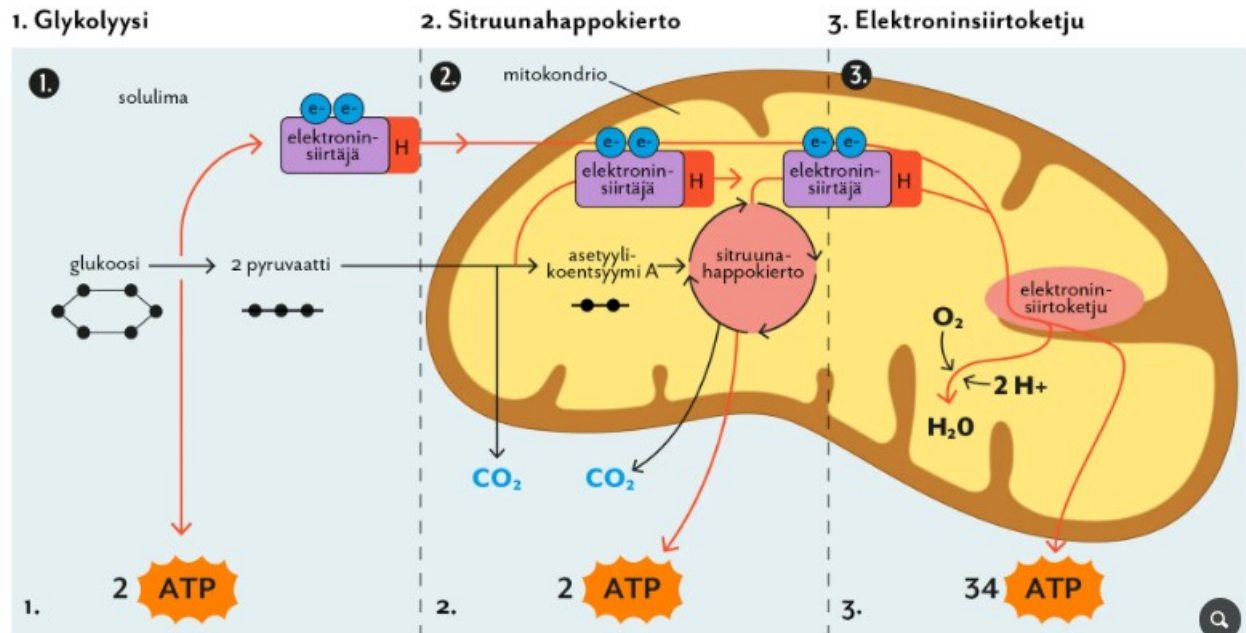


Solu- ja molekyylibiologian perusteet Biokemia 3 / Entsyymit

Solujen energiantuotannossa on kolme vaihetta, joista harjoituksessa tutustutaan ensimmäiseen: glykolyysiin (energiantuotantoa käsitellään tarkemmin solubiologian viimeisellä viikolla)



Soluhengityksen vaiheet. Iiris 4, Sanomapro

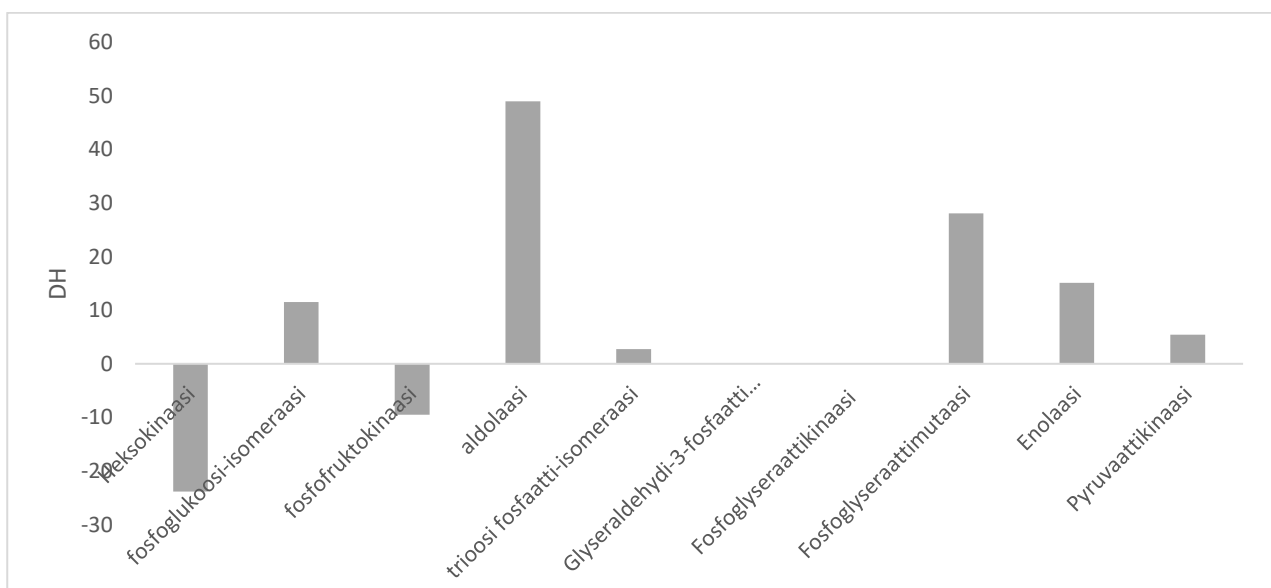
Glykolyysissä glukoosimolekyyli ($C_6O_6H_{12}$) pilkotaan vaiheittain palorypälehapoksi, pyruvaatiksi ($C_3O_3H_3$). Hajoamisessa on useita tasapainoreaktioita, joista osa on spontaaneja, osa ei-spontaaneja, osa lämpöä luovuttavia, osa lämpöä ottavia

1 Endo- ja eksotermiset reaktiot

Ohessa on glykolyysin reaktioreitti. Lisätäkää niiden välille entsyymit ja selvittäkää oheisen taulukon avulla, mitkä reaktioista ovat lämpöä luovuttavia (eksotermisiä) ja mitkä ympäristöstä lämpöä ottavia (endotermisiä). Merkitkää lämpöäluovuttavat reaktiot punaisella ja lämpöä ottavat sinisellä nuolella.

Reaktio	Entsyymi	ΔH° (kJ/mol)
Glukoosi + ATP → glukoosi-6-fosfaatti + ADP + H ⁺	<i>Heksokinaasi</i>	-23.8
Glukoosi-6-fosfaatti → fruktoosi-6-fosfaatti	<i>fosfogluukoosi-isomeraasi</i>	11.53
Fruktoosi-6-fosfaatti + ATP → fruktoosi-1,6-bisfosfaatti + ADP + H ⁺	<i>fosfofruktokinaasi</i>	-9.5
fruktoosi-1,6-bisfosfaatti → dihydroksyasetonifosfaatti + glyseraldehydi-3- fosfaatti	<i>aldolaasi</i>	48.97
dihydroksyasetonifosfaatti → glyseraldehydi-3-fosfaatti	<i>trioosi fosfaatti-isomeraasi</i>	2.73
Glyseraldehydi-3-fosfaatti + P _i + NAD ⁺ → 1,3- bisfosfoglyseraatti + NADH + H ⁺	<i>Glyseraldehydi-3-fosfaatti dehydrogenaasi</i>	
1,3-Bisfosfoglyseraatti + ADP → 3-fosfoglyseraatti + ATP	<i>Fosfoglyseraattikinaasi</i>	
3-fosfoglyseraatti → 2-fosfoglyseraatti	<i>Fosfoglyseraattimutaasi</i>	28.05
2-fosfoglyseraatti → fosfoenolpyruvaatti + H ₂ O	<i>Enolaasi</i>	15.1
Fosfoenolpyruvaatti + ADP + H ⁺ → pyruvaatti + ATP	<i>Pyruvaattikinaasi</i>	5.415

Li, X., Wu, F., Qi, F., & Beard, D.A. 2011: A database of thermodynamic properties of the reactions of glycolysis, the tricarboxylic acid cycle, and the pentose phosphate pathway. Database (Oxford). PMC3077827



2 Vapaaenergia

Reaktioiden etenemiseen vaikuttaa entalpiain lisäksi epäjärjestys. Nämä yhdistetään usein reaktion vapaaenergian muutokseksi. Vapaaenergia puolestaan kertoo suoraan reaktion tasapainovakion.

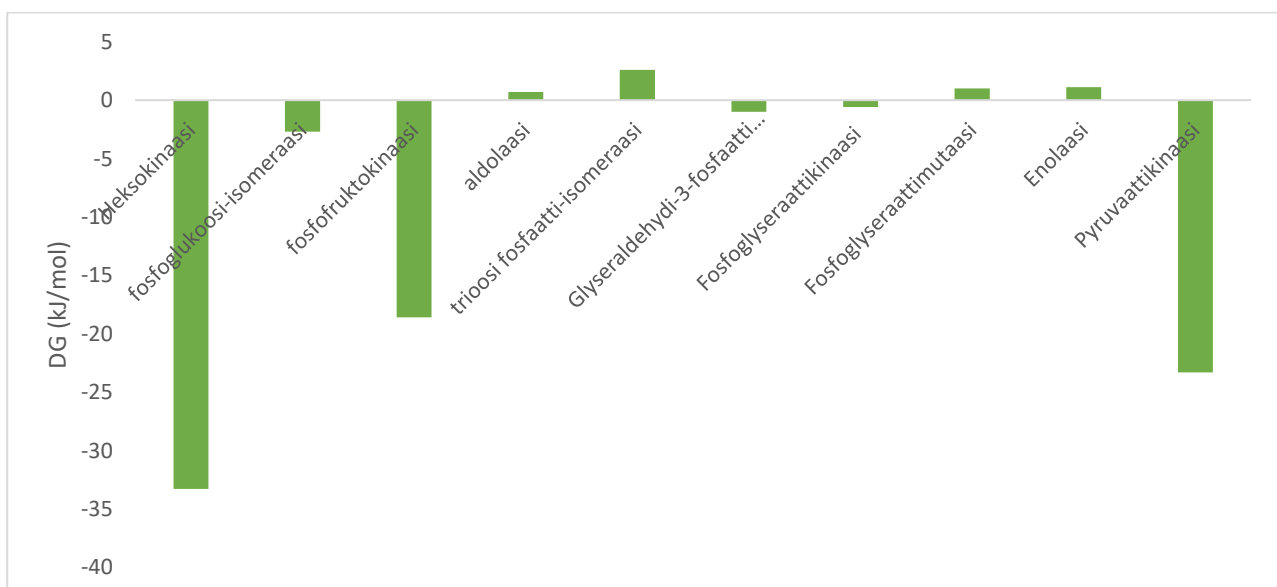
$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq}$$

Selvittääkää oheisen taulukon avulla, mitkä glykolyysin reaktioista ovat spontaaneja (eksergonisia) ja mitkä ei-spontaaneja (endergonisia).

Glykolyysin reaktioiden vapaaenergiat ja tasapainovakiot.

Reaktio	Entsyymi	ΔG (kJ/mol)	Tasapainovakio K
Glukoosi + ATP → glukoosi-6-fosfaatti + ADP + H ⁺	Heksokinaasi	-33.3	686000
Glukoosi-6-fosfaatti → fruktoosi-6-fosfaatti	fosfogluukoosi-isomeraasi	-2.7	3
Fruktoosi-6-fosfaatti + ATP → fruktoosi-1,6-bisfosfaatti + ADP + H ⁺	fosfofruktokinaasi	-18.6	1800
fruktoosi-1,6-bisfosfaatti → dihydroksyasetonifosfaatti + glyseraldehydi-3-fosfaatti	aldolaasi	0.7	0.75
dihydroksyasetonifosfaatti → glyseraldehydi-3-fosfaatti	trioosi fosfaatti-isomeraasi	2.6	0.35
Glyseraldehydi-3-fosfaatti + P _i + NAD ⁺ → 1,3-bisfosfoglyseraatti + NADH + H ⁺	Glyseraldehydi-3-fosfaatti dehydrogenaasi	-1.0	1.50
1,3-Bisfosfoglyseraatti + ADP → 3-fosfoglyseraatti + ATP	Fosfoglyseraattikinaasi	-0.6	1.27
3-fosfoglyseraatti → 2-fosfoglyseraatti	Fosfoglyseraattimutaasi	+1.0	0.67
2-fosfoglyseraatti → fosfoenolpyruvaatti + H ₂ O	Enolaasi	1.1	0.64
Fosfoenolpyruvaatti + ADP + H ⁺ → pyruvaatti + ATP	Pyruvaattikinaasi	-23.3	12000

Hammes G.G. Physical chemistry for the biological Sciences.

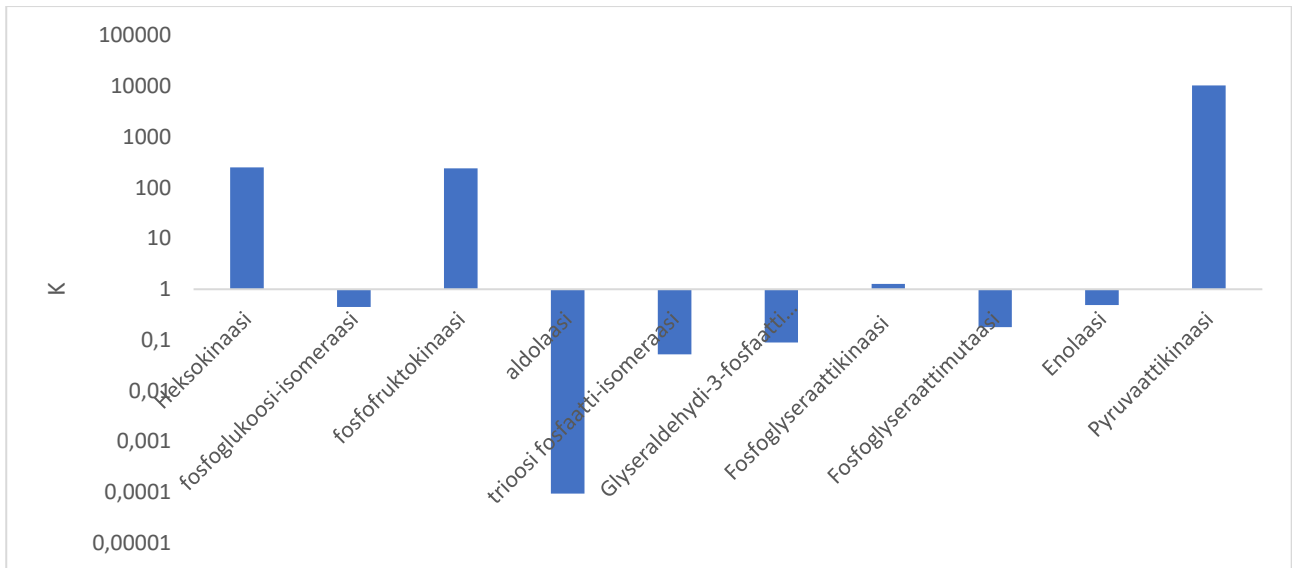


3 Reaktiotasapaino

Tasapainovakio kertoo tuotteiden ja lähtöaineiden suhteen:

$$K = \frac{[tuotteet]}{[lähtöaineet]}$$

Tällöin, mitä suurempi tasapainovakion arvo on, sitä enemmän reaktio on tuotteiden puolella. Lisätäkää reaktioreittiin kahdensuuntaiset nuolet, joissa nuolen paksuus kertoo tasapainon suunnan. Selvittäkää, mitä välituotetta glykolysissä luultavimmin esiintyy eniten ja mitä vähiten.

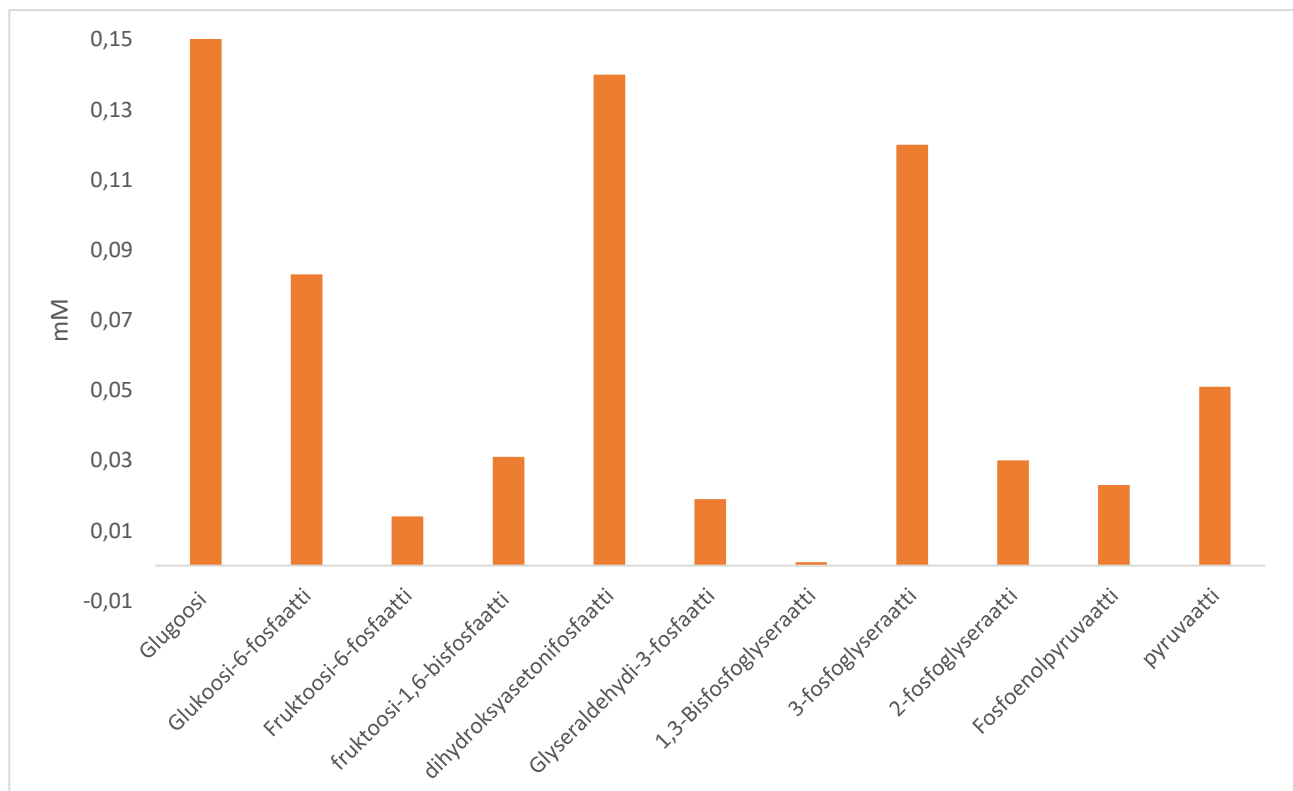


4 aineiden kertyminen

Verratkaa ennustettanne glykolyysin kertyvien välituotteiden määristä oheiseen taulukoon, johon on koottu punasolun glykolyysin metaboliittien pitoisuudet tasapainotilassa.

Metaboliitti	mM
Glukoosi	5
Glukoosi-6-fosfaatti	0,083
Fruktoosi-6-fosfaatti	0.014
fruktoosi-1,6-bisfosfaatti	0.031
dihydroksyasetonifosfaatti	0.14
Glyseraldehydi-3-fosfaatti	0.019
1,3-Bisfosfoglyseraatti	0.001
2,3-Bisfosfoglyseraatti	4
3-fosfoglyseraatti	0.12
2-fosfoglyseraatti	0.03
Fosfoenolpyruvaatti	0.023
pyruvaatti	0.051

Hammes G.G. Physical chemistry for the biological Sciences



5 Reaktionopeus

Entsyymit nopeuttavat reaktioita alentamalla niihin vaadittavaa aktivaatioenergiaa. Tällöin reaktio etenee kohti tasapainoa nopeammin. Ohessa on esitetty maksimaalinen reaktionopeus mitattuna kolmesta eri kudoksesta. Mitkä reaktiot ovat hitaita (vaativat paljon energiaa tapahtuakseen)? Voidaanko reaktioiden nopeudella selittää tasapainovakion (K) ja tasapainotilan pitoisuuksien eroja?

Entsyymit ja niiden säätely:

Entsyymi	$k(s^{-1}, \text{aivot})$	$k(s^{-1}, \text{maksa})$	$k(s^{-1}, \text{lihas})$
<i>Heksokinaasi</i>	79	110	79
<i>fosfogluukoosi-isomeraasi</i>	2200	3100	870
<i>fosfofruktokinaasi</i>	750	2200	640
<i>aldolaasi</i>	27	20	34
<i>trioosi fosfaatti-isomeraasi</i>	68	50	44
<i>Glyseraldehydi-3-fosfaatti dehydrogenaasi</i>	140	55	260
<i>Fosfoglyseraattikinaasi</i>	114	196	87
<i>Fosfoglyseraattimutaasi</i>	115	310	350
<i>Enolaasi</i>	15	17	20
<i>Pyruvaattikinaasi</i>	590	640	490

Wiśniewski, J.R., Gizak, A., & Rakus, D. Integrating proteomics and enzyme kinetics reveals tissue-specific types of the glycolytic and gluconeogenic pathways. – *J. Proteome* 2015 14:3263-3273.

