

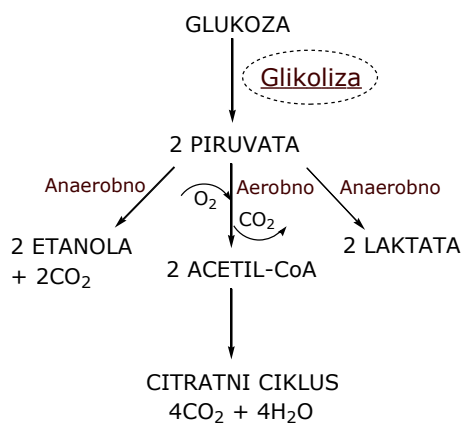


# CIKLUS LIMUNSKKE KISELINE (CLK)

Doc. dr. sc. Dragana Vuk

## Metabolička sudbina piruvata

1. Oksidacijska dekarboksilacija piruvata
2. Ciklus limunske kiseline



## Ciklus limunske kiseline, CLK

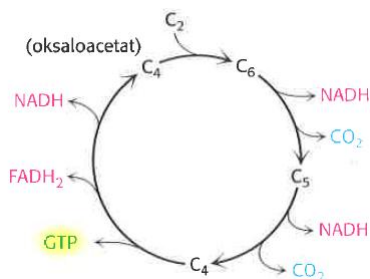
- CLK je konačni opći put oksidacije molekula goriva. Služi i kao izvor građevnih sastojaka za biosinteze
- Većina molekula goriva ulazi u ciklus u obliku acetil-CoA
- Veza glikolize i CLK je oksidacijska dekarboksilacija piruvata, čime se stvara acetil-CoA
- Ta reakcija i ostale reakcije ciklusa odvijaju se u mitohondrijima za razliku od glikolize koja se zbiva u citosolu
- CLK funkcionira samo u aerobnim uvjetima jer su mu potrebni  $\text{NAD}^+$  i  $\text{FAD}$  kao nosači elektrona koji se regeneriraju prijenosom elektrona elektron-transportnim lancem na molekulu kisika, pri čemu se stvara ATP
- Ciklus se kontrolira regulacijom pomoću triju enzima koji u njemu sudjeluju (*citrat sintaza, izocitrat dehidrogenaza, kompleks  $\alpha$ -ketoglutarat dehidrogenaza*)

3

## CLK, Krebs, ciklus trikarbonskih kiselina



1937. god.



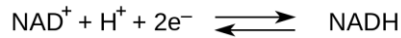
- Složene organske molekule se razgrađuju do C-2 jedinice (acetil-CoA)
- CLK - razgradnja C-2 jedinica-niz reakcijskih stupnjeva u kojima se svaki puta odcijepi 1 molekula  $\text{CO}_2$  i 2 atoma vodika— $\text{NADH} + \text{H}^+$ ,  $\text{FADH}_2$  (molekula se izmjeni tako da može doći do dekarboksilacije)

4

NADH i FADH<sub>2</sub> su glavni prijenosnici elektrona pri oksidaciji molekula goriva

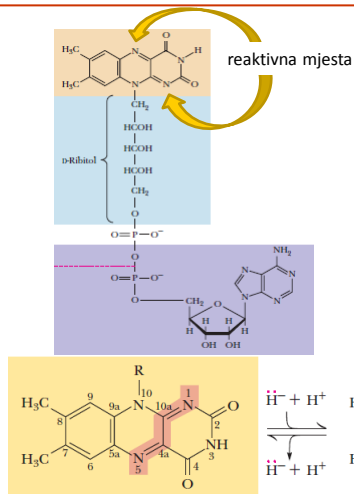


Strukture oksidiranih oblika  
nikotinamidnih derivata  
elektronskih prenositelja:  
NAD<sup>+</sup> - R = H  
NADP<sup>+</sup> - R = PO<sub>3</sub><sup>-</sup>

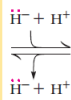
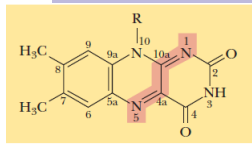


5

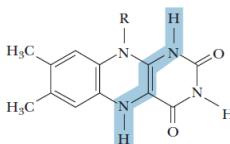
NADH i FADH<sub>2</sub> su glavni prijenosnici elektrona pri oksidaciji molekula goriva



Struktura oksidiranog oblika  
flavin-adenin-dinukleotida  
(FAD)



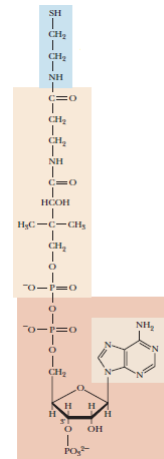
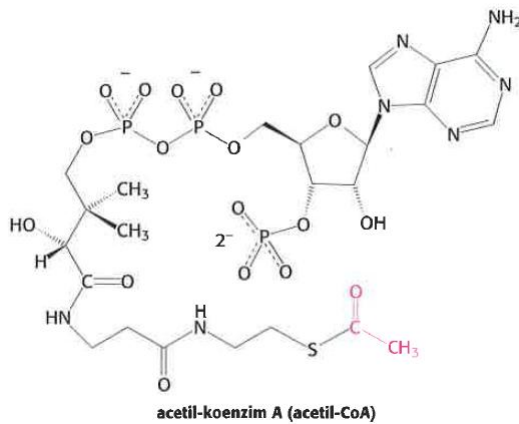
oksidirani oblik  
(FAD)



reducirani oblik  
(FADH<sub>2</sub>)

6

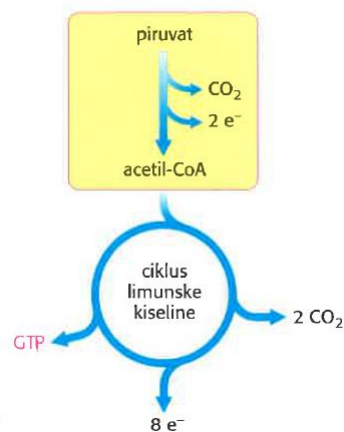
## Struktura koenzima A (CoA) - univerzalnog nosača acilnih skupina



7

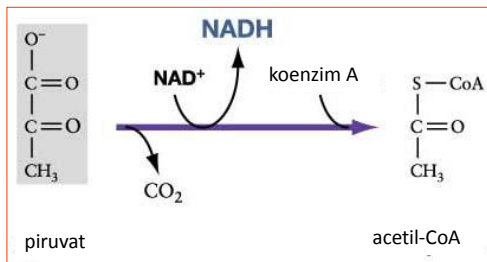
## ✓ Oksidativna dekarboksilacija piruvata

- ✓ Proces kojim se atomi ugljika iz glukoze usmjeravaju prema:
  - a) oksidaciji do  $\text{CO}_2$  u CLK
  - b) ugradnji u lipide
- ✓ Zbog toga postoji precizna regulacija enzimom, kompleksom **piruvat dehidrogenaze (PDH)**!



8

## ✓ Oksidativna dekarboksilacija piruvata



Ključni ireverzibilni stupanj metabolizma

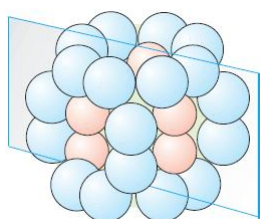
Veza glikolize i CLK

✓ Kompleks piruvat dehidrogenaze (PDH)–u matriksu mitohondrija-3 enzima

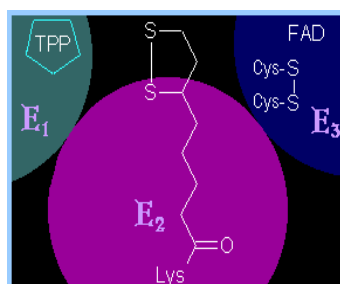
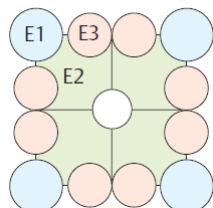
1. piruvat-dehidrogenaza - dekarboksilacija piruvata
2. dihidrolipoil-transacetilaza - oksidacija C-2 jedinice i prijenos na CoA i
3. dihidrolipoil-dehidrogenaza - obnavljanje oksidiranog oblika lipoamida

9

## Piruvat dehidrogenaza kompleks-model



10nm

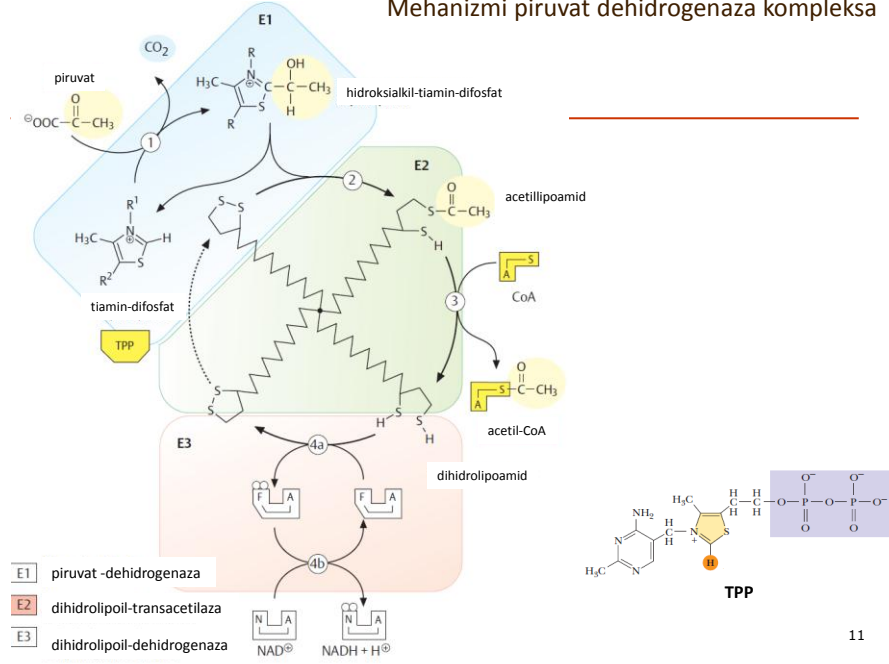


➤ *Relativna molekulska masa enzimskog kompleksa piruvat-dehidrogenaze E. coli*  $4,6 \times 10^6$

➤ *Strukturna integracija triju vrsta enzima omogućuje koordiniranu katalizu kompleksne reakcije*

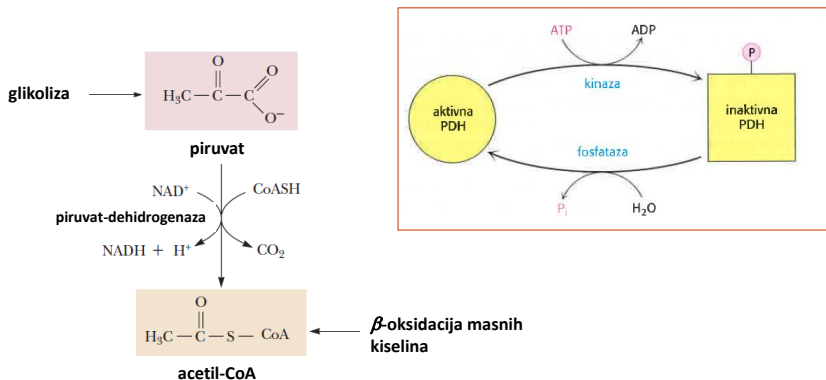
10

## Mehanizmi piruvat dehidrogenaza kompleksa

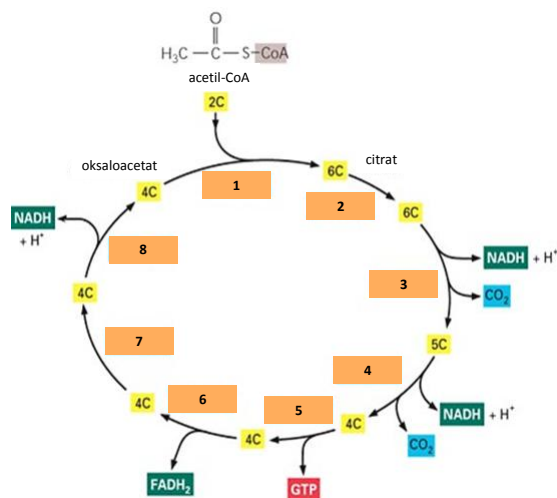


## ✓ Regulacija PDH (piruvat-dehidrogenaze)

- produkti reakcije acetil CoA i NADH inhibiraju PDH
- za funkciju kompleksa potrebne su raspoložive količine supstrata - CoA i NAD (nikotinamid-adenin-dinukleotid)



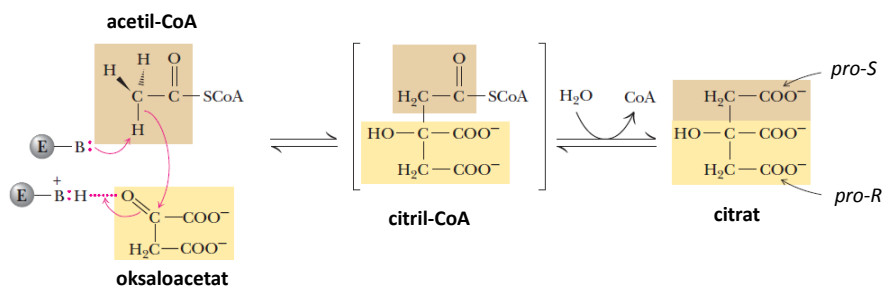
## ✓ Stupnjevi CLK i promet C-atoma



1. Kondenzacija
2. Izomerizacija (dehidratacija i hidratacija)
3. Dekarboksilacija, oksidacija
4. Dekarboksilacija, oksidacija
5. Supstrat fosforilacija
6. Oksidacija/dehidrogenacija
7. Hidratacija
8. Oksidacija/dehidrogenacija

13

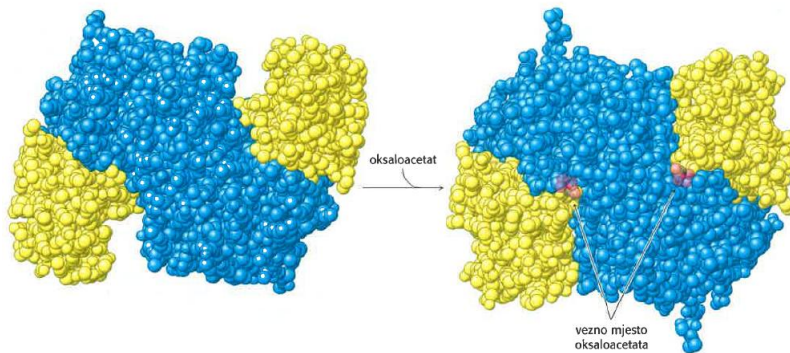
## STVARANJE CITRATA (1)



- \* enzim: *citrat-sintaza*
- \* kondenzacija
- \* reakciju inhibira ATP, NADH, sukcinil CoA

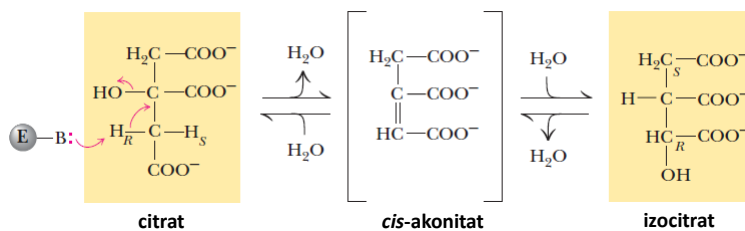
14

## Konformacijske promjene citrat-sintaze:



15

## IZOMERIZACIJA CITRATA U IZOCITRAT (2)

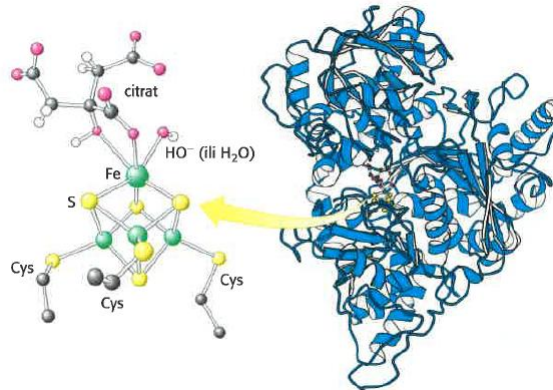


- \* enzim: *akonitaza (Fe-S)*
- \* izomerizacija potrebna kako bi se C-6 jedinica mogla oksidativno dekarboksilirati
- \* interna promjena položaja H i OH

16

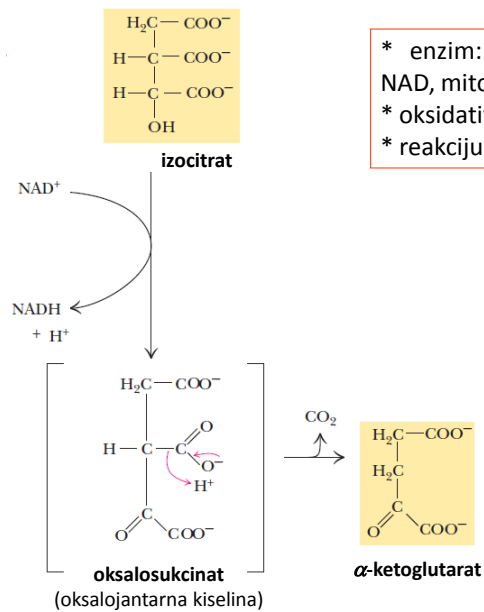


Vežanje citrata na kompleks Fe-S u akonitazi:



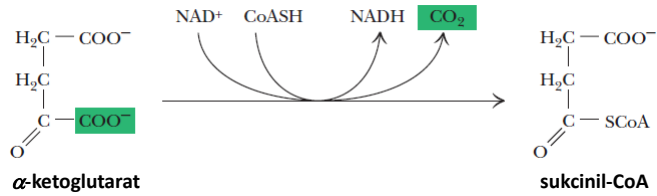
17

STVARANJE  $\alpha$ -KETOGLUTARATA I  $\text{CO}_2$  (3)



18

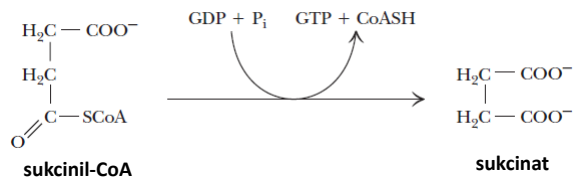
## STVARANJE SUKCINIL-CoA (4)



- \* enzim: kompleks  $\alpha$ -ketoglutarat-dehidrogenaza ( *$\alpha$ -ketoglutarat-dehidrogenaza, trans-sukcinilaza, dihidrolipoil-dehidrogenaza*)
- \* oksidativna dekarboksilacija
- \* koenzimi: NAD<sup>+</sup>, CoA, TPP (tiamin-pirofosfat), lipoamid i FAD
- \* reakciju inhibira ATP, NADH i sukcinil CoA

19

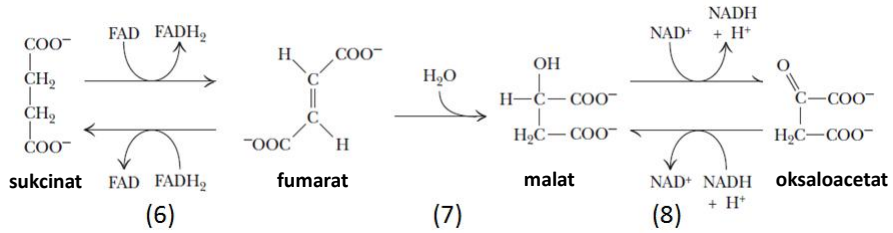
## STVARANJE ENERGIJOM BOGATE VEZE (SUKCINATA) (5)



- \* enzim: *sukcinil-CoA-sintetaza*
- fosforilacija na razini supstrata
- cijepanje tioesterske veze povezano s fosforilacijom gvanozin-difosfata, GDP

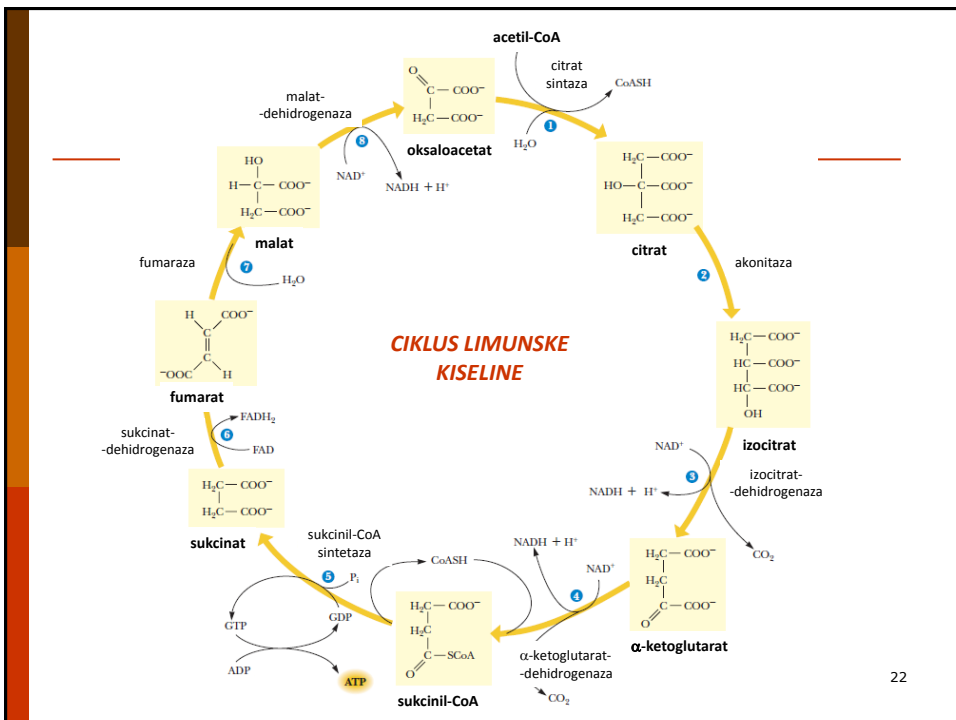
20

## REGENERACIJA OKSALOACETATA (6 - 8)



- (6)\* enzim: *sukcinat-dehidrogenaza*, (Fe-S), prostetska skupina FAD
  - \* oksidacija/dehidrogenacija (FAD se reducira u FADH<sub>2</sub>, koji se reoksidira u respiracijskom lancu)
- (7)\* enzim: fumaraza
  - \* hidratacija
- (8)\* enzim: malat-dehidrogenaza
  - \* druga oksidacija/dehidrogenacija (NAD<sup>+</sup> se reducira u NADH)

21



22

## ✓ Stehiometrija CLK

---



2 atoma-C ulaze u CLK → acetil CoA

2 atoma-C izlaze iz CLK → 2 CO<sub>2</sub> - to nisu isti atomi

U 4 reakcije oksidacije, CLK napuštaju

- 4 para H atoma
- 3 x NADH + H<sup>+</sup>
- 1 x FADH<sub>2</sub>

Stvara se 1 veza bogata energijom - GTP

Troše se 2 molekule vode

23

---

NADH i FADH<sub>2</sub> nastali u CLK oksidiraju se u procesu staničnog disanja pri prijenosu elektrona s tih nosača na krajnji akceptor O<sub>2</sub> i stvara se ATP

- Oksidacijom svake molekule NADH - 2,5 molekula ATP
- Oksidacijom svake molekule FADH<sub>2</sub> - 1,5 molekula ATP
- U ciklusu se stvara 1 energijom bogata veza - 1 GTP

24

---

✓ Oksidacijom acetil-CoA u CLK nastaje ukupno 12 ATP

3 x NADH → 3x2,5 **7,5**

1 x FADH<sub>2</sub> → 1x1,5 **1,5**

1 x ATP → 1x1 **1**

---

**10 ATP**

25

## ✓ Regulacija CLK

---

- **1. Izocitrat dehidrogenaza**  
(ADP alosterički stimulira enzim-povećava se afinitet za supstrat; NADH inhibira enzim)
- **2. α-ketoglutarat dehidrogenaza**  
(produkti sukcinil CoA i NADH inhibiraju enzim)
- **3. Sinteza citrata iz oksalacetata i acetil-CoA**  
(ATP je alosterički inhibitor citrat sintaze-povećava K<sub>M</sub> za acetil-CoA)
- Općenito je CLK smanjen/usporen, kada stanica raspolaže s mnogo ATP!!!

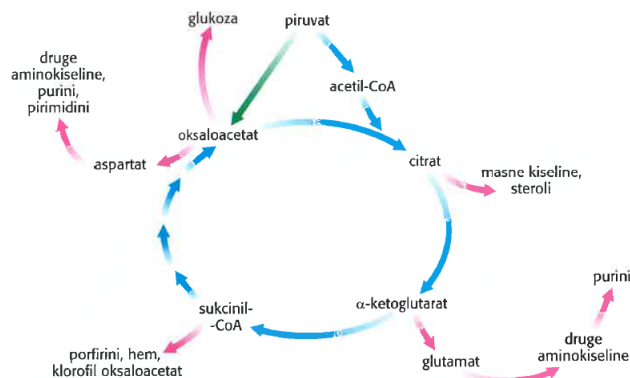
26

## ✓ CLK kao spremište međuprodukata

- **Sinteza aminokiselina:**
  - Iz  $\alpha$ -ketoglutarata → glutaminska
  - Iz oksalacetata → asparaginska
  - Iz oksalacetata → piruvat → alanin
- **Sinteza masnih kiselina-** dekarboksilacija piruvata (mitohondrij)  
→ acetil CoA - ključna reakcija za sintezu masti iz ugljikohidrata u citosolu-transportni metabolit je **CITRAT**
- **Sinteza glukoze:** oksalacetat važan preteča za glukozu
- **Sinteza hema**

27

## BIOSINTETSKE ULOGE CIKLUSA LIMUNSKE KISELINE



28