

# C3181

# Biochemie I

11-Oxidační fosforylace, alternativní respirace

FRVŠ **1647/2012**

# Obsah

- Oxidační fosforylace, chemiosmotická teorie, protonmotivní síla a transmembránový potenciál.
- Syntéza ATP, struktura ATPsyntasy. Inhibitory respirace a syntéza ATP, rozpojovače, ionofory.
- Bilance oxidační fosforylace.
- Alternativní respirace. Oxidace a redukce anorganických sloučenin (kovy, S aj.)

# Tvorba ATP při respiraci

Mechanismus konverze energie uvolněné oxidací

spřažení oxidace a fosforylace ADP

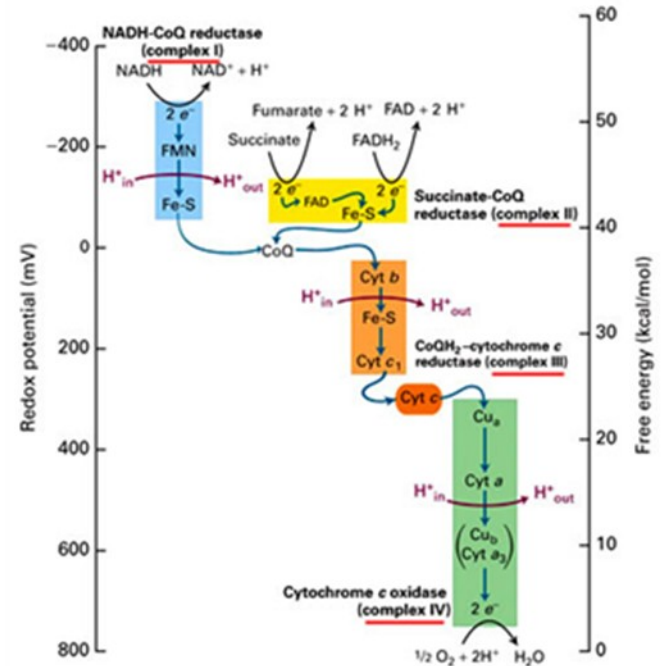
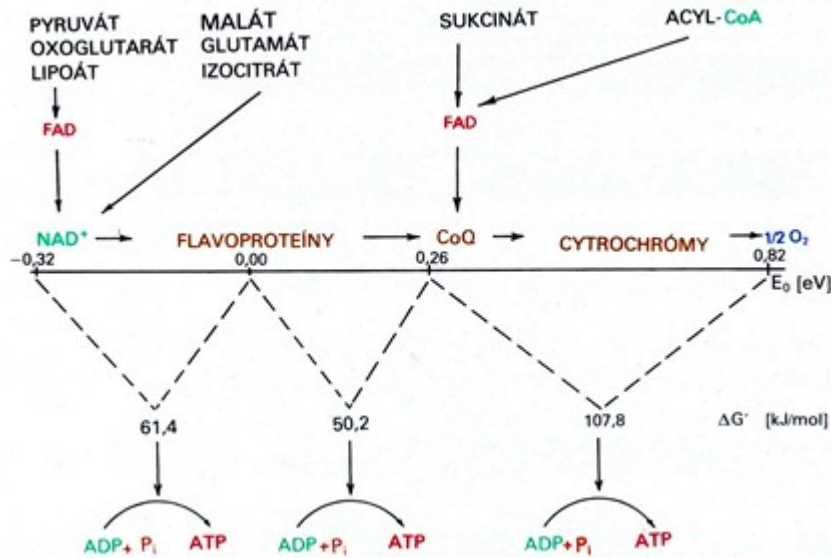
kvantitativní vztahy esterifikace  $P_i$

P/O kvocienty – experimentální průkaz

mechanismus tvorby ATP oxidační fosforylací

analogie se substrátovou fosforylací – odlišné

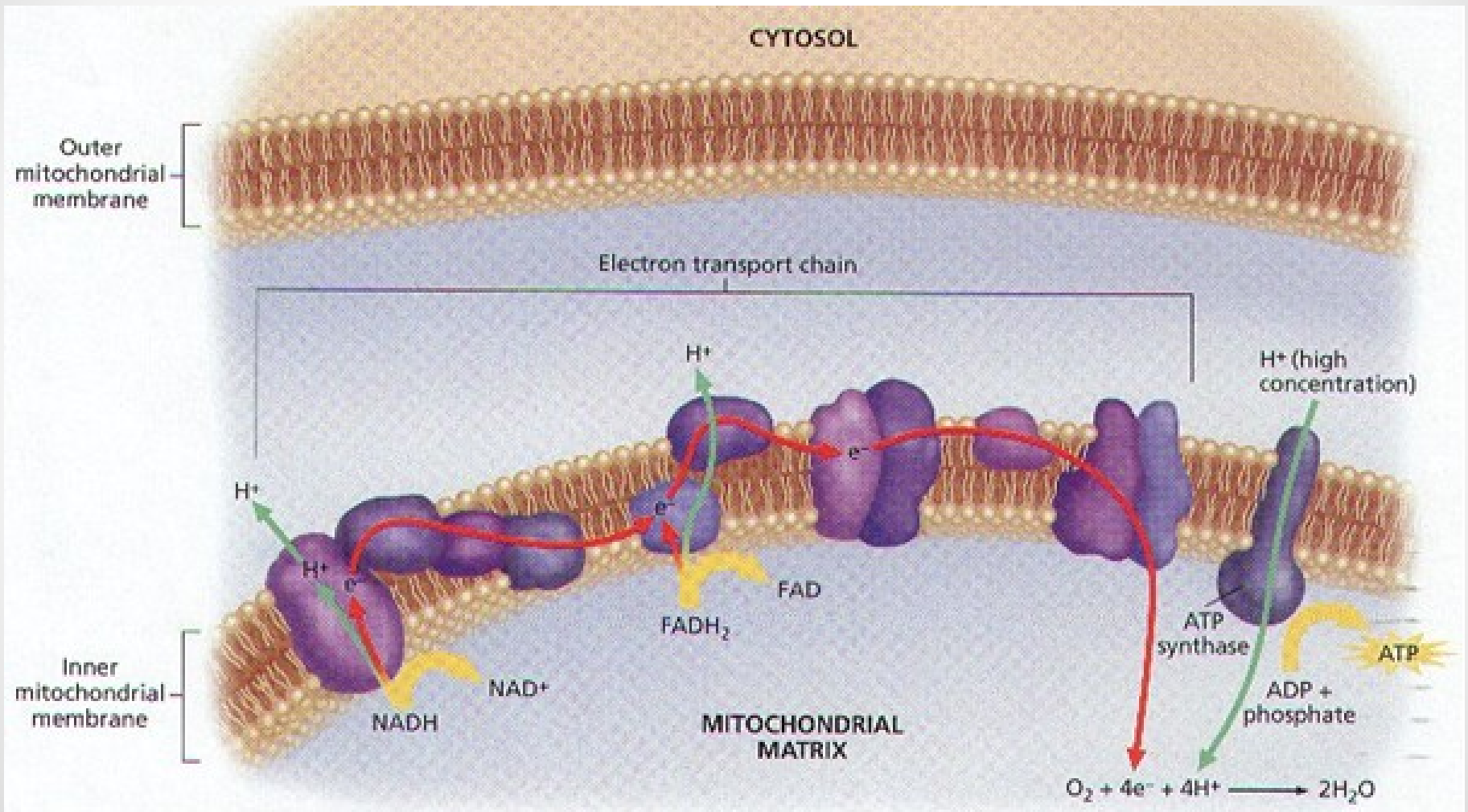
# Tvorba ATP při respiraci



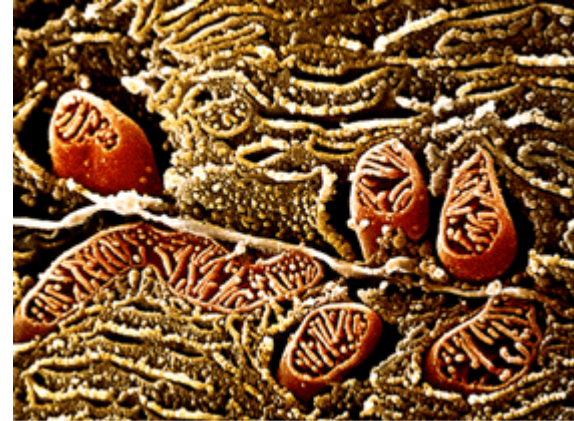
P/O kvocienty – „fosforylační místa“ - vztah  $\Delta E$  a  $\Delta G$

- Teorie makroergických intermediátů
- Chemiosmotická teorie – P. Mitchell (1961, NC 1978)

# Lokalizace respiračního řetězce

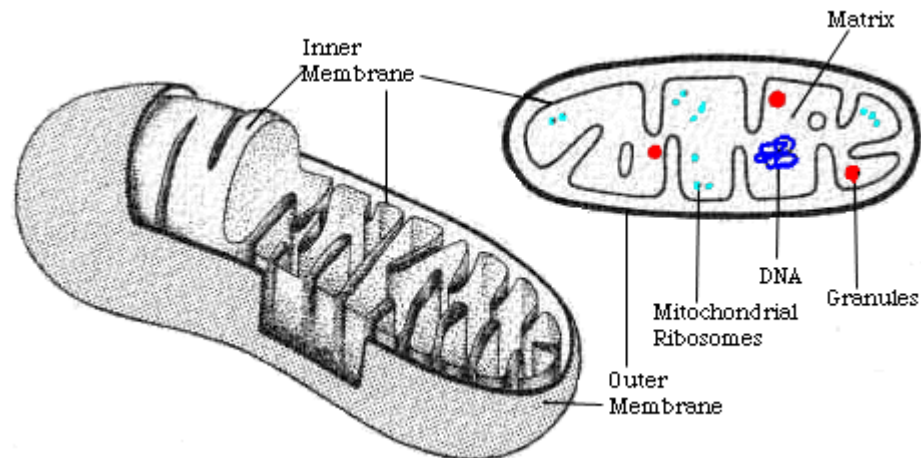


# Mitochondrie

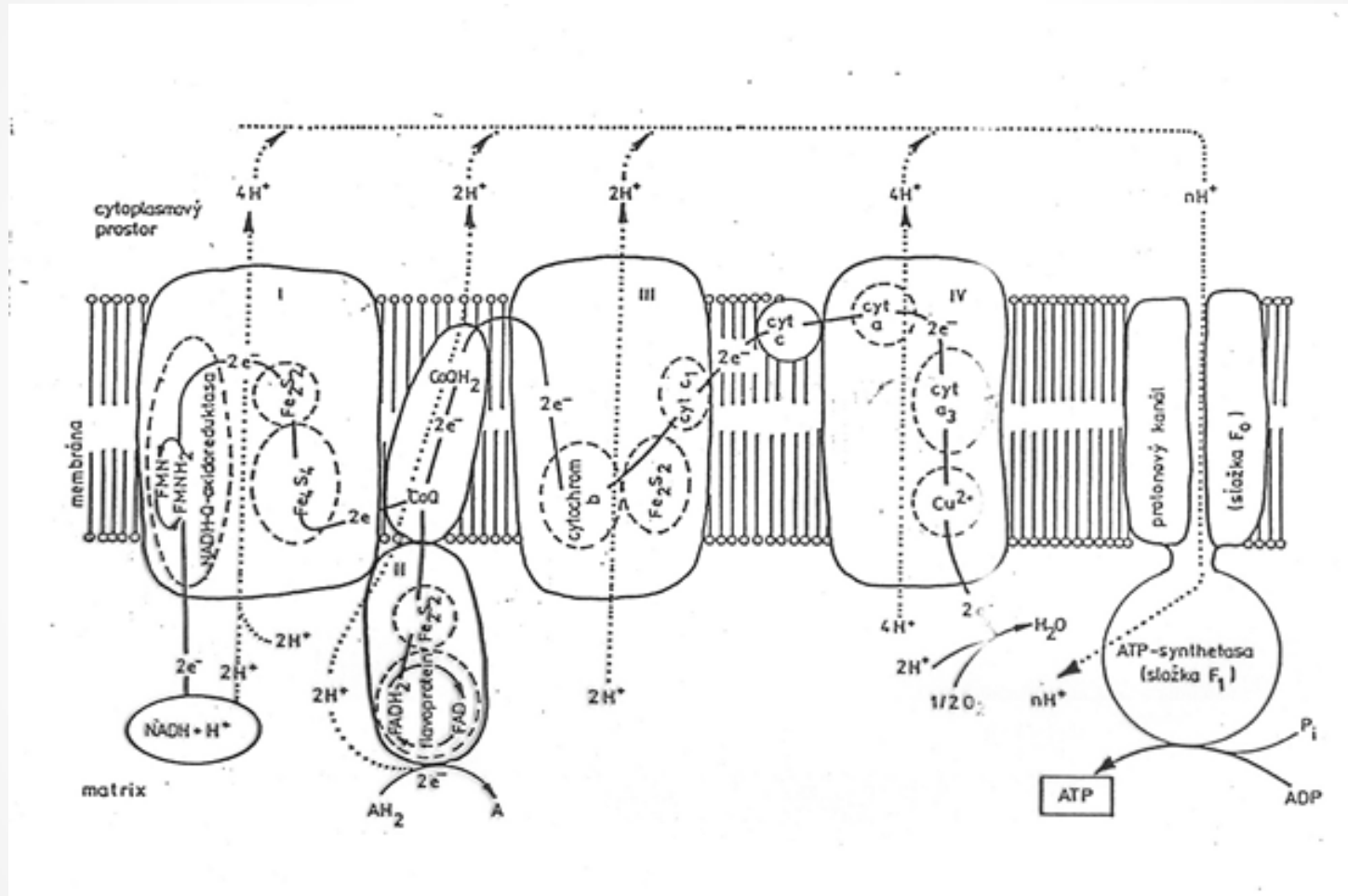


Elmikroskopické snímky

Schema struktury



# Mechanismus oxidační fosforylace



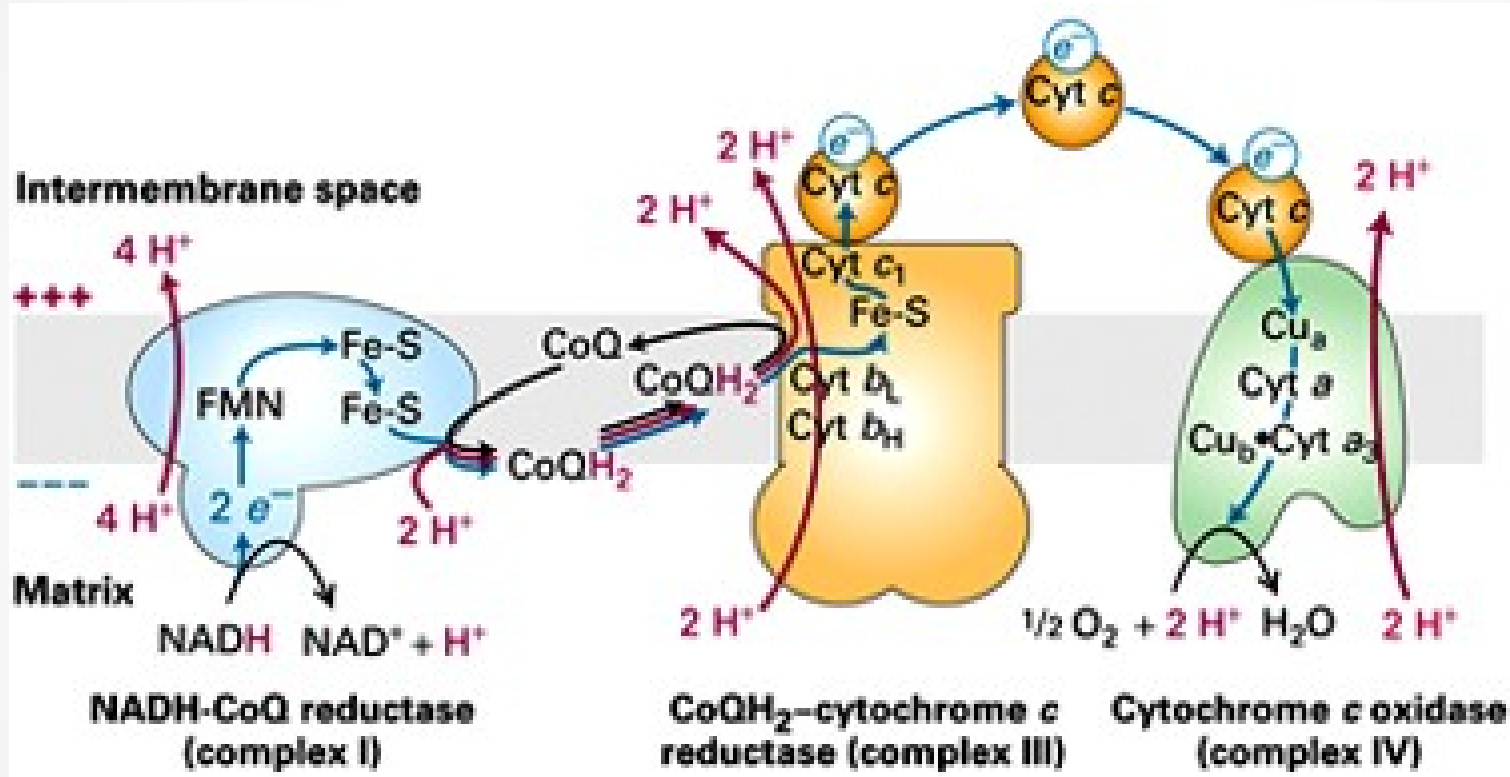
- Transmembránový přenos  $\text{H}^+$

# Chemiosmotický mechanismus tvorby ATP

- Gradient protonů jako forma energie
- Protonmotivní síla – kvantitativní vyjádření této potenciální energie
- Chemický potenciál gradientu látky  $\Delta G = RT \cdot \ln (c_i/c_o)$
- pro  $H^+$   $\Delta G = RT \cdot \ln ([H^+]_i/([H^+]_o)) = -2,3RT \cdot (pH_i - pH_o) = -2,3RT \cdot \Delta pH$
- 
- Elektrický potenciál – energie přenosu iontu  $\Delta G = nF \cdot \Delta \Psi$ , u  $H^+$   $n=1$
- 
- Celkově  $\Delta G = F \cdot \Delta \Psi - 2,3RT \cdot \Delta pH$
- $\Delta p = \Delta G/F$   $\Delta p = \Delta \Psi - 0,059mV \cdot \Delta pH$
- experimentálně
- $\Delta \Psi = 0,17$   $\Delta pH = 0,5$   $\Delta p = 0,20 V$  (85% + 15%)

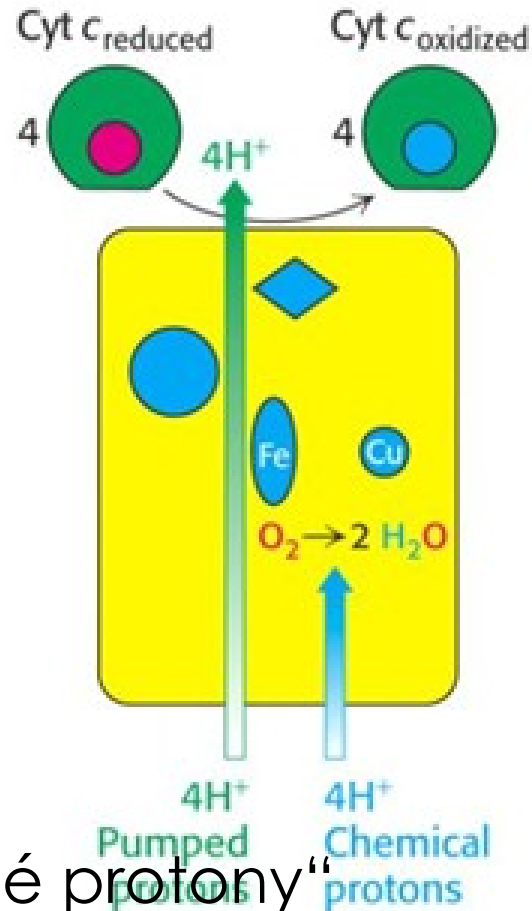


# Protonmotivní síla



- Mechanismus vzniku – „chemické a pumpované protony“

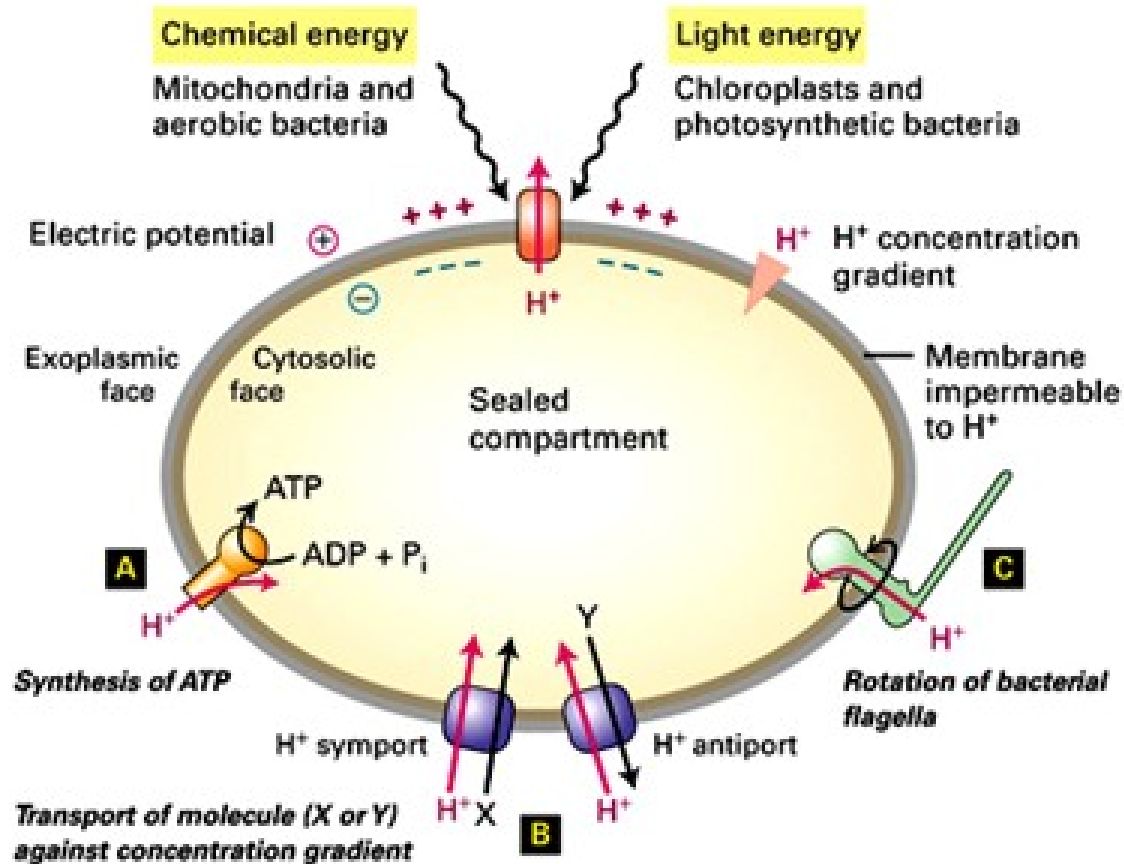
# Protonmotivní síla



Mechanismus vzniku –  
„chemické a pumpované protony“

# Využití $\Delta p$

## GENERATION OF PROTON-MOTIVE FORCE



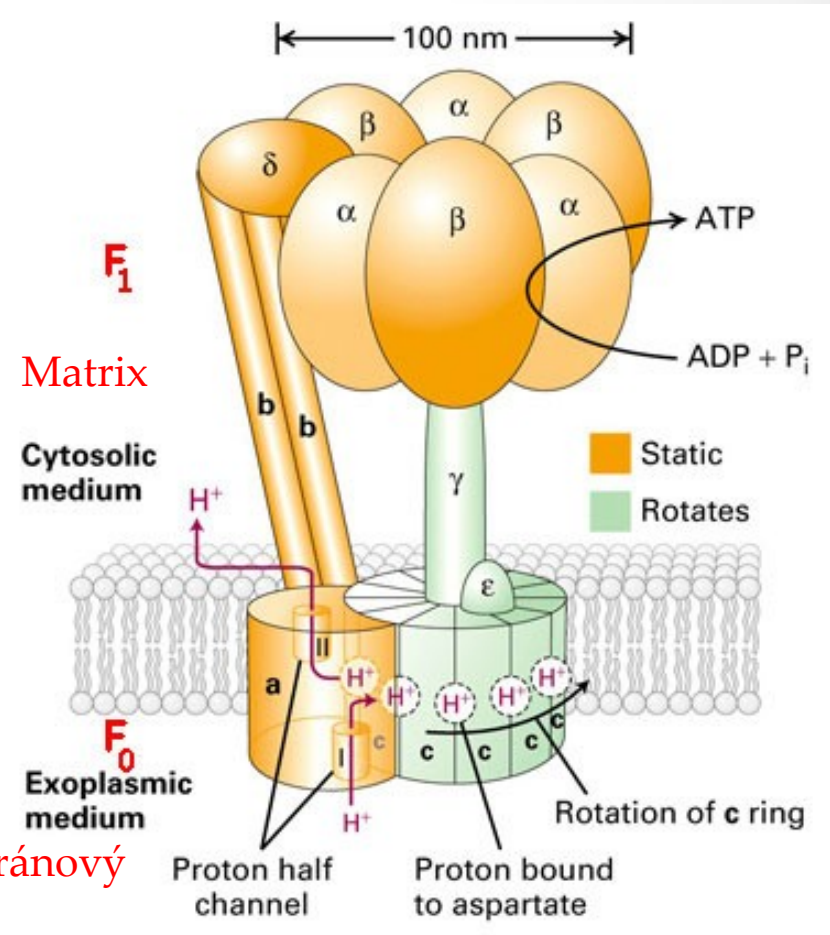
## CHEMIOSMOTIC COUPLING

- Práce
  - Osmotická
  - Mechanická
- Tvorba ATP
  - Kvantitativní poměry
  - $\Delta G$  přenosu  $H^+$  a syntézy ATP

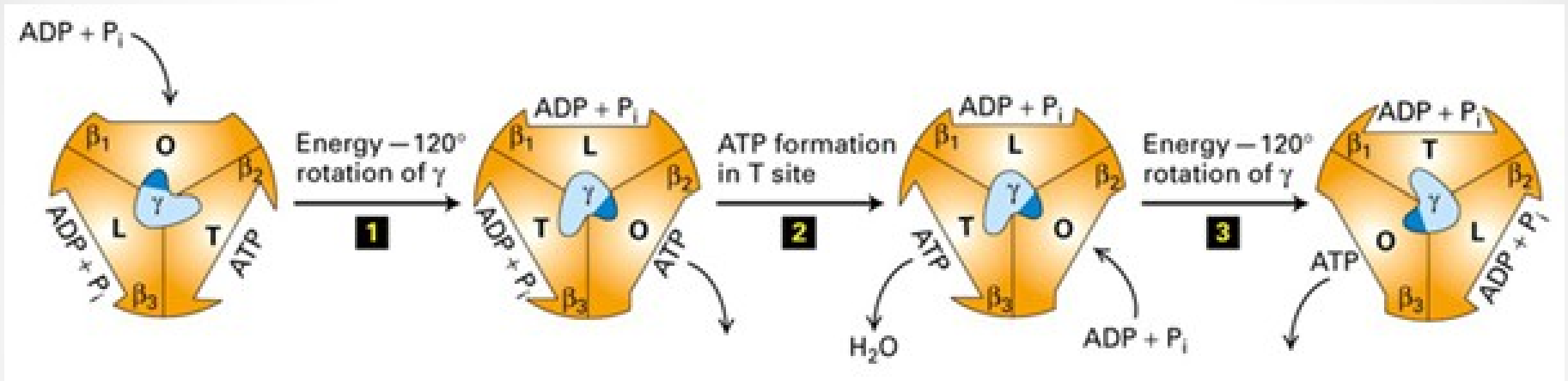
# Syntéza ATP komplexem V

- Mechanismus
  - P. D. Boyer, J. Walker – NC 1997
- $F_0F_1$ -ATPasa
  - Komplex V – formálně
  - Spřažení přenosu  $H^+$  a syntézy ATP
  - Tok  $H^+$  půlkanálky (Asp)
  - Mechanická práce – rotace
  - molekulární motor – dynamo
  - Transformace energie konformačními změnami

Mezimembránový prostor

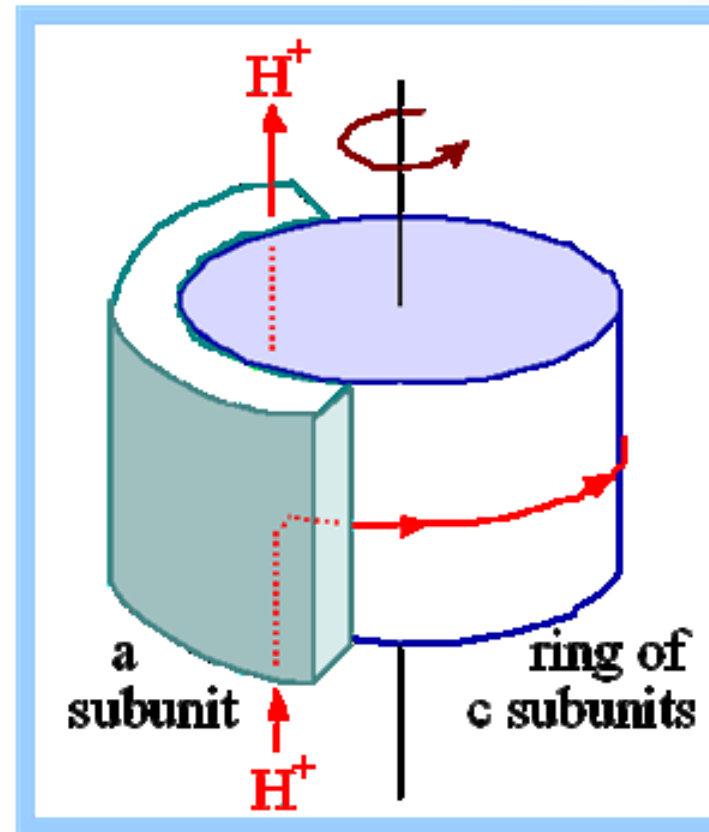
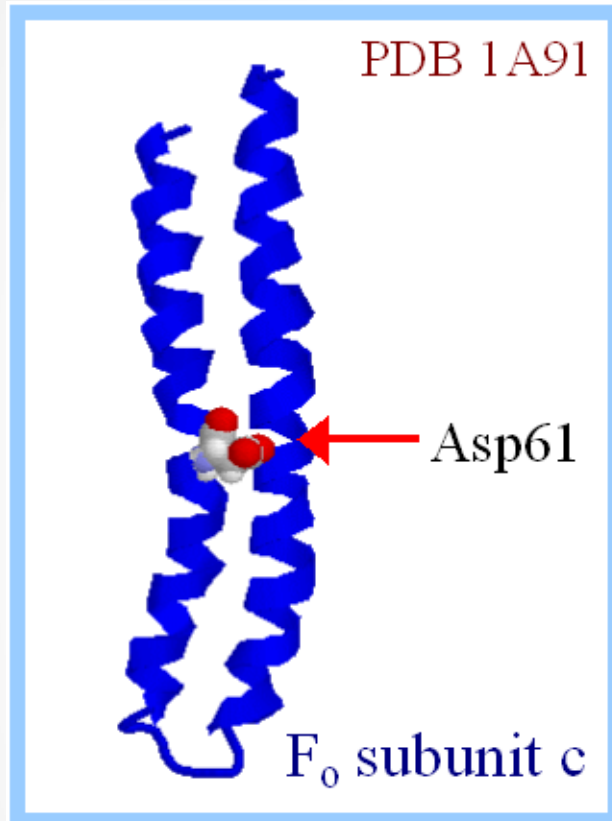


# Syntéza ATP komplexem V



- Konformační stavy podjednotek  $\beta$ 
  - Open – prázdný stav
  - Tight – ATP místo
  - Loose – ADP místo

# Mechanismus rotace



- cesta  $H^+$  pŮlkanálky
- protonové vodiče (dráty)
- Asp na **c**, Arg na **a**

# Obousměrná ATPasa

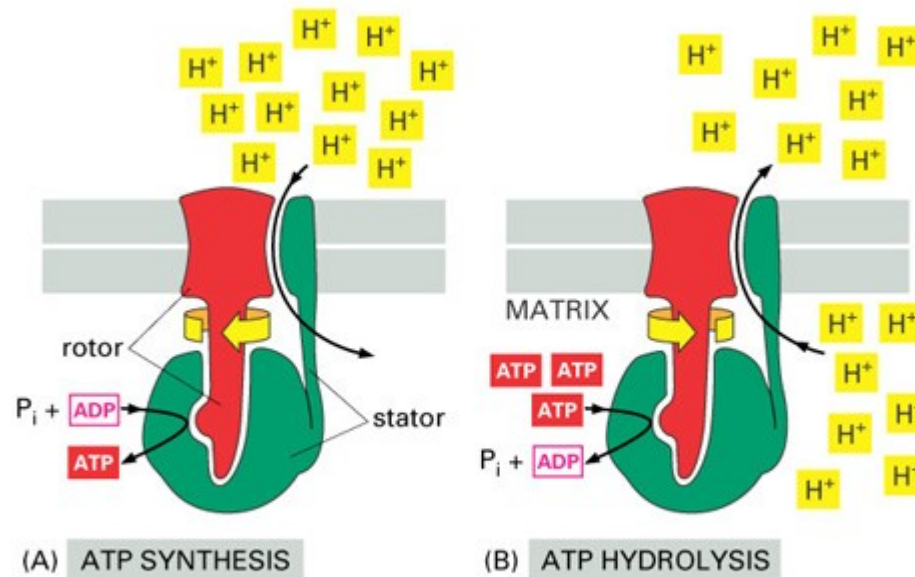
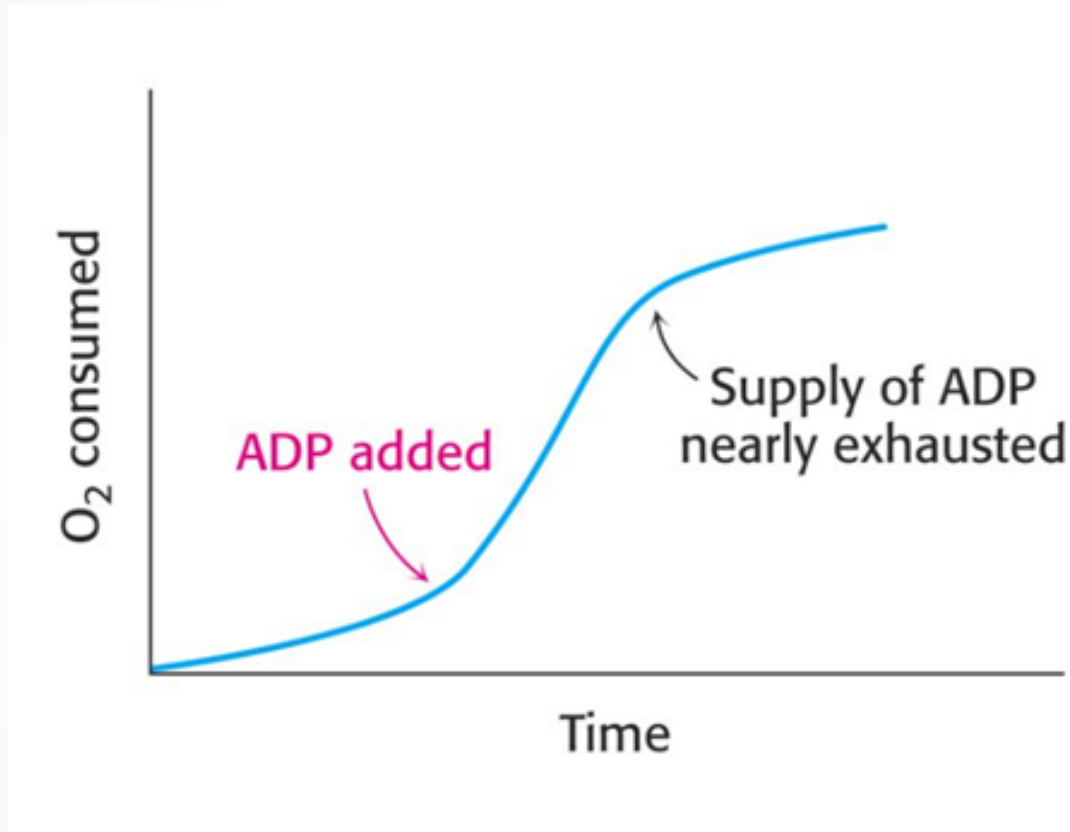


Figure 14-15 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

- Zvrat syntézy
  - transport H<sup>+</sup> – tvorba  $\Delta\psi$  při anaerobiose

# Respirační kontrola

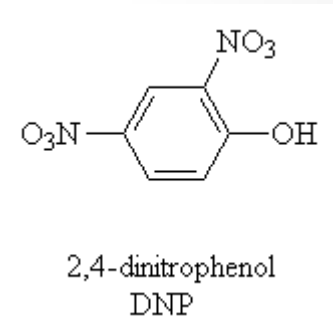
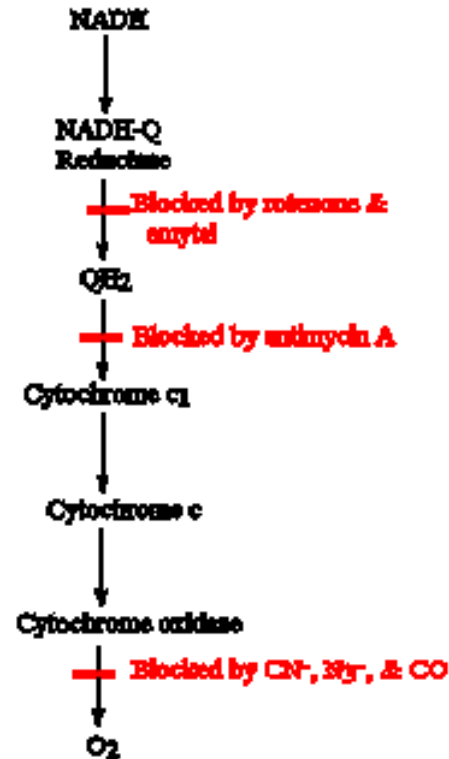


- Regulace spotřeby substrátu
  - Brzdění vysokým  $\Delta\psi$

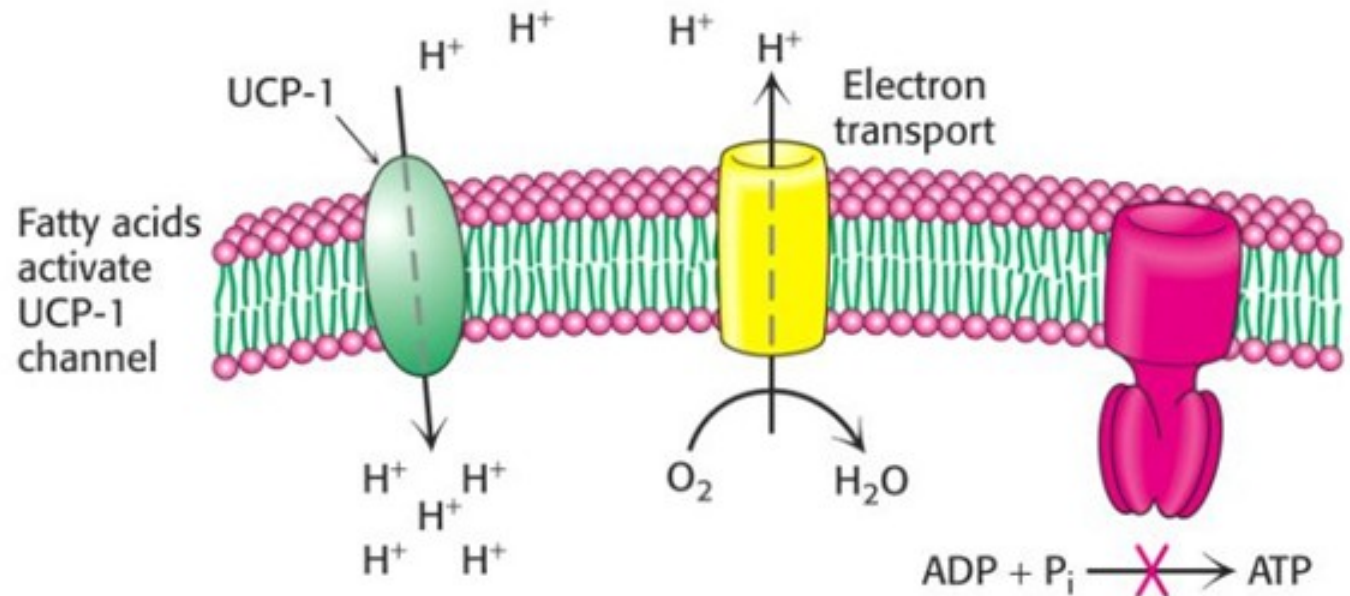


# Nástroje studia

- Umělé donory a akceptory elektronů
  - dodávají a odebírají e<sup>-</sup> v různých místech
- Inhibitory
  - inhibitory transportu elektronů
  - rozpojovače (2,4-DNP)
  - inhibitory H<sup>+</sup>-ATPasy (oligomycin)



# Termogeneze



- Rozpojovací protein – termogenin
  - Mláďata, hibernanti
  - Hnědá tuková tkáň
  - Hormonálně řízeno