

章節：CH13	
教師：洪錦堂老師	日期：2014 / 04 /
撰稿組：章杰、彧誠、正傑、毅勛	審稿組：伯恩、聖揚、靖軒

13.0 本章重點

1. 肝糖之分解合成
2. 分解合成之調控
3. 五碳糖磷酸路徑

一、多糖的代謝作用

在動物的代謝中，葡萄糖的來源有二：dietary polysaccharide, involving starch from plant and glycogen from meat；動物自身的肝糖（glycogen）

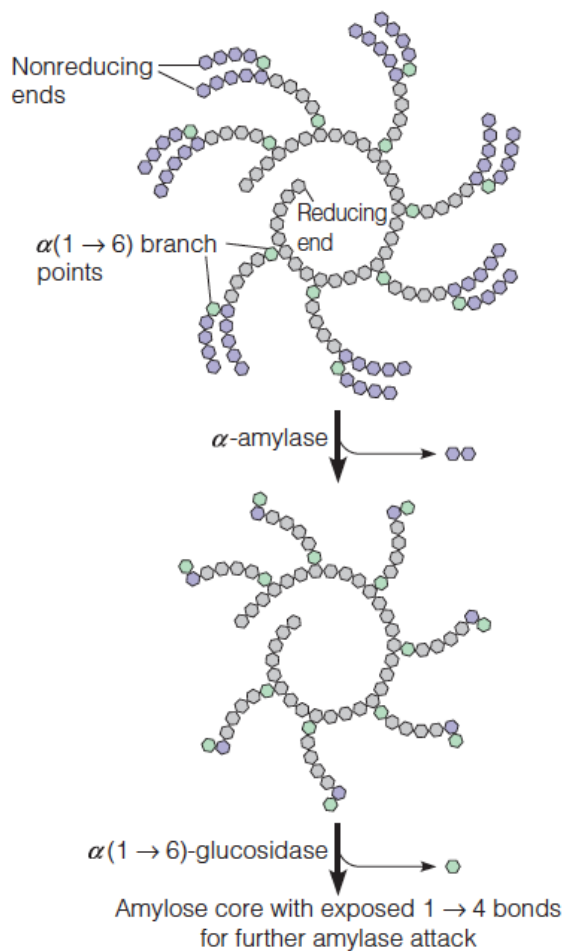
而葡萄糖由兩種聚合物組成：amylose($\alpha(1\rightarrow4)$), amylopectin($\alpha(1\rightarrow4)$ $\alpha(1\rightarrow6)$)
肝糖接近是 amylopectin, 但具有更多分枝

(1)Hydrolytic and Phosphorolytic Cleavages

多糖分解與肝糖 mobilization 皆包含自葡萄糖聚合體的 nonreducing end 進行單糖單位的 sequential cleavage 此一作用。而此 cleavage 有兩種方式：hydrolysis and phosphorolysis(catalyzed by phosphorylase)

註：phosphorolysis 在能量上較有優勢，因其產物為 sugar phosphates, 無需再與 ATP 作用即可直接作為糖解反應的中間產物。但是在 dietary polysaccharide 的反應中，hydrolysis 產生的 hexose sugars 則較 sugar phosphates 易被組織吸收。

(2)澱粉與肝糖的消化



Top 唾液中的 α -amylase 可切斷麥

芽糖單位間的 $1-4$ bond，卻無法切斷

分枝處的 $1-6$ bond，而被 α -amylase

作用完的amylopectin及肝糖稱為

limit dextrin;此時就需要debranching

enzyme, $\alpha(1-6)$ -glucosidase(isomaltase)

的作用

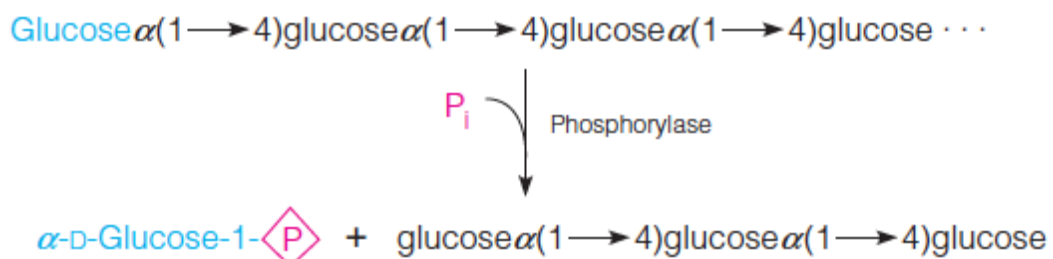
Bottom $\alpha(1-6)$ -glucosidase 切除分

枝點露出 amylose core 繼續與

amylase 作用

二、肌肉與肝臟中的肝糖代謝

(1)肝糖分解

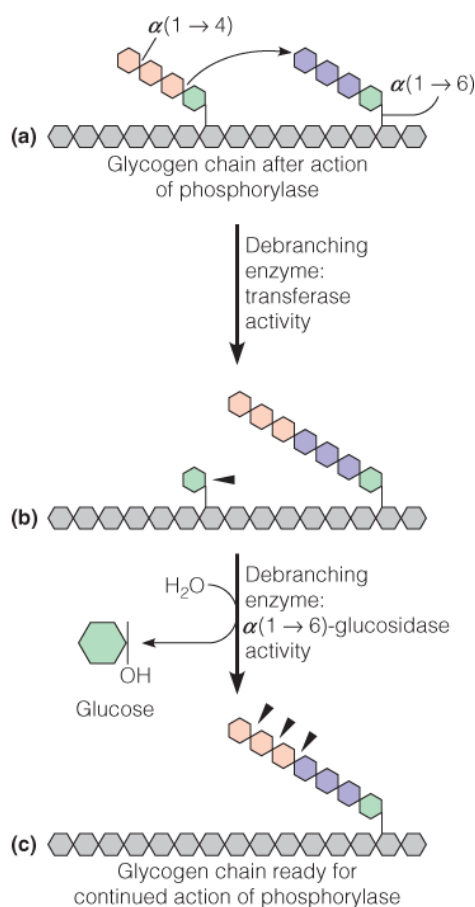


由 glycogen phosphorylase 催化進行 $\alpha(1 \rightarrow 4)$ 的 sequential phosphorolytic cleavage (植物中由 starch phosphorylase 催化)

phosphorylase 也無法切除 $(1 \rightarrow 6)$ 的分支點，而切除作用會在距離分支點四個單糖分子遠的地方停止。需要第二種酵素作用—debranching enzyme。

debranching enzyme, (α 1,4- \rightarrow α 1,6)-glucantransferase 具有兩種功能：

- a. transferase activity 將三個 glucose residues 移到其他分支上形成新的($1\rightarrow4$)連結
- b. ($1\rightarrow6$)-glucosidase activity，切除僅剩一個殘基的($1\rightarrow6$) bond



總和的效果就是產生了一分子自由的 glucose 而某一支鏈往外多延伸出了三個殘基。而裸露的主鏈即可繼續被 phosphorylase 作用分解。

兩種酵素交互作用即可將肝糖分解為 glucose-1-phosphate(90%) and glucose(10%)

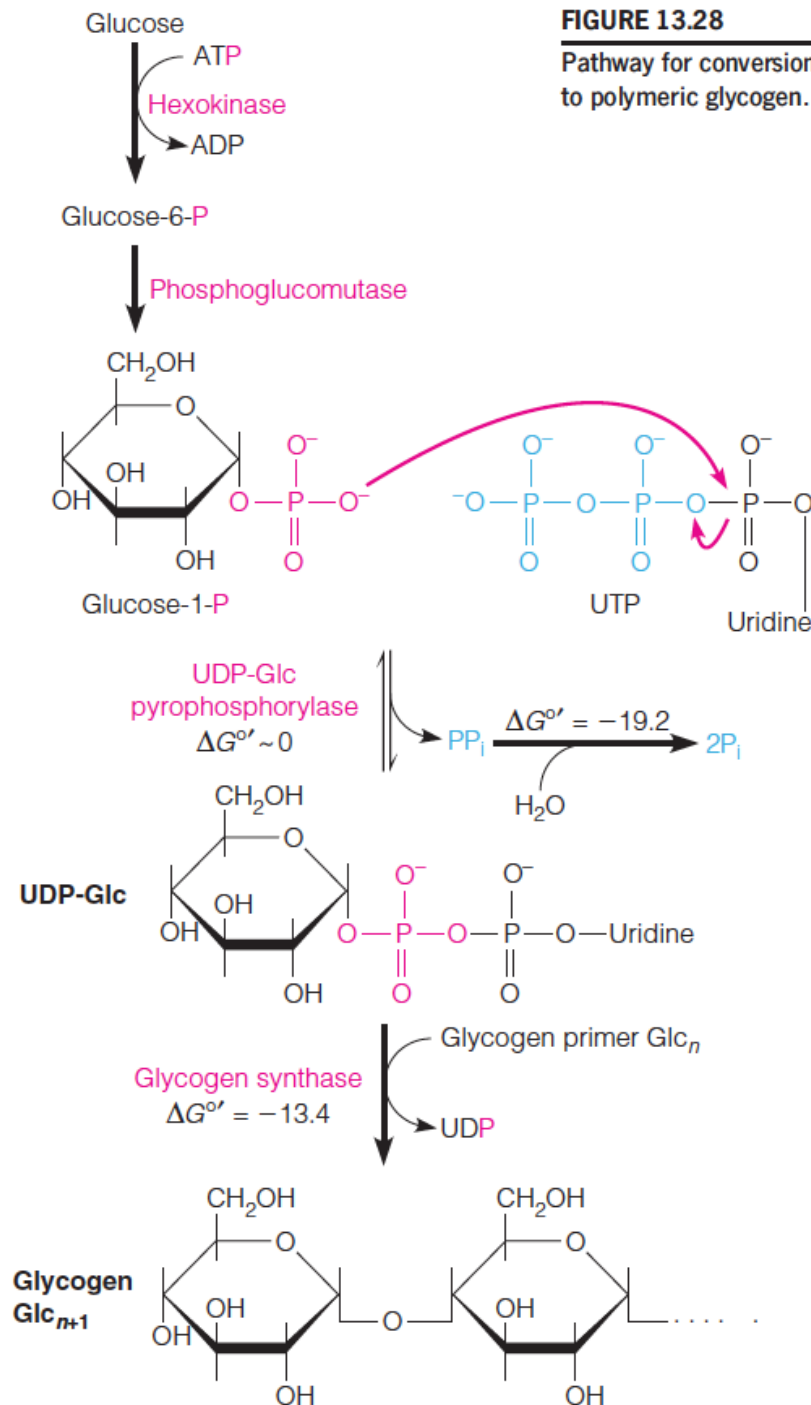
FIGURE 13.27

(2)肝糖的生物合成及支鏈形成過程

in the late 1950s, Luis Leloir 發現肝糖合成的受質— uridine diphosphate glucose(UDP-Glc)

而參與的酵素 glycogen synthase 緊密地結合在細胞內肝糖顆粒的周圍。

The Glycogen Synthase Reaction



- glucose 經由細胞膜上的 glucose transporter 進入細胞
- glucose is phosphorylated by hexokinase 產生 glucose-6-phosphate
- G6P is isomerized to G1P by phosphoglucomutase
- G1P 經由 UDP-glucose pyrophosphorylase 催化與 UTP 作用形成 UDP-glucose(標準自由能變化趨近 0, 而反應向右進行是由於 pyrophosphatase 催化的焦磷酸根水解反應釋能所致)

- e. 經由酵素 glucogen synthase 的催化將 activated sugar(UDP-glucose)轉移至長度至少有四個殘基的支鏈的 nonreducing end 上，並與其 hydroxyl group 作用形成 $\alpha(1\rightarrow4)$ glycosidic linkage
- f. glucogen synthase 繼續相同的反應

因為 UDP-glucose 為高能分子，所以與長鏈的結合是一 exergonic 過程 (-13.4kJ/mol)，glucogen synthase 催化的這一步驟是速率決定步驟，也是此反應途徑的調控位置。

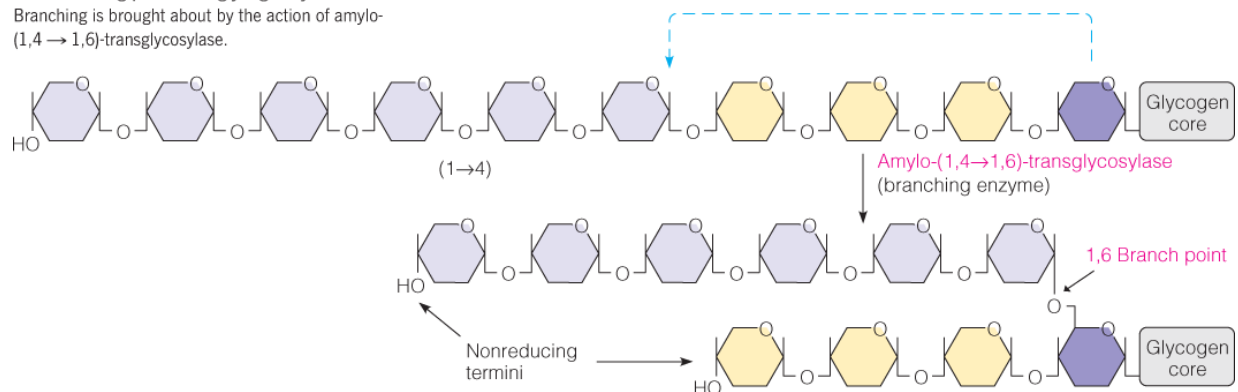
Formation of Branches

愈多的支鏈意味著有愈多的 nonreducing end，有利於肝糖分解反應的進行。

branching enzyme, amylo-(1,4 \rightarrow 1,6)-transglycosylase，此酵素從一條長度至少有 11 residues 的支鏈上取下一段長 6-7 residues 的 terminal fragment，並將其移至多醣體內部一葡萄糖殘基的 6 號 hydroxyl group 上，形成 $(1\rightarrow6)$ glycosidic linkage(因

FIGURE 13.30

The branching process in glycogen synthesis. Branching is brought about by the action of amylo-(1,4 \rightarrow 1,6)-transglycosylase.



Copyright © 2013 Pearson Canada Inc.

為 1,4 與 1,6 在化學性質上的相似，所以反應前後能量不會有太大的改變)

三、Coordinated Regulation of Glycogen Metabolism

肝糖供給身體所需立即且大規模的能量需求，因此肝糖分解反應必須是十分快速的。

(1) Structure of glycogen phosphorylase

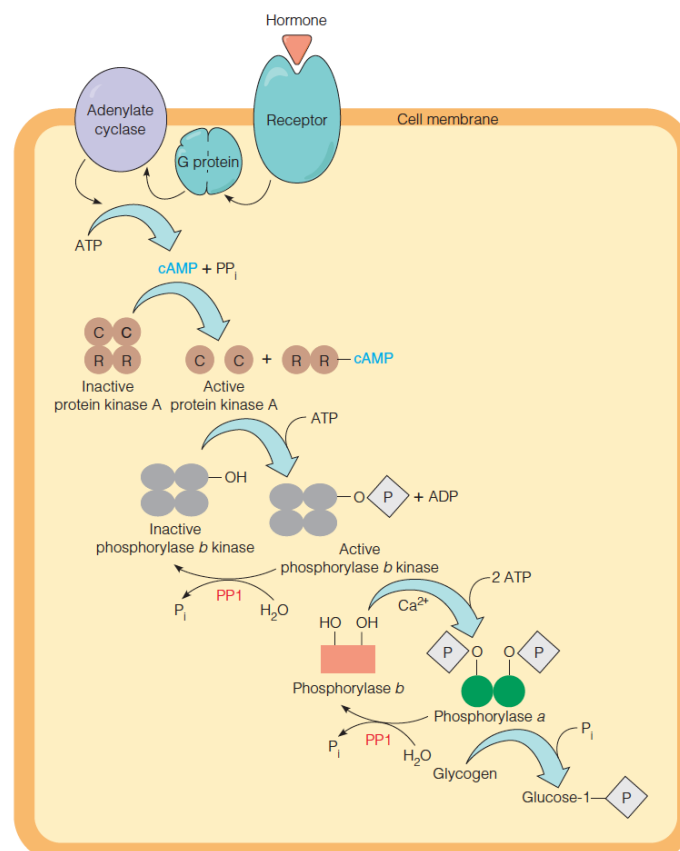
在骨骼肌中， **glycogen phosphorylase** 是由兩條相同多肽鏈組成的二聚體，並且處於兩種可互相轉換的形態—the **relative active phosphorylase a** and the **relative inactive phosphorylase b**。若兩次單元上的 **serine 14** 都發生 **phosphorylase** 將使 **b** 變成 **a**，也就是將構型上的均衡由 **less active T state** 移至 **more active R state**。

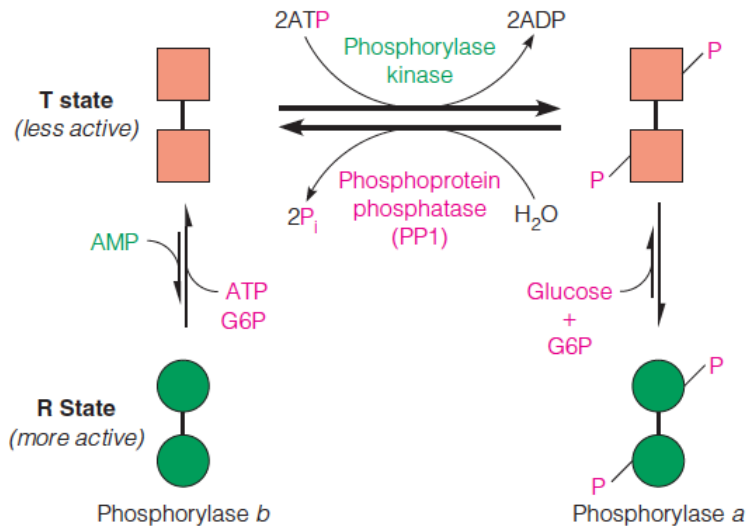
(2)Control of phosphorylase activity

肝糖分解的激素調控機轉經由一 **metabolic cascade**,由 **cAMP** 的活化開始以及之後連續一系列的酵素蛋白質 **phosphorylation**

下圖

a.phosphorylase b 的活化是由專一性的 **phosphorylase b kinase** 催化將 **phosphate** 由 **ATP** 移到兩個 **serine** 上；去活性化則是由專一的 **phosphorylase phosphatase(phosphoprotein phosphatase 1,PP1)**所催化



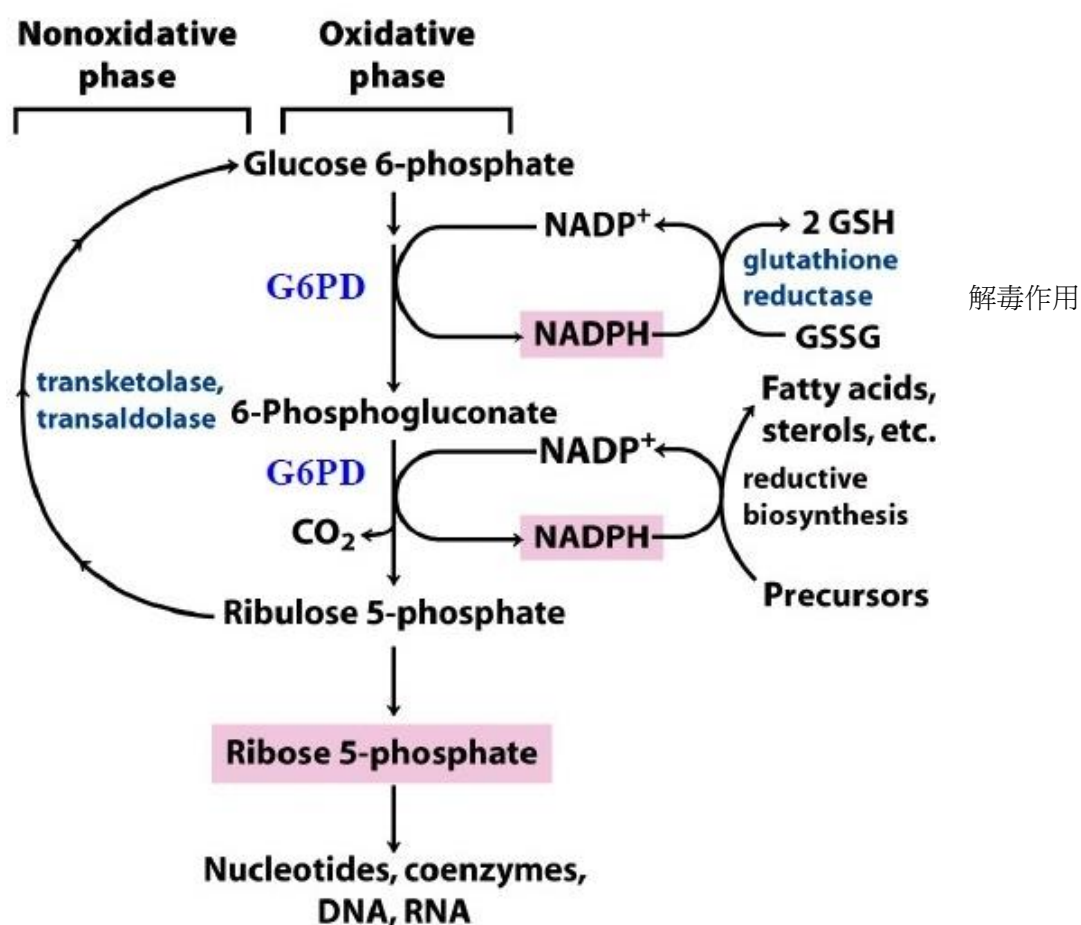


上圖 Control of glycogen phosphorylase activity

- T and R state 都可以被 PP1 作用而 dephosphorylated，但是 T state 在此反應中是一較佳的受質，因為其 phosphoserine 側鏈在此狀態下的構型較易反應。
- phosphorylase b 大多數以 T state 存在，而其 T,R 間的均衡則受 allosteric effectors AMP, ATP, and G6P 調控
- 肌肉中的 phosphorylase b 對 AMP, G6P 的敏感度都較肝臟中的高出許多
- glucose and G6P synergistically 抑制 phosphorylase a，即是藉由將其均衡移向 T state，而在 T 的 phosphorylase a 便會很快速的被 PP1 催化而 desphosphorylated

促進肝糖分解的情況則抑制肝糖的合成，反之亦然；而合成與分解的調控均是藉由反應途徑中相同的磷酸化過程，只是調控的方向不同。

三、pentose phosphate pathway(五碳糖磷酸路徑)(不必記步驟，要知道主要目的)



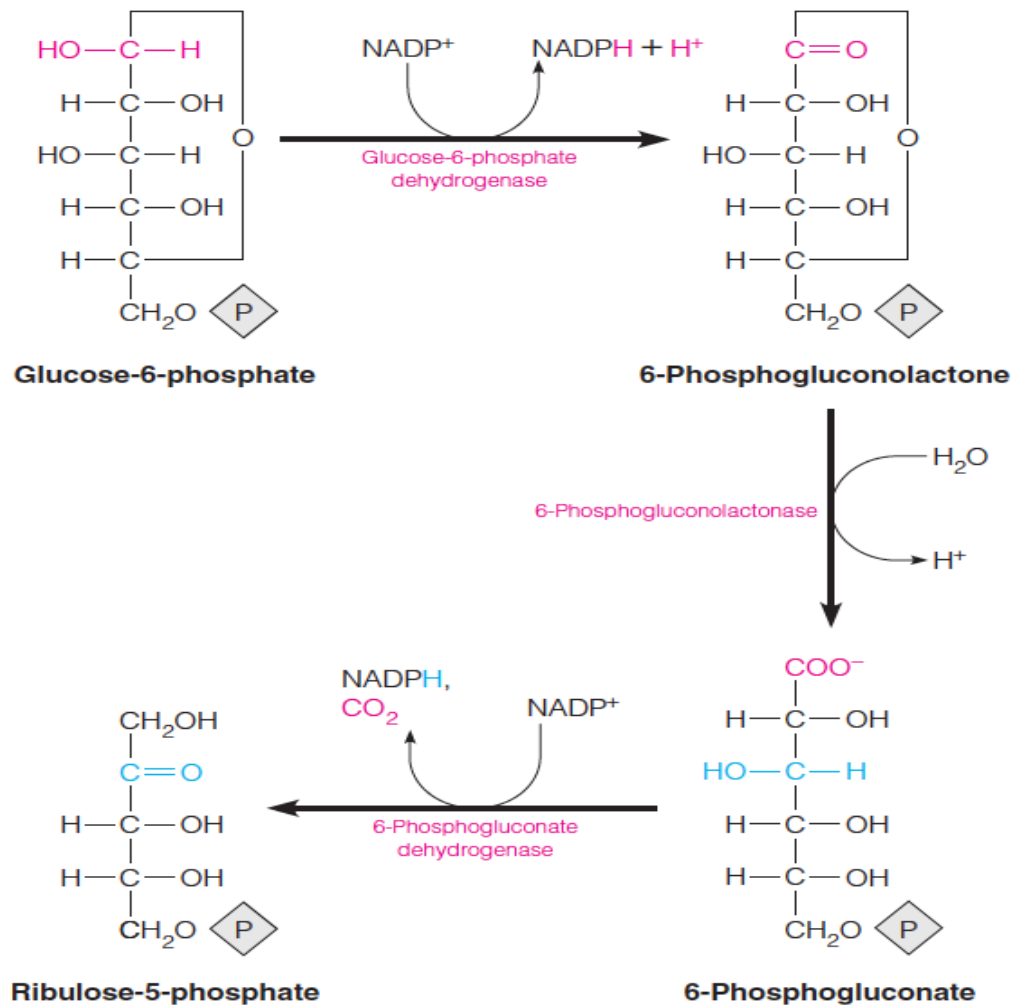
- (1) 目的：以 glucose 6-phosphate 產生 NADPH 及 ribose 5-phosphate。
- (2) 時機：當細胞需要建構大分子物質如 DNA、脂肪酸且能量需求又不高時，例如減數分裂。
- (3) NADPH 為還原態的輔酶，可協助 glutathione reductase 將 GSSG 還原為 GSH 以便進行解毒功用(氧化傷害, oxidative damage)，除此之外也可用於脂肪酸合成。
- (4) ribose 5-phosphate 可用於合成 DNA 及 RNA 等遺傳物質。
- (5) 關鍵酵素：glucose 6-phosphate dehydrogenase(**G6PD**)，glucose 6-phosphate 變成 6-phosphogluconolactone 及 6-phosphogluconate 變成 ribulose 5-phosphate 均由它進行催化，而 6-phosphogluconolactone 變成 6-phosphogluconate 則由 6-phosphogluconolactonase 催化(上圖沒寫，請看下圖)。
- (6) Phosphopentose epimerase(上圖沒寫)和 transketolase(需要 TPP 當 cofactor)及 transaldolase 可將 ribulose 5-phosphate 再變成 glucose 6-phosphate 再重新循環，這樣就可以產生更大量的 NADPH，視身體需要而進行(詳情請看課本 P.578)。
- (7) 調控機制：NADPH 濃度高時會抑制 G6PD 的活性，使 glucose 6-phosphate

不進入五碳糖磷酸循環而進入糖解反應(p.559)。

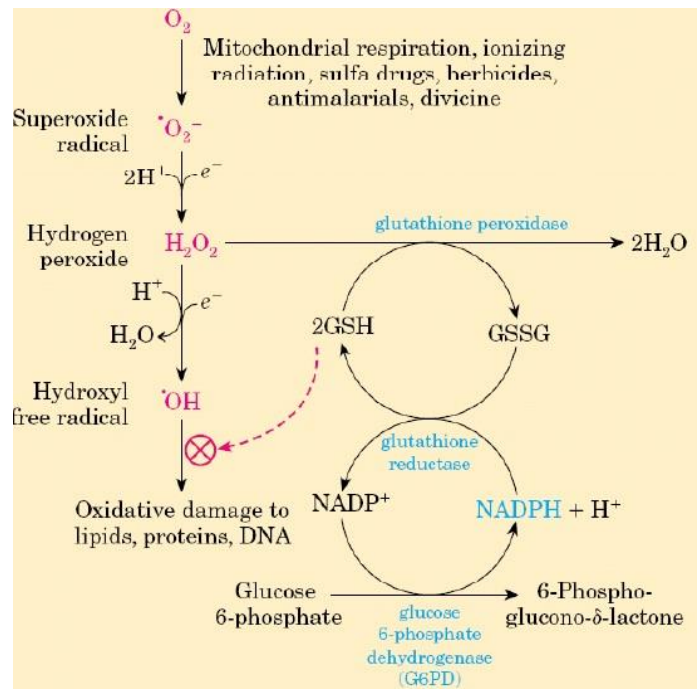
(8) G6P 有三種反應路徑：

- 糖解作用
- 轉變成 G1P，合成肝醣
- Pentose phosphate pathway

Oxidative phase 詳細圖：



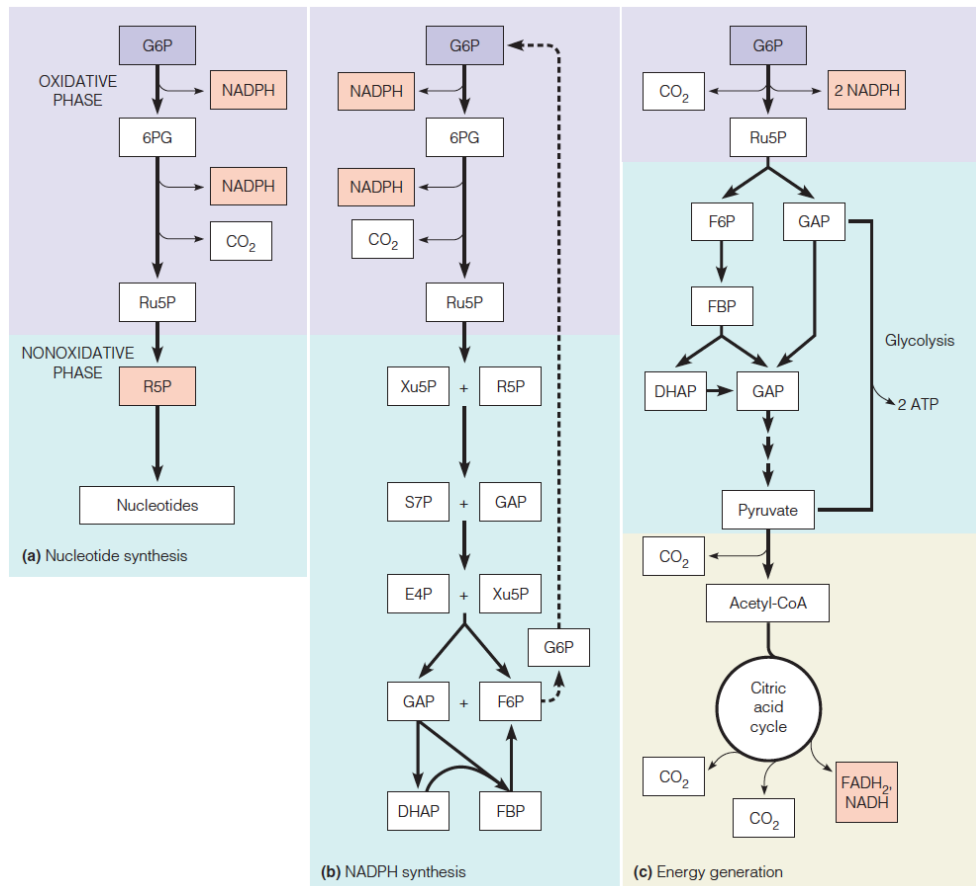
(1) 蠶豆症(G6PD 缺乏症候群；溶血性貧血)



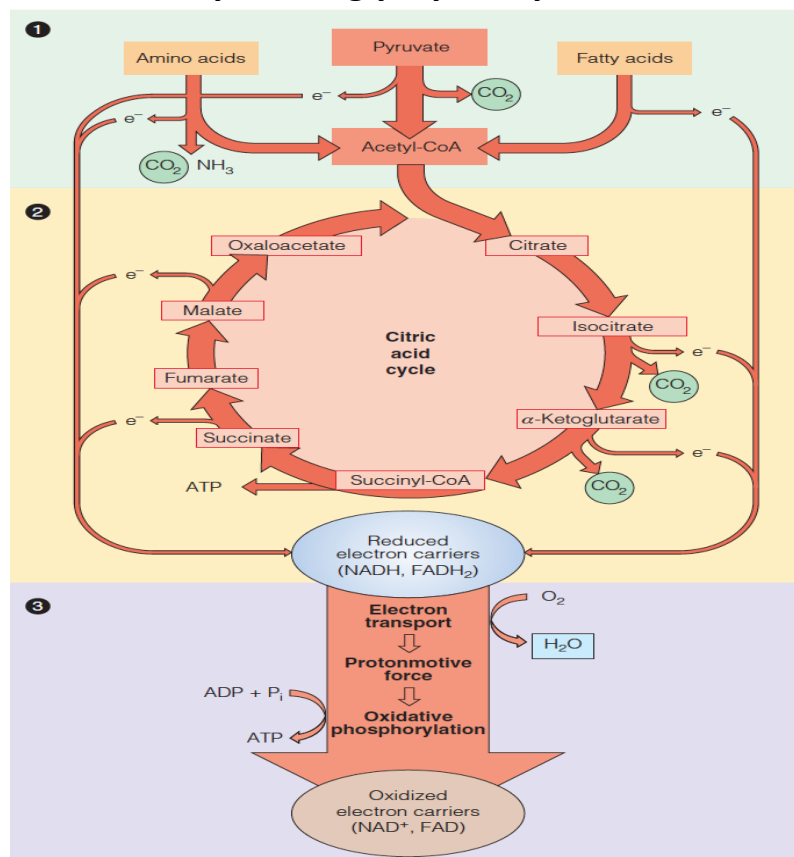
- (9) 發生機率：3%，好發於台灣及中國東南沿海，此病患者不易得瘧疾
- (10) 禁忌：蠶豆、樟腦、紫藥水
- (11) 上述物質代謝產生超氧自由基和雙氧水，在正常人中可被 glutathione peroxidase 在 GSH 協助下轉變為水，但蠶豆症患者因 G6PD 缺陷，無法由五碳糖磷酸循環產生足夠的 NADPH，其 GSH 也會不足，而身體轉而將雙氧水代謝為氫氧自由基，這些自由機會攻擊脂質和 DNA 等，例如破壞紅血球膜

(2) pentose phosphate pathway(五碳糖磷酸路徑)可針對不同的生理需求有不同的形式:

- (1)當需要形成核酸時，ribose-5-phosphate 為主要的產物(圖左)。
- (2)當需要更多的 NADPH 時，fructose phosphates 會轉變 glucose-6-phosphate 再進行 oxidative phase(中圖)。
- (3)當要產生能量時，會進行糖解作用，檸檬酸循環(圖右)。



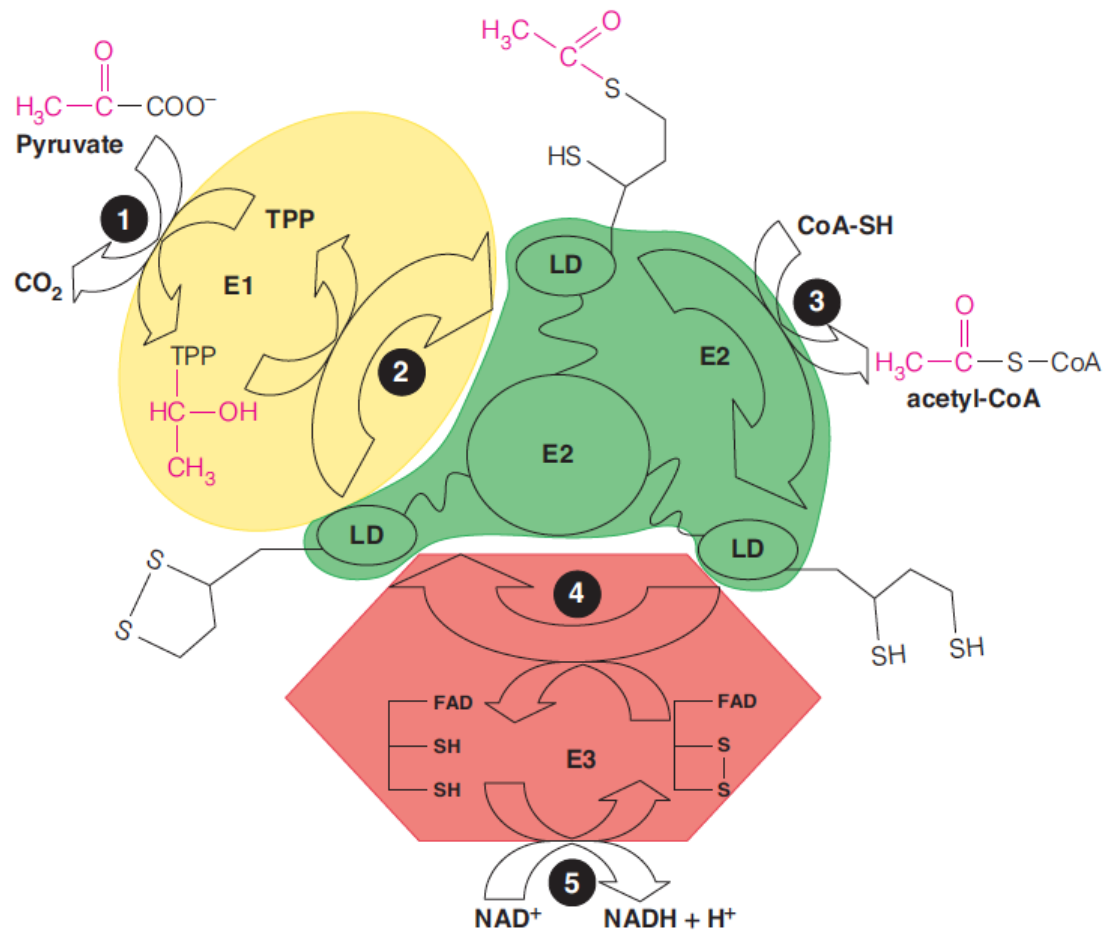
Chapter14: Citric acid cycle and glyoxylate cycle



Pyruvate Oxidation

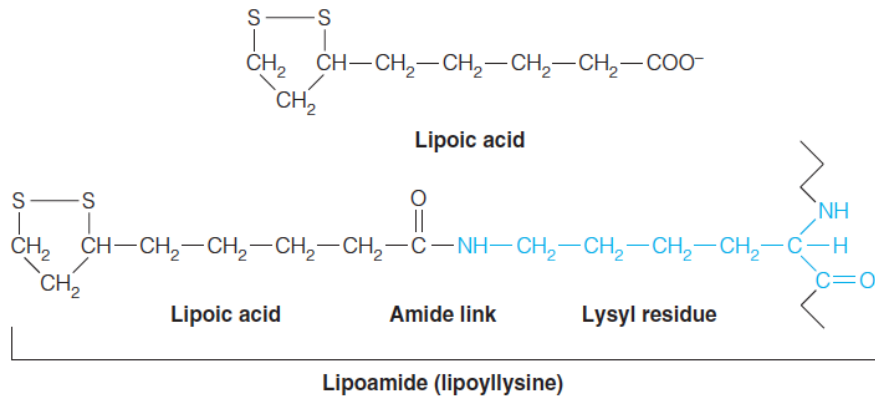
1. PDH complex 能催化 Pyruvate 成為 acetyl-CoA。
2. 這是個脫羧反應，有三個酶及五個輔酶參與。

Coenzymes Involved in Pyruvate Oxidation and the Citric Acid Cycle



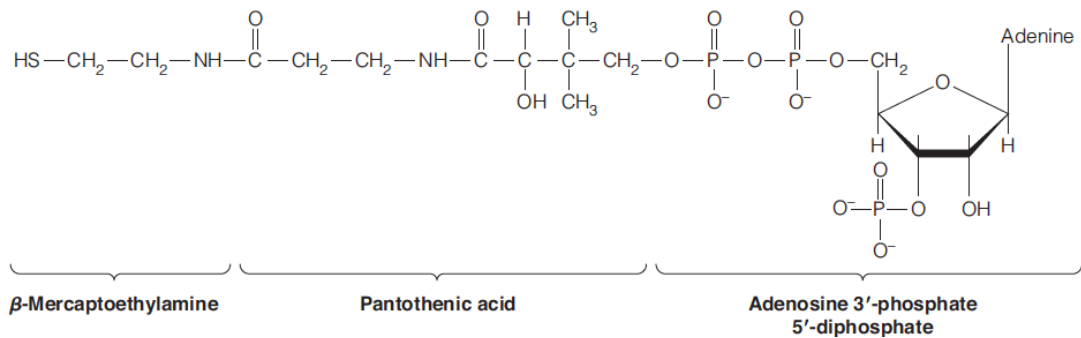
(i) lipoamide (lipolysine)

1. 在 Pyruvate Oxidation 中醛基的接收者為 TPP 產生的硫辛酸(lipoic acid)，硫辛酸在第六及第八個碳之間有雙硫鍵(下圖)。
2. 輔酶會用 lysine 跟硫辛酸以醯胺鍵鍵結，成為 lipoamide(或稱 lipoyllysine)。
3. Lipolysine 支鏈長度約 14 埃，位於 PDH complex 當中的 E2，可以跟 E1 及 E3 的活化為互動。



(ii) Coenzyme A

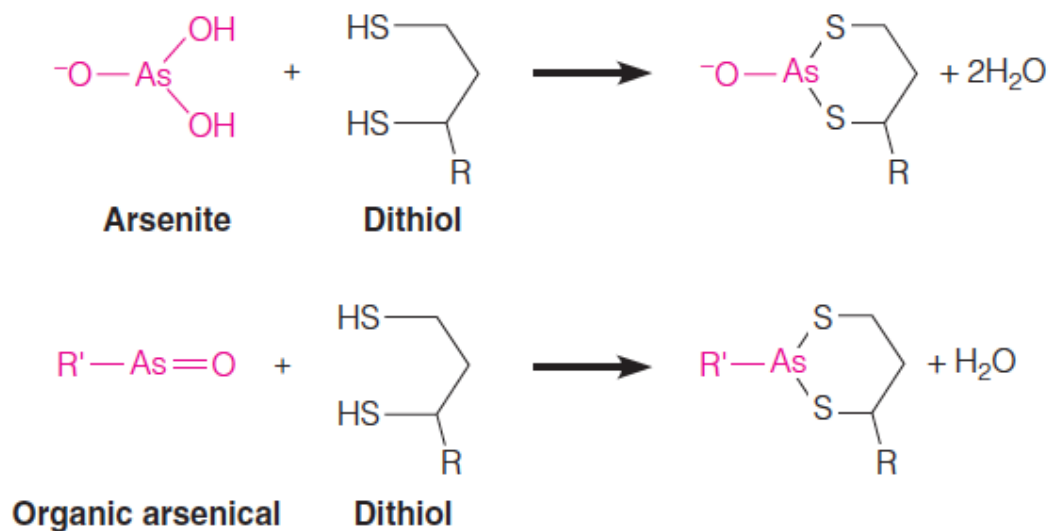
1. 由 ATP、vitamin pantothenic acid，及 *b*-mercaptoethylamine 反應產生，結構如下：



2. Coenzyme A 是一種硫酯，硫酯相對於酯類非常不穩定，能量非常高，參與醯基的活化，包括 Pyruvate 的乙醯基。

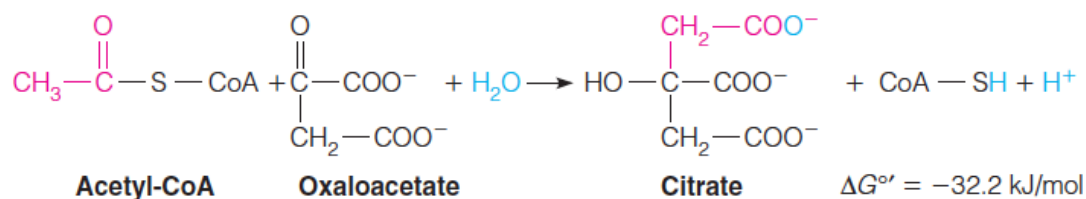
(iii) Trivalent As(III) compounds

1. Trivalent As(III) compounds 例如 arsenite(亞砷酸鹽) and organic arsenicals(有機砷)會跟 PDH Complex 中的二硫醇結合，阻礙其運作。



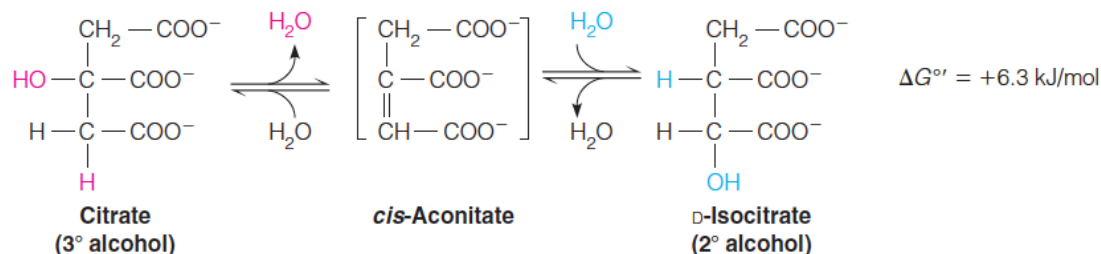
The Citric Acid Cycle

Step1: 此步驟由 citrate synthase 催化，是一個類似於羧醛縮合的反應，放出 32.2 kJ/mole 的能量。

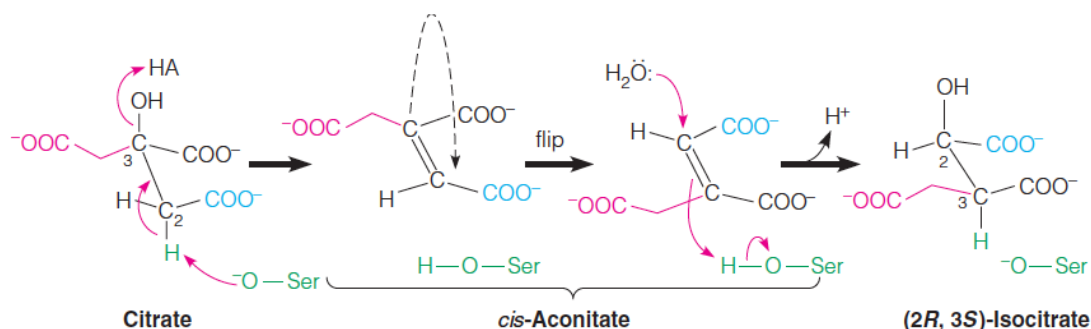


Step2: Isomerization of Citrate

1. citrate 是三級醇，無法氧化。
2. 藉由 aconitase 的催化，citrate 能藉由脫水和水合的步驟形成 isocitrate

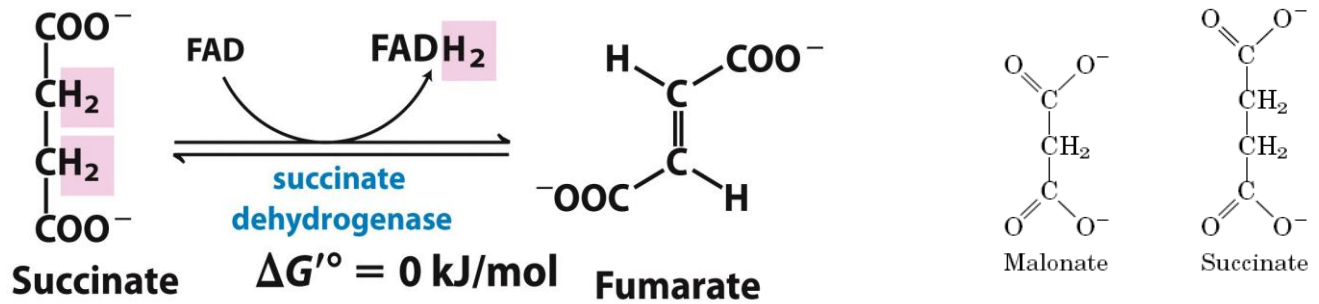


3. aconitase 有一個鐵硫中心稱為 4Fe-4S iron-sulfur center，此鐵硫中心會協調 -OH 基與 citrate 上的羧基。
4. 當 cis-aconitate 180° 被 aconitase 釋出時會翻轉 180°，並在另一個方向上與鐵硫中心相接，最後產生 (2R,3S)-isocitrate。



Step3: Generation of CO₂ by an NAD⁺-Linked Dehydrogenase

1. 藉由 isocitrate dehydrogenase，NAD⁺ 會氧化 isocitrate 使之成為 oxalosuccinate，一種不穩定的酮。
2. Oxalosuccinate 第二個碳會被氧化，其羧基會被移除而形成 α-ketoglutarate。
3. 在 Step3 和 Step4 會有兩個碳以 CO₂ 的形式離開。



(1.) **Succinate dehydrogenase** 位於真核細胞的粒線體內膜上，唯一的穿膜蛋白。位於原核細胞的細胞膜上，同時參與 Citric Acid Cycle 和電子傳遞鏈。

[※ 除了 Succinate dehydrogenase 外，其他參與 TCA cycle 之酵素均存在於粒線體基質中]

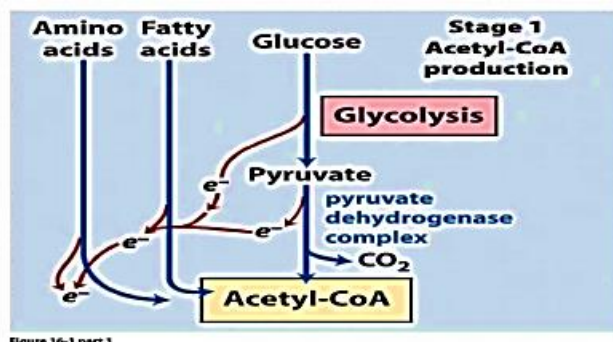
(2.) Succinate dehydrogenase 有三個鐵硫中心，其一與 FAD 鍵結，將之還原成 FADH₂ 並釋出電子至 coenzyme Q，再將 coenzyme Q 還原成 QH₂ 製造 ATP。

(3.) 此反應之反應熱為零，成平衡狀態。

(4.) FAD(輔酶)直接接在酵素上，是少見的情形

[※ Malonate 結構和 succinate 相似，Succinate dehydrogenase 無法辨認兩者差異，故 Malonate 可作為 Succinate dehydrogenase 之抑制劑]

Step7: Hydration of Fumarate to Malate



fumarase (又稱 fumarate hydratase) 具高 stereospecificity，故不與 maleate (順式異構物) 反應，不產生 D-Malate。

特別注意到這裡的 $\Delta G'^0 > 0$ ，但是因為 step1 不斷進行，不但使 oxaloacetate 濃度很低，促使反應向左。也因其釋出了大量的能量提供此反應進行。此現象稱為偶合反應。

(六七步驟老師給的 PTT 上沒有不過老師有講大家還是要看唷!)

Step 8: A Dehydrogenation that Regenerates Oxaloacetate

1. 此循環完成於 NAD⁺-dependent dehydrogenation Malate 脫氫變回 oxaloacetate。

2. 酵素為 malate dehydrogenase

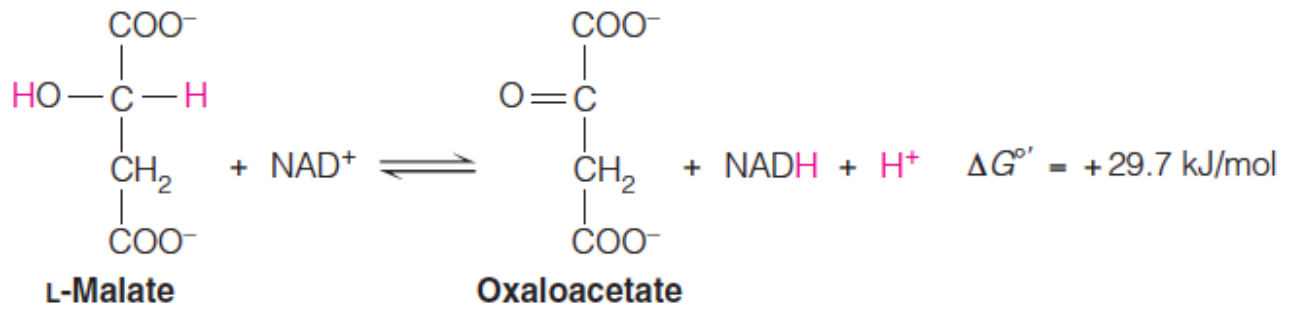


TABLE 14.2 Reactions of the citric acid cycle

Reaction	Enzyme	$\Delta G^{\circ'}$ (kJ/mol)	ΔG (kJ/mol)
1. Acetyl-CoA + oxaloacetate + H ₂ O \longrightarrow citrate + CoA-SH + H ⁺	Citrate synthase	-32.2	~ -55
2a. Citrate \rightleftharpoons <i>cis</i> -aconitate + H ₂ O	Aconitase	+6.3	~ 0
2b. <i>cis</i> -Aconitate + H ₂ O \rightleftharpoons isocitrate	Aconitase		
3. Isocitrate + NAD ⁺ \rightleftharpoons α -ketoglutarate + CO ₂ + NADH	Isocitrate dehydrogenase	-11.6	~ -20
4. α -Ketoglutarate + NAD ⁺ + CoA-SH \rightleftharpoons succinyl-CoA + CO ₂ + NADH	α -Ketoglutarate dehydrogenase complex	-33.5	~ -40
5. Succinyl-CoA + P _i + ADP (GDP) \rightleftharpoons succinate + ATP (GDP) + CoA-SH	Succinyl-CoA synthetase	-2.9	~ 0
6. Succinate + FAD (enzyme-bound) \rightleftharpoons fumarate + FADH ₂ (enzyme-bound)	Succinate dehydrogenase	0	~ 0
7. Fumarate + H ₂ O \rightleftharpoons L-malate	Fumarase	-3.8	~ 0
8. L-Malate + NAD ⁺ \rightleftharpoons oxaloacetate + NADH + H ⁺	Malate dehydrogenase	+29.7	~ 0
	Net	-48.0	~ -115

重要產物：(注意在哪個步驟產生的!!)

3 NADH \rightarrow step 3,4,8

1 FADH₂ \rightarrow step 6

1 ATP (or GTP) \rightarrow step 5

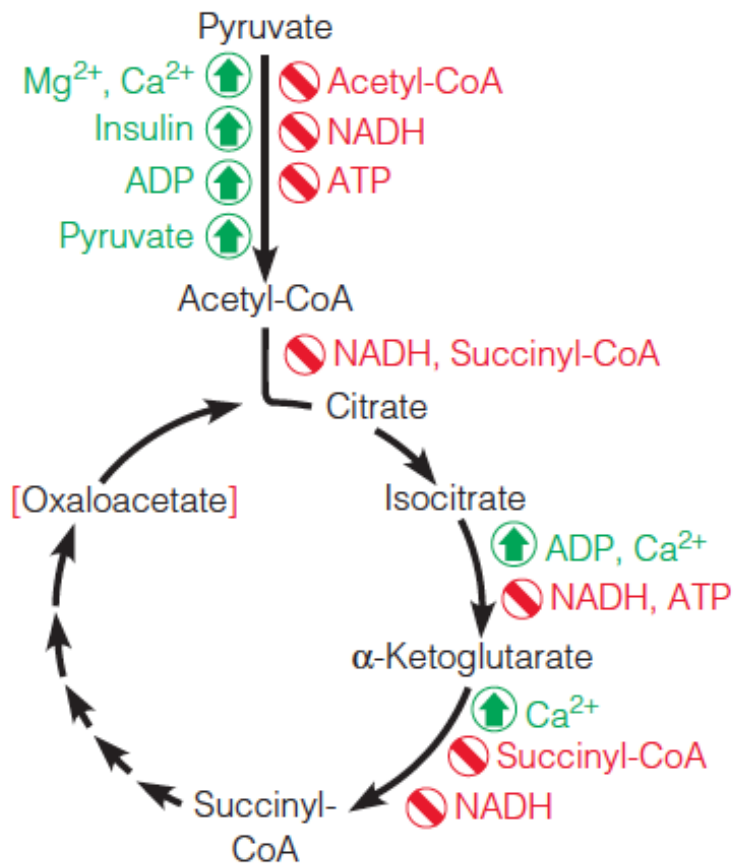
2 CO₂ \rightarrow step 3,4

進入電子傳遞鏈後

1 NADH \rightarrow 2.5 ATP

1 FADH₂ \rightarrow 1.5 ATP

對於檸檬酸循環以及 pyruvate dehydrogenase 的調控

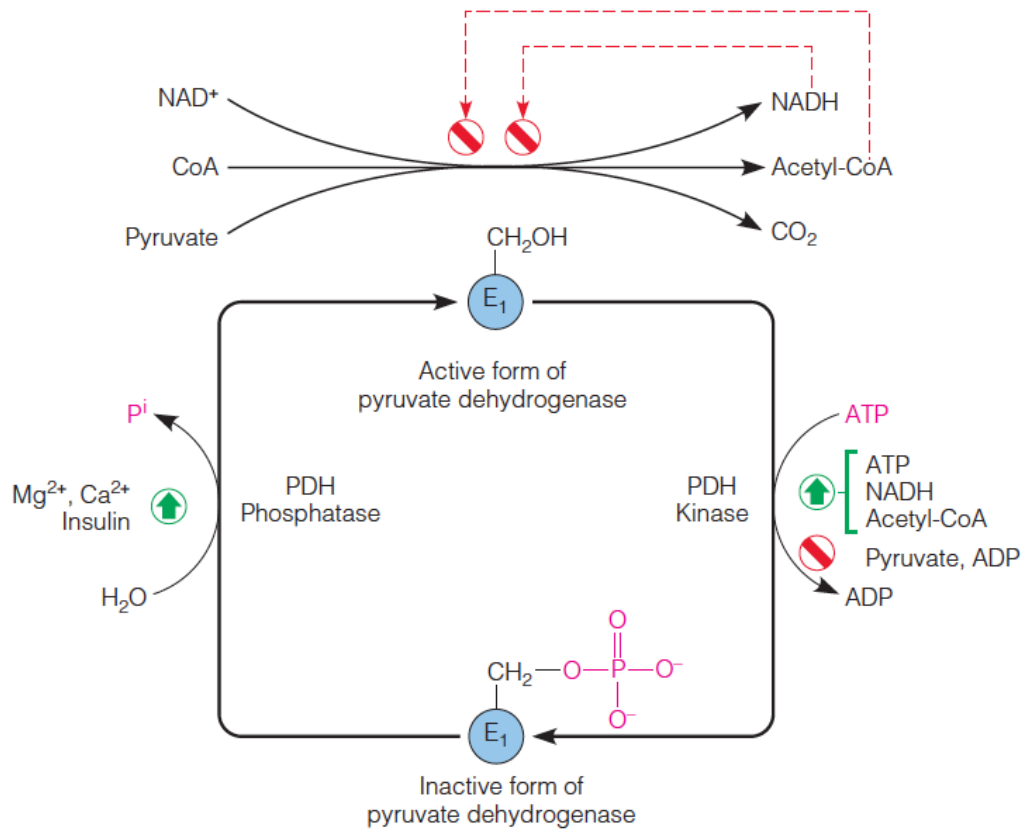


紅色標誌表示是受到濃度調控

NADH 可以利用 allosteric interaction 抑制上述反應，明顯的 NADH 抑制作用也是表示 NAD⁺ 可使用的量較少

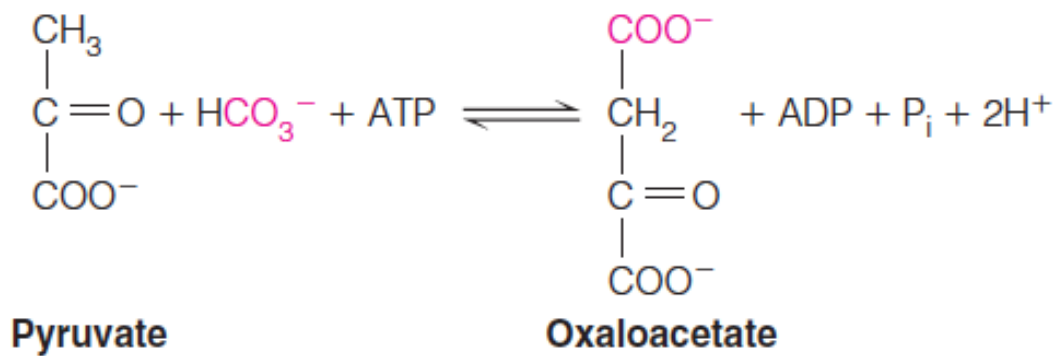
(見下圖)

1. 對於哺乳類 pyruvate dehydrogenase 的調控是藉由回饋抑制和 E1 的共價調控。
2. kinase 和 phosphatase 可以藉著磷酸化和去磷酸化分別調控三個特定絲氨酸的殘基。
3. 具有活性的 pyruvate dehydrogenase complex 會受到 acetyl-CoA 和 NADH 的回饋抑制。
4. 鎂離子濃度上升的同時會使 ATP 的濃度降低，因為兩者會結合。



Anaplerotic Sequences: The Need to Replace Cycle Intermediates

1. 在檸檬酸循環的中間產物會被用在生物合成的步驟中，所以必須要補充中間產物來維持檸檬酸循環，而 Anaplerotic Sequences 的功能就是再補充中間產物。



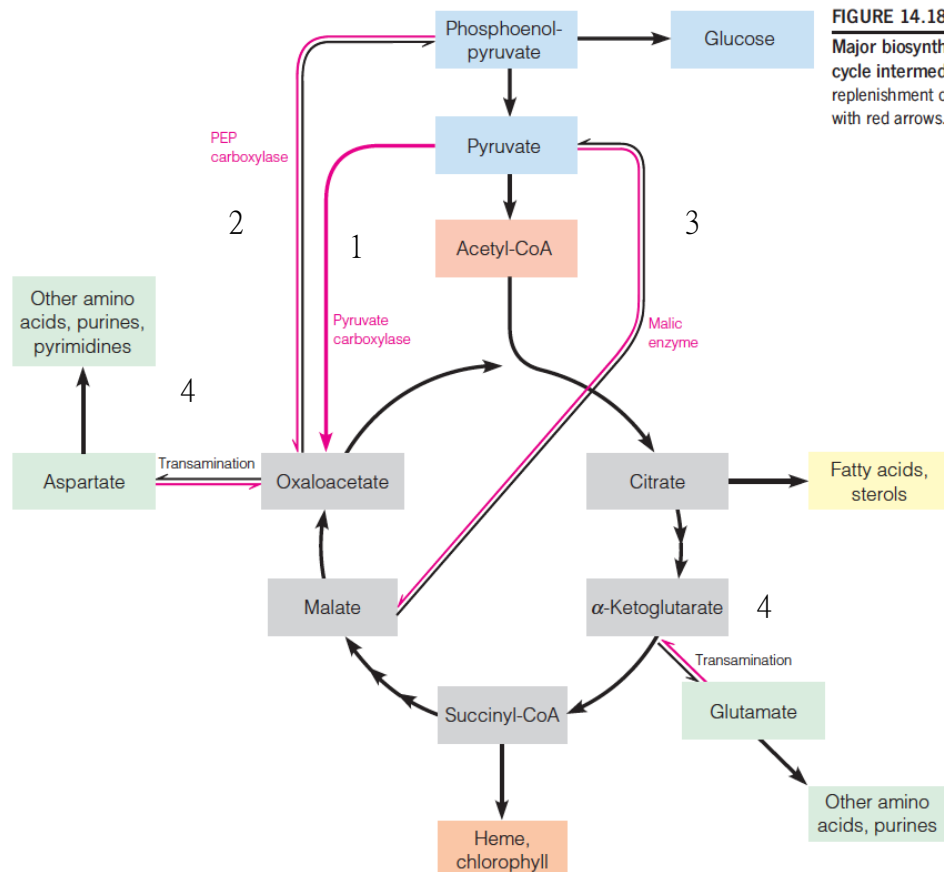


FIGURE 14.18

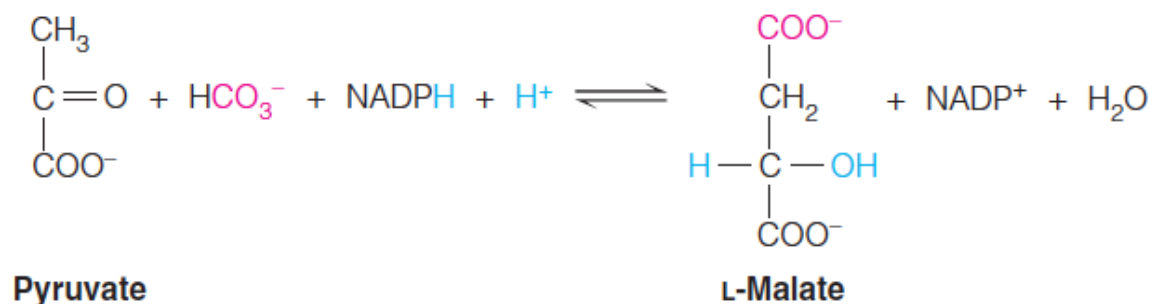
Major biosynthetic roles of some citric acid cycle intermediates. Anaplerotic pathways for replenishment of these intermediates are shown with red arrows.

上圖之 1234 為檸檬酸循環補充中間產物的路徑，由不同的反應物補充。

上圖之 2 步驟為 PEP 之補充反應。這個反應在 C4 pathway 中扮演固碳的重要角色，PEP 受到 phosphoenolpyruvate carboxylase 催化變為 oxaloacetate，在此反應中不需要 energy cofactor 和 biotin 的幫助。



上圖之 3 步驟為 pyruvate 被催化成為 malate 的補充反應，催化的酵素為 malic enzyme，見下圖，此酵素將 NADPH 和 H⁺ 的 H 接到 pyruvate 上，使之形成 malate。

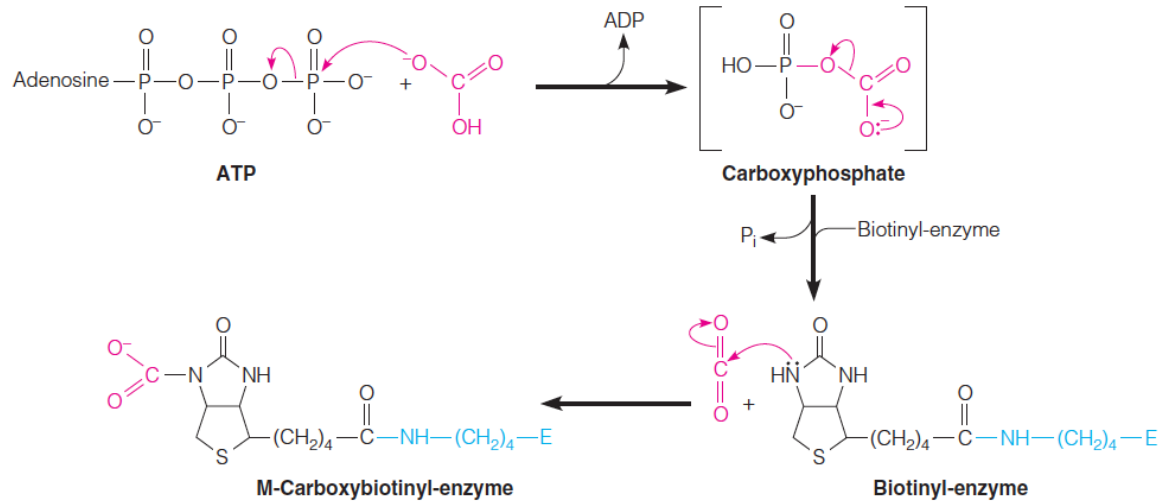


Mechanism of the biotin-dependent pyruvate carboxylase reaction:

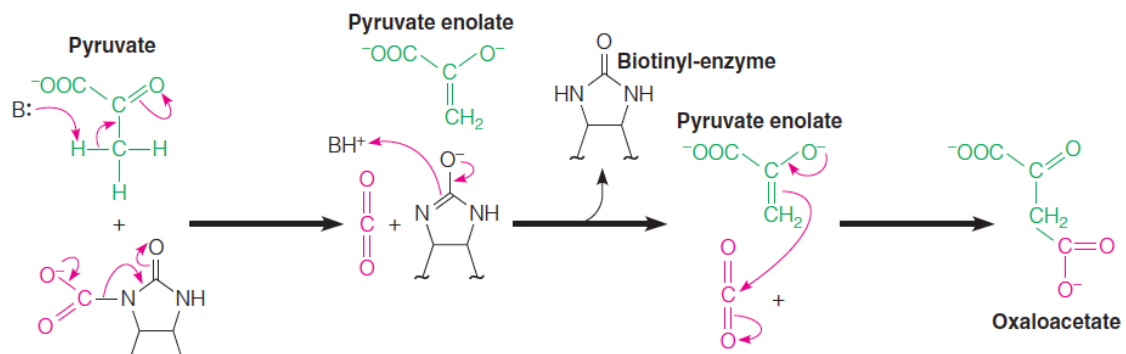
(老師的 PTT 把這兩張 PTT 拿掉了，不過還是附在這邊給大家參考囉)

- Phase I is catalyzed by the biotin carboxylation (BC) domain.
- Phase II is catalyzed by the carboxyltransferase (CT) domain.

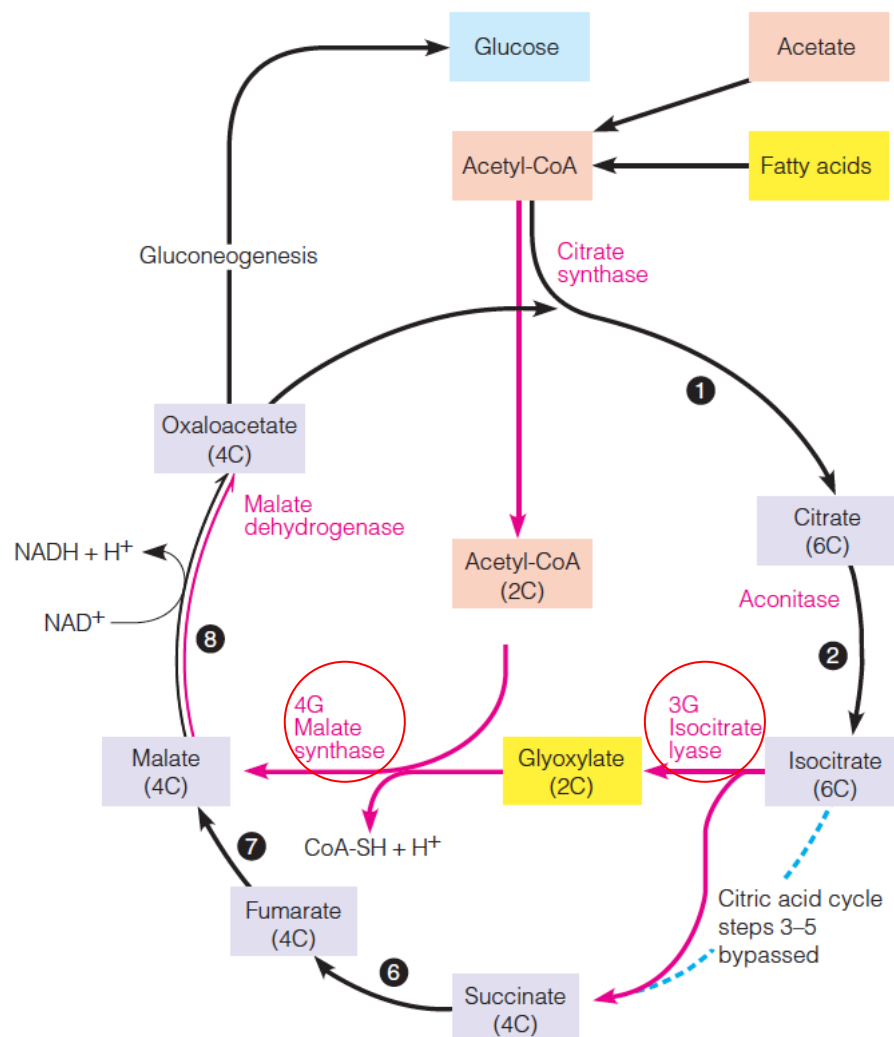
Phase I – Biotin carboxylation (BC) domain



Phase II – Carboxyl transferse (CT) domain



Glyoxylate cycle(乙醛酸循環):糖質新生



1.此反應是藉由 **isocitrate lyase** and **malate synthase** 而使檸檬酸循環跳過步驟 3-5 而可以多儲存下兩個碳，並將這兩個碳用於合成 **Glucose**。

2.反應能使種子內的脂肪酸轉變成醣類，也用以合成其他化合物，與植物的醣質新生有關。(幼小植物即以此法作為醣類能量來源)

3.發現於植物(發芽的脂肪性種子)、水藻與細菌中(動物無)。

4.於 **glyoxysomes**(乙醛酸體)進行反應。

5.重要的兩個 glyoxysomal enzymes: **isocitrate lyase** and **malate synthase**

淨反應: **2 Acetyl-CoA → 1 oxaloacetate**----for carbohydrate synthesis