

METABOLISMUS

Tvorba energie a syntéza malých molekul

Úvod

- Množíci se buňka musí rozkládat potravu, aby získala energii = **katabolický proces**
- Potrava slouží také jako zdroj prekursorových metabolitů pro syntézu podjednotek makromolekul
- Syntéza buněčných součástí = **anabolický proces**
 - Vyžaduje energii
- **Metabolismus**
 - Souhrn všech anabolických a katabolických procesů v buňce
 - Řada posloupných biochemických reakcí (metabolické dráhy)
 - Daný metabolit může být vytvořen více než jednou metabolickou drahou (alternativní dráhy)

Enzymy: kinetika a mechanismus působení

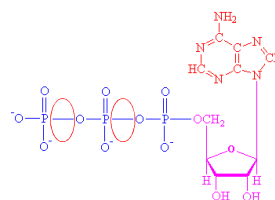
- Proteiny katalyzující (urychlující) velké množství chemických reakcí v buňce
- Snižují aktivační energii reakce
- Enzym interaguje se substrátem pomocí slabých vazeb v aktivním (katalytickém) místě enzymu
 - Princip zámku a klíče
 - Specifita reakce
- Poté je uvolněn produkt, enzym zůstává nezměněn
- Stovky různých enzymů v buňce, malé množství

Ovlivnění enzymové aktivity

- pH
- Koncentrace solí
- Teplota
- Inhibice různými látkami
 - Vážou se do aktivního místa, brání navázání substrátu
- Reverzibilní
 - Kompetitivní
 - Nekompetitivní
 - Akompetitivní
- Ireverzibilní

Vytváření energie (katabolismus)

- Nevyužitelná energie obsažená v jednotlivých vazbách živin je koncentrována do vysokoenergetických vazeb
- Energie se ukládá především ve formě **ATP** (adenosin trifosfátu)
 - Energie je uložena ve formě chemické energie vysokoenergetické fosfoanhydridové vazby (makroergická vazba)
- Z ADP (adenosin difosfátu) a fosfátu za použití energie
- ATP je hlavní zásobní formou energie



Adenosin trifosfát (ATP)



Další energeticky bohaté sloučeniny

- Fosfoenolpyruvát
 - Fosfoanhydridová vazba

<http://textbookofbacteriology.net/metabolism.html>, obr. 4,5

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.13, str. 121

- Koenzymy A
 - Thioesterová vazba
 - Energie získaná hydrolýzou dostačuje k pohonu syntézy fosfoanhydridové vazby

Dlouhodobé uložení energie

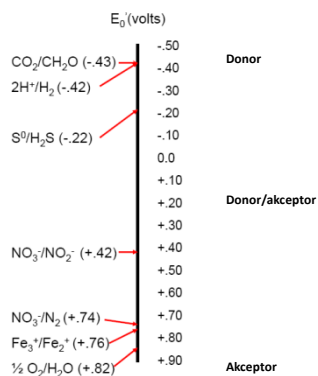
- Glykogen
- Kyselina poly- β -hydroxymáselná
- Elementární síra
- Ve formě granulí (inkluzí)
- Energie uvolněná oxidací je využita později na syntézu ATP

Oxidace a redukce

- Uchování energie v buňce zahrnuje řadu oxidačně-redukčních reakcí
- **Oxidace**
 - Odstranění elektronů nebo vodíkových atomů ze sloučeniny (donor)
- **Redukce**
 - Přidání elektronů nebo vodíkových atomů ke sloučenině (akceptor)
- Redoxní reakce se skládá vždy z obou procesů
- Redukované sloučeniny obsahují značné množství energie
- Při oxidaci redukovaných sloučenin se uvolňuje energie (zdroj energie)

Redoxní páry

- Náchylnost sloučeniny k oxidaci nebo redukci je vyjádřena redoxním potenciálem (E_0')
- Redoxní sloučeniny s negativnějším potenciálem přenášejí elektrony na sloučeniny s pozitivnějším potenciálem
 - Je uvolněna energie
 - Využita např. pro syntézu ATP
 - Čím větší rozdíl v redoxních potenciálech, tím více uvolněné energie



Přenašeče elektronů

- Přenos elektronů v buňce z donoru na akceptor se děje pomocí jednoho nebo více přenašečů elektronů
 - Difuzivní
 - Nikotinamid adenin dinukleotid
 - Membránové
 - NADH dehydrogenasa
 - Flavoproteiny
 - Fe-S proteiny
 - Cytochromy
 - Chinony

Přenašeče elektronů

- Difuzivní
 - NAD(P)⁺/NAD(P)H
 - Donor 2e⁻ a 2H⁺
- Membránové
 - NADH dehydrogenasa
 - Akceptor a donor 2e⁻ a 2H⁺
 - Flavoproteiny
 - Akceptor 2e⁻ a 2H⁺
 - Donor 2e⁻
 - Cytochromy
 - Akceptor a donor 1e⁻ (Fe)
 - Fe-S proteiny
 - Akceptor a donor 1e⁻
 - Chinony
 - Akceptor 2e⁻ a 2H⁺
 - Donor 2e⁻

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.11, str. 120, obr. 5.16, str. 126, 5.17, 5.18 str. 127

Mechanismy vytváření energie (syntézy ATP)

- Fosforylace na úrovni substrátu
- Oxidativní fosforylace
- Fotofosforylace

Fosforylace na úrovni substrátu

- Syntéza ATP z ADP je přímo spojena s rozkladem vysokoenergetických organických sloučenin
- Vysokoenergetická molekula fosfátu je přenesena z katabolizovaného substrátu na ADP za tvorby ATP

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 5

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.14a, str. 123

Oxidativní fosforylace

- Elektrony odstraněné ze substrátu jsou přeneseny na přenašeče elektronů
- Ty přenášejí elektrony do elektronového transportního řetězce, který syntetizuje ATP za pomoci enzymu ATP synthasy
 - Energie získaná z protonového gradientu
- Koncovým akceptorem elektronů je kyslík nebo jiná, obvykle anorganická látka

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 5

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.14b, str. 123

Fotofosforylace

- Přeměna světelné energie ve formě fotonu na vysokoenergetické elektrony
- Ty jsou potom přenášeny elektronovým transportním řetězcem (analogický řetězci při oxidativní fosforylaci) za tvorby ATP
- Většina fototrofních organismů je *fotoautotrofní* (energie ze světla využita pro redukci CO₂ na organické látky)

Metabolická diversita

- Eukaryotické buňky vytvářejí energii
 - Alkoholovým kvašením (kvasinky)
 - Mléčným kvašením (svalové buňky)
 - Aerobní respirací (plísňe, prvoci, živočichové)
 - Oxygenní fotosyntézou (řasy, rostliny)
- Prokaryota mají navíc unikátní metabolické dráhy
 - Různé typy přeměny pyruvátu
 - Jiné způsoby degradace glukosy
 - Anaerobní respirace
 - Litotrofie
 - Fotoheterotrofie
 - Anoxygenní fotosyntéza
 - Další

Metabolismus chemoorganotrofů

- Buňka přeměňuje (oxiduje) redukované *organické* látky na látky s nižší energetickou hladinou
- Dva základní mechanismy
 - Fermentace
 - Respirace
- Liší se původem elektronových akceptorů a mechanismem vytváření energie
- Při fermentaci i respiraci se také vytvářejí prekurzorové metabolity pro biosyntetické procesy

Glykolýza

- Fermentace i respirace cukrů začíná obvykle glykolýzou
 - Nejběžnější, ale ne jediný způsob degradace cukrů
- Dráha Embden-Meyerhofova
- Probíhá v cytoplasmě
- Přeměna (oxidace) glukosy na pyruvát
 - Glukosa (6 uhlíkových atomů) je odbourávána na 2 molekuly kyseliny pyrohroznové (3 uhlíkové atomy), uvolňují se vodíkové atomy, které jsou odstraněny pomocí NAD^+ za vzniku NADH

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 5

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.15, str. 124

Schéma glykolýzy

Energetická bilance glykolýzy

- 2 molekuly ATP
- Bilance redukující energie:
 - 2 vodíkové atomy
 - Redukují 2 NAD^+ molekuly
 - NADH redukuje potom dále další akceptory v závislosti na druhu bakterie

Metabolismus kyseliny pyrohroznové

- Fermentace (kvašení)
 - Pyruvát je redukován a přeměněn na fermentační produkty
 - Probíhá v nepřítomnosti exogenních akceptorů elektronů
- Respirace
 - Pyruvát je oxidován na CO_2 v citrátovém cyklu
 - Probíhá, je-li přítomen exogenní akceptor elektronů

Fermentace

- Koncovým akceptorem elektronů nebo vodíkových iontů je organická sloučenina, která se vytváří v průběhu procesu
 - Probíhá v prostředí, ve kterém není k dispozici externí akceptor elektronů
- Nevýžaduje kyslík, může probíhat i v jeho přítomnosti
- Různé koncové produkty podle druhu bakterie (částečná oxidace)
 - Fermentační produkt je vyloučen z buňky
- Energie konzervována fosforylací na úrovni substrátu
 - Vyžaduje tvorbu energeticky bohatého meziproduktu

Fermentace

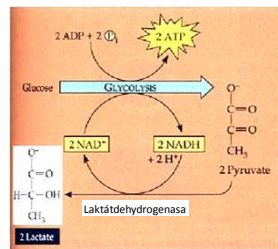
- Vyvážený redoxní proces, při kterém jsou fermentovatelné substráty oxidovány i redukovány
- Při mnoha fermentačních procesech je vytvářen molekulární H_2
 - Způsob odstranění nadbytečných elektronů
 - Regenerace NADH
 - Přenos elektronů z ferredoxinu na H^+ katalyzován hydrogenasou
 - Vodík je substrátem pro metanogeny a bakterie redukující síru
- Řada anaerobních bakterií také vytváří při fermentaci acetát, případně jiné mastné kyseliny
 - Proces konzervující energii
 - Uvolněné elektrony jsou využity při tvorbě fermentačního produktu

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.3, str. 614

Tvorba vodíku a acetátu z pyruvátu

Mléčné kvašení

- NADH redukuje kyselinu pyrohroznovou na kyselinu mléčnou
- Obnovuje se NAD^+
 - Zpět do glykolýzy

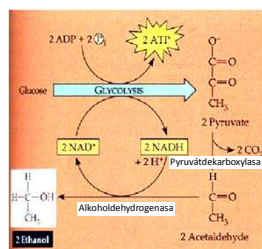


Význam mléčného kvašení

- Důležitá role v přírodě
- Kyselina mléčná způsobuje zubní kaz
- Bolest svalů
- Výroba potravin (jogurty, podmáslí, sýry, kyselé zelí)
- Bakterie mléčného kvašení
 - Homofermentující (*Streptococcus*, *Lactobacillus*)
 - Heterofermentující (*Leuconostoc*)

Alkoholové kvašení

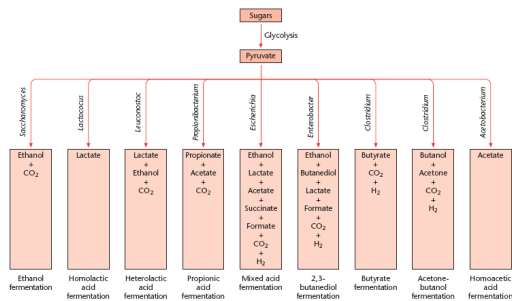
- Dva kroky
 - Přeměna kyseliny pyrohroznové na acetaldehyd
 - Redukce acetaldehydu pomocí NADH na ethanol
- Kvasinky *Saccharomyces*
- Některé bakterie
 - *Zymomonas*, *Sarcina*, *Streptococcus* a další
- Základ výroby vína, piva, chleba



Další produkty kvašení

- Bakterie vytvářejí řadu různých organických koncových produktů (viz obrázky)
- NADH předává vodíkové atomy různým akceptorům
- Podle druhu bakterie a podmínek prostředí
- Využití pro identifikaci blízce příbuzných druhů bakterií
 - *E. coli* od *Enterobacter aerogenes* (tvorba 2,3-butandiolu)
- Tvorba směsných kyselin typická pro čeleď *Enterobacteriaceae*
- Fermentována může být celá řada sloučenin, nejen cukry!
 - Aminokyseliny, organické kyseliny, puriny, pyrimidiny, alkoholy
- Ne vždy je pyruvát meziproductem fermentace!
- Některé sloučeniny jsou nefermentovatelné

Produkty bakteriální fermentace cukrů



Fermentovatelné substráty

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.2, str. 614

Syntrofie

- Kooperace dvou nebo více mikroorganismů při degradaci sloučeniny, kterou žádný z organismů není schopen degradovat sám
- Většina syntrofických reakcí jsou sekundární fermentace
 - Organismus fermentuje fermentační produkt jiného organismu
- Většina těchto syntrofických reakcí zahrnuje tvorbu H_2 jedním organismem a jeho spotřebu organismem druhým
 - Mezidruhový přenos H_2

Mezidruhový přenos vodíku

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.10, str. 622

- Fermentace ethanolu na acetát a vodík je za standardních podmínek energeticky nevýhodná
 - Organismus by na ethanolu v čisté kultuře nerostl
- Oba organismy sdílejí energii uvolněnou ve spřažené reakci

Mezidruhový přenos vodíku

- Spotřeba H_2 partnerským organismem ovlivňuje energetiku reakce vytvářející H_2
- Koncentrace reaktantů ve směsi má významný vliv na energetiku reakcí
- H_2 je při syntrofním vztahu spotřebováván velice rychle, vyskytuje se ve velmi nízkých koncentracích
 - Při nízkých koncentracích se reakce stává exergonní (za standardních podmínek je endergonní)
- Syntrofie má význam v anoxních podmínkách při limitaci alternativních akceptorů elektronů
 - Při dostatku alternativních akceptorů nebo v aerobním prostředí jsou oxidace mastných kyselin nebo alkoholů energeticky výhodné

Respirace

- Jako koncový akceptor elektronů slouží **exogenní**, obvykle anorganická sloučenina (kyslík, dusičnan, síran...)
 - Aerobní respirace
 - Anaerobní respirace
- Počáteční kroky stejné jako u fermentace
 - Glykolýza
- Pyruvát je zcela oxidován na CO_2 v citrátovém cyklu
 - Lokalizován v cytoplasmě prokaryot nebo mitochondriích eukaryot
- Vytváří se redukované kofaktory (NADH, FADH), jejichž elektrony jsou přeneseny na koncový akceptor elektronů transportním řetězcem
- Energie konzervována oxidativní fosforylací
 - V cytoplasmatické membráně u prokaryot
 - V mitochondriích (vnitřní membrána) u eukaryot

Aerobní respirace

- Koncovým akceptorem elektronů je kyslík

Citrátový cyklus

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.22, str. 131

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 5

Oxidativní fosforylace

- Přenos elektronů vodíkových atomů odstraněných během citrátového cyklu pomocí *elektronového transportního řetězce* (dýchací řetězec)
- Přenos pomocí přenašečů elektronů od nejvyšší energetické hladiny po nejnižší až na koncový akceptor
 - Přenos protonů přes membránu
 - Tvorba pH gradientu a elektrochemického potenciálu (energizace membrány)
- Výsledkem je syntéza ATP
 - Je využita energie přenosu protonů přes membránu
 - ATP synthasa (ATPasa)
 - Chemiosmotická hypotéza
- Protonový gradient využíván i pro pohon pohybu buňky a transport molekul přes membránu

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.20, str. 128

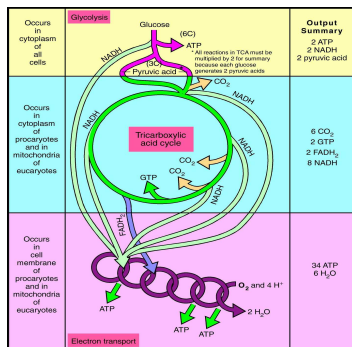
Syntéza ATP

Učebnice Madigan a kol.,
obr. 5.21, str. 129

- ATP synthasa má dvě části
 - F_1 v cytoplasmě
 - F_0 v membráně
- Rotace podjednotek a konformační změny
- Reverzibilita
 - Tvorba protonového gradientu u striktně fermentujících organismů
 - Pohyb
 - Transport molekul

Energetická bilance kompletní oxidace glukosy

- $C_6H_{12}O_6 + 6 O_2 \longrightarrow 6 CO_2 + 6 H_2O + 38 ATP$
- 20 x více energie než při fermentaci
- Metabolismus glukosy přes citrátový cyklus vyžaduje anorganickou sloučeninu jako koncový akceptor elektronů (obvykle kyslík)
- Za anaerobních podmínek probíhá fermentace příp. anaerobní respirace
- Ne všechny bakterie mají všechny enzymy citrátového cyklu
 - Alternativní metabolické dráhy



Souhrn respiračního metabolismu

Anaerobní respirace

- Koncovým elektronovým akceptorem je *anorganická* sloučenina
 - Také fumarát (organická látka)
- Tvorba ATP v elektronovém transportním řetězci
- Ne všechny přenašeče elektronového transportního řetězce se účastní anaerobní respirace
- Generuje se méně ATP než při aerobní respiraci
 - E_0' akceptorů

Asimilativní a disimilativní metabolismus

- **Asimilace**
 - Redukce anorganického substrátu za účelem využití v biosyntéze
 - Redukuje se pouze množství látky nezbytně nutné pro biosyntézu makromolekul
- **Disimilace**
 - Redukce anorganického substrátu za účelem získání energie
 - Redukuje se velké množství elektronového akceptoru
 - Produkt vyloučen do prostředí

Procesy anaerobní respirace

1. Denitrifikace
2. Redukce síranu a síry
3. Redukce CO₂
4. Redukce Fe³⁺, Mn⁴⁺
5. Redukce protonu
6. Redukce fumarátu
7. Redukce chlorovaných sloučenin

Učebnice Madigan a kol.,
obr. 21.12, str. 625

Denitrifikace

- Přeměna dusičnanu na dusík
- Nitrátreduktasa
 - Syntéza potlačena za přítomnosti O₂
- Nitritreduktasa
 - Obvykle alternativní akceptor
 - V přítomnosti kyslíku probíhá aerobní respirace, i když je přítomen NO₃⁻
 - Fakultativně anaerobní organismy

Učebnice Madigan a
kol., obr. 21.13, str. 625

Redukce síranu

- Redukce síranu na sirovodík
- Pouze za anaerobních podmínek
- Vyžaduje aktivaci reakcí s ATP za tvorby adenosin fosfosulfátu

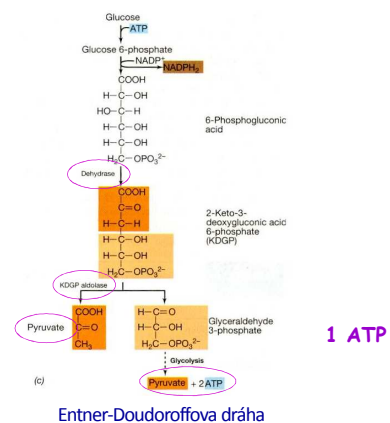
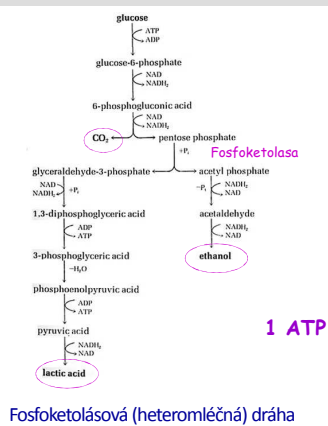
Redukce CO₂

- Anaerobní mikroorganismy
- Metanogenní mikroorganismy
 - Tvorba metanu
- Homoacetogenní mikroorganismy
 - Tvorba kyseliny octové

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.17, str. 630

Jiné způsoby degradace glukosy

- Fosfoketolásová dráha
 - Heterofermentativní mléčné bakterie
- Entner-Doudoroffova dráha
 - Některé Gramnegativní bakterie
 - *Zymomonas* pro fermentativní metabolismus
 - *Pseudomonas* pro respirační metabolismus
- Pentózový cyklus
 - Produkty slouží pro syntézu nukleových kyselin a aminokyselin
 - Zdroj redukující energie pro biosyntézu buněčných součástí (NADPH)
 - Důležitý hlavně u fermentujících organismů
 - NADH není k dispozici pro biosyntetické reakce



Metabolismus polysacharidů

- Složeny z hexos a pentos
- Celulosa, škrob, glykogen, agar, chitin, pektin, laktosa, sacharosa a další

Učebnice Madigan a kol., tab. 21.8, str. 645

Celulosa a škrob

- Celulosu rozkládají zejména vláknité houby
- U bakterií pouze několik skupin
 - *Sporocytophaga*, *Cytophaga*, *Clostridium*, aktinomycety
 - *Fibrobacter*, *Ruminococcus* v bacheru přežvýkavců
- Enzym celulasa
- Škrob je rozkládán vláknitými houbami a řadou bakterií
 - Amylasy

Metabolismus disacharidů

- **Laktosa**
 - Fermentace mléčnými bakteriemi
- **Sacharosa**
 - Hydrolýza na glukosu a fruktosu invertasou
 - Monomery metabolizovány glykolyticky
- **Celobiosa**
 - Produkt rozkladu celulosy
 - Celulolytické bakterie + další, které celulosu nerozkládají

Metabolismus pentos

- V přírodě často běžně dostupné
- Pokud nejsou k dispozici, jsou syntetizovány z hexos v pentózovém cyklu
- Pentózový cyklus je využíván k
 - Tvorbě pentos z hexos
 - Tvorbě hexos z pentos (glukoneogeneze)
 - Katabolismu pentos
 - Tvorbě NADPH
- Pentózový cyklus slouží k anabolickým i katabolickým procesům

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.39, str. 647

Pentózový cyklus

Metabolismus organických kyselin

- Řada mikroorganismů využívá meziproducty citrátového cyklu jako zdroje energie a uhlíku
 - Citrát, malát, fumarát, sukcinát
- Dvou a tříuhlíkaté kyseliny nemohou být využity v citrátovém cyklu přímo
- Při využití acetátu (C_2) je oxalacetát syntetizován v glyoxylátovém cyklu
 - Sdílí některé reakce citrátového cyklu
 - Liší se v metabolismu isocitrátu
 - Štěpení isocitrátu na sukcinát a glyoxylát isocitrátlyasou
 - Umožňuje využití jednoduchých kyselin pro pozdější biosyntézu makromolekul
 - Cyklus pokračuje přeměnou glyoxylátu a acetyl-CoA na malát malátsynthasou

Metabolismus organických kyselin

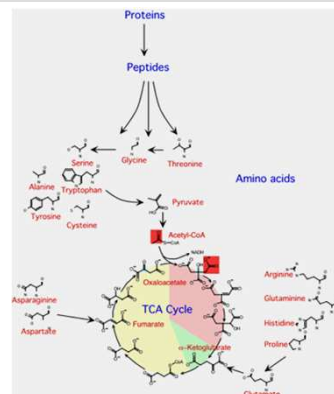
- Sukcinát vytvořený štěpením isocitrátu v glyoxylátovém cyklu je využit pro biosyntetické reakce
- Při nedostatku oxalacetátu může docházet k jeho syntéze také z pyruvátu nebo fosfoenolpyruvátu (C_3)
 - Doplnění oxalacetátu v situaci, kdy meziproducty citrátového cyklu jsou odebrány pro biosyntetické reakce

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.40, str. 648

Glyoxylátový cyklus

Rozklad proteinů

- Proteiny jsou rozkládány mimo buňku enzymy, které se nazývají proteasy
- Aminokyseliny vstupují do buňky a zapojují se do glykolýzy nebo citrátového cyklu



Obecný katabolismus proteinů a aminokyselin

Rozklad lipidů

- Rozkládají se na glycerol a mastné kyseliny
 - Lipasy a fosfolipasy
- Glycerol vstupuje do glykolýzy
- Mastné kyseliny procházejí β -oxidací za tvorby acetyl-CoA, který je oxidován na CO_2 v citrátovém cyklu nebo přeměněn na hexosy v glyoxylátovém cyklu

Učebnice Madigan a kol., obr. 21.43, str. 649

β -oxidace

Kyslík jako reaktant v biochemických procesech

- Kyslík plní v aerobních procesech zejména funkci elektronového akceptoru
- Kromě toho má také roli jako přímý reaktant v anabolických a katabolických procesech
- Inkorporaci atomů kyslíku z O_2 do organických sloučenin katalyzují **oxygenasy**
 - Dioxygenasa
 - Oba atomy kyslíku do organické sloučeniny
 - Monooxygenasa
 - Jeden z atomů kyslíku redukován na vodu
- Donorem elektronů pro oxygenasy jsou obvykle NADH nebo NADPH

Kyslík jako reaktant v biochemických procesech

- Oxygenasy se uplatňují např.
 - Při biosyntéze sterolů
 - Při aerobní degradaci alifatických a aromatických uhlovodíků
 - Při oxidaci amoniaku (nitrifikace)
 - Při oxidaci methanu a ostatních C_1 sloučenin (methylotrofie a methanotrofie)

Metabolismus chemolitotrofů

- Procesy aerobní respirace
- Výchozím **substrátem** (zdrojem energie, donorem elektronů) je **anorganická** látka
- Zdroj uhlíku je obvykle CO_2 (autotrofni)
 - Mixotrofní organismus: zdroj uhlíku je organická látka
 - Fakultativní litotrof: schopnost využít jako zdroj energie i organickou látku
- Koncový **akceptor** elektronů je většinou O_2 (striktně aerobní organismy)

Nitrifikace

- Nitrifikační bakterie
- Obligátně litoautotrofní, aerobní
- Dva stupně
 - Oxidace amoniaku na dusitan
 - *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*
 - Oxidace dusitanu na dusičnan
 - *Nitrobacter*
- Anoxní oxidace amoniaku
 - Anammox
 - Nitrát jako akceptor elektronů
 - Produktem je N_2

Oxidace redukováných sloučenin síry

- Sírné bakterie (bezbarvé)
 - *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thiobacillus denitrificans*
- Archea
 - *Sulfolobus*
- Sirovodík, síra, thiosíran
- Oxidace na sírany přes různé meziprodukty
- Produktem je také H^+
 - Silné okyselení prostředí
 - Acidofilní organismy

Oxidace sloučenin železa

- *Acidithiobacillus ferroxidans*, *Leptospirillum ferroxidans*
- Aerobní oxidace dvoumocného železa na hydroxid železitý
 - Precipitace
- Často acidofilní (růst pod pH 1)
 - Fe^{2+} v neutrálním prostředí rychle oxiduje spontánně
 - V neutrálním prostředí oxiduje železo *Sphaerotilus*
 - Na rozhraní anoxní a aerobní zóny
- Hydroxid železitý je u některých rodů pochvatých bakterií ukládán v obale (*Sphaerotilus*, *Leptothrix*)

Oxidace vodíku

- Vodíkové bakterie
 - *Ralstonia*
 - Vodík oxidován kyslíkem na vodu enzymem hydrogenasou
 - Elektrony přeneseny na chinon, cytochromy a poté na kyslík
 - Fakultativně litotrofní
 - Regulace dle podmínek prostředí
 - Fixace uhlíku Kalvínovým cyklem
- Metanogeny
 - Zdroj energie H_2
 - Přenos elektronů na CO_2 za tvorby CH_4
 - Anaerobní respirace
 - Archea

Fototrofní růst mikroorganismů

- Využití světla jako zdroje energie
- U mikroorganismů obecně rozšířený

Fotosyntéza

- Přeměna světelné energie na energii chemickou a fixace uhlíku do buněčné hmoty
- Fototrofní organismy
 - Fotoheterotrofní (organický zdroj uhlíku)
 - Fotoautotrofní (CO₂)

Fáze fotoautotrofního růstu

- 1) Tvorba ATP (energie)
- 2) Redukce CO₂
 - Elektrony pro redukci získány z NAD(P)H
 - Redukcí NAD⁺ elektrony z různých zdrojů
 - Redukované sloučeniny síry, vodík
 - H₂O
 - Energie z ATP

Anoxygenní fotosyntéza

- Donory elektronů
 - Redukované sloučeniny síry
 - Vodík
- Tvorba NADH a redukujících látek
 - Přímě poháněna světlem
 - Nepřímě
- Nevytváří se kyslík

Oxygenní fotosyntéza

- Donorem elektronů je H₂O
 - Velice špatný donor elektronů
- Kyslík vzniká jako vedlejší produkt oxidace vody
- Oxidace vody vždy poháněna přímo světlem
- Cyanobakterie (sinice), řasy, rostliny

Lokalizace fotosyntézy u eukaryot

- Fotosyntetické membrány
- Chloroplasty
 - Tylakoidy

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 17
Brock Biology of Microorganisms, 12th Edition, obr. 20.5, str. 582

Lokalizace fotosyntézy u prokaryot

- Vnitřní membránové systémy
 - Invaginace cytoplasmatické membrány (purpurové bakterie)
 - Cytoplasmatická membrána (heliobakterie)
 - CM a chlorosomy (zelené bakterie)
 - Tylakoidní membrány v cytoplasmě (cyanobakterie)

Brock Biology of Microorganisms, obr. 20.7b, str. 583

Chlorosom zelených sírných a nesírných bakterií

Fotosyntetická barviva

- Chlorofyly
- Karotenoidy
- Fykobiliny

Chlorofyly

- Chlorofyl
 - Oxygenní fototrofní organismy
- Bakteriochlorofyl
 - Anoxygenní fototrofní organismy
- Různé typy
 - Cyanobakterie: chlorofyl *a*
 - Rostliny: chlorofyl *a, b*
- Různá absorpční maxima
 - Strategie pro lepší využití energie světla

Chlorofyly

- Výskyt ve fotosyntetických membránách
- Primární fotosyntetická barviva
- Sdruženy v proteinových komplexech
 - Reakční centra
 - Přímá účast v přeměně světla na ATP
 - Světlosběrné (antény)
 - Sběr světla a usměrnění světelné energie na reakční centra

Karotenoidy

- Sekundární světlosběrné pigmenty
- Fotoprotektivní funkce (zhášení reaktivních forem kyslíku, absorpce světla)
- Hydrofobní pigmenty zakotvené v membráně
- Konjugované dvojné vazby
- Absorbují světlo jiných vlnových délek než chlorofyly – organismus zachytí více světla
- Přenos energie do reakčních center

Fykobiliny

- Funkce při zachycování světla (anténní pigmenty)
- Přenos energie na reakční centra
- Cyanobakterie a řasy
- Fykocyanin, fykoerytrin, allofykocyanin
- Připojeny k proteinům (fykobiliproteiny)
- Výskyt ve fykobilisomech
 - Vysokomolekulární agregáty fykobiliproteinů

Madigan a kol., obr. 20.10, str. 585

- Fykocyanin nebo fykoerytrin přenáší energii na allofykocyanin v membráně, ten dále na chlorofyl *a*
- Vysoce efektivní přenos energie
- Podpora růstu při velmi nízkých intenzitách světla

Anoxygenní fotosyntéza

- Bakteriální fotosyntéza
 - Purpurové bakterie
 - Zelené sírné bakterie
 - Zelené nesírné bakterie
 - Heliobakterie
- Syntéza ATP je spojena s přenosem elektronů v transportním řetězci
 - Absorpce světla vede k dislokaci elektronu v reakčním centru
- Přenašeče elektronů uspořádány ve fotosyntetických komplexech
 - Od elektronegativních po elektropozitivní
- Syntéza ATP pomocí protonového gradientu

Fotosyntéza u purpurových bakterií

- *Rhodobacter*
- Reakční centrum (P870)
 - Polypeptidové podjednotky L, M, H uložené ve fotosyntetické membráně, které váží fotokomplex reakčního centra
 - Bakterioklorofyl *a*
 - Speciální pár
 - 2 molekuly o neznámé funkci
 - Bakteriopheofytin (bakterioklorofyl bez Mg iontu)
 - Chinony
 - Karotenoidy

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 17

Madigan a kol., obr. 20.14, str. 588

Madigan a kol., obr. 20.15, str. 588

Proteinové komplexy ve fotosyntetické membráně
fototrofních purpurových bakterií

Fotofosforylace

- Syntéza ATP nastává v důsledku vytváření protonového gradientu a aktivity ATPsynthasy
 - Protonový gradient vytvářen díky interakci chinonů a cytochromu *bc₁*
- Cyklická fotofosforylace
 - Elektrony se pohybují v uzavřené smyčce

Autotrofie u purpurových bakterií

- ATP nedostačuje pro autotrofní růst, pro fixaci CO_2 je nutná také redukční energie (NADH)
 - Pochází z redukujících látek přítomných v prostředí
- Redukce NAD^+ na NADH:
 - H_2S nebo thiosíran jsou oxidovány cytochromem c a elektrony putují do zásoby chinonů
 - Chinon není schopen přímo redukovat NAD^+
 - Elektrony jsou přenášeny *proti* termodynamickému gradientu
 - Vyžaduje energii pocházející z protonové hnací síly
 - Reverzní tok elektronů

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 17

Fotosyntéza u ostatních anoxyfototrofů

- Reverzní tok elektronů není nutný
- První stabilní akceptor je Fe-S protein, který redukuje ferredoxin a ten je pak využit jako donor elektronů při fixaci CO_2
- ATP i redukující energie jsou přímými produkty světelné reakce

Madigan a kol., obr. 20.18, str. 590

Oxygenní fotosyntéza

- Dvě fotochemické reakce
- Oxygenní fototrofní organismy využívají světlo pro syntézu ATP i NADPH
- Elektrony pro tvorbu NADPH pocházejí ze štěpení vody ve fotosystému II
- Fotosystém I a II
- Chlorofyl *a* (P700, P680)

Tok elektronů při oxygenní fotosyntéze

- Redoxní potenciál P680 pozitivnější než redoxpotenciál páru $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$
 - Umožňuje štěpení vody
- Elektron z vody je přenesen na oxidovaný P680 (po absorpci světelného kvanta)
- „Z“ schéma
 - Z fotosystému II do fotosystému I

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 17

Učebnice Madigan a kol., obr. 20.19, str. 591

Syntéza ATP

- Během přenosu elektronů z fotosystému II do fotosystému I se vytváří protonový gradient
- **Necyklická fosforylace**
 - Elektrony nejsou přeneseny zpět na P680, jsou využity pro redukci NADP⁺
- Při dostatku redukující energie je ATP vytvářena cyklickou fotofosforylací ve fotosystému I
 - Vytvoření membránového potenciálu a syntéza další ATP

Anoxygenní fotosyntéza u oxygenních fototrofů

- Za určitých podmínek jsou některé řasy a cyanobakterie schopny cyklické fotofosforylace *pouze* pomocí fotosystému I
- Redukující energii získávají ze zdrojů jiných než voda
 - Anoxygenní fotosyntéza
 - H₂S
- Tok elektronů fotosystémem II inhibován H₂S

Fixace uhlíku autotrofy

- Probíhá za přítomnosti i nepřítomnosti světla
- Využívá energii - ATP, NAD(P)H - pro syntézu glukosy
 - Energie je u fototrofů produktem světelné reakce
 - Autotrofie je typická i pro chemolitotrofy! Energie je produktem respiračního metabolismu
- **Kalvínův cyklus**
 - CO₂ (zdroj uhlíku) se spojí s ribulosa 1,5 – bisfosfátem
 - Ribulosabisfosfátcarboxylasa (RubisCo)
 - Meziprodukt 3-fosfoglycerát je fosforylován na 1,3-bisfosfoglycerát a potom redukován na glyceraldehyd 3-fosfát
- 3-uhlíkaté sloučeniny jsou přeměněny na glukosu glykolytickou dráhou (v opačném sledu)
- Výchozí sloučenina pro syntézu lipidů a proteinů

Brock Biology of Microorganisms, 10th Edition, Animated Tutorials, Chapter 17

Učebnice Madigan a kol., obr. 20.22, str. 593

Kalvínův cyklus

Alternativní mechanismy fixace CO₂ autotrofy

- **Obrácený TCA cyklus**
 - Zelené sírné bakterie (*Chlorobium*)
 - Některá archea (nefototrofní)
 - Některé další nefototrofní bakterie

Alternativní mechanismy fixace CO₂ autotrofy

- **Hydroxipropionátový cyklus**
 - Zelené nesírné bakterie (*Chloroflexus*)
 - Některá archea (nefototrofní)

Fixace uhlíku heterotrofy

- CO₂ je pouze doplňkem uhlíkaté výživy
- Funkce
 - Doplňování meziproductů citrátového cyklu
 - Biosyntetické reakce pro konstrukci větších molekul
 - Syntéza karbamylfosfátu (pyrimidin)
 - Krok při biosyntéze purinů
 - Při syntéze mastných kyselin

Fixace dusíku

- Využití N₂ jako zdroje dusíku
- Prokaryotické organismy
 - Aerobní i anaerobní, chemoorganotrofní i chemolitotrofní, fototrofní
- *Azotobacter*, *Azomonas*, *Agrobacterium*, cyanobakterie, *Clostridium*, *Rhodobacter* atd.
- Někteří symbiotické (*Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*)

Mechanismus fixace dusíku

- N₂ je redukován na amoniak, který je přeměněn na organickou formu
 - Nitrogenasa (dinitrogenasa + dinitrogenasa reduktasa)
 - Vyžaduje velké množství energie
- Fixace je inhibována v přítomnosti kyslíku
 - Inhibice (ireverzibilní) obou enzymů kyslíkem
 - U aerobů je nitrogenasa chráněna
 - Rychlým odstraňováním kyslíku respirací
 - Tvorbou pouzdra nebo slizu
 - Kompartmentalizací nitrogenasy (specializované buňky heterocyty)
 - Komplexací se specifickým proteinem

Biosyntetický metabolismus (anabolismus)

- Během katabolických procesů se kromě vytváření energie syntetizují prekurzorové metabolity
- Slouží jako výchozí materiál pro syntézu
 - Aminokyselin
 - Purinů
 - Pyrimidinů
 - Vitaminů
- Pro biosyntézu získává buňka živiny především z vnějšího prostředí
- Spotřebovává se energie (ATP, protonová hnací síla)

Učebnice Nester a kol., obr. 5.18, str. 126

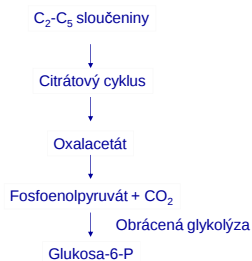
Sloučeniny syntetizované během glykolýzy a citrátového cyklu slouží jako prekursory syntézy makromolekul

Biosyntéza sacharidů

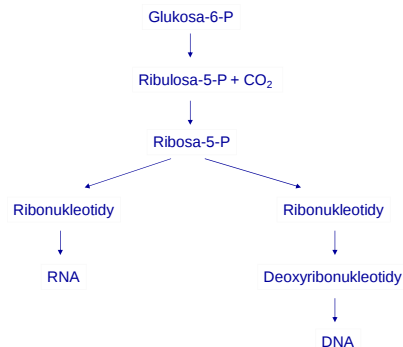
- Polysacharidy
 - Složky buněčné stěny
 - Zásobní látky
- Složeny z monomerních jednotek
 - Hexosy
 - Pentosy
- Syntéza u prokaryot
 - Uridindifosfoglukosa (*N*-acetylglukosamin, *N*-acetylmuramová kyselina, lipopolysacharidy G⁻ vnější membrány)
 - Adenosindifosfoglukosa (glykogen)
 - Glukoneogeneze

Glukoneogeneze

- Syntéza glukosy z necukerných precursorů



Syntéza pentos



Syntéza aminokyselin

- Bakterie syntetizují AMK pouze pokud je nemožou přijmout z prostředí
- Uhlíkový skelet je vytvářen z meziproduktů metabolismu (glykolýza, citrátový cyklus)

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.25, str. 135

Začlenění NH₃

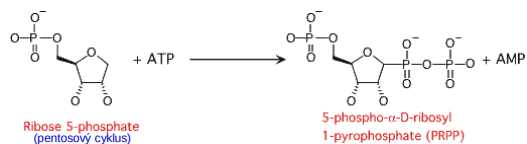
- Aminace
- Transaminace
 - Aminoskupina glutamátu přenesena na jiné α-keto kyseliny za vzniku aminokyselin

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.26, str. 135

Syntéza nukleotidů

- Postupné přidávání jednoduchých molekul
- Syntéza je pevně kontrolována regulačními mechanismy
- Příjem z prostředí je preferován
- Bakterie jsou schopny vzájemně přeměňovat jednotlivé purinové (A, G) a pyrimidinové (T, C, U) báze

Syntéza fosforibosyl pyrofosfátu



- Tento meziprodukt je potřebný pro syntézu purinů, pyrimidinů, NAD, His a Trp
- Tvoří kostru RNA a DNA
- Rozhodující úloha v anabolismu

Syntéza mastných kyselin a lipidů

- Základní strukturní jednotky membrán
- Zásobárna uhlíku a energie
- Mastné kyseliny syntetizovány postupným přidáváním 2 uhlíkových atomů
- Lipidy jsou sestaveny z mastných kyselin a glycerolu
- Struktura lipidů specifická pro jednotlivé skupiny bakterií

Učebnice Madigan a kol., obr. 5.28, str. 136

A-Č slovníček

- | | |
|--------------------|--------------------|
| • Butyric acid | kys. máselná |
| • Propionic acid | kys. propionová |
| • Acetoacetic acid | kys. acetoctová |
| • Pyruvic acid | kys. pyrohroznová |
| • Succinic acid | kys. jantarová |
| • Malic acid | kys. jablečná |
| • Fumaric acid | kys. fumarová |
| • Lactic acid | kys. mléčná |
| • Formic acid | kys. mravenčí |
| • Aspartic acid | kys. asparagová |
| • Pyruvate | pyruvát |
| • Malate | malát |
| • Succinate | sukcinát, jantaran |