

C3181 Biochemie

23b_Oxidační fosforylace, alternativní respirace

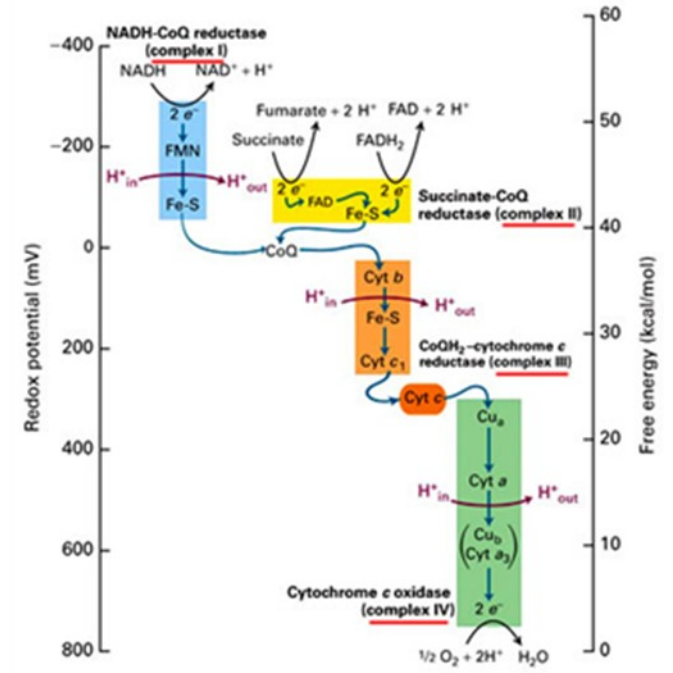
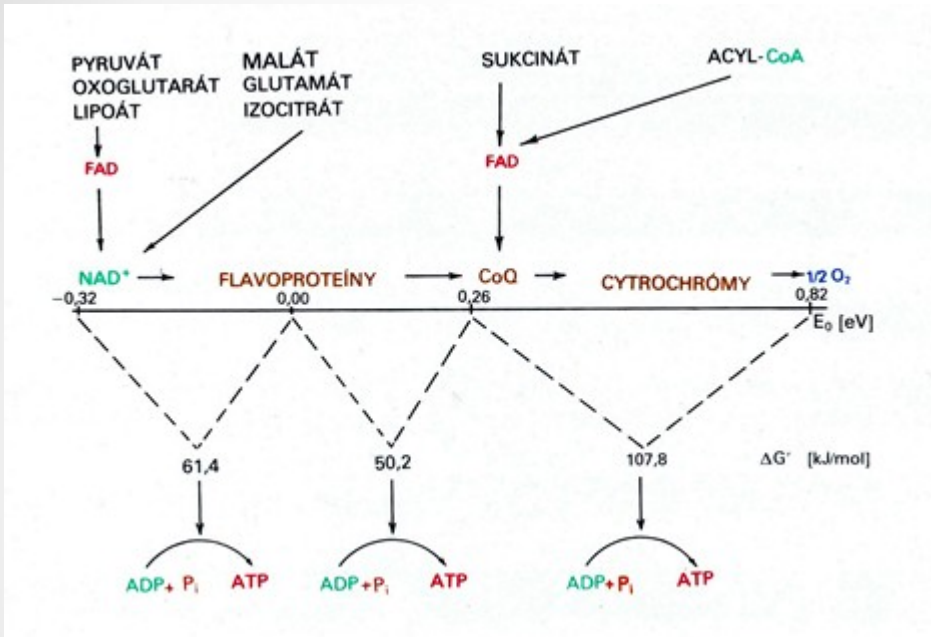
Obsah

- 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

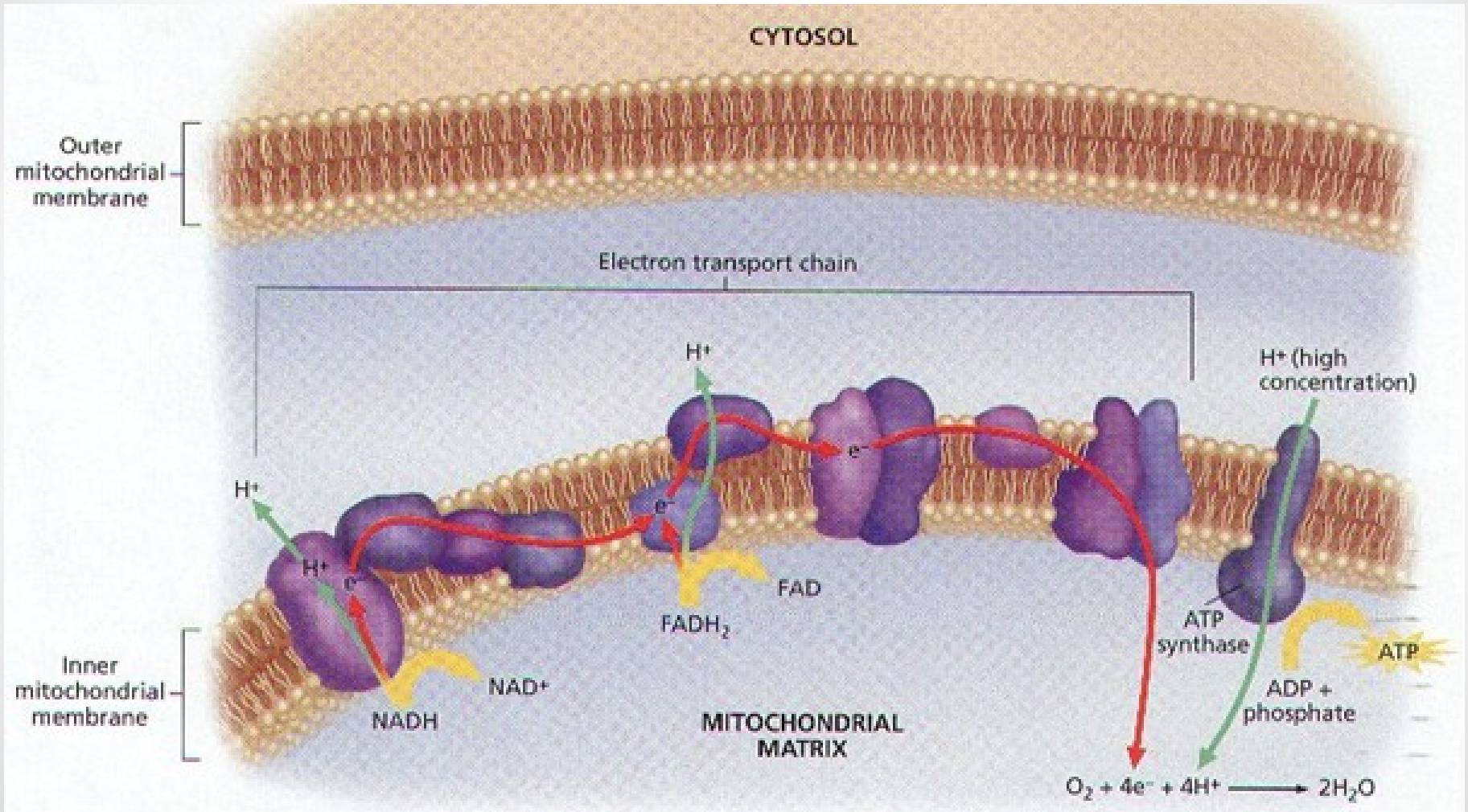
Tvorba ATP při respiraci



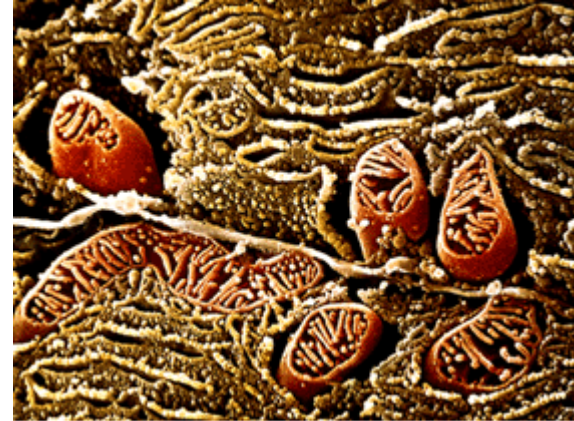
P/O kvocienty – „fosforylační místa“ - vztah ΔE a ΔG

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

Lokalizace respiračního řetězce

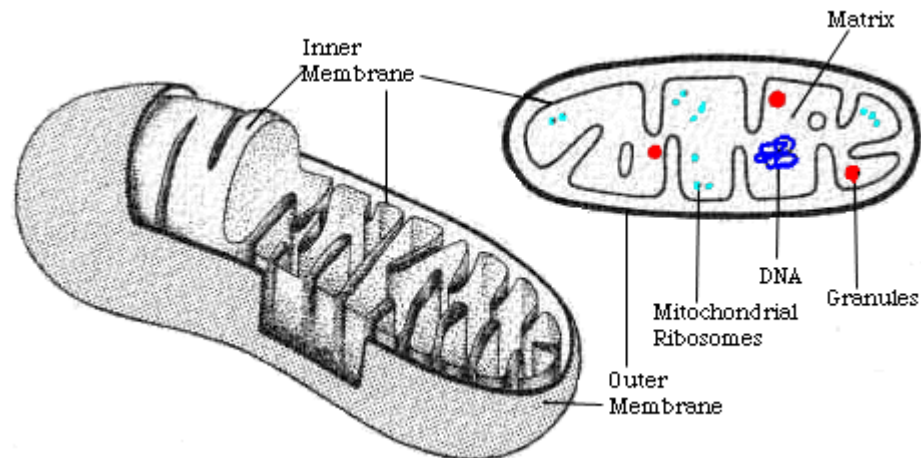


Mitochondrie

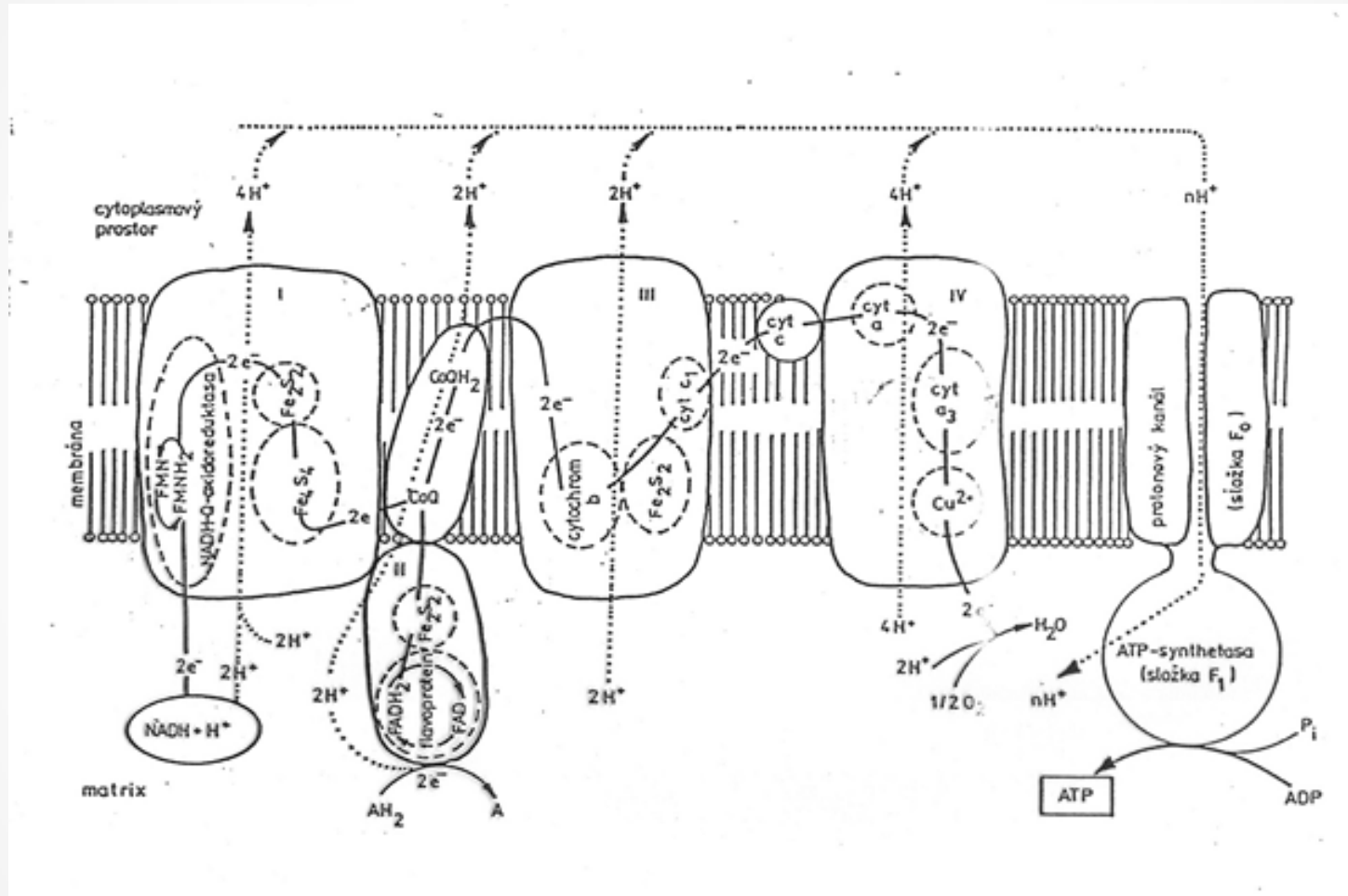


Elmikroskopické snímky

Schema struktury



Mechanismus oxidační fosforylace



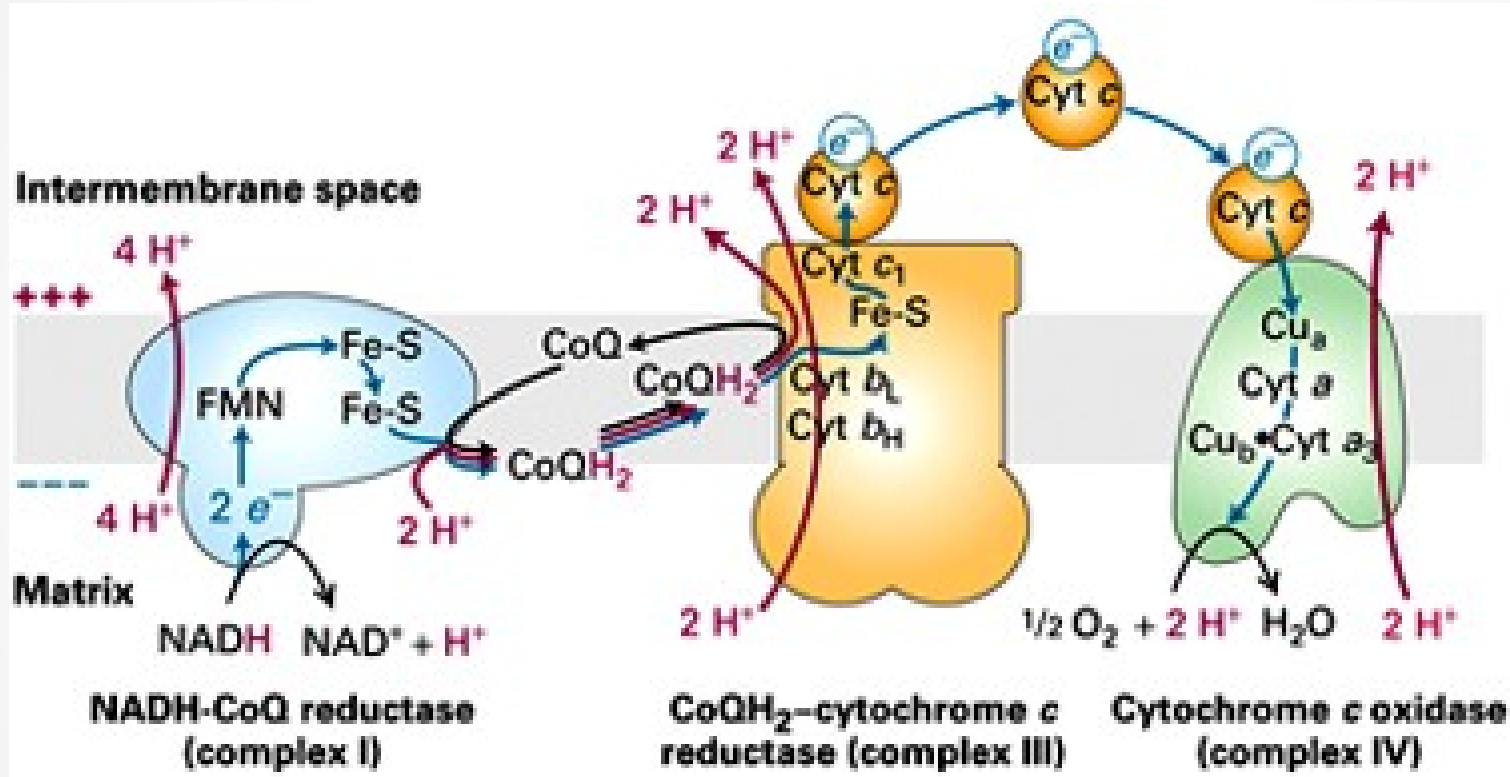
- Transmembránový přenos H^+

Cit 1

Chemiosmotický mechanismus tvorby ATP

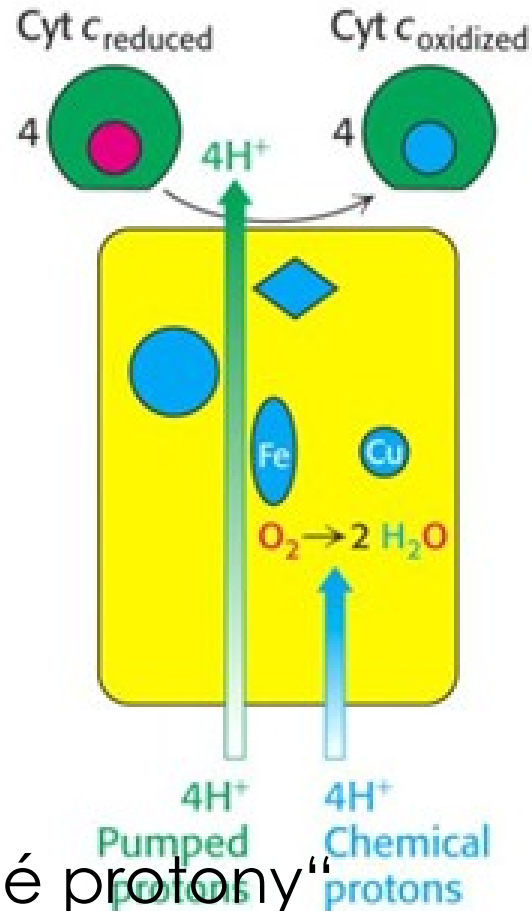
- Gradient protonů jako forma energie
- Protonmotivní síla – kvantitativní vyjádření této potenciální energie
- Chemický potenciál gradientu látky $\Delta G = RT \cdot \ln (c_i/c_o)$
- pro H^+ $\Delta G = RT \cdot \ln ([H^+]_i/([H^+]_o)) = -2,3RT \cdot (pH_i - pH_o) = -2,3RT \cdot \Delta pH$
-
- Elektrický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

Protonmotivní síla



- Mechanismus vzniku – „chemické a pumpované protony“

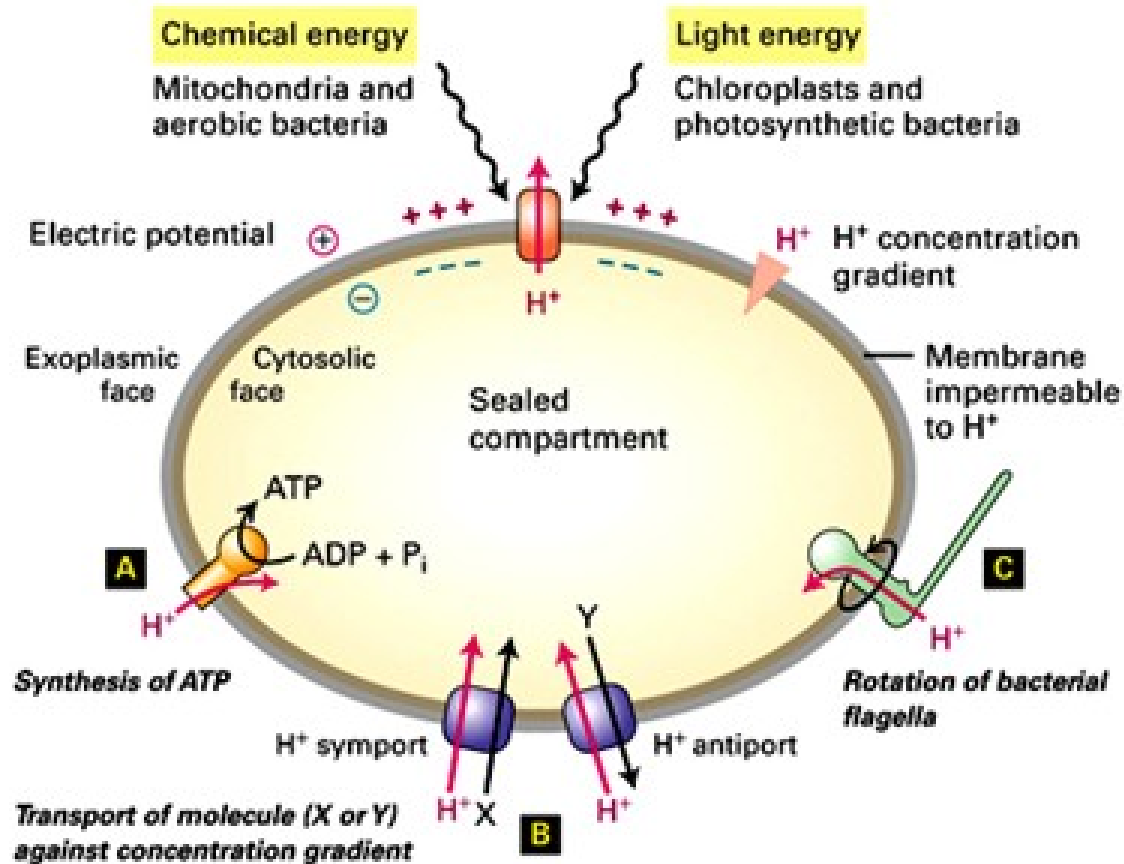
Protonmotivní síla



Mechanismus vzniku –
„chemické a pumpované protony“

Využití Δp

GENERATION OF PROTON-MOTIVE FORCE



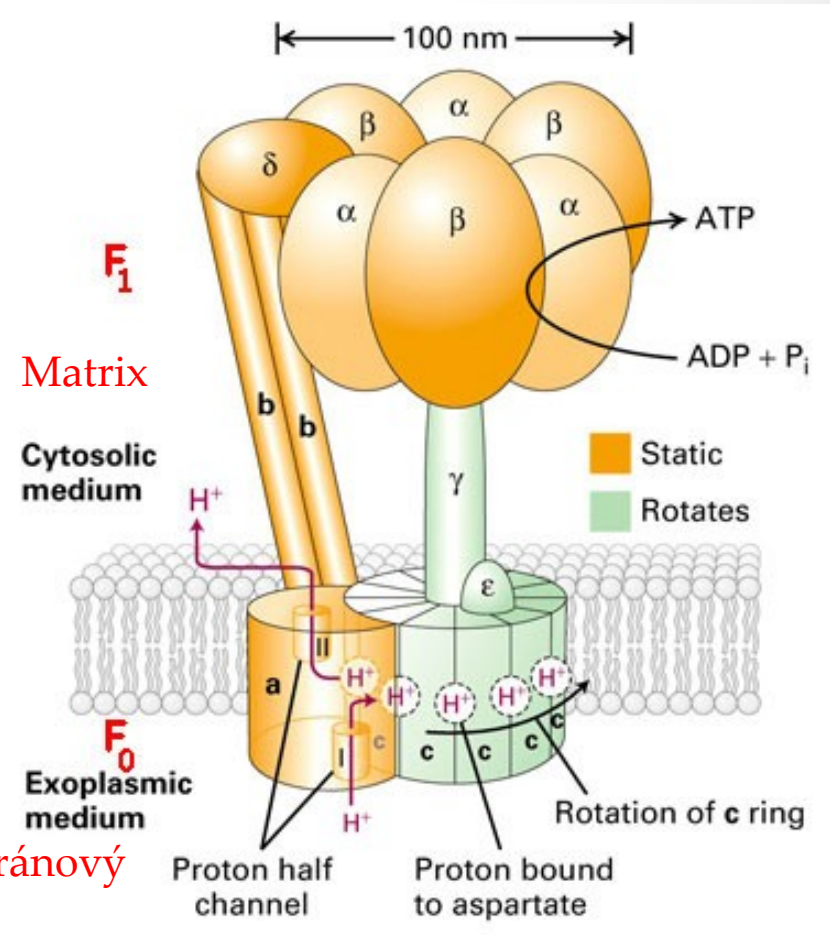
CHEMIOSMOTIC COUPLING

- Práce
 - Osmotická
 - Mechanická
- Tvorba ATP
 - Kvantitativní poměry
 - ΔG přenosu H^+ a syntézy ATP

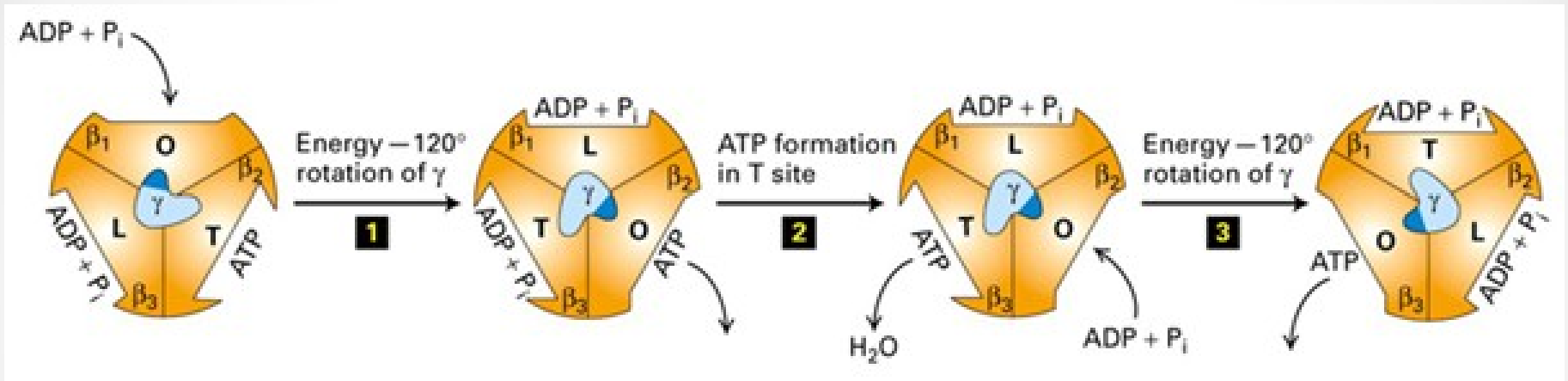
Syntéza ATP komplexem V

- 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

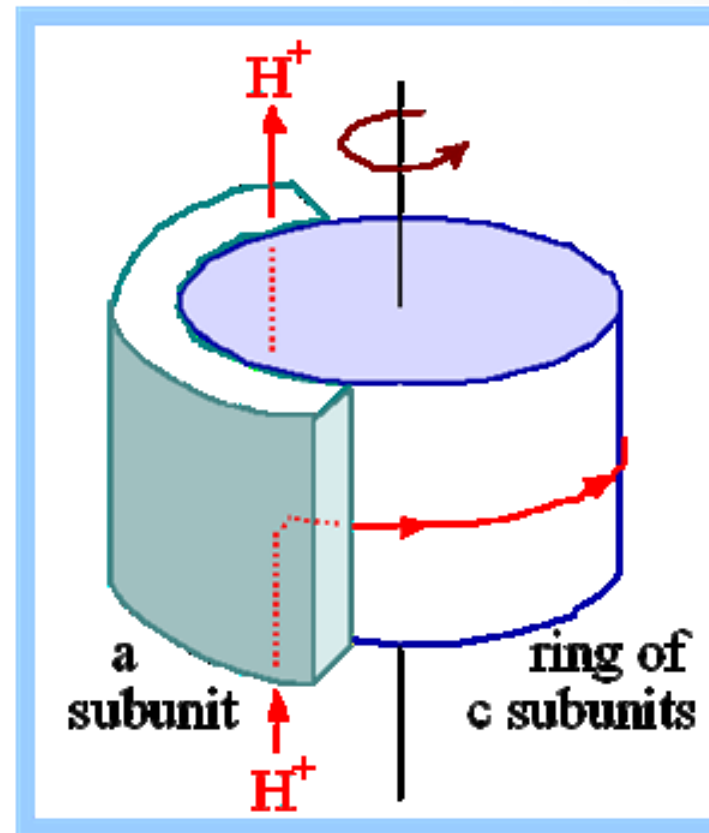
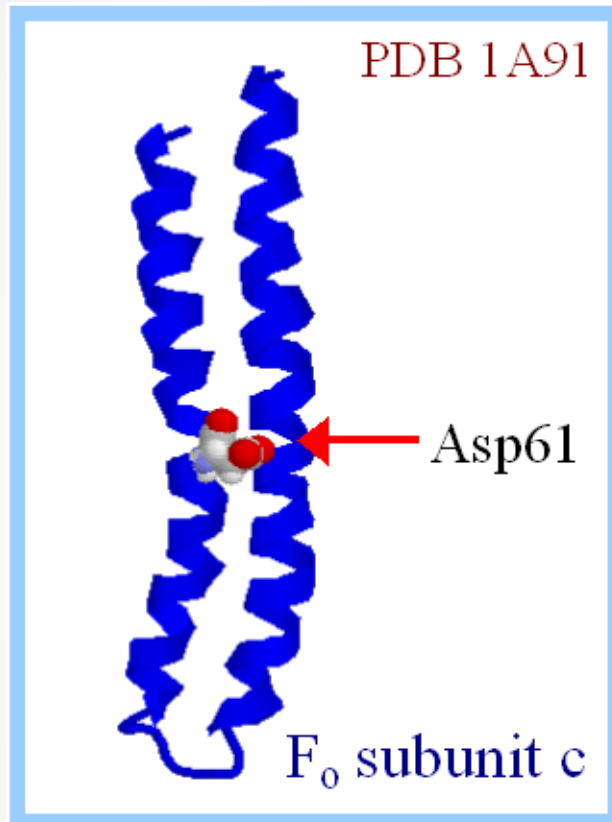


Syntéza ATP komplexem V



- Konformační stavy podjednotek β
 - 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

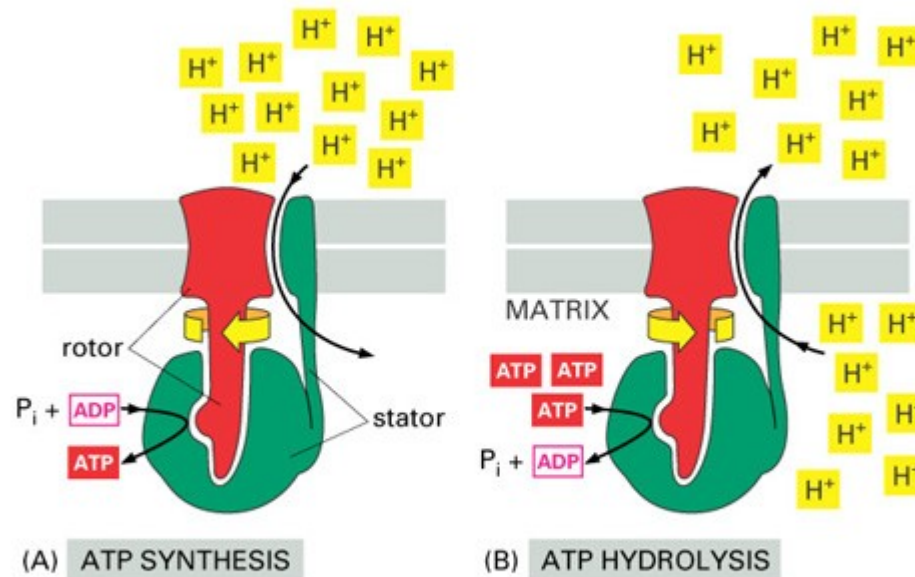
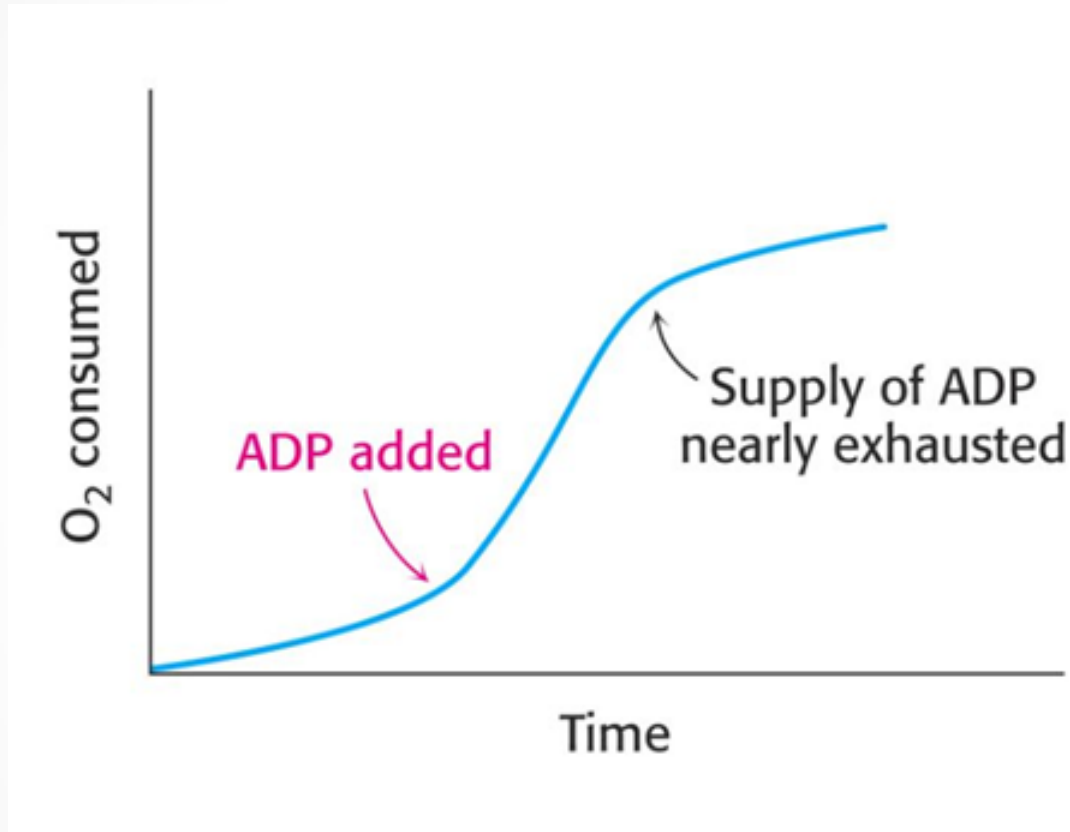


Figure 14-15 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

- Zvrat syntézy
 - transport H⁺ – tvorba $\Delta\psi$ při anaerobiose

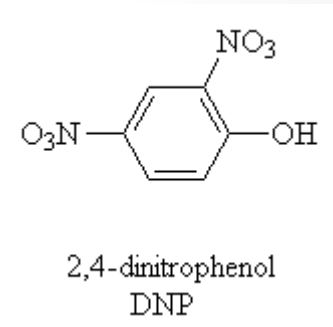
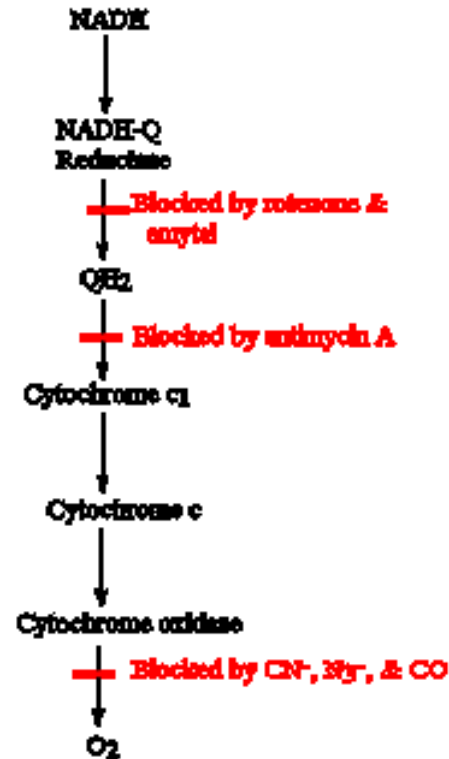
Respirační kontrola



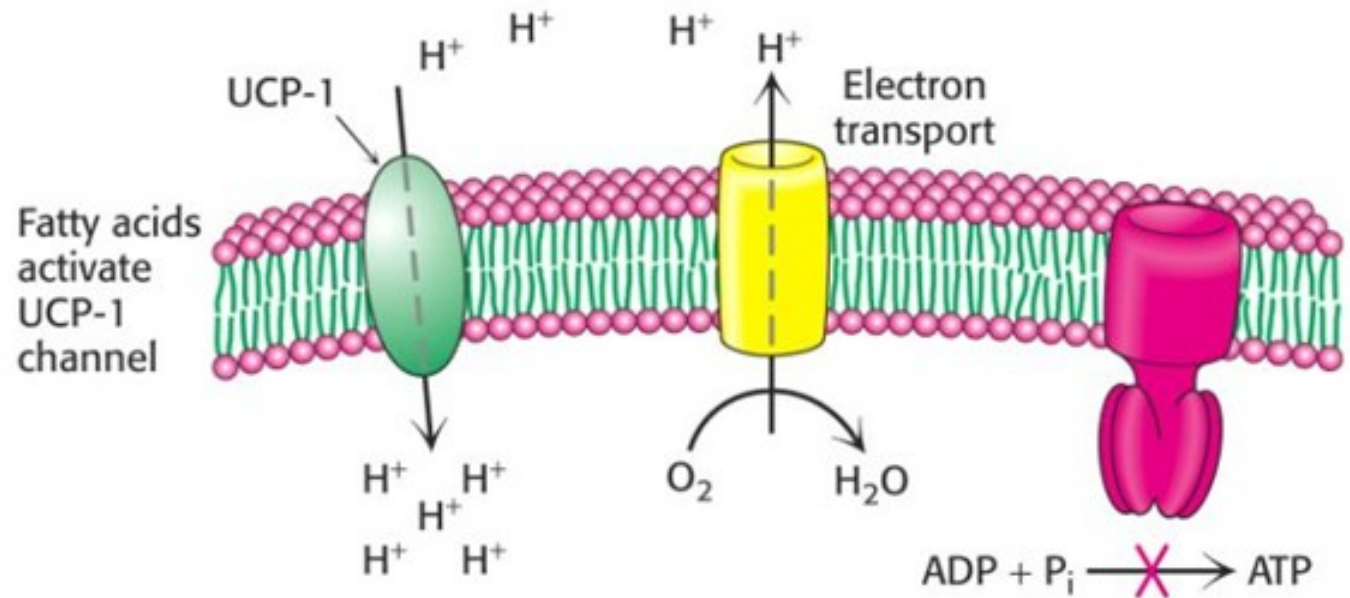
- Regulace spotřeby substrátu
 - Brzdění vysokým $\Delta\psi$

Nástroje studia

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



Termogeneze



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

Alternativní respirace

- Finální akceptory jiné než kyslík - ΔE
 - Nitrátová
 - Sulfátová
- Anorganické donory elektronů
 - Kovy i nekovy – Fe, Cu, S – prvky a ionty či sloučeniny
- Metanogeny
 - Anaerobní redukce formiátu
- ROS (RNOS)
 - Reaktivní, většinou radikály – $O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2 aj.
 - Záměrná produkce – metabolické vzplanutí – NADPH + O_2
 - Vedlejší nežádoucí produkce – UQ, CIII aj.
 - Poškození – lipidy (membrány), bílkoviny, DNA
 - Obranné mechanismy – enzymy, antioxidanty (vit. E, C) – typy

Děkuji za pozornost