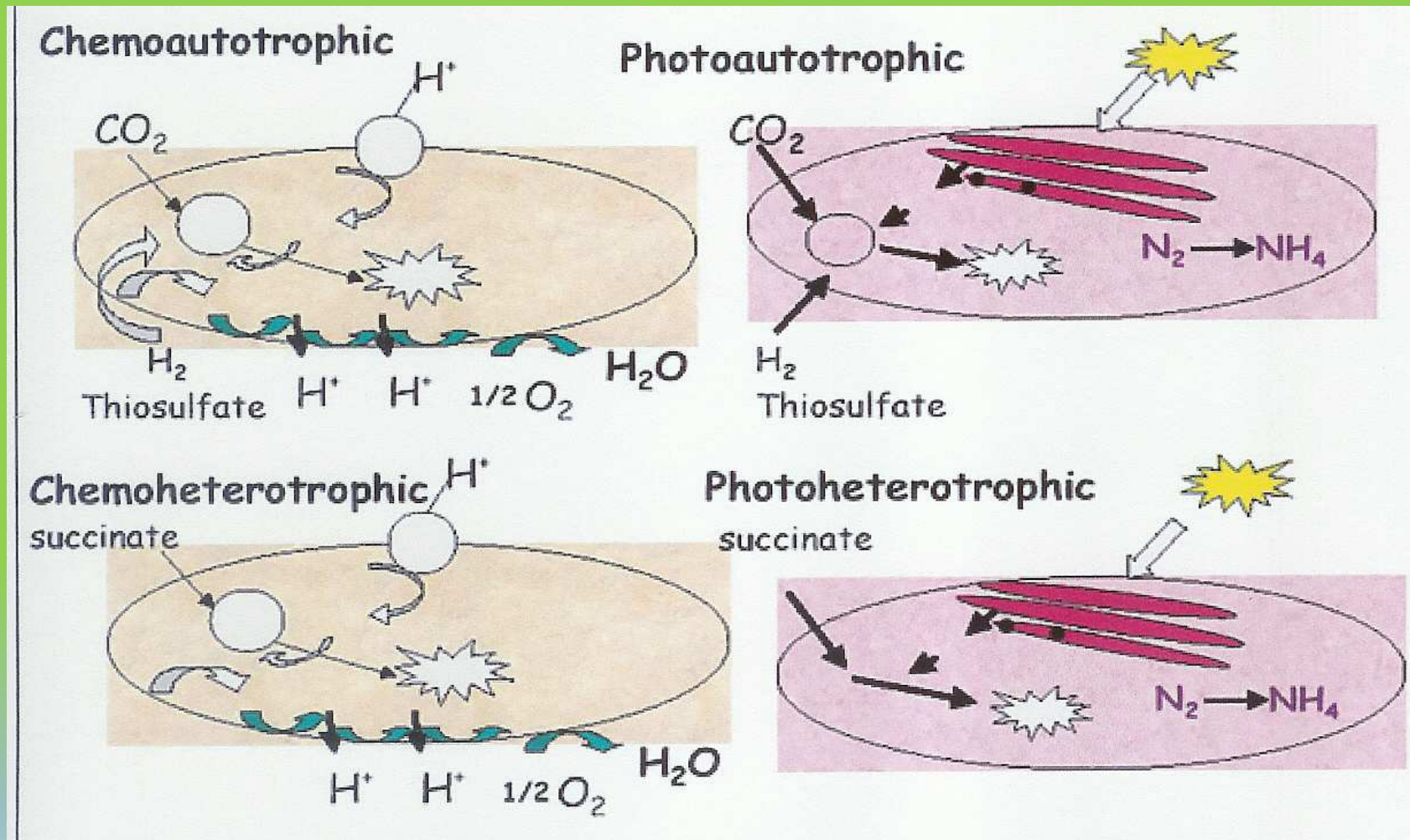


Fotosyntéza purpurových nesírných bakterií



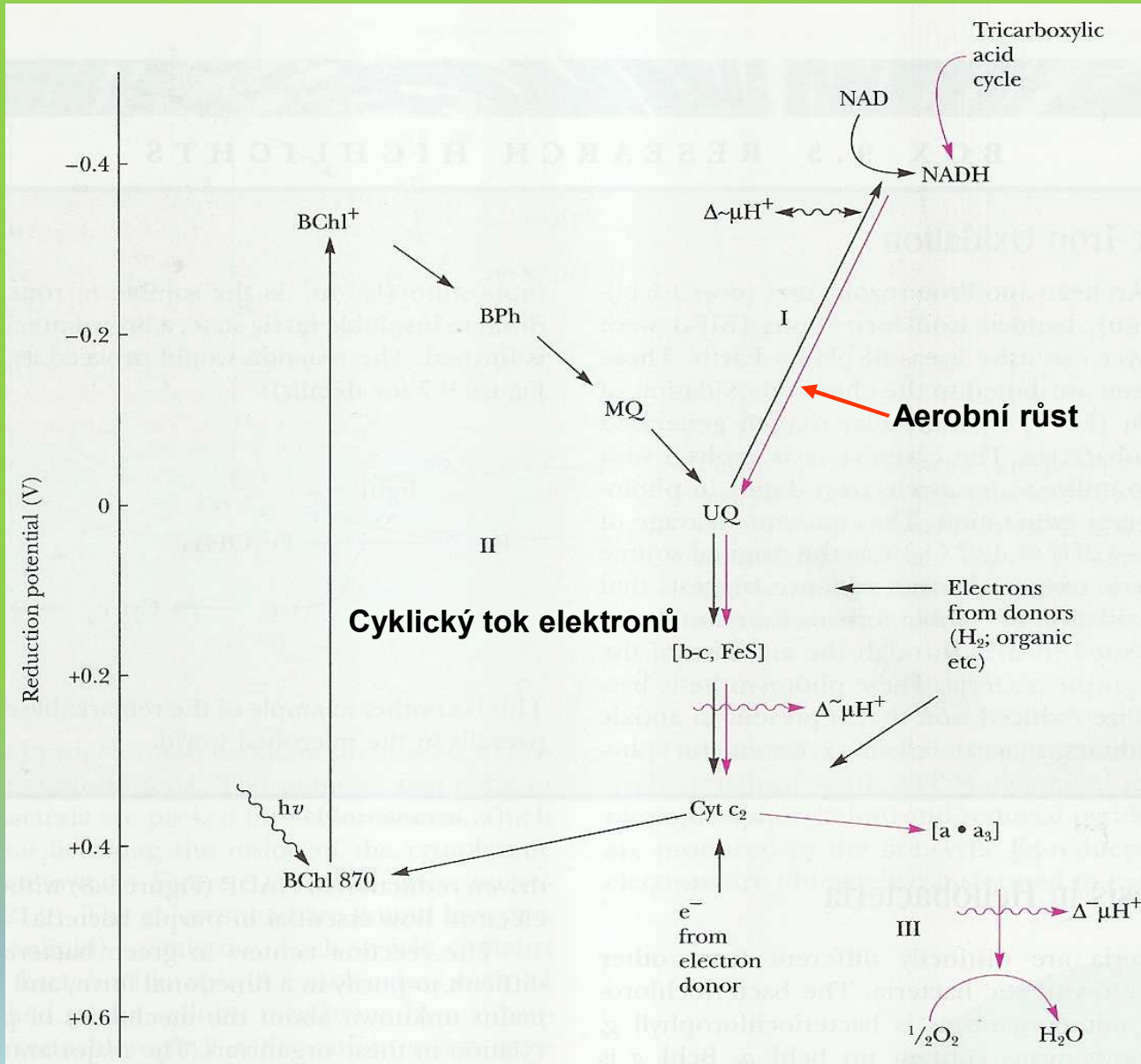
Rhodospseudomonas viridis (Rhizobiales)

Fotosyntéza purpurových nesírných bakterií



Rhodospseudomonas palustris (Rhizobiales)

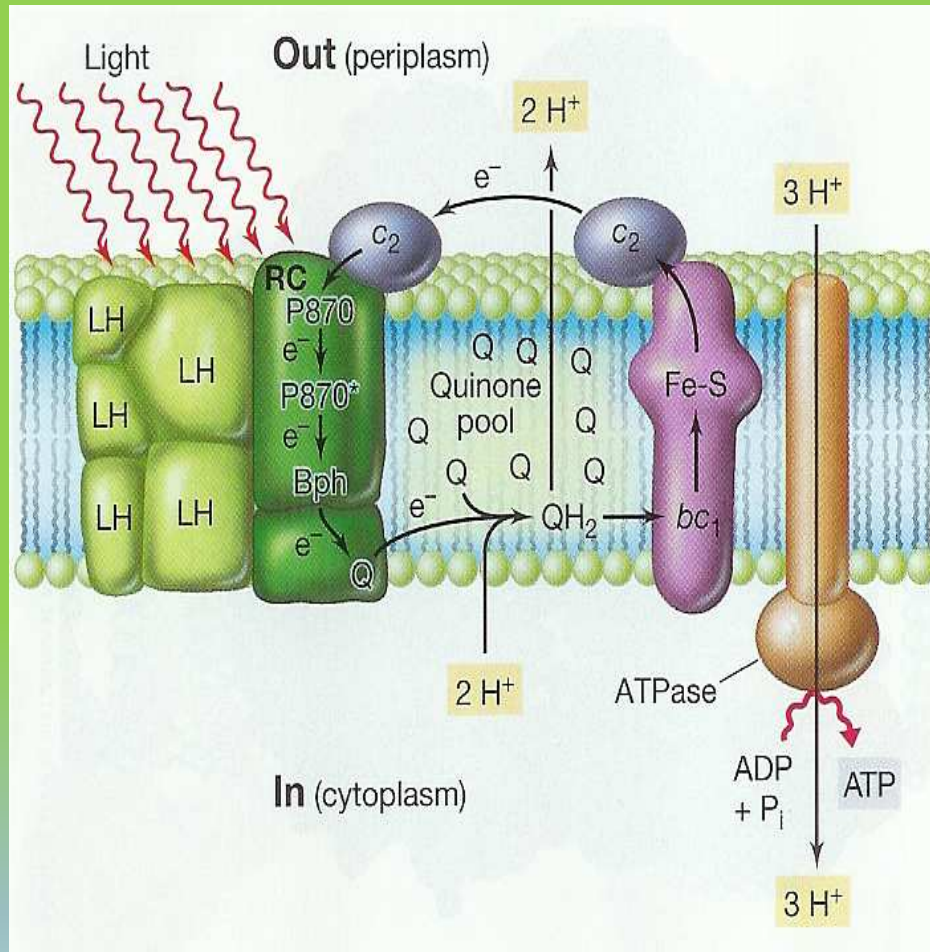
Fotosyntéza purpurových nesírných bakterií



Tok elektronů u *Rhodobacter sphaeroides* (Alfaproteobacteria, *Rhodobacterales*) při **fotosyntetickém růstu** (anaerobní podmínky) a **chemoheterotrofním** aerobním růstu

Zdrojem vodíku a elektronů pro necyklickou fosforylaci je H₂ nebo jednoduché organické látky. Kyslík vyvolává represi syntézy enzymů fototrofního metabolismu (i za světla) **Nevyužívá H₂S**

Fotosyntéza purpurových siřných bakterií

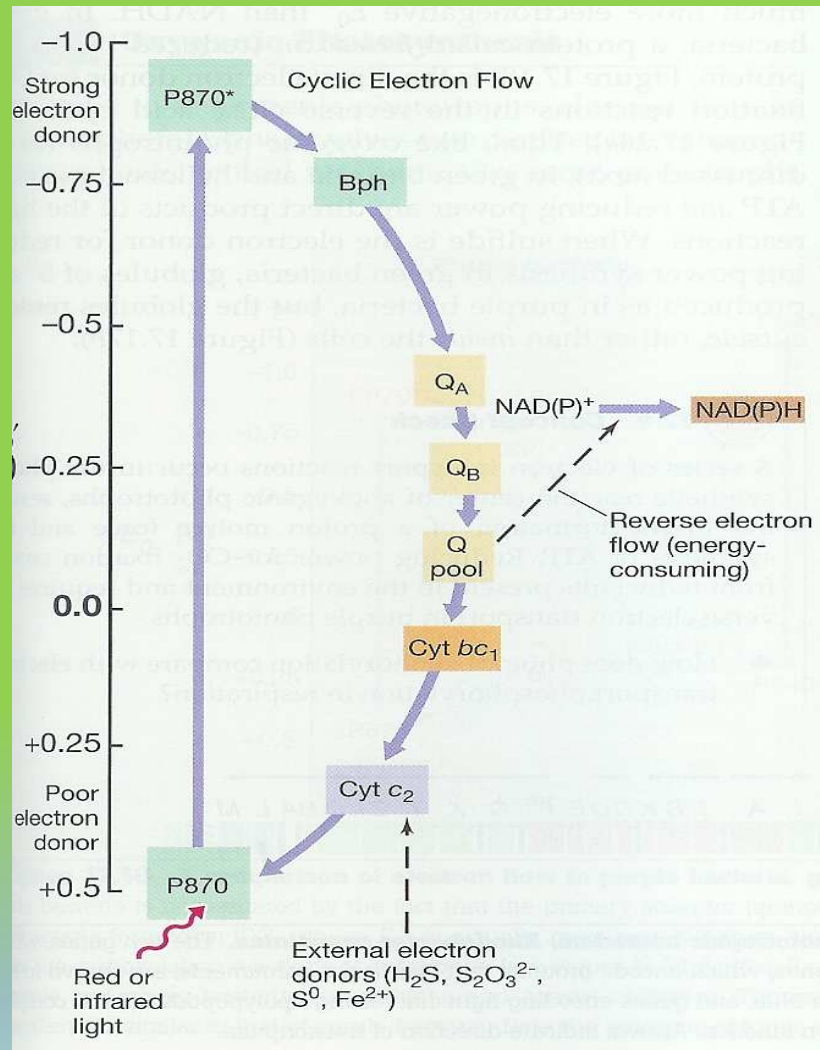


Jsou fotolitotrofní nebo fotoheterotrofní.

Chromatium, Thiosarcina, Thiodyctyon,..

RC – reakční centrum,
LH – komplex bakteriochlorofylu ,
bc₁ – cytochromový komplex,
Q - chinon

Fotosyntéza purpurových siřných bakterií

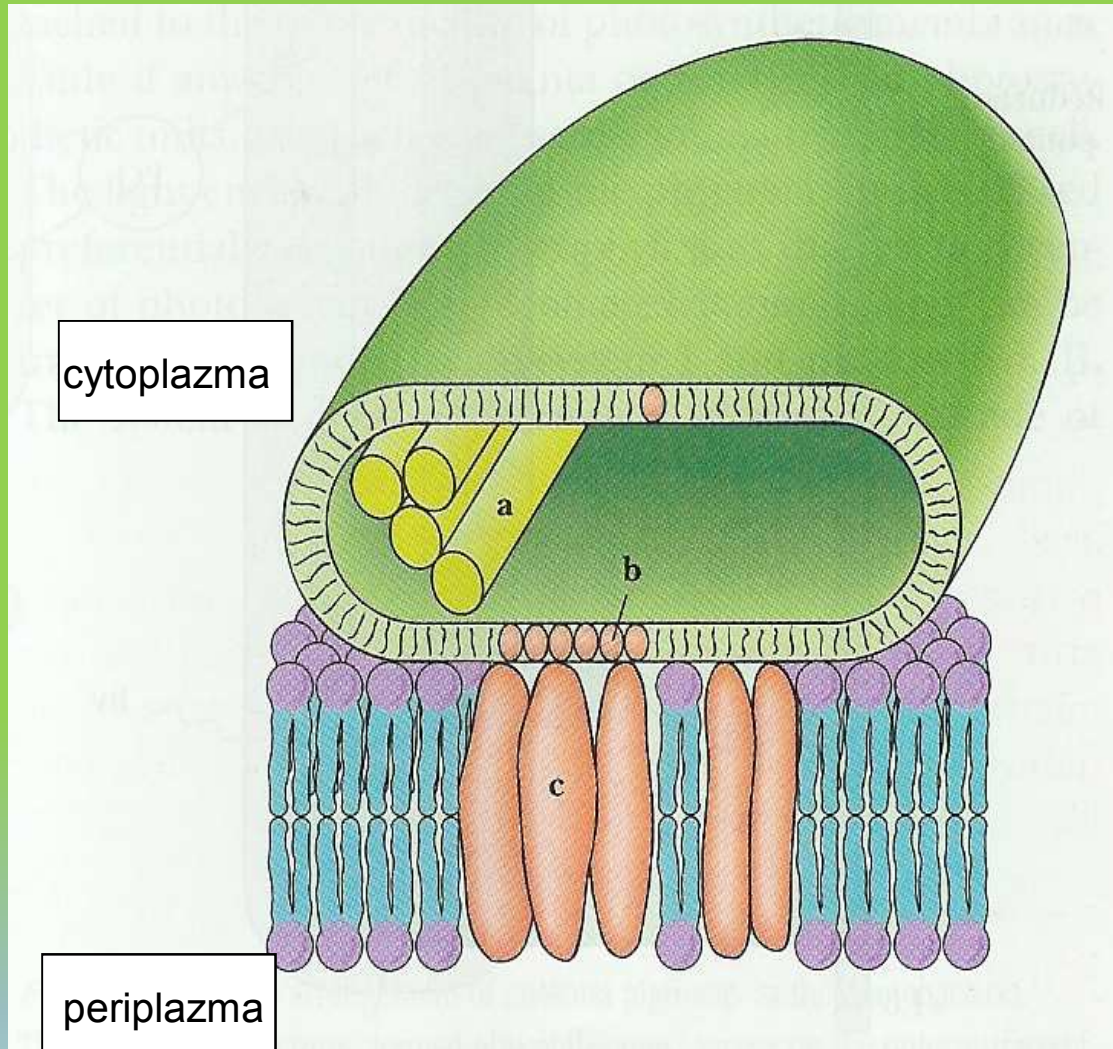


Tok elektronů při fototrofii

Purpurové siřné bakterie “jsou“ obligatorně fototrofní, striktně anaerobní a autotrofní. Mimo CO₂ mohou však jako zdroj uhlíku využívat i jednoduché organické látky - organické kyseliny (mixotrofie). Mohou být i fotoheterotrofní (zdroj energie – světelné kvantum, zdroj uhlíku – organická látka).

Donor vodíku - H₂S nebo jednoduchá organická látka

Fotosyntéza zelených siřných bakterií



Model chromatoforu (chlorozómu)

a - anténa - trubičky o průměru 10nm obsahují bakteriochlorofyl c a karotenoidy

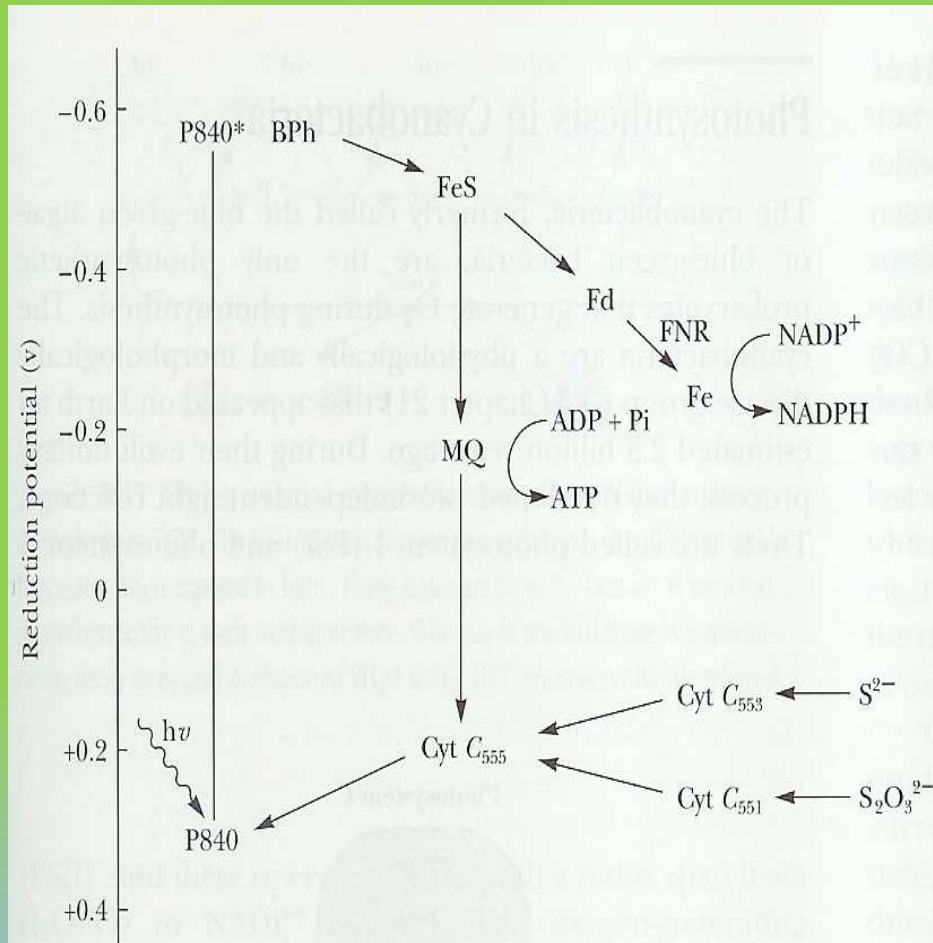
b - bakteriochlorofyl a

c - reakční centrum

Všechny druhy jsou striktně anaerobní. Fotolitotrofní nebo fotoorganotrofní. Síra **není** ukládána v buňkách

Chlorobium, Chloropseudomonas, Prostecochloris

Fotosyntéza zelených siřných bakterií



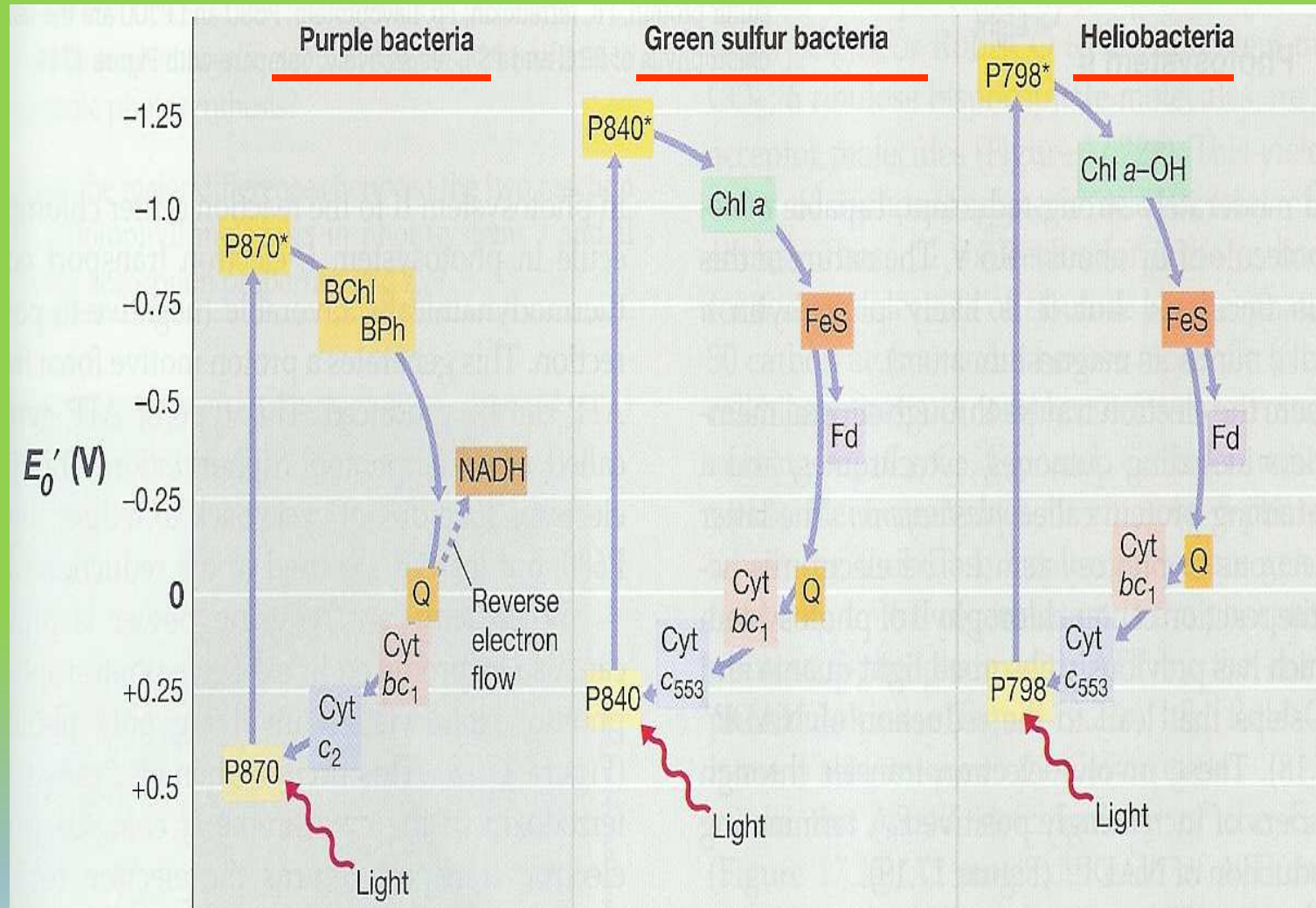
- Tyto organizmy mají velký redukční potenciál a mohou přímo redukovat pyridinové nukleotidy
- Cytochromy c_{553} a c_{557} přenášejí elektrony z donorů na cytochrom c_{555} v reakčním centru

MQ-menachinon, Fd-ferredoxin, FNR-ferredoxin nukleotid reduktáza, BPh- bakteriofeofitin

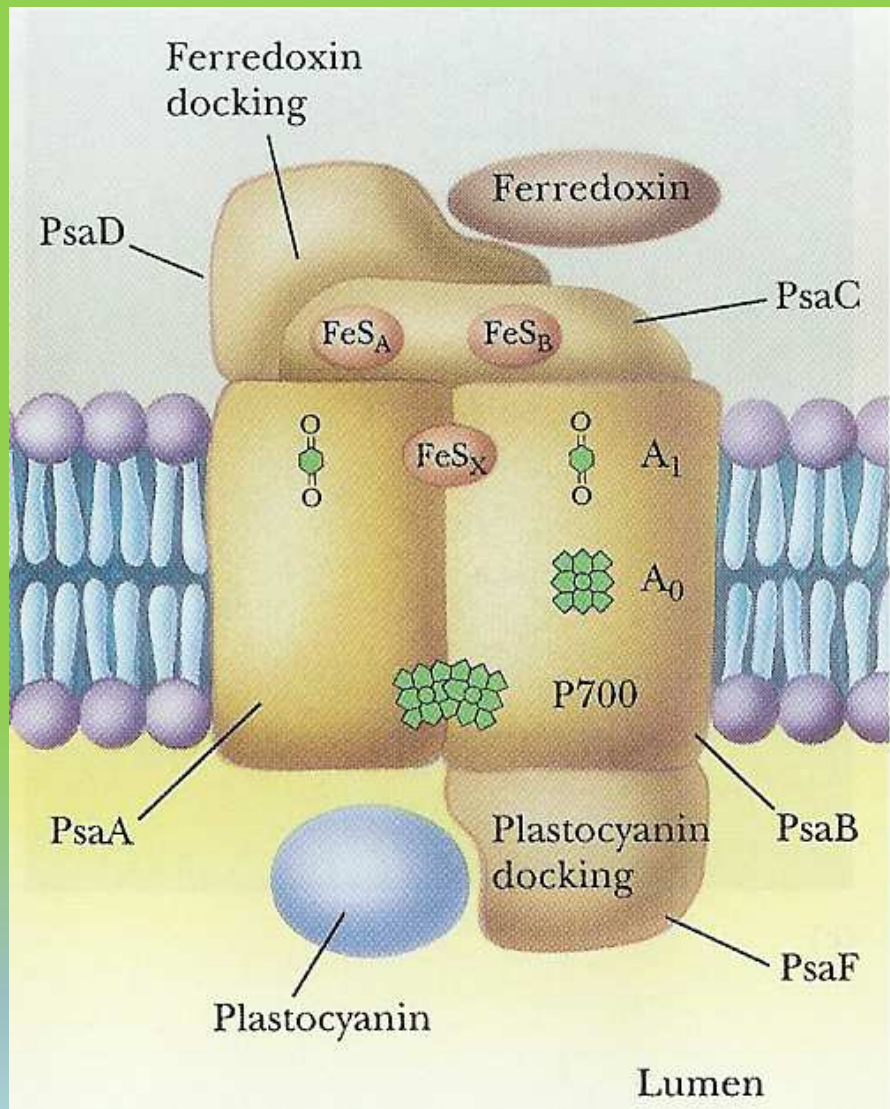
Fotosyntéza *Heliobacteria*

- Malá skupina bakterií řádu *Clostridiales* (*Heliobacteriaceae*, rody *Heliobacterium*, *Heliobacillus*, *Heliophilum*, *Heliorestis*)
- Primárně se u nich vyskytuje bakteriochlorofyl g (788 nm). Obsahuje vinyl na kruhu I
- Fotosyntetický aparát je přímo v CM. Neobsahuje struktury podobné tylakoidům nebo chromatoforům
- Heliobakterie jsou fotoheterotrofní, striktně anaerobní
- Některé druhy mohou tvořit endospóry
- Vyskytují se především v půdě (zejména v rýžových polích)

Srovnání toku elektronů fototrofních bakterií



Fototrofie u sinic

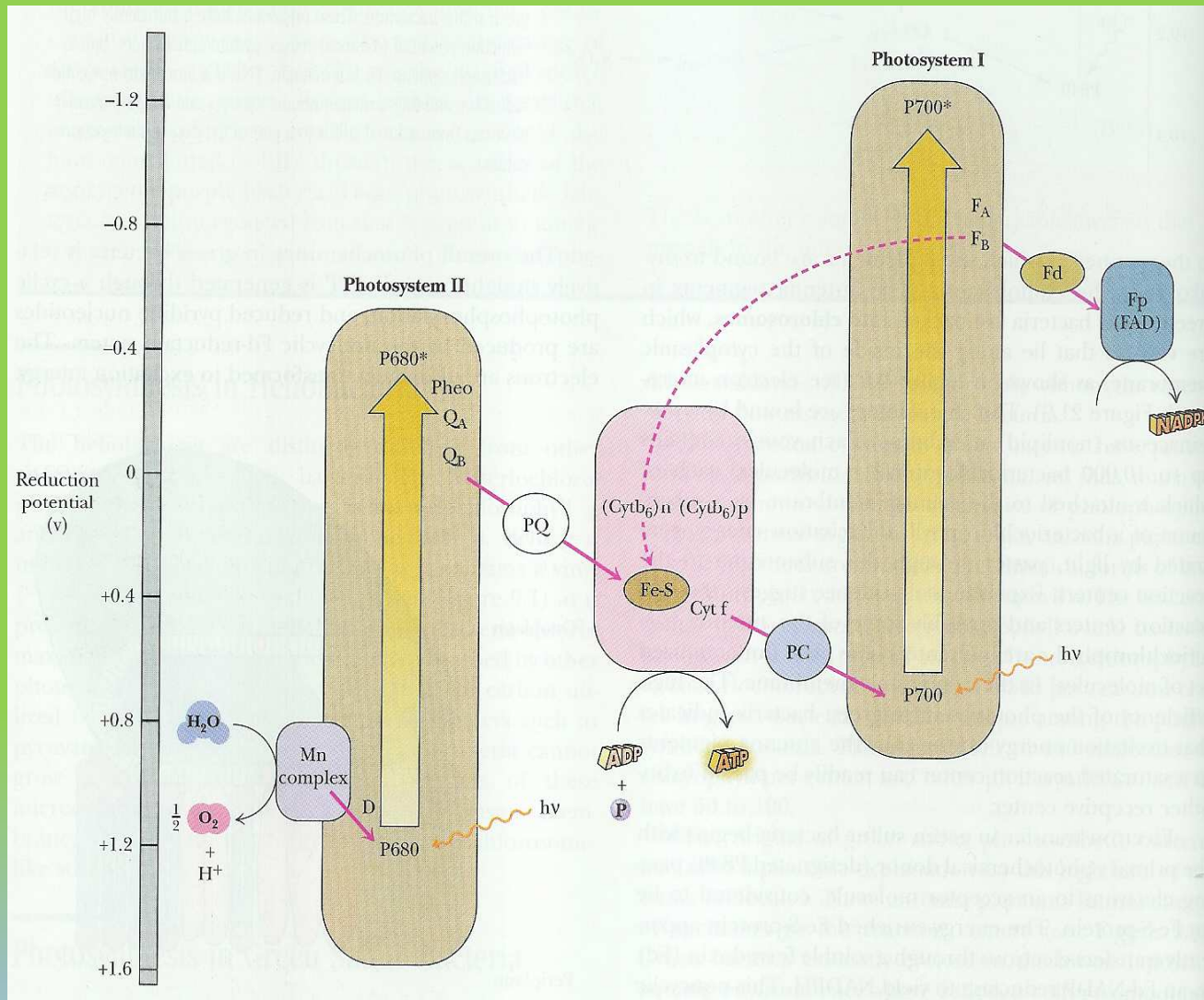


Model reakčního centra

PsaA a PsaB mají 11 transmembránových α helix. Centrum obsahuje asi 100 molekul chlorofylu. PsaC nese komplex Fe-S, který tvoří můstky mezi PsaA a PsaB.

PsaD interaguje s ferredoxinem (na stroma části tylakoidu)

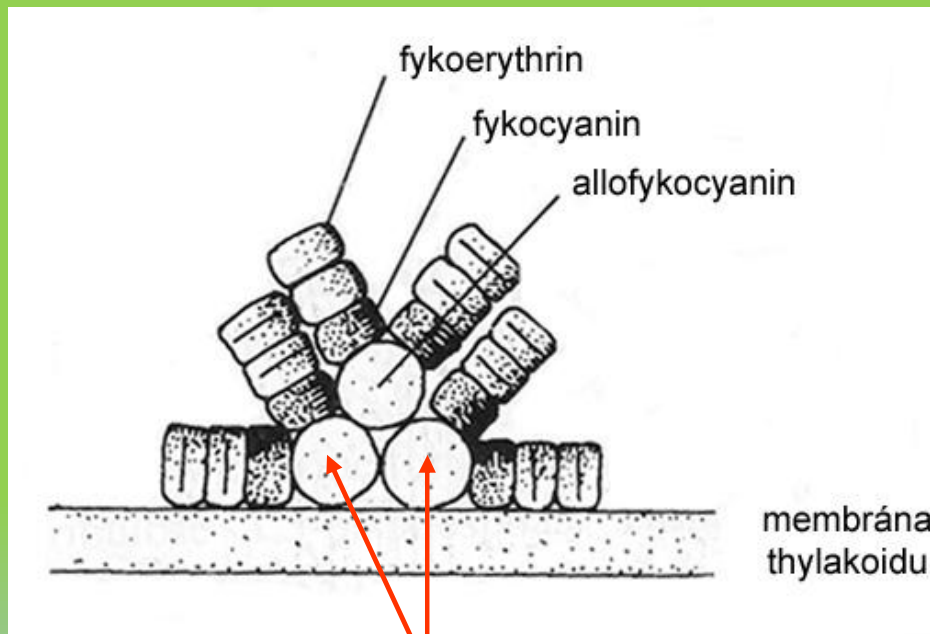
Fotosyntéza u sinic



FD – feredoxin NADP+ reduktáza.

Cyklická fosforylace je uskutečňována přes cyt_{559}

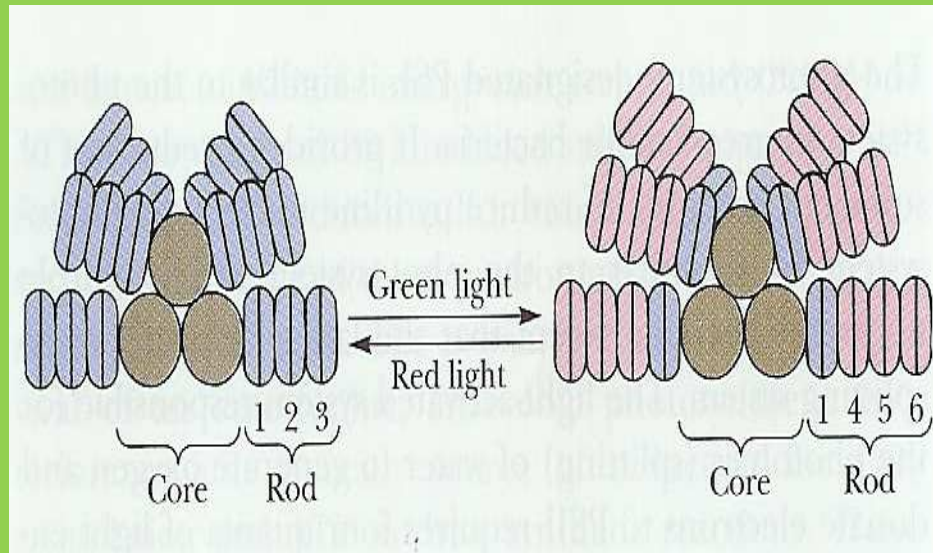
Fotosyntéza u sinic



allofykocyaniny
(namodralé barvy)

- na povrchu thylakoidálního váčku se nachází tzv. **fykobilizómy**
- jsou to drobné útvary (které obsahují specifická barviva, zvaná fykobiliny (fykobiliproteiny))
- v membráně thylakoidu jsou obsaženy chlorofyl **a**, α - i β -karoten a xanthofyly (echinenon, myxoxanthofyl, zeaxanthin)

Fotosyntéza u sinic



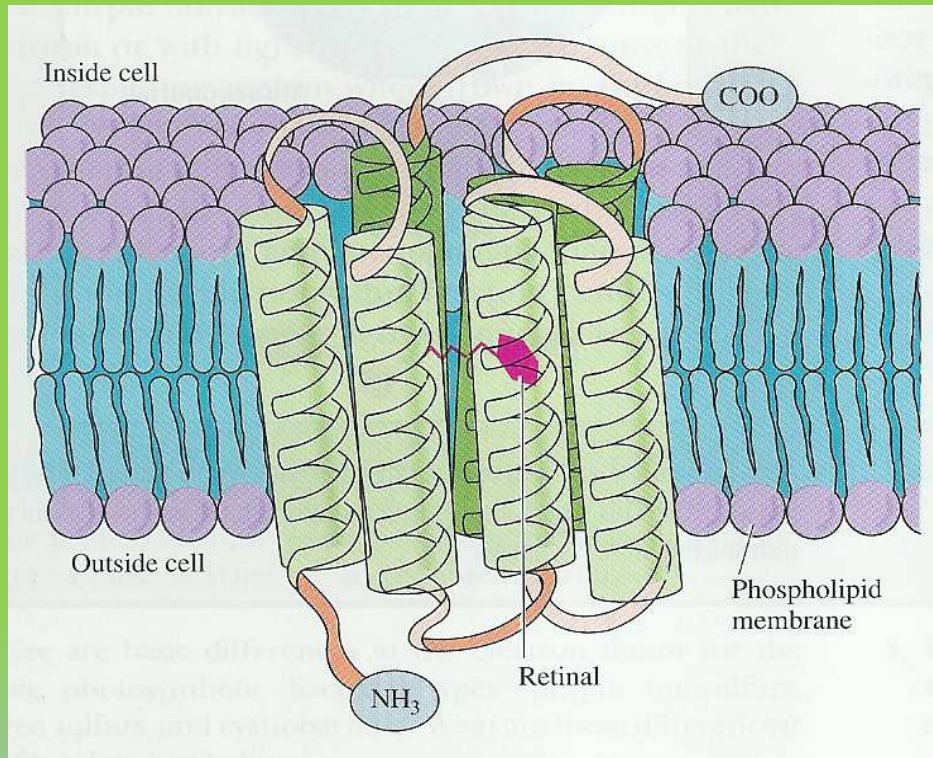
- Složení fykobilinů se mění v závislosti na vlnové délce světla při růstu.
- Při růstu v “zeleném” světle převládá fykoerytrin
- Při růstu v “červeném” světle převládá fykocyanin

Fotosyntéza bez chlorofylu

halobakterie

- Pokud halobakterie rostou při nízké tenzi kyslíku mohou syntetizovat “červené” skvrny v cytoplazmatické membráně - bakteriorhodopsin
- Skvrny obsahují 7 bílkovinných molekul (α helix). Na jednu molekulu je připojen retinal
- Bakteriorhodopsin (aldehyd vitamínu A) maximálně absorbuje při 570 nm

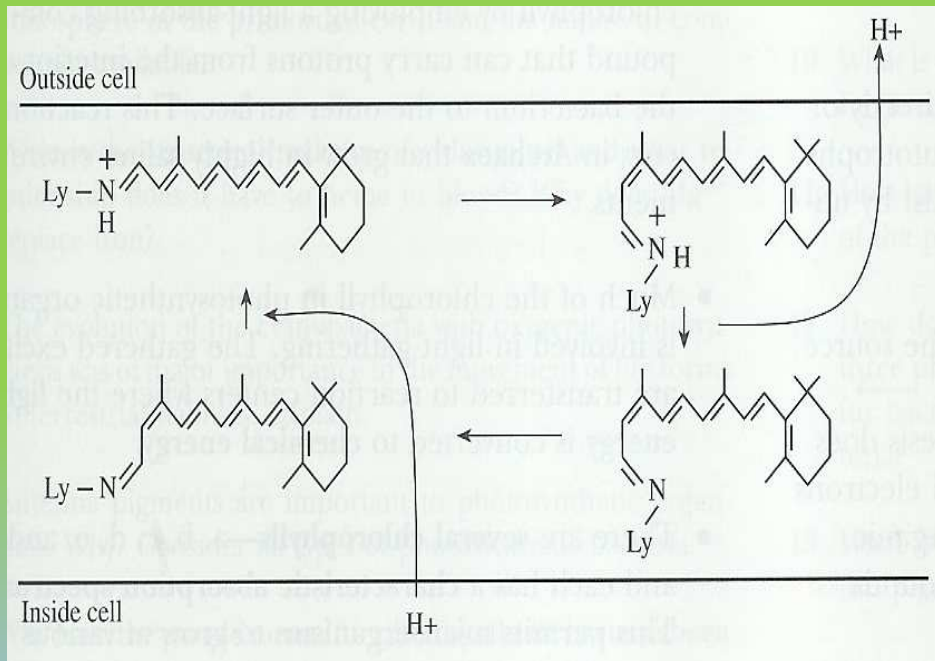
Fotosyntéza bez chlorofylu halobakterie



- Bakteriorhodopsin absorbuje maximální množství energie ze záření
- Mimo bakteriorhodopsinu halobakterie neobsahují další "foto" pigment
- **Tvorba energie není doprovázena tokem elektronů**

Fotosyntéza bez chlorofylu halobakterie

- Retinal připojený na jeden peptidický řetězec se protonizuje po působení světla a přenese H^+ na protein za současné změny konformačního stavu a tak se proton dostává do periplazmatického prostoru
- Deprotonizovaný pigment bere další proton z cytoplazmy
- Protony se vrací do cytoplazmy "ATPázovým systémem" – tvorba ATP
- **ATP se vytváří protonovým gradientem**



Halobacterium halobium

ANABOLIZMUS

BIOSYNTÉZA

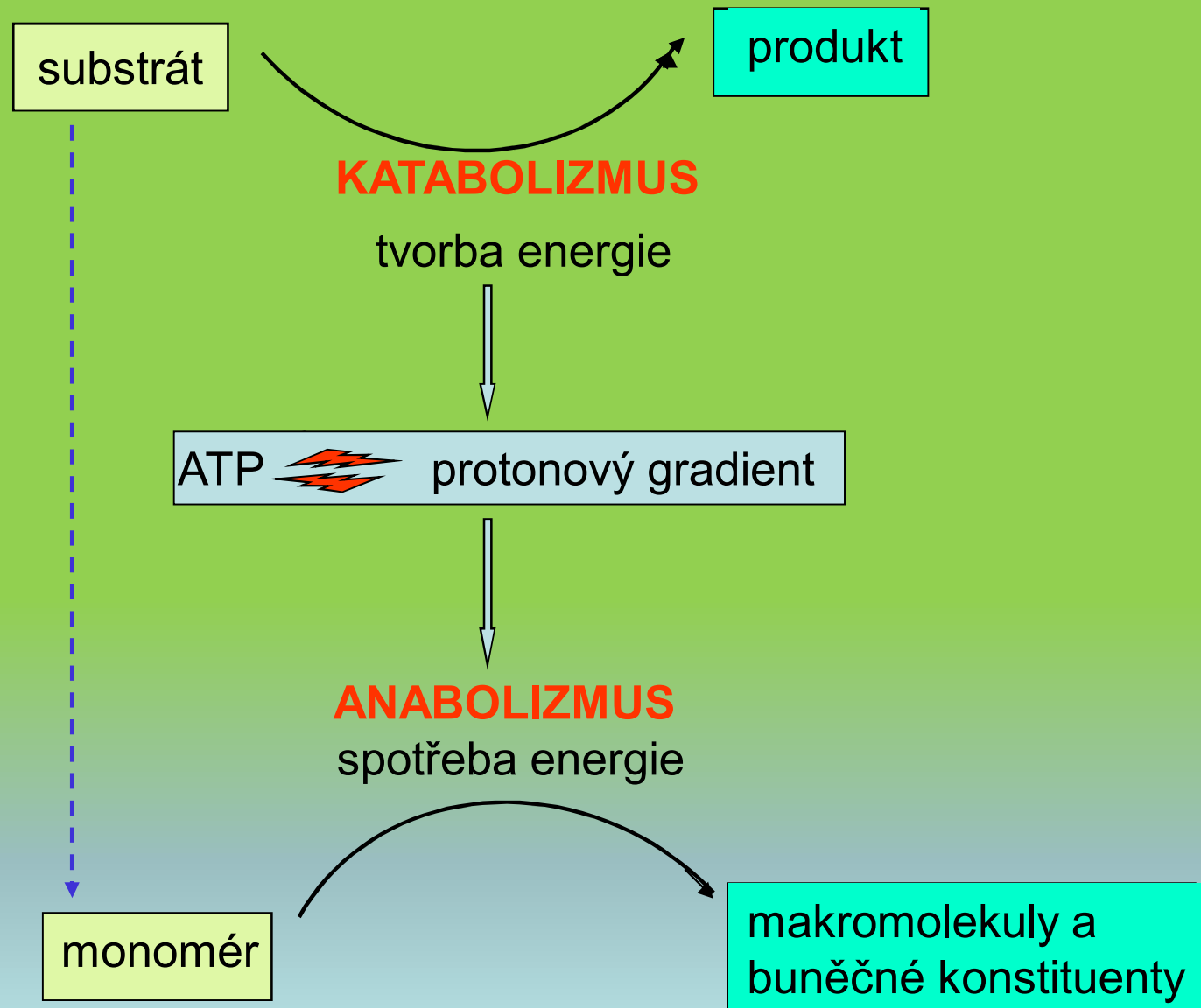
ANABOLIZMUS - BIOSYNTÉZA

- Při anabolizmu je ke tvorbě molekulových komplexů a struktur z malých molekul využívána volná energie získaná v procesech katabolizmu
- Procesy biosyntézy jsou regulovány tak, aby byla co nejefektivněji využívána energie a stavebního materiálu
- Katabolické a anabolické dráhy mají odlišné enzymy, kofaktory, donory vodíku a elektronů, regulaci, lokalizaci v buňce, ...
- Avšak řada enzymů se podílí na průběhu katabolických i biosyntetických drah

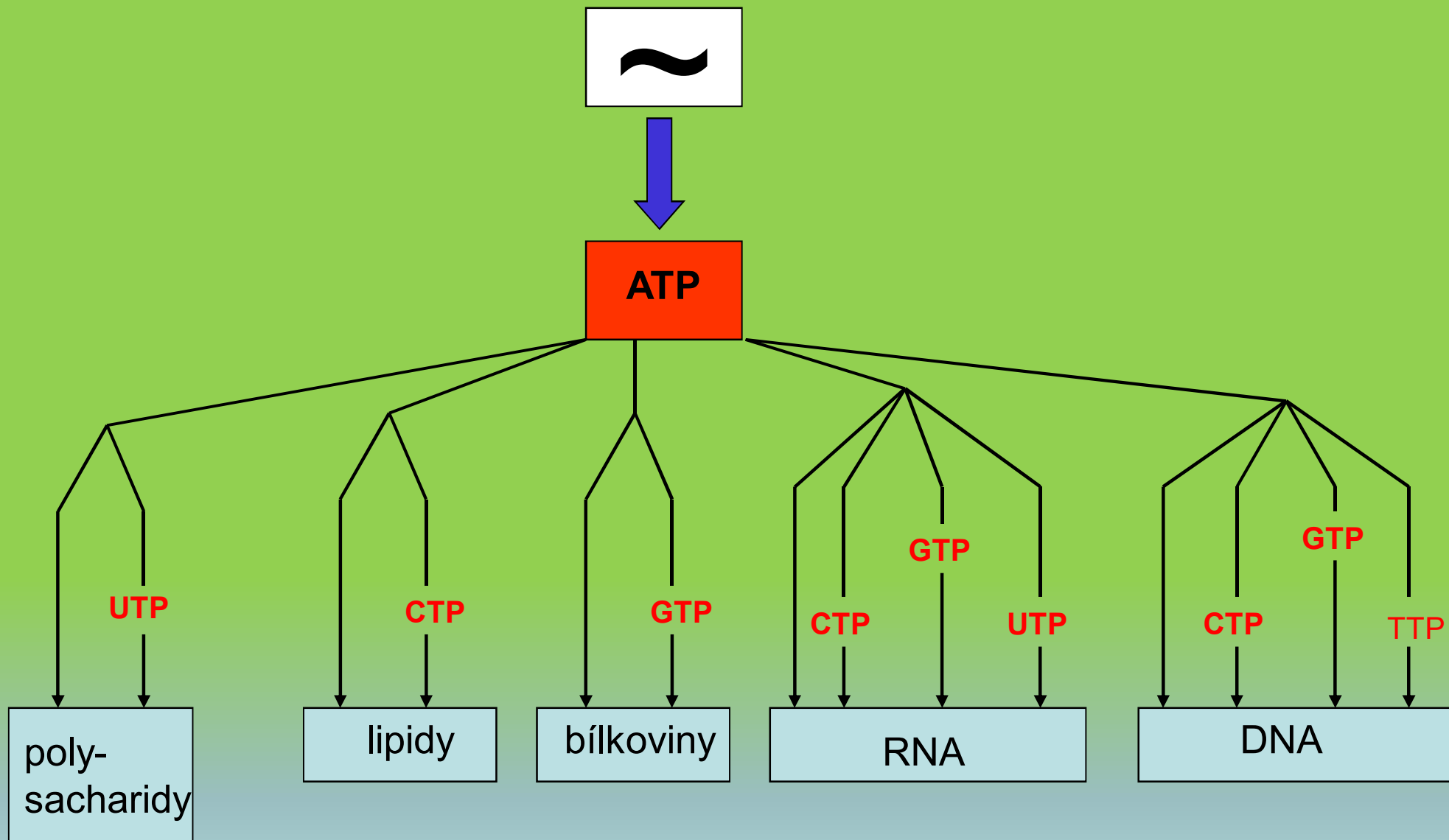
ANABOLIZMUS - BIOSYNTÉZA

- Fosfor ve formě fosfátu může být asimilován přímo
- Anorganický dusík a síra musí být většinou před inkorporací do buněčného materiálu redukován
- Autotrofové využívají v biosyntetických pochodech ATP a NADPH z fototrofie nebo oxidace anorganických látek pro redukci a inkorporaci CO_2 do organického materiálu

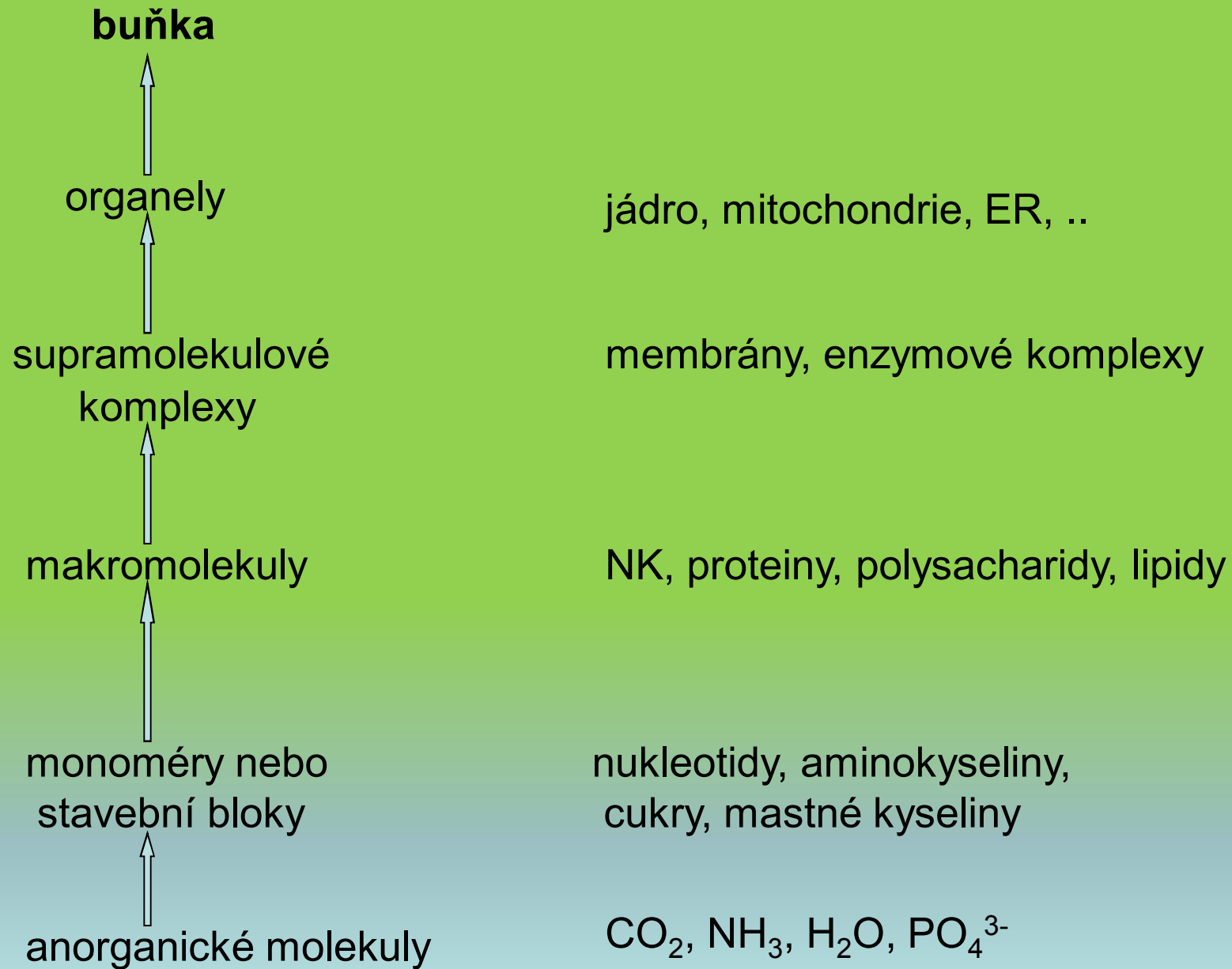
Role ATP a promotivní síly v integračních procesech



Tok energie do hlavních typů syntéz



Konstrukce buněk



Biosyntéza *E.coli*

Buněčný konstituent	Počet molekul na buňku	Molekuly syntetizované za sekundu	Molekuly ATP požadované na syntézu za sekundu
DNA	1	0,00083	60000
RNA	15000	12,5	75000
Polysacharidy	39000	32,5	65000
Lipidy	15000000	12500,0	87000
Proteiny	1700000	1400,0	2120000

Fixace CO₂ při metabolismu mikroorganismů

Fixace redukcí

NADPH₂-dependentní

izocitrát ←

malát ←

Feredoxin-dependentní

pyruvát ←

2-oxoglutarát ←

ATP

karbamyl-P

Fixace aktivní

Komplex enzym+biotin+CO₂

metilmalonyl-koA

malonyl-koA

oxalacetát

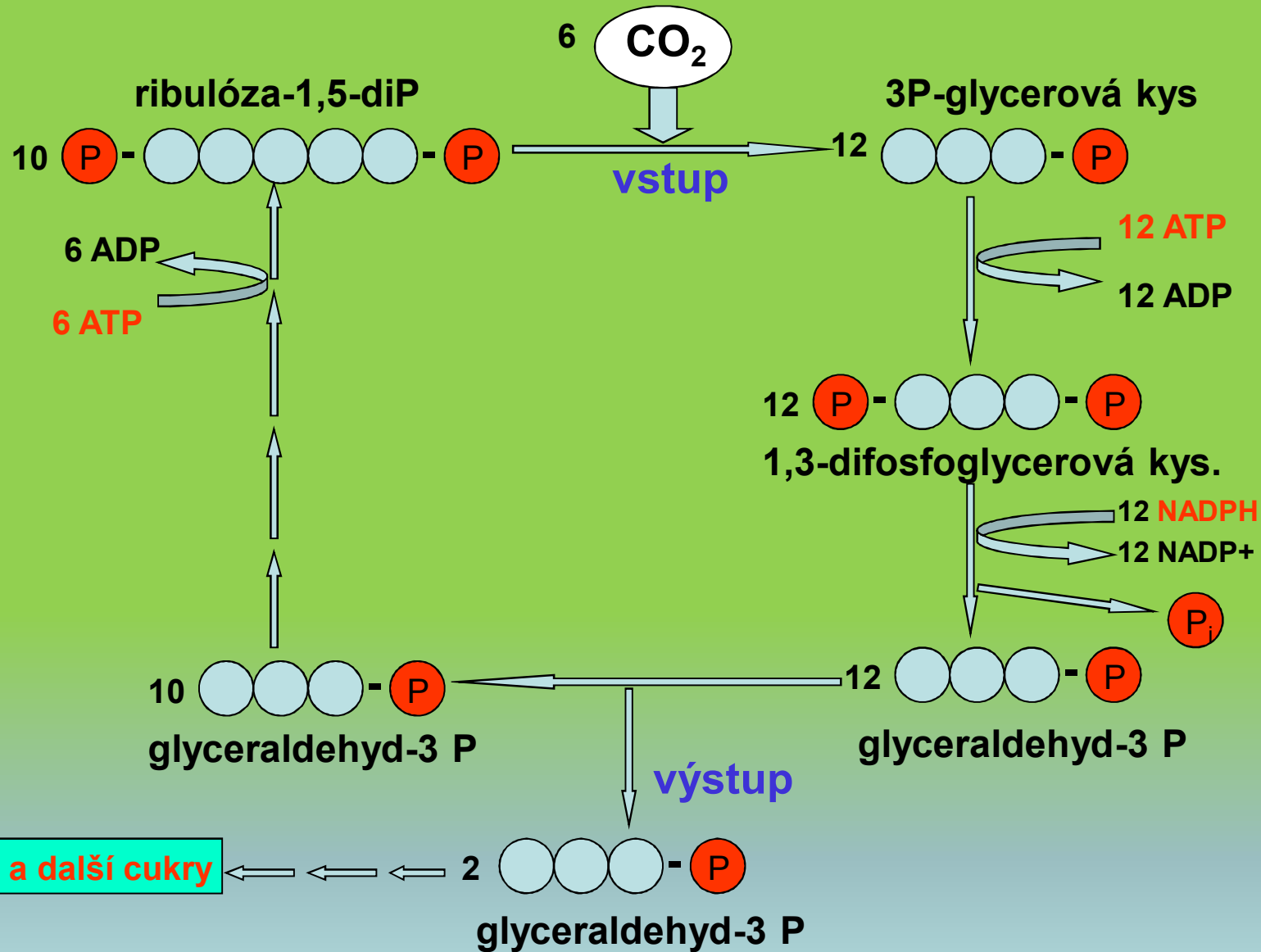
PEP

oxalacetát

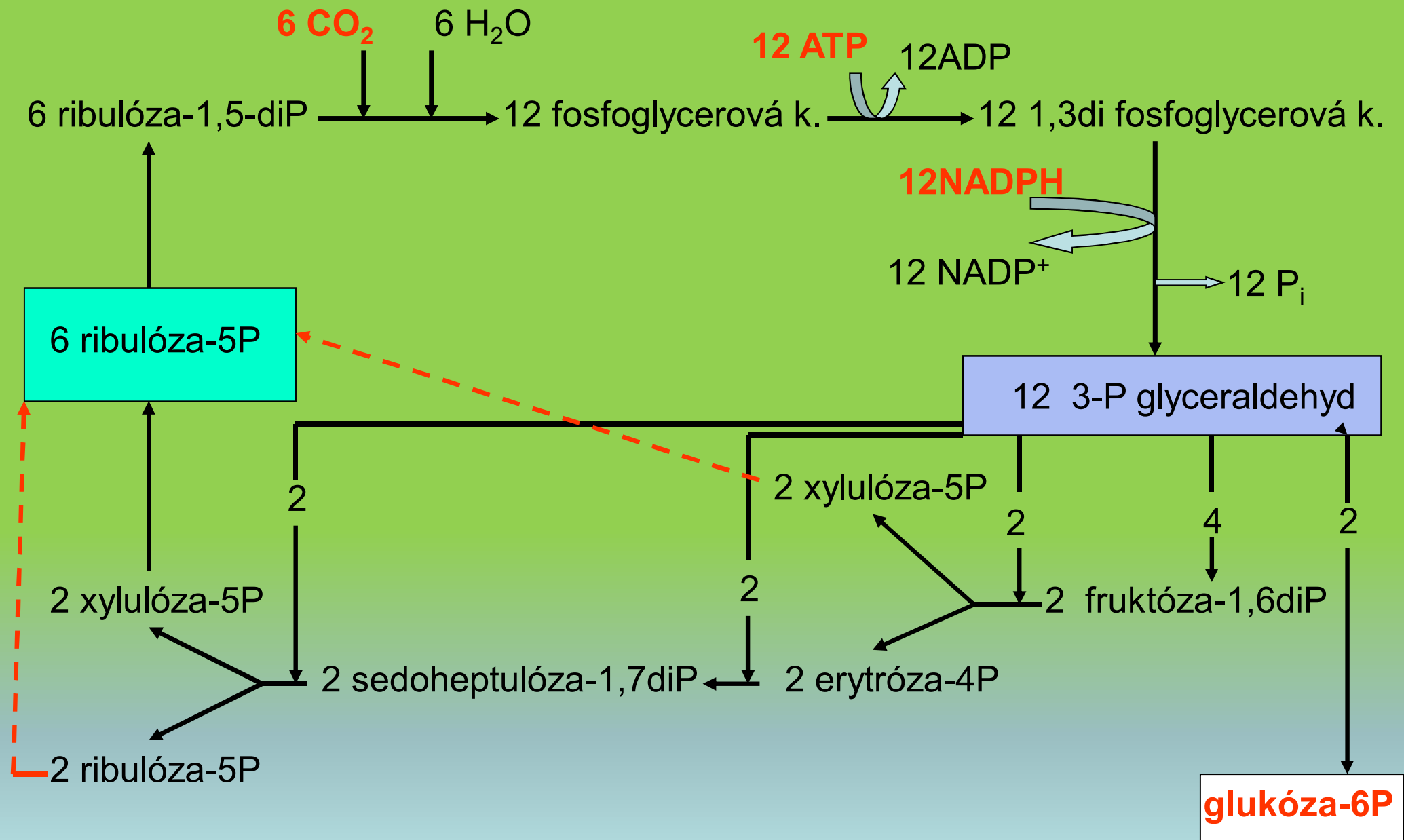
CO₂

Fixace CO₂ autotrofy

Calvinův cyklus



Calvinův cyklus



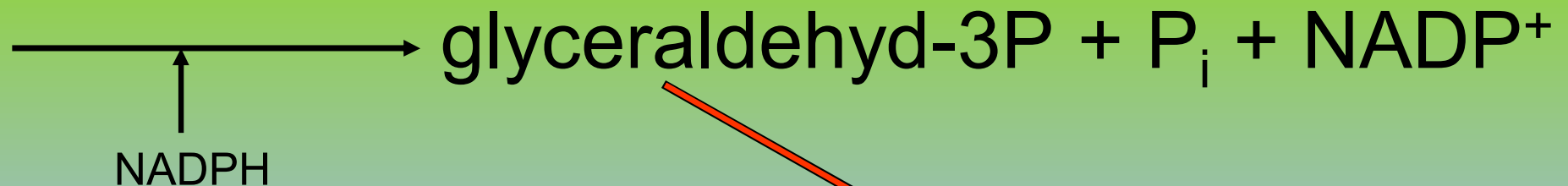
Klíčové reakce Calvinova cyklu

a/ reakce enzymu ribulóza-1,5-diP karboxylázy



Klíčové reakce Calvinova cyklu

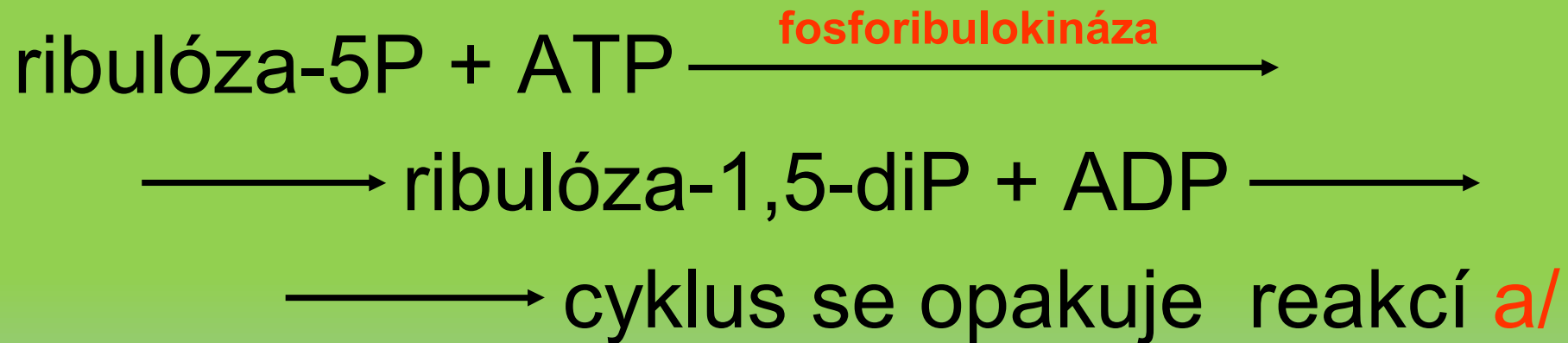
b/ konverze PGA na glycerinaldehyd-3fosfát



na syntézu

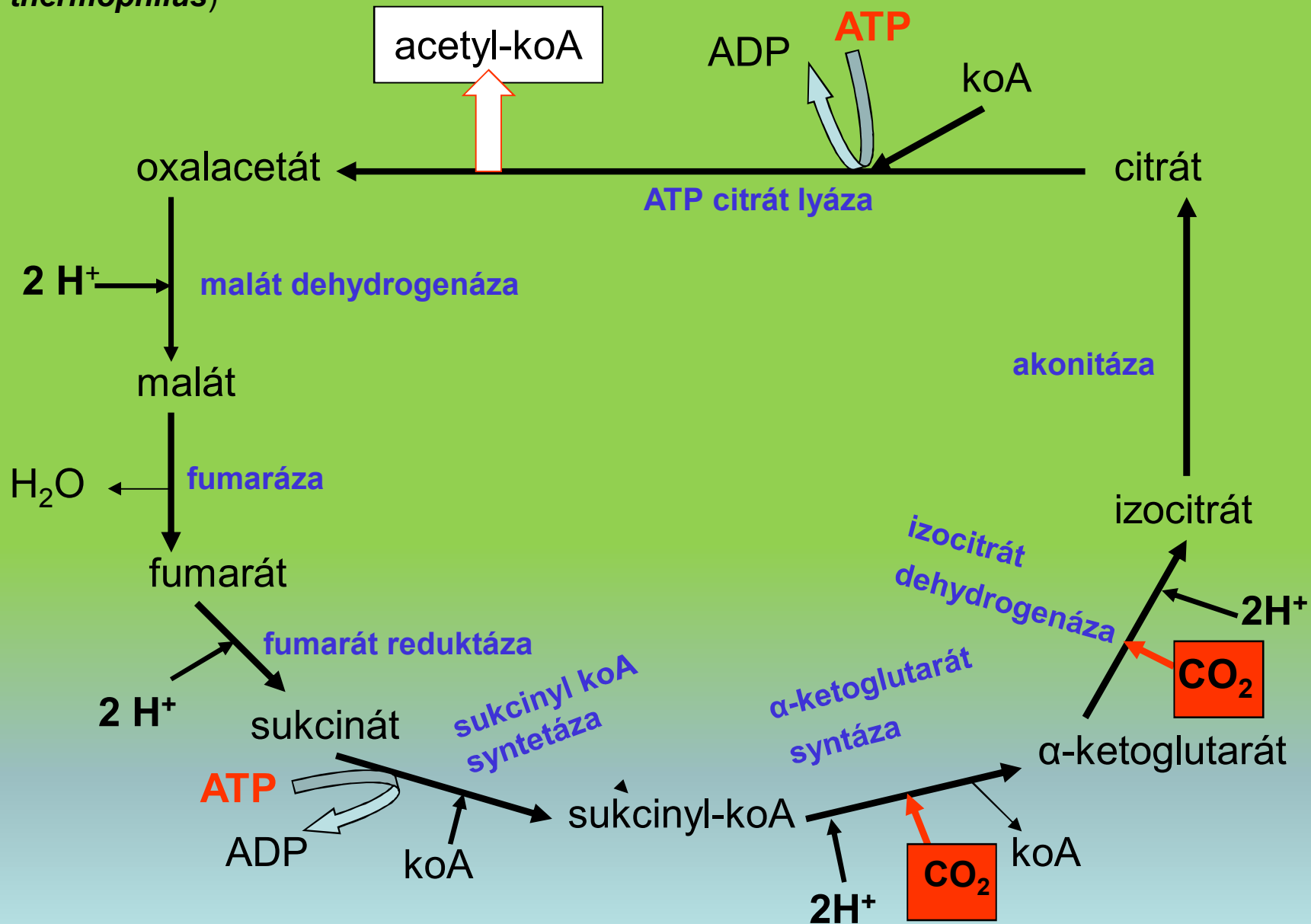
Klíčové reakce Calvinova cyklu

c/ konverze ribulóza-5P na ribulóza-1,5-diP
(akceptor CO₂)



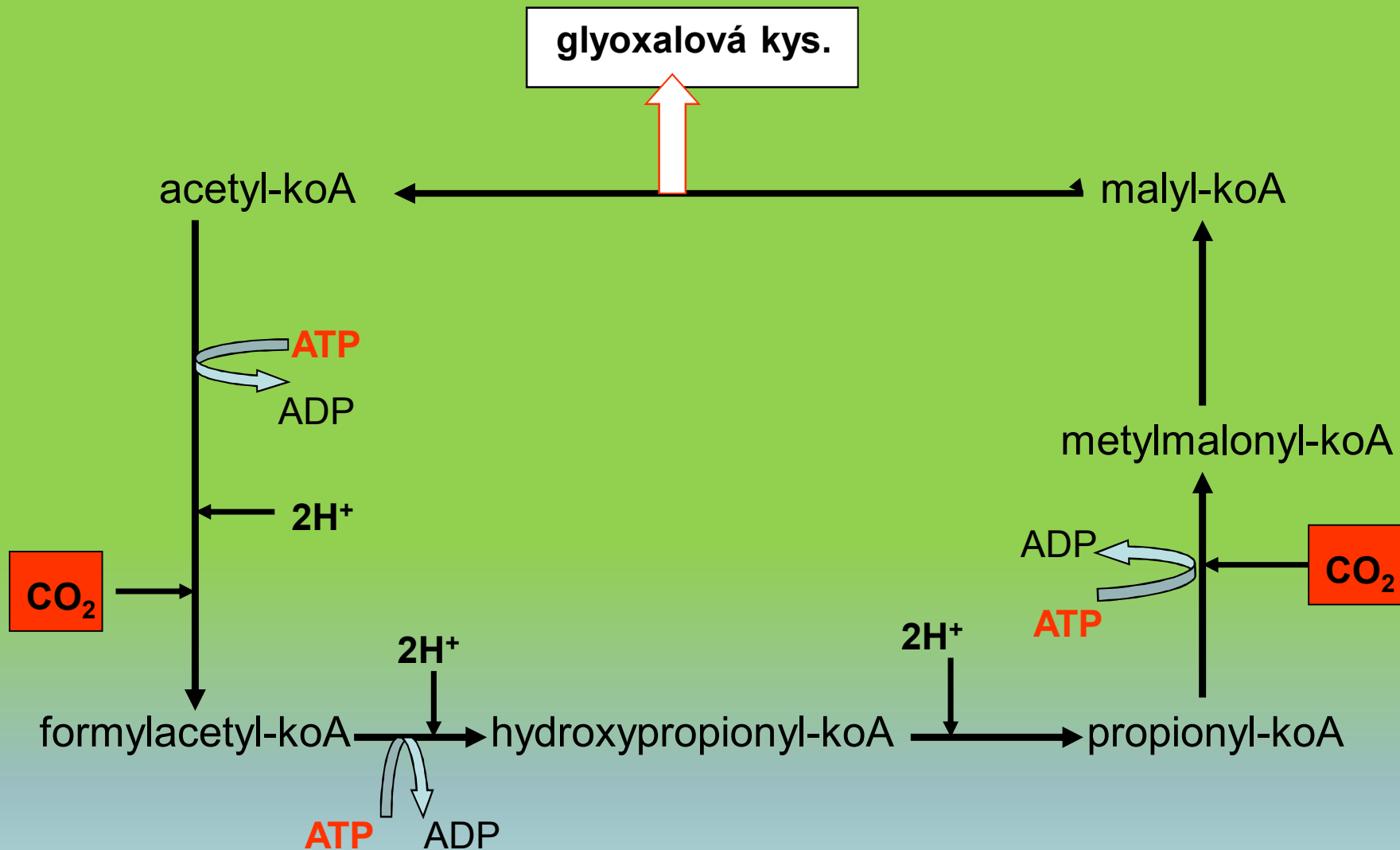
Nová dráha autotrofní fixace CO₂

Chlorobium limicola, *Hydrogenobacter thermophilus*, *Desulfobacter hydrogenophilus*, některé desulfurikační bakterie (*Desulfobacter hydrogenophilus*), termofilní oxidující vodík (*Hydrogenobacter thermophilus*)



Nová dráha autotrofní fixace CO₂

3-hydroxypropionátová dráha



Organizmus: *Chloroflexus*

Chloroflexus je anoxigenní vláknitá bakterie patřící podle 16s rRNA k zeleným nesírným bakteriím (některé však mohou využívat sulfid). Většina kmenů je fotoheterotrofní, ale některé kmeny rostou autotrofně (zdroj elektronů – H₂ nebo H₂S).

Chloroflexus aurantiacus je fakultativně anaerobní a uskutečňuje anoxigenní fotosyntézu způsobem, který není charakteristický ani pro zelené sírné ani pro purpurové bakterie. Typickou drahou pro fixaci CO₂ je 3-hydroxypropionátová dráha - **nemá RubisCO**. Chlorosomy mohou obsahovat bakteriochlorofyl a nebo c. Fotochemické reakční centrum je feofytin-chinonového typu.

Reduktivní Ac-koA dráha pro autotrofní fixaci CO₂

Organizmy:

homoacetogenní bakterie

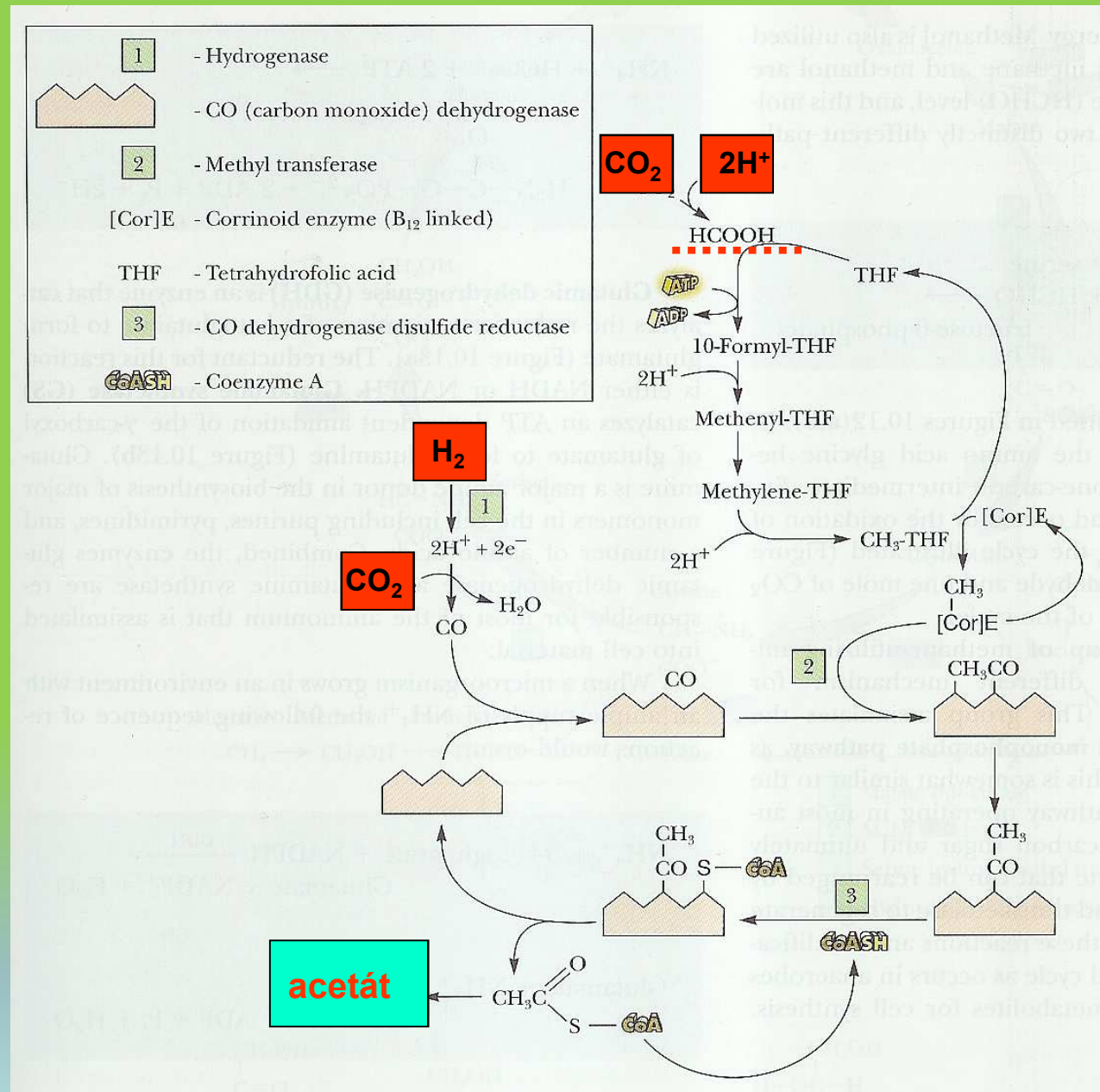
(*Clostridium thermoaceticum*)

většina desulfurikačních bakterií

(*Desulfobacterium autotrophicum*)

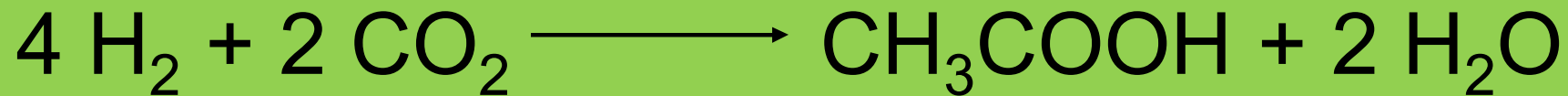
některé metanogenní Archae

(*Methanosarcina barkeri*)



Tvorba acetátu pro biosyntézu

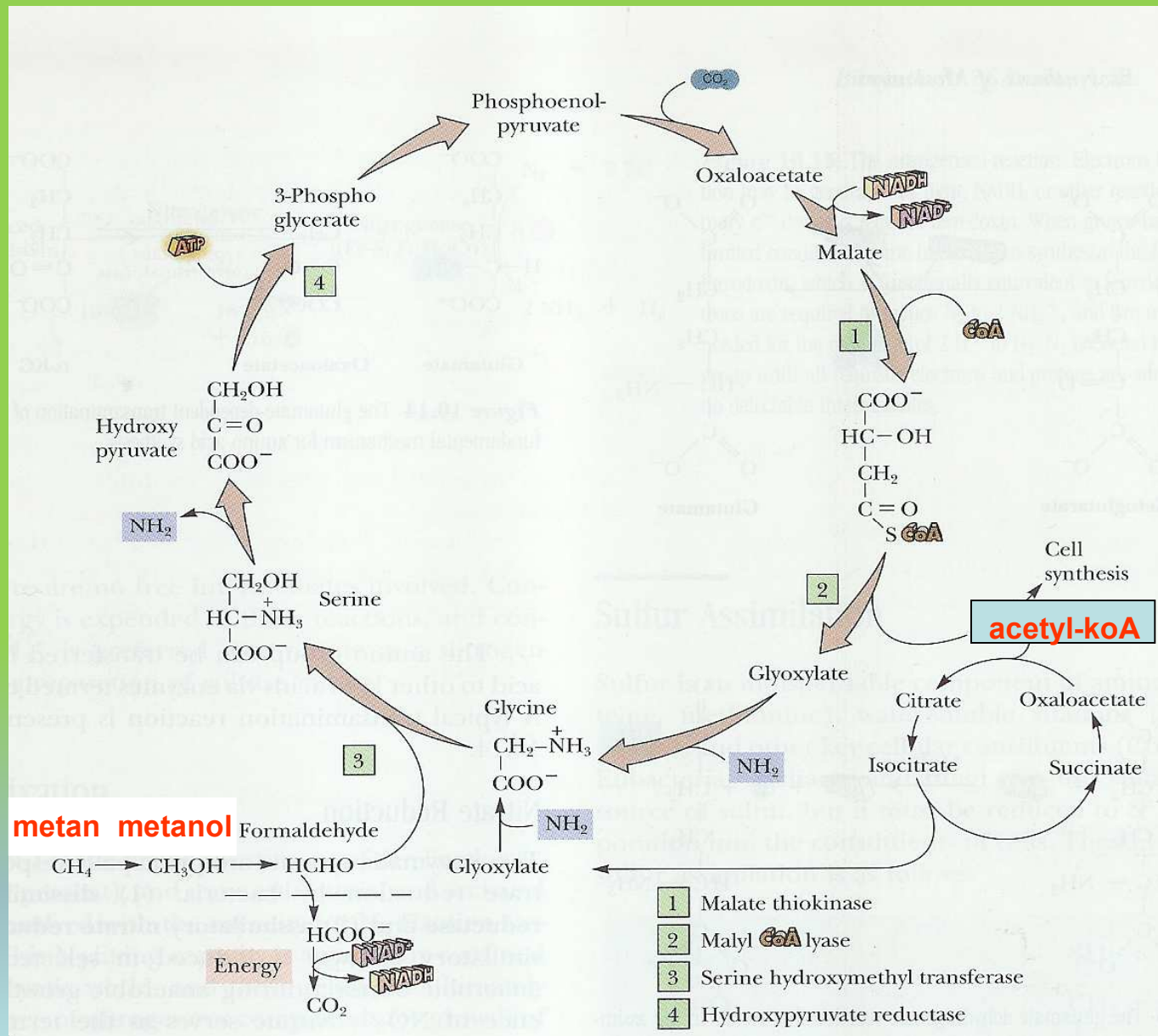
- Některé bakterie produkují acetát jako hlavní produkt při anaerobní respiraci – **acetogenní bakterie**



- H_2 je pro ně **zdroj** energie

Metan - jako zdroj uhlíku

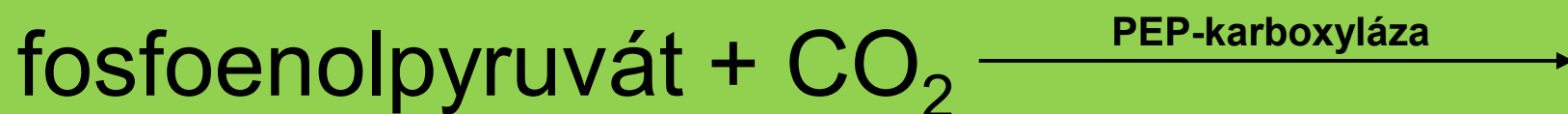
Serinová dráha pro asimilaci 1-uhlíkatého substrátu



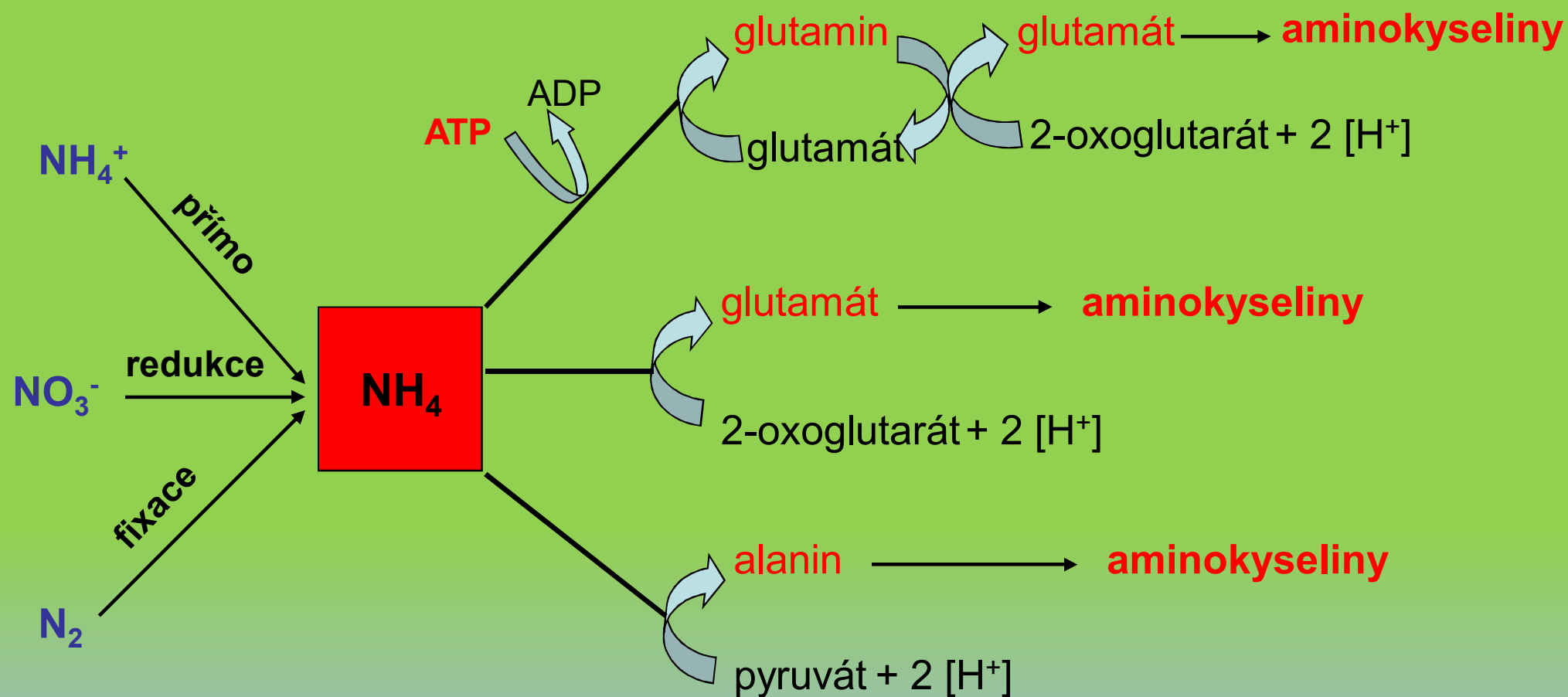
Metan nebo metanol
slouží současně
i jako zdroj energie

Fixace CO₂ heterotrofy

- Doplnování intermediátů Krebsova cyklu (anaplerotické reakce)

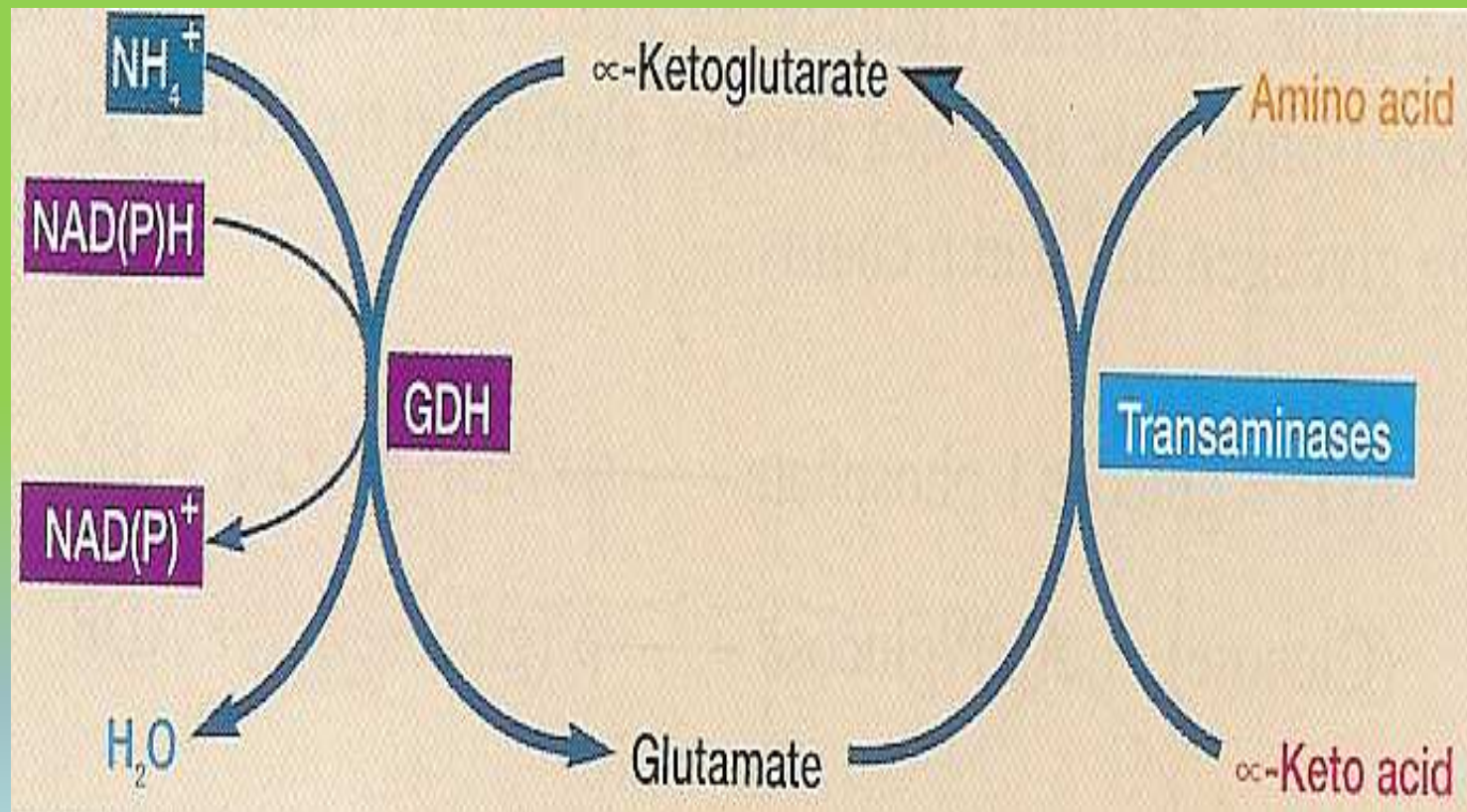


Asimilace dusíku



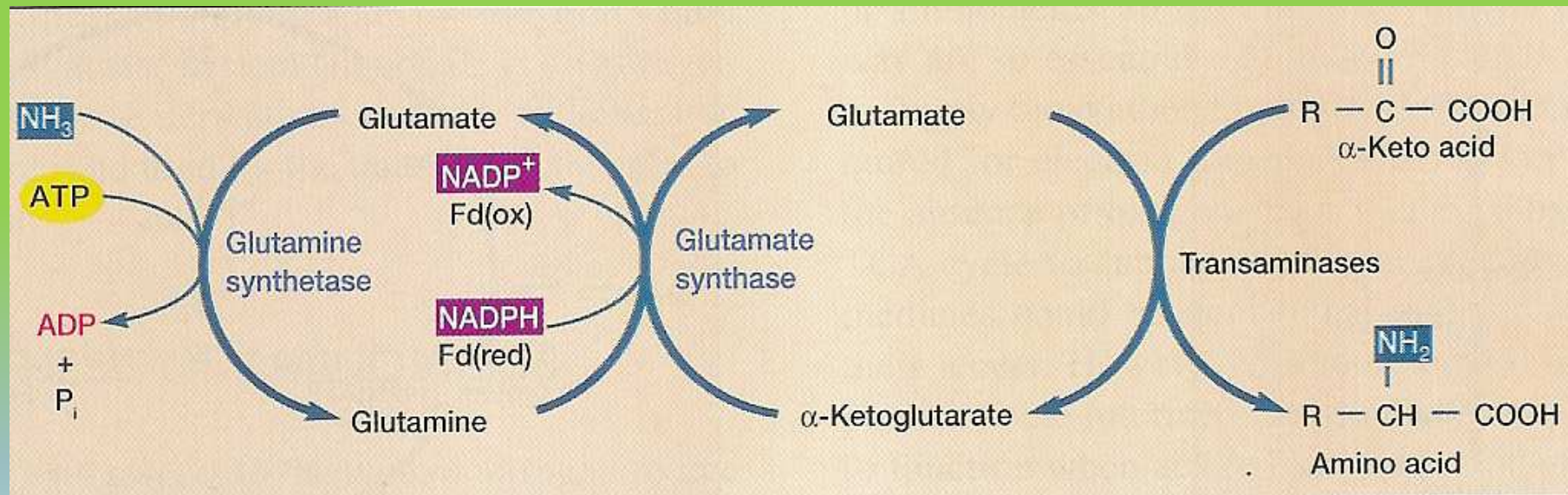
Asimilace dusíku

- Asimilace NH_4^+ v přítomnosti glutamát dehydrogenázy (GDH) a transaminázy



Asimilace dusíku

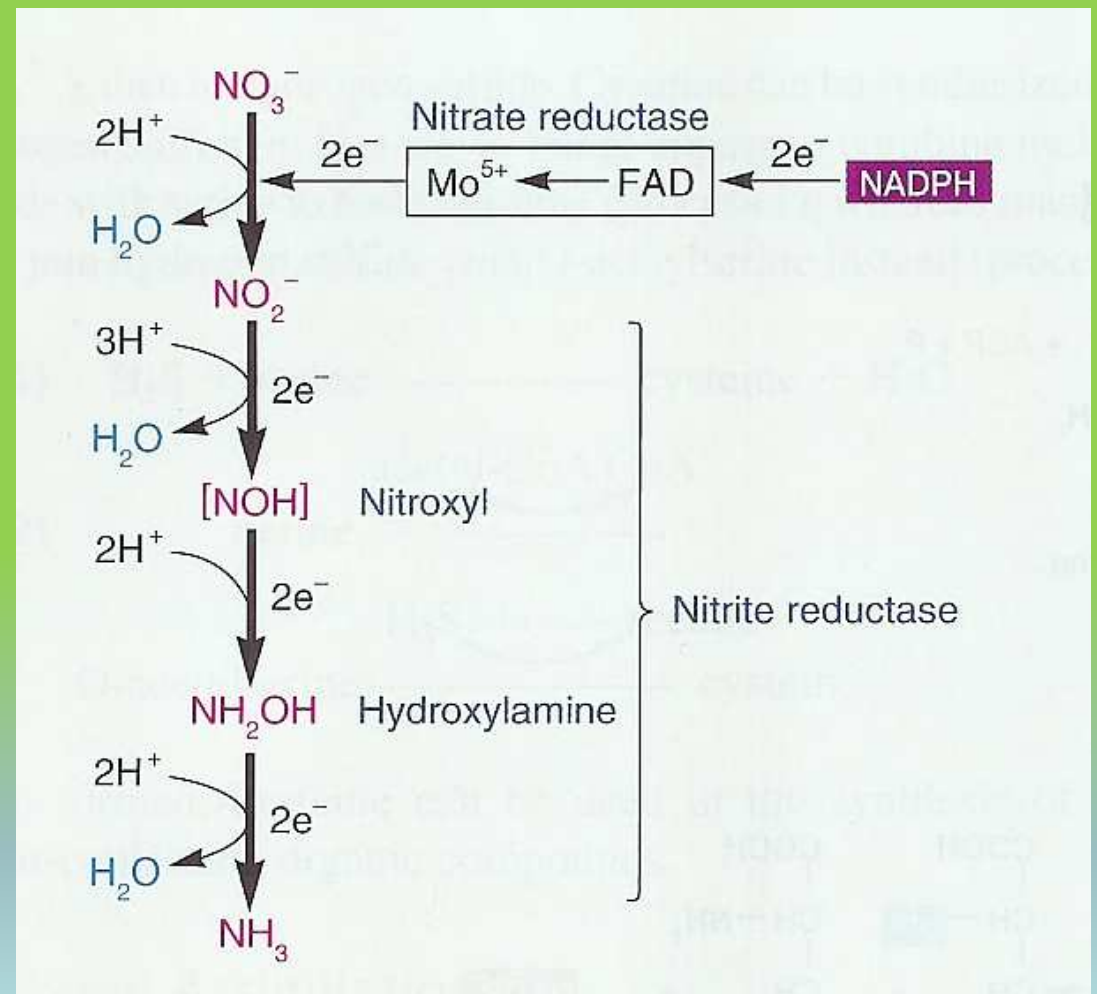
- Inkorporace NH_4^+ v přítomnosti glutamin syntetázy a glutamát syntázy (obvykle při malých koncentracích amoniaku)



Asimilace dusíku

- Redukce dusičnanů – **asimilační redukce nitrátů** (neprobíhá však stejně jako redukce nitrátů při anaerobní respiraci)

Inkorporace nevyžaduje dodání energie probíhá u bakterií, řas a hub



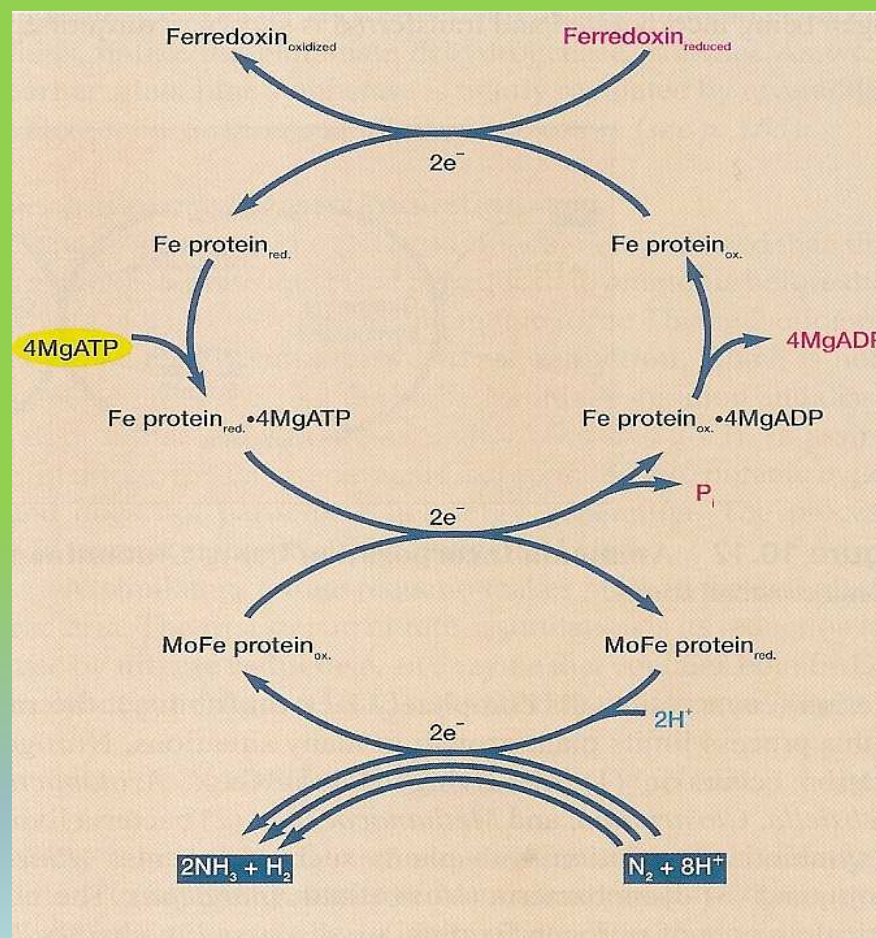
Asimilace dusíku

- Redukce N_2 (fixace molekulového dusíku) **nitrogenázou**

Dvě hlavní komponenty:

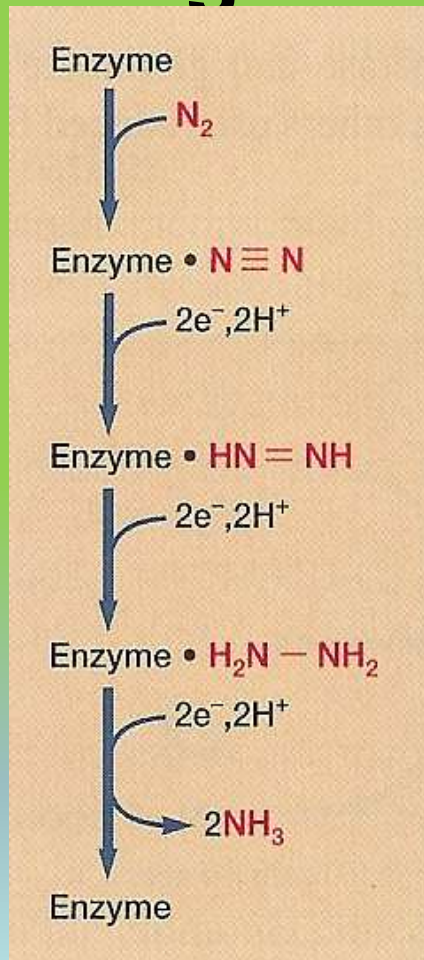
MoFe protein (2 atomy Mo a 28-32 atomů Fe)

Fe-S protein (4 atomy Fe)



Asimilace dusíku

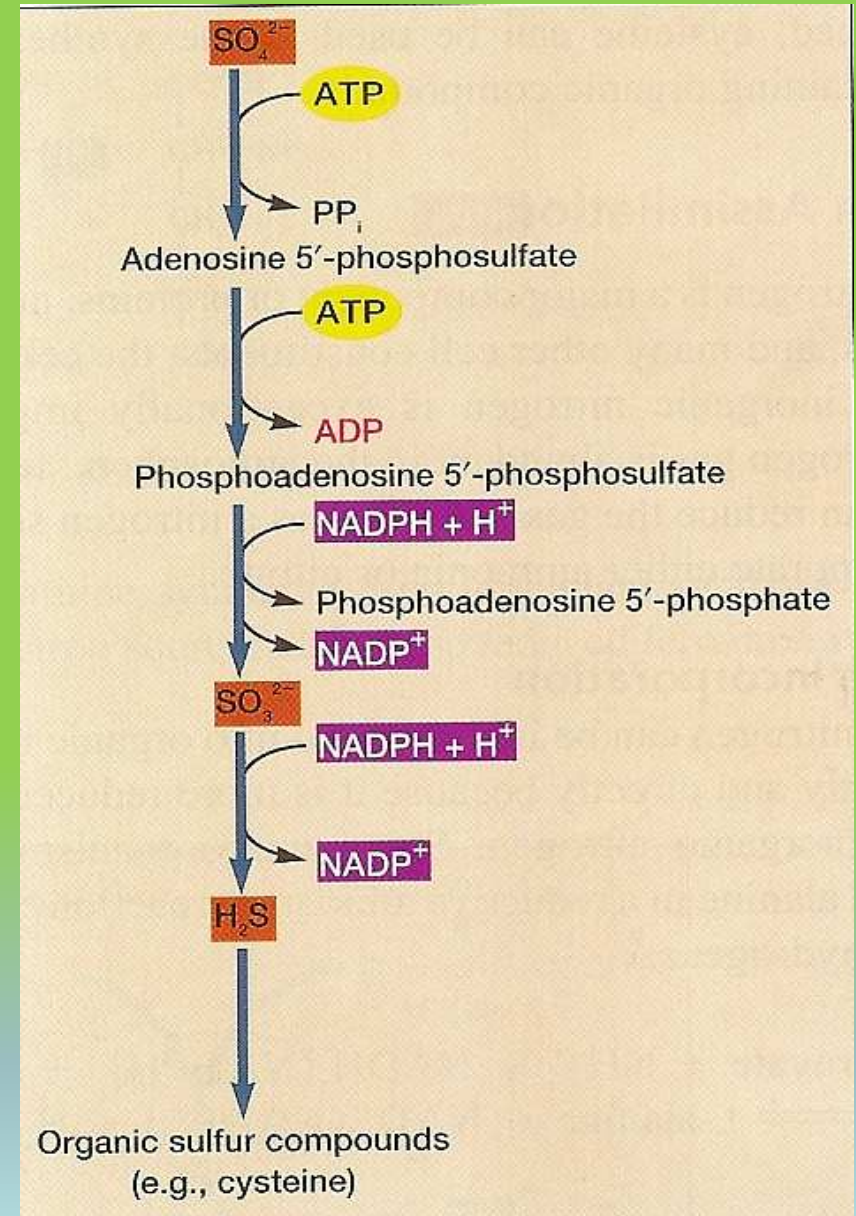
- Redukce N_2 (fixace molekulového dusíku) **nitrogenázou**



Nitrogenáza může redukovat látky obsahující trojnou vazbu – acetylen, kyanid, azid

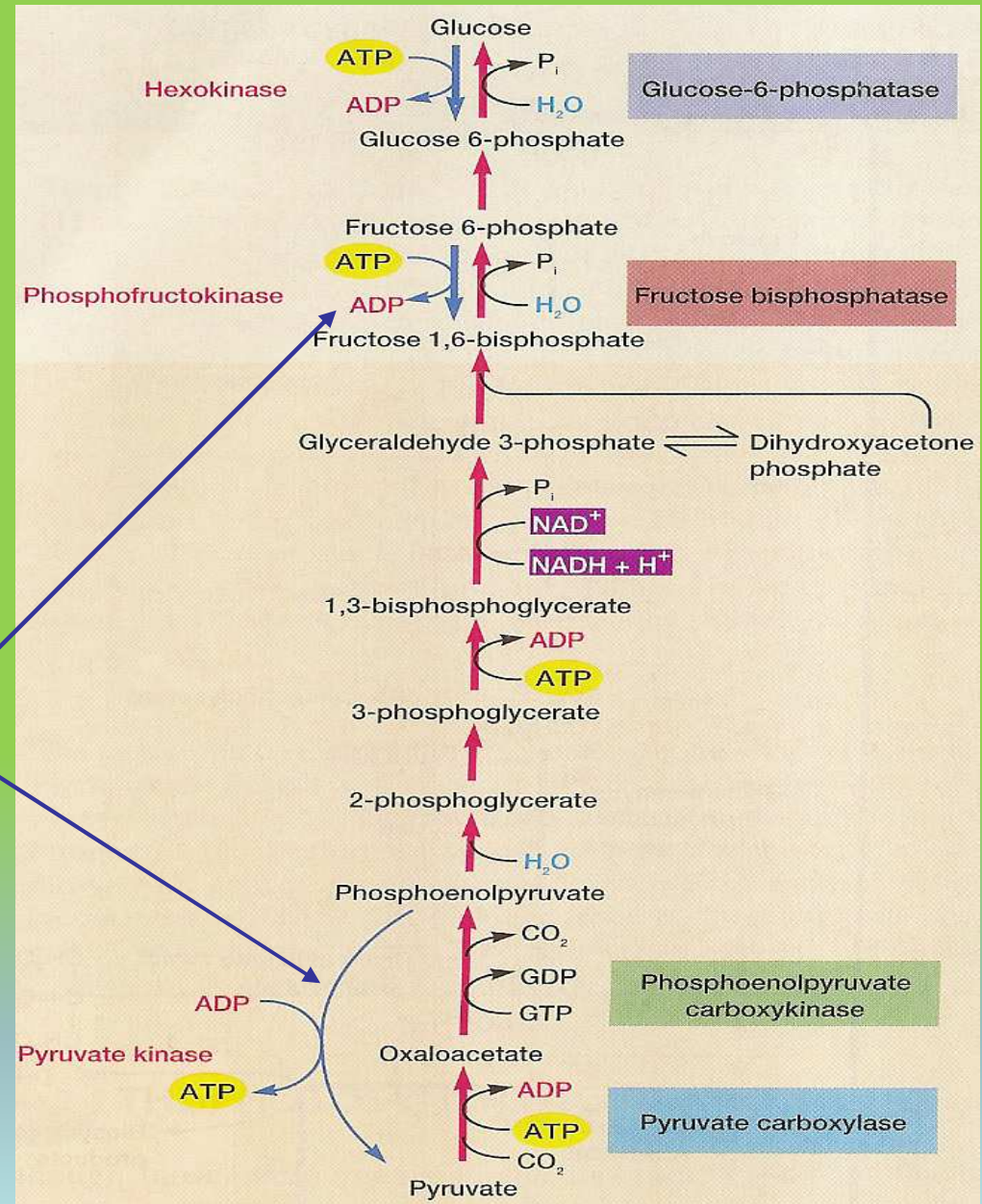
Asimilace síry

- **Asimilační redukce síranů** (rozdíl od disimilační redukce síranů – anaerobní respirace) za účasti koenzymu A a biotinu



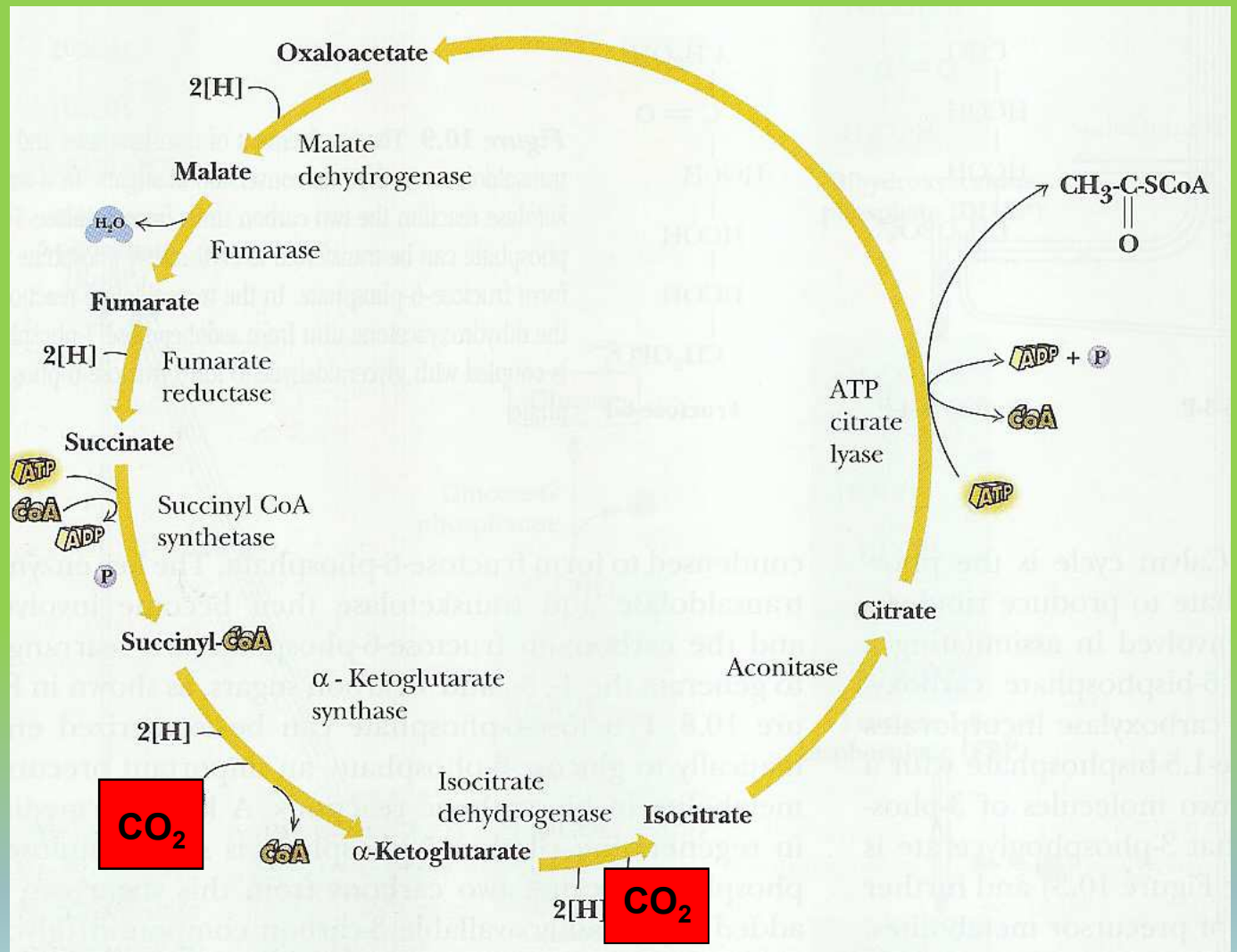
Syntéza monosacharidů

- **Glukoneogeneze** je využívána většinou mikroorganismů
- Jde o obrácenou glykolýzu (modré šipky naznačují průběh glykolýzy)

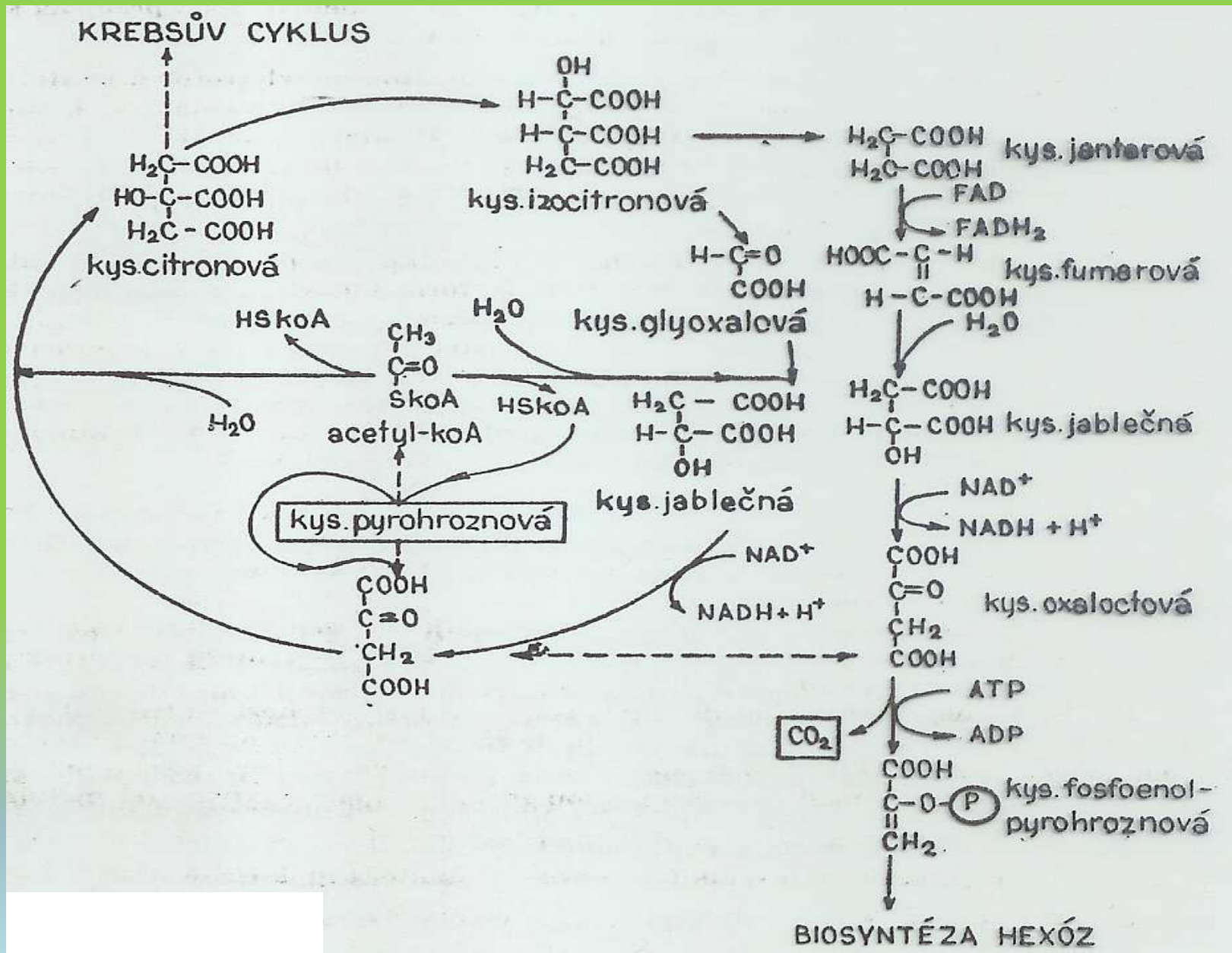


Syntéza monosacharidů

- Reduktivní cyklus trikarbonových kyselin

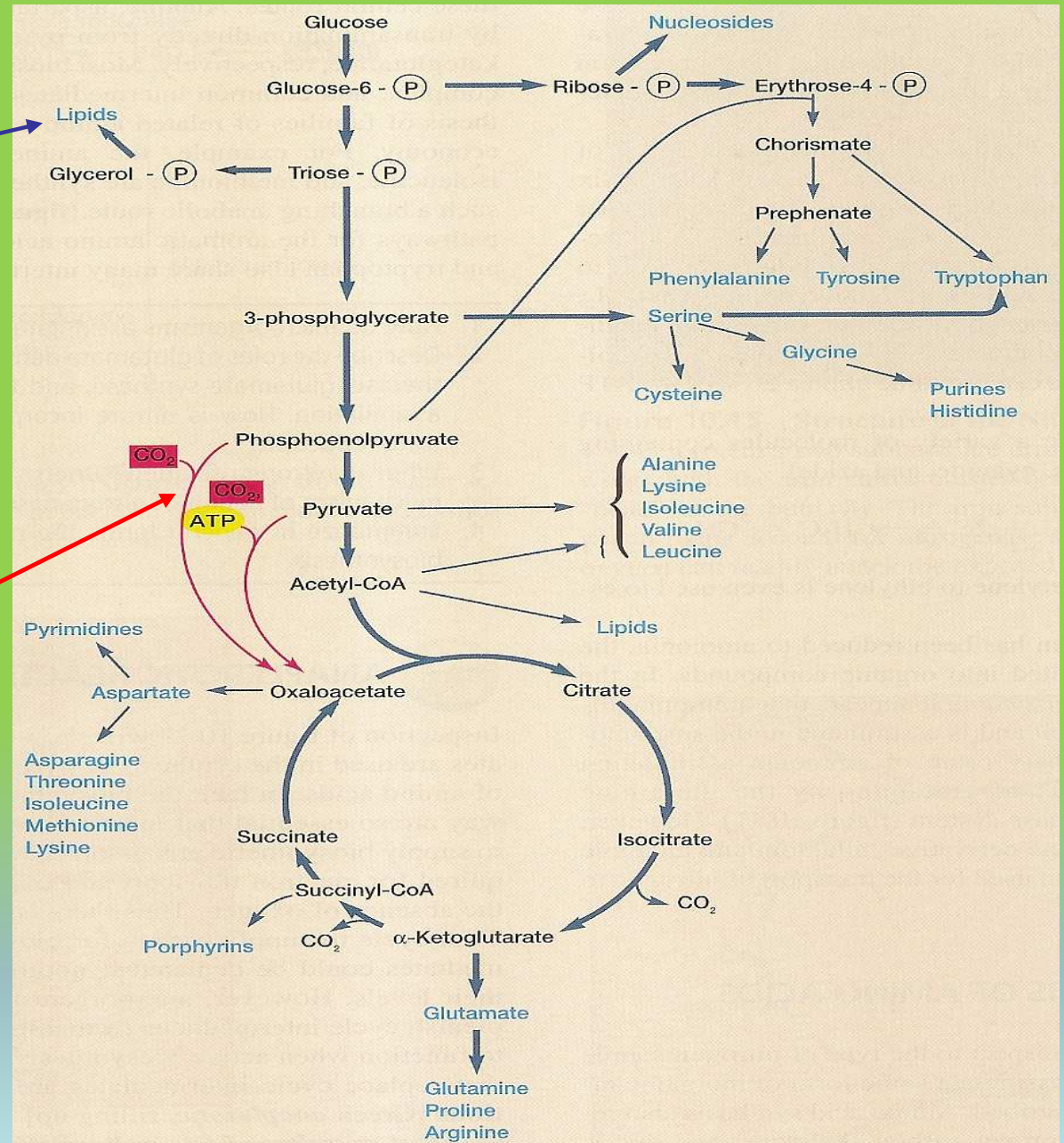


Biosyntéza hexózu



Biosyntéza aminokyselin

- Biosyntetické produkty jsou odvozeny z amfibolických drah
- Anaplerotické fixace CO_2



Syntéza nasycených mastných kyselin se sudým počtem uhlíků

Syntéza vychází ze dvou acyl-koA.

-jeden je karboxylován za účasti

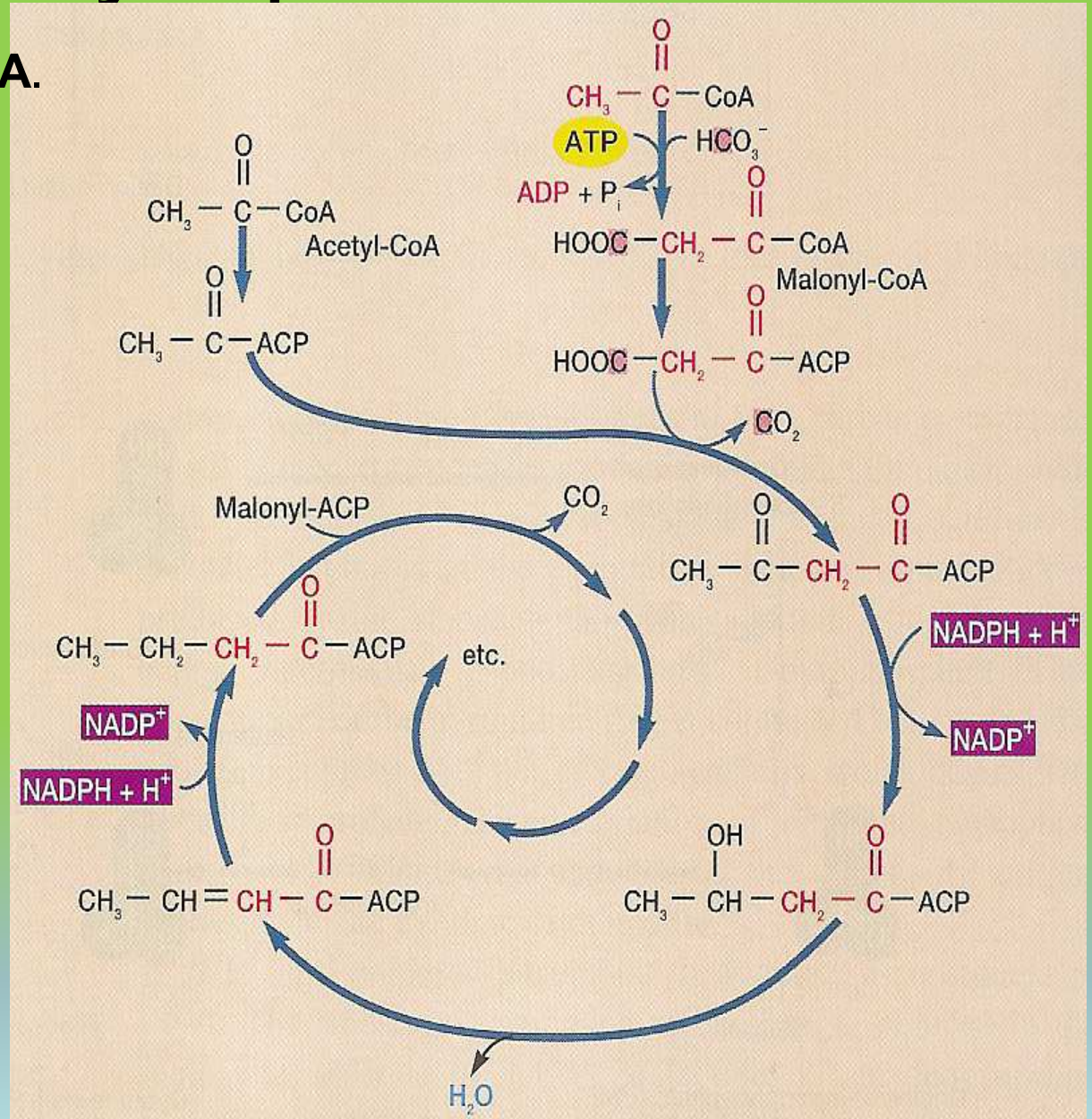
ATP a vzniká malonyl-koA

-Druhý reaguje s ACP

(acyl přenášející protein)

– acetyl se váže na SH ACP

karboxylovou skupinou

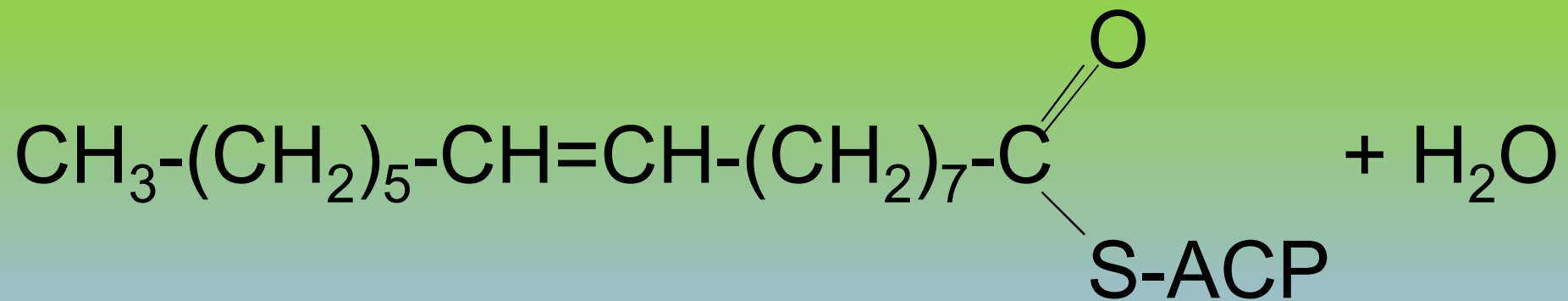
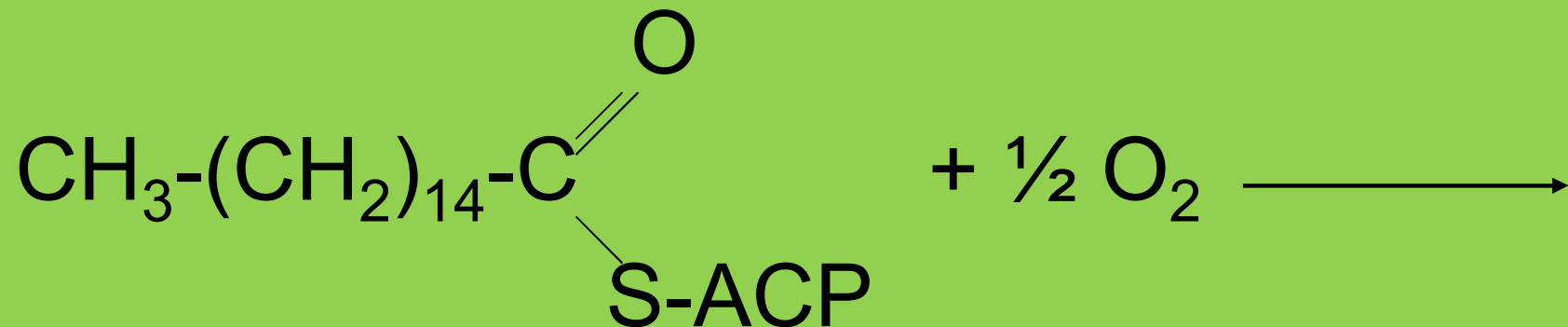


Syntéza nasycených mastných kyselin s lichým počtem uhlíků

- Syntéza se začíná místo malonyl-koA
 - propionyl-koA
 - butyryl-koA
 - izovaleryl-koA
- Další kroky jsou shodné jako u syntézy mastných kyselin se sudým počtem uhlíků (prodlužování řetězce o acetyl-koA, hydrogenace, dehydratace,)

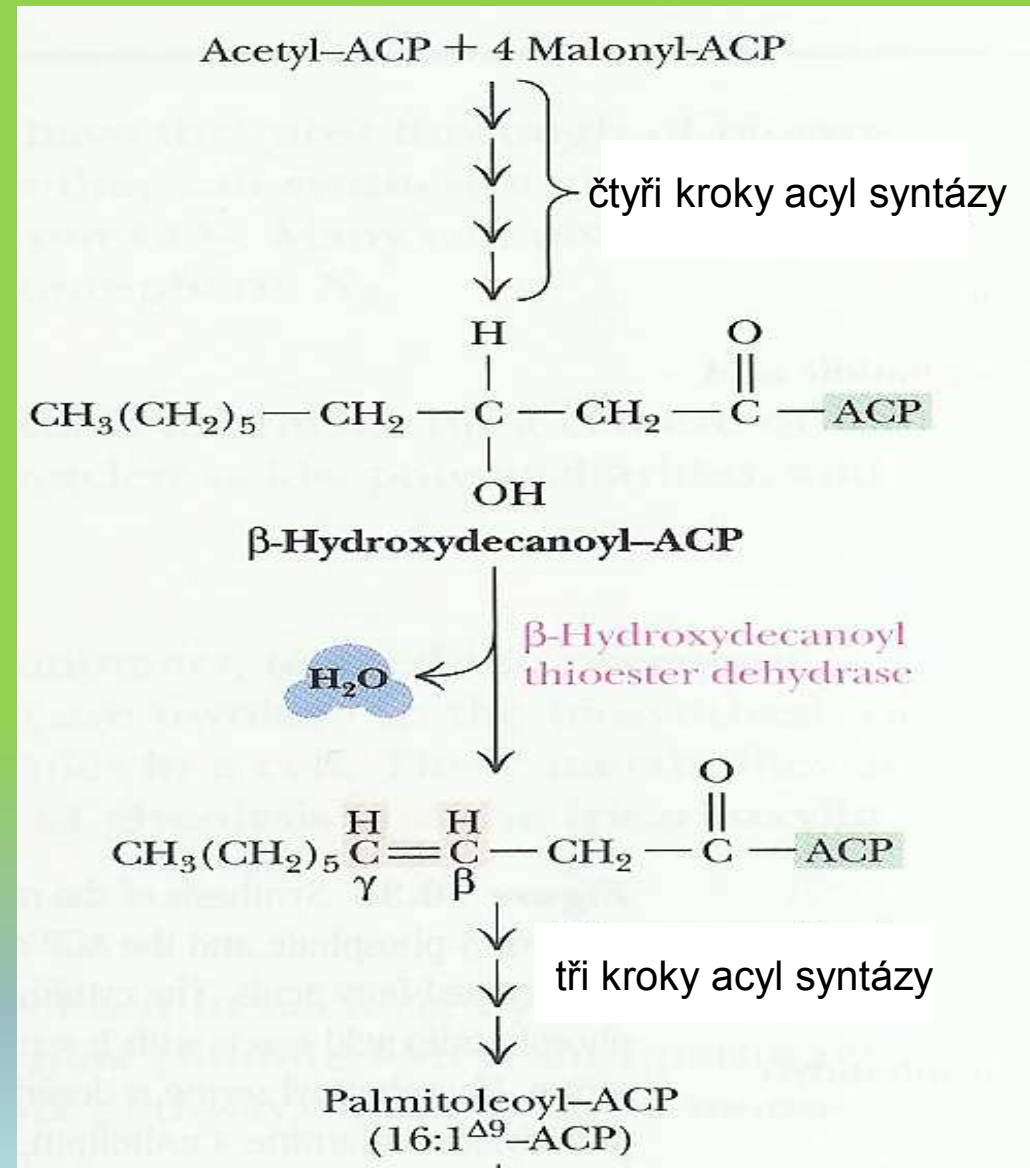
Syntéza mastných kyselin s jednou dvojnou vazbou

- Za **aerobních podmínkách** enzymovou desaturací nasyntetizované mastné kyseliny

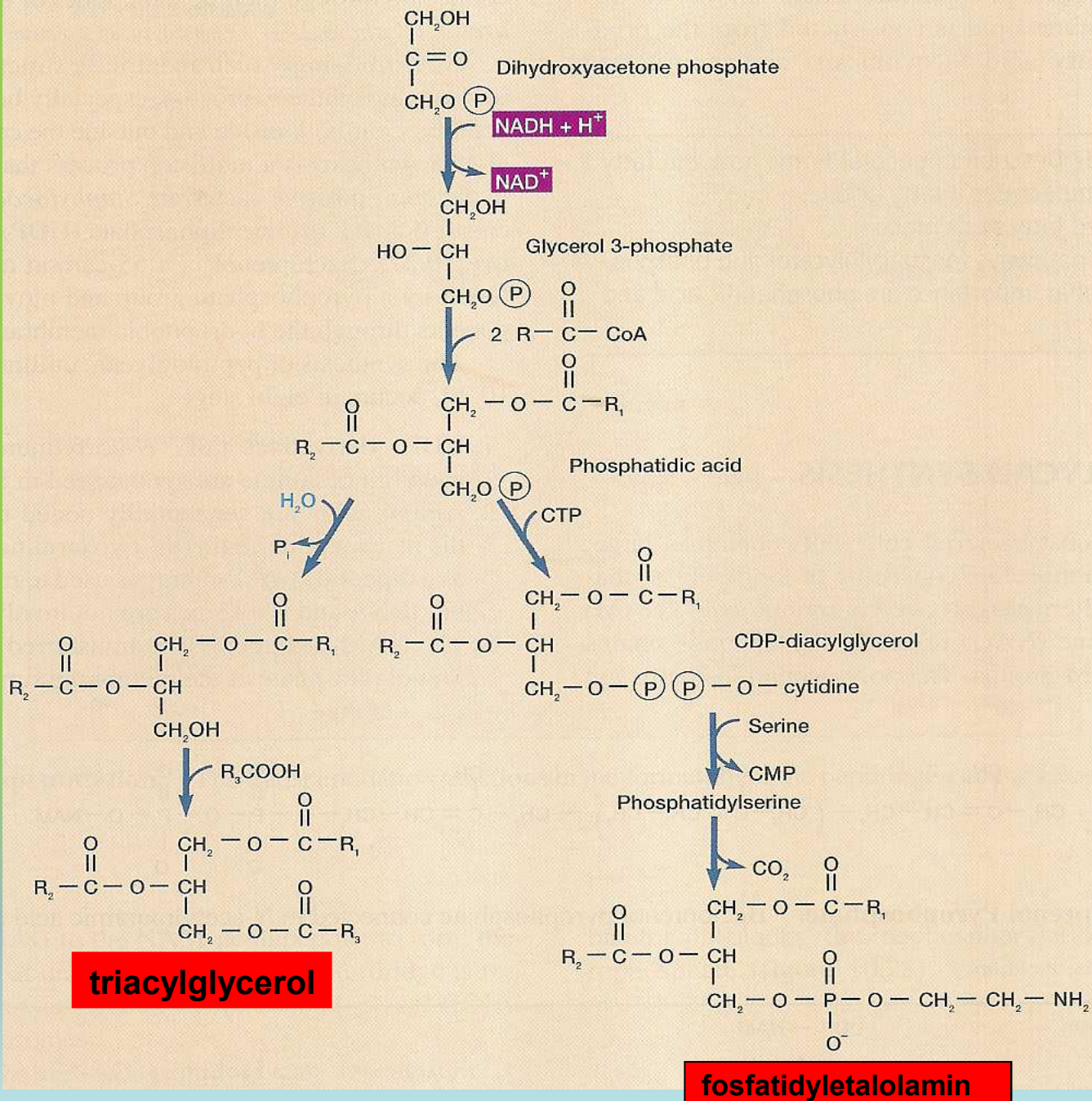


Syntéza mastných kyselin s jednou dvojnou vazbou

- Za **anaerobní podmínek** – dvojná vazba po dehydrataci zůstane zachována



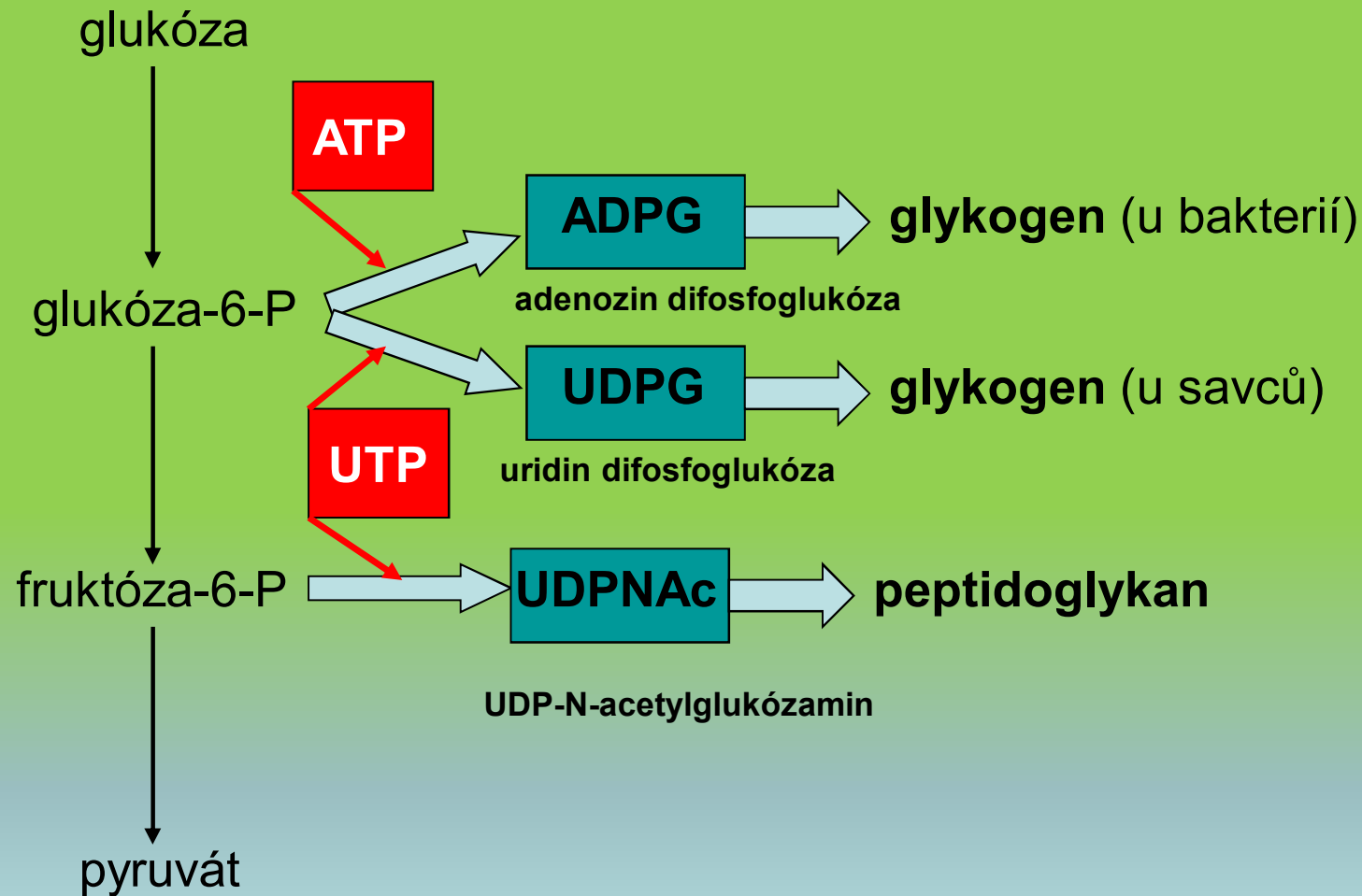
Syntéza lipidů a fosfolipidů



CDP – cytidin difosfát přenášející protein

Syntéza polysacharidů

glykolýza



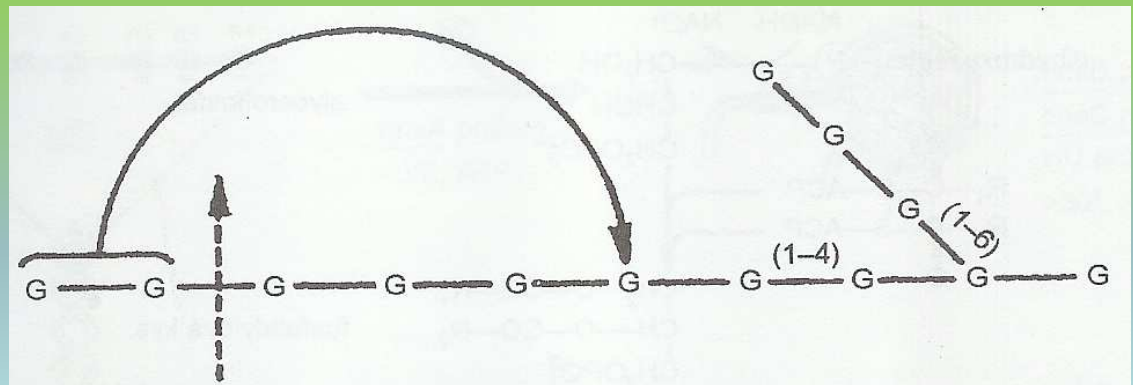
Syntéza polysacharidů

- Syntéza glykogenu



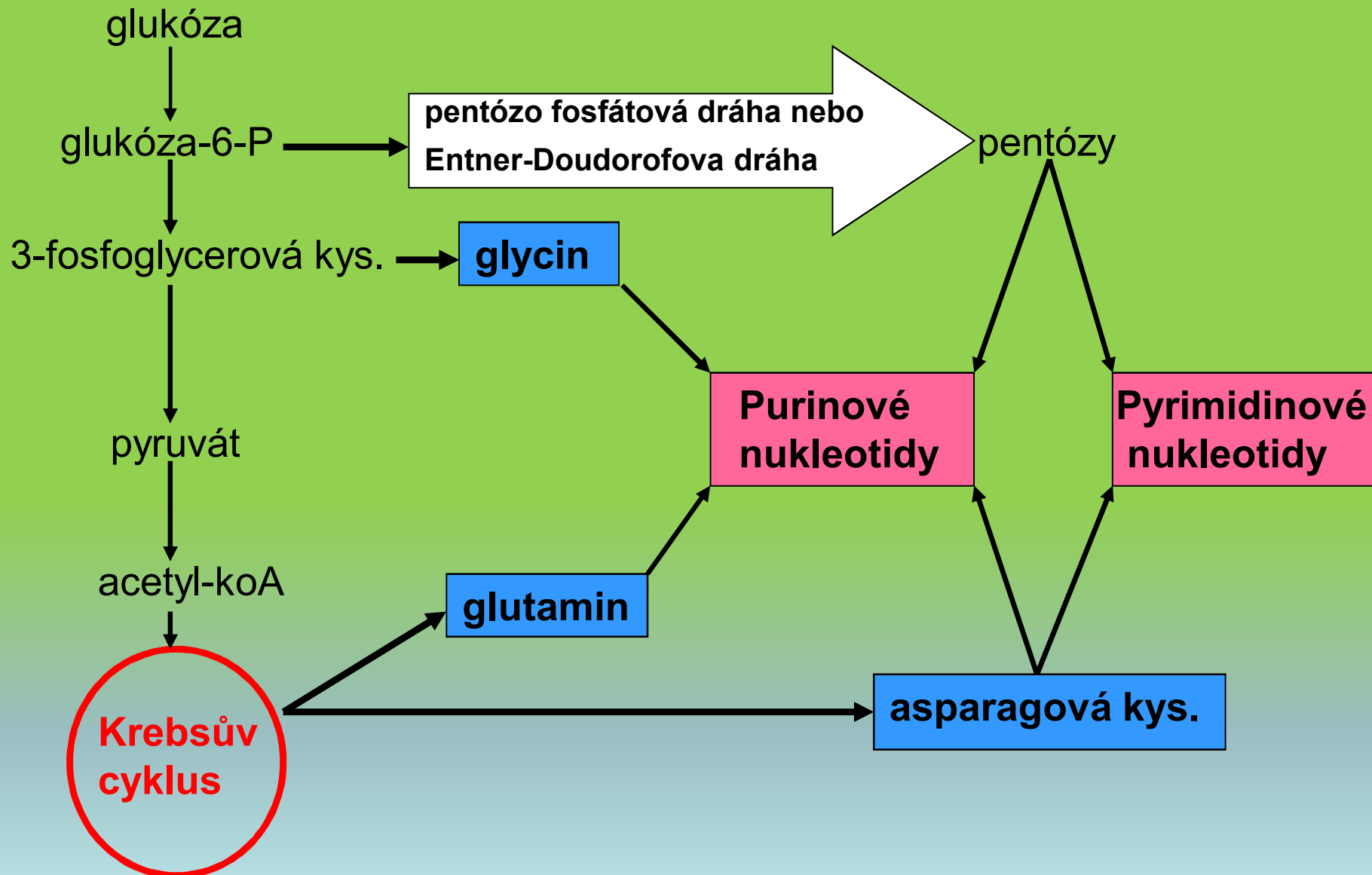
- Syntéza glykogenu vyžaduje přítomnost existující molekuly glykogenu (nejméně 4 monomery)

- Za větvení je zodpovědný specifický větvicí enzym

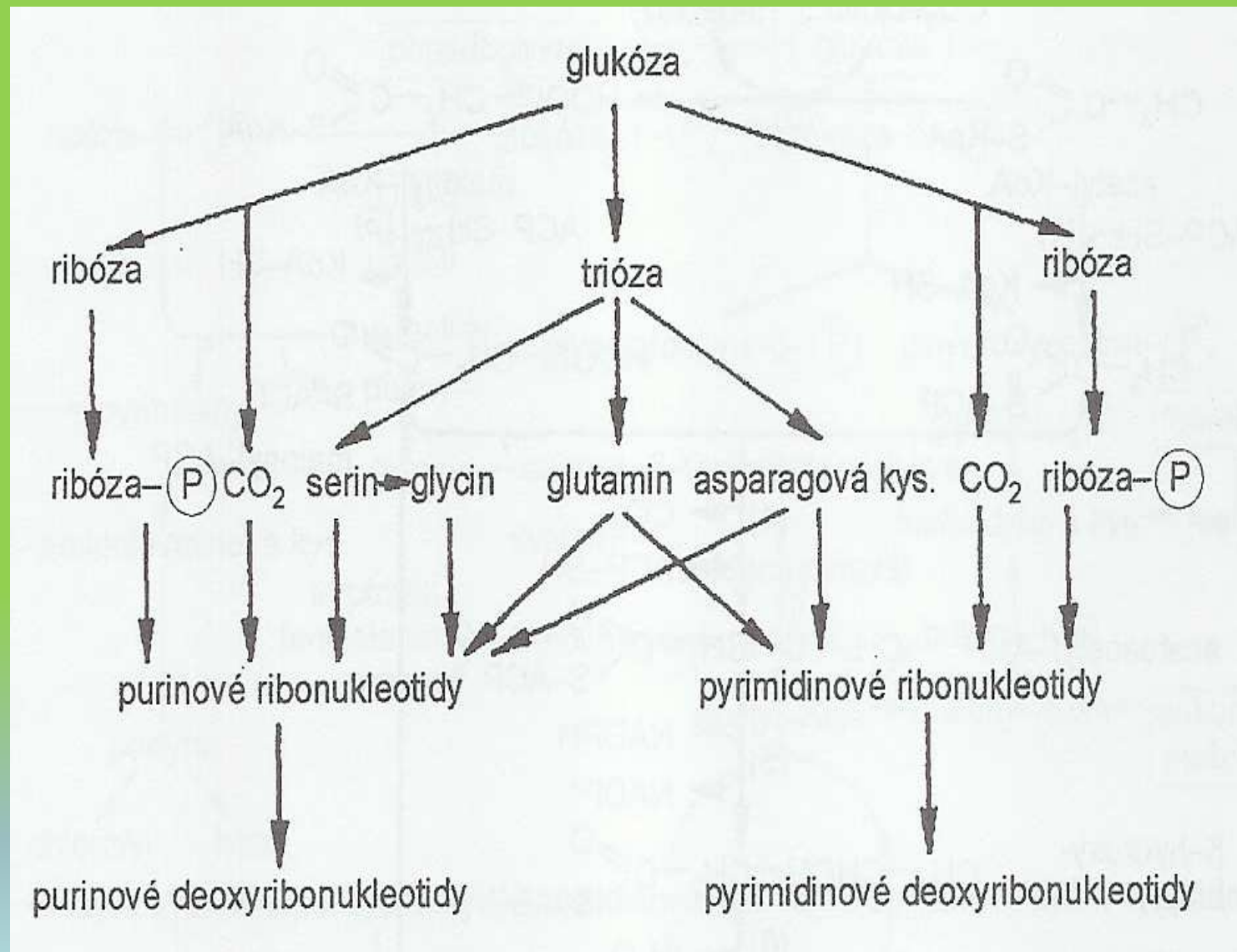


Syntéza purinů a pyrimidinů

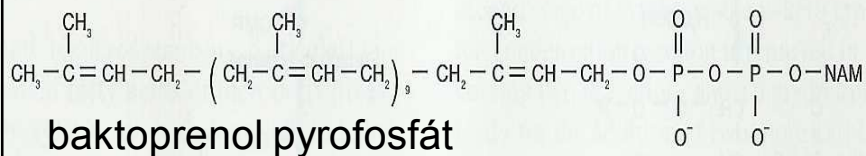
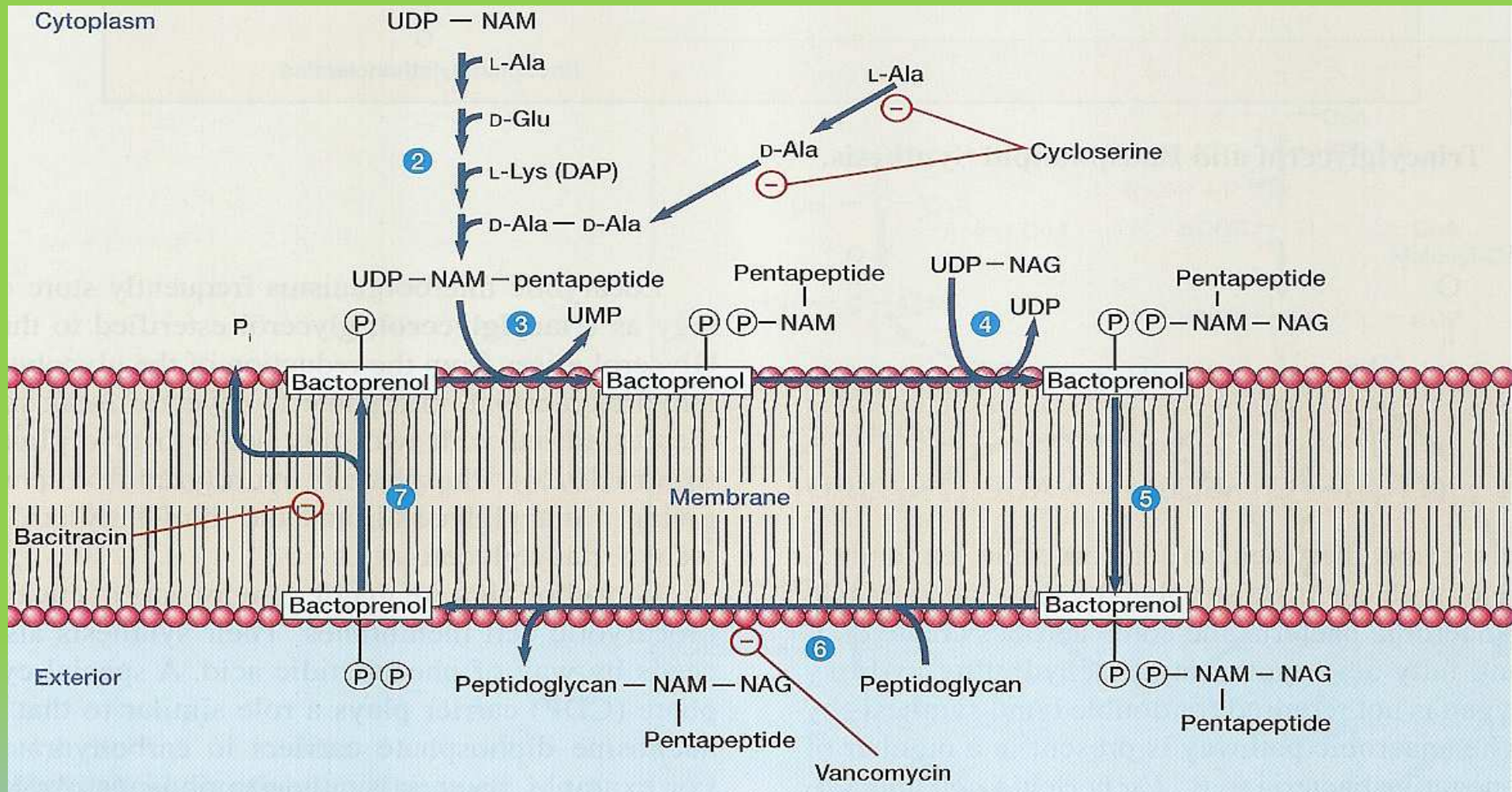
Glykolýza



Syntéza purinů a pyrimidinů



Syntéza peptidoglykanu



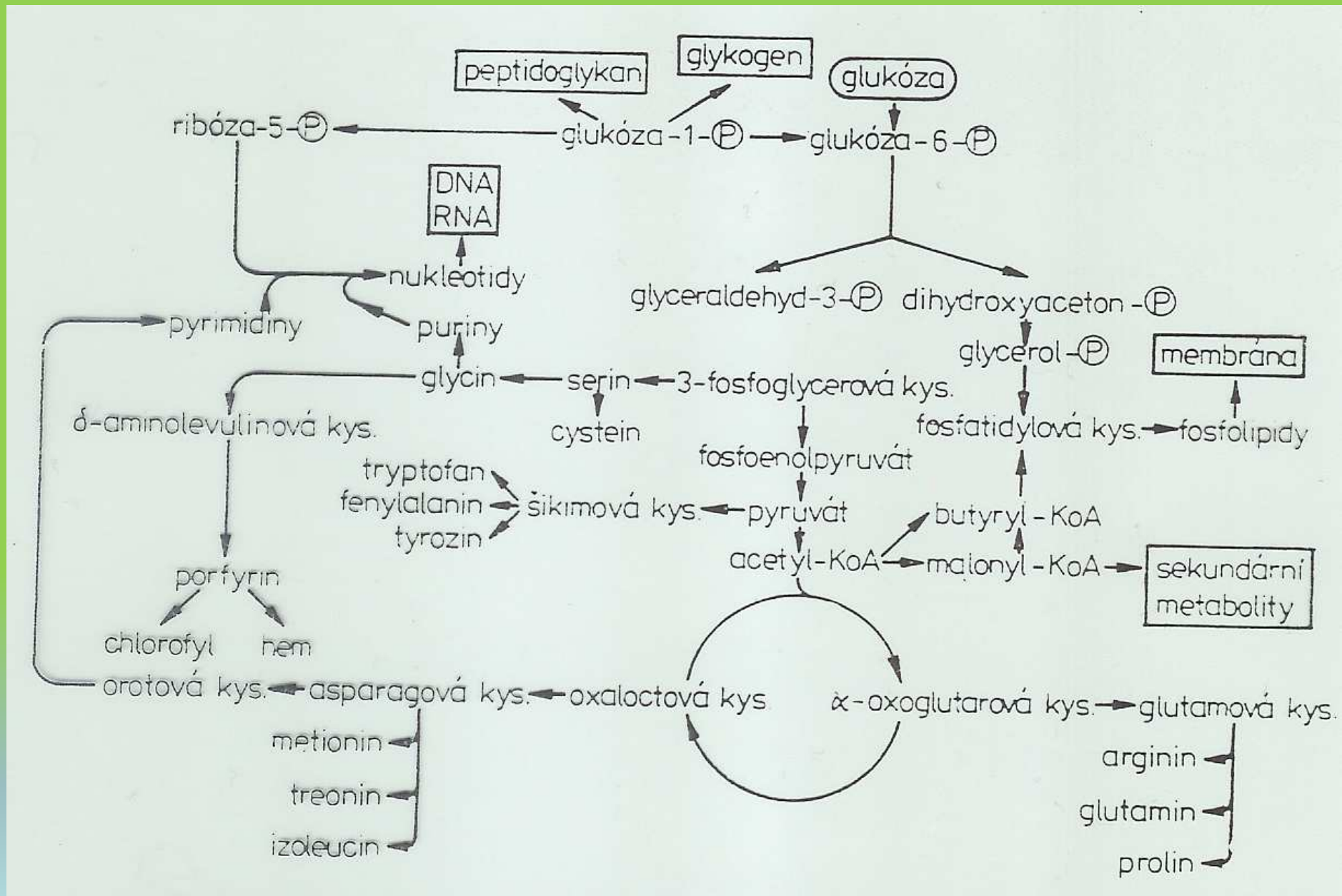
Syntéza peptidoglykanu

1. UDP deriváty *N*-acetylmuramové kys. a *N*-acetylglukózáminu jsou syntetizovány v cytoplazmě
2. Aminokyseliny jsou “přidávány“ k UDP- NAM do vytvoření tetrapeptidu (terminální D-ala je přidáván jako dipeptid). K vytvoření peptidické vazby je nutné ATP. Není přítomna mRNA ani ribozómy
3. NAM-pentapeptid je přenesen z UDP k baktoprenol pyrofosfátu na povrchu membrány
4. UDP-NAG je přidán k NAM-pentapeptidu (pokud je přítomný pentaglycinový můstek, jsou glyciny přidávány specifickou glycyl-tRNA bez přítomnosti ribozómu)

Syntéza peptidoglykanu

5. NAM-NAG pentapeptid je přenesen na vnější stranu membrány baktoprenol pyrofosfátem
 6. Přenesená peptidoglykanová jednotka je připojena ke konci rostoucího řetězce
 7. Baktoprenolový nosič se vrací na vnitřní stranu membrány jako baktoprenol fosfát a cyklus se opakuje
- Syntéza peptidoglykanu je ovlivňována řadou antibiotik (cyklkoserin, vankomycin, bacitracin,...)

Shrnutí základních kroků biosyntézy



Regulace metabolismu

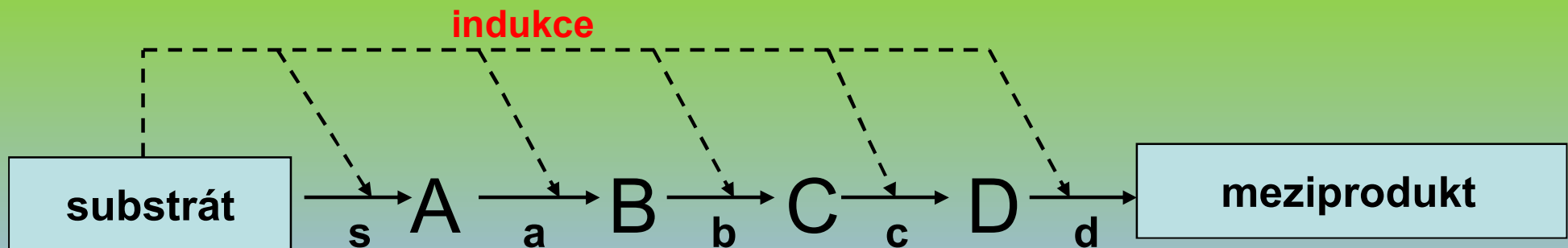
Regulace metabolismu

- Regulační systémy buňky
 - **Regulace syntézy enzymů** – zajistit odpovídající poměr mezi rychlostí syntézy enzymů a rychlostí syntézy celkové buněčné bílkoviny
 - **Regulace na úrovni aktivity enzymu** – je vlastní pouze klíčovým enzymům metabolismu
- Oba typy regulace ovlivňují “výkonnost” dané metabolické dráhy

Regulace syntézy enzymů

- **Indukce** se uplatňuje především při katabolických procesech

Syntetizovány jsou pouze enzymy podílející se na využívání substrátu a to pouze v případě, že substrát je přítomen



Regulace syntézy enzymů

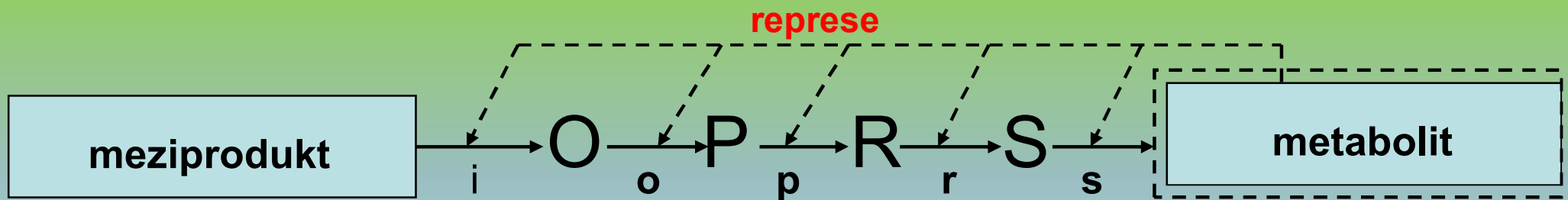
Indukce

- Varianty indukce syntézy inducibilních enzymů
 - syntéza jednotlivých enzymů následně (syntéza následujícího je indukována přítomností předchozího meziproduktu)
 - syntéza všech enzymů dráhy probíhá koordinovaně (substrát vyvolá syntézu všech enzymů dráhy)
 - syntéza enzymů probíhá po etapách (nejprve jsou syntetizovány enzymy první části dráhy a poslední meziprodukt indukuje syntézu následných enzymů)

Regulace syntézy enzymů

- **Represe** – je využívána především v anabolických procesech

Energeticky je výhodné, aby enzym nebyl syntetizovaný v době, kdy je přítomen jeho produkt



Regulace syntézy enzymů

Represe

- Přítomnost konečného produktu v nadlimitní koncentraci, snižuje rychlost syntézy enzymu předchozího kroku nebo všech enzymů dráhy
- **Represe konečným produktem**
- Jestliže je však enzym nutný pro syntézu esenciální struktury buňky bude se syntetizovat nepřetržitě, ale jeho syntéza může být zpomalena

Regulace syntézy enzymů

Represe

- **Katabolická represe** – pokud jsou v prostředí dva substráty. Buňka dává přednost energeticky výhodnějšímu substrátu. Tento substrát potom vyvolá represí enzymů, které jsou nutné pro využívání substrátu druhého (diauxie)

Regulace na úrovni aktivity enzymu

- Katalytická aktivita enzymů se může
 - ~ **zvyšovat** – působením pozitivního efektoru
 - ~ **snižovat** – působením negativního efektoru
 - ~ **při inhibici konečným produktem** – produkt snižuje aktivitu prvního enzymu

