C3181
Biochemie I

11-Oxidační fosforylace, alternativní respirace

FRVŠ **1647/2012**

Obsah

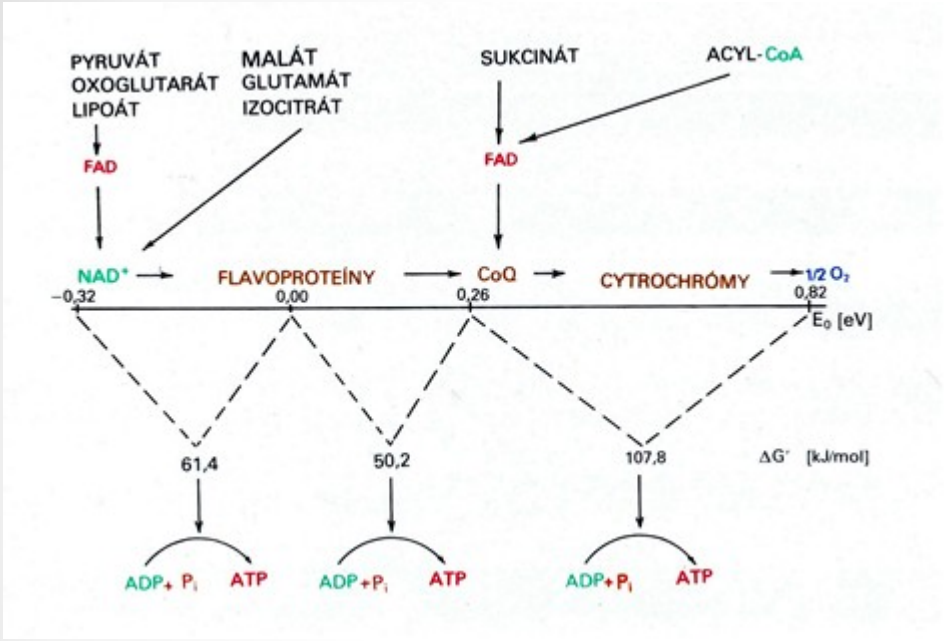
- Oxidační fosforylace, chemiosmotická teorie, protonmotivní síla a transmembránový potenciál.
- Syntéza ATP, struktura ATPsyntasy. Inhibitory respirace a syntéza ATP, rozpojovače, ionofory.
- Bilance oxidační fosforylace.
- Alternativní respirace. Oxidace a redukce anorganických sloučenin (kovy, S aj.)

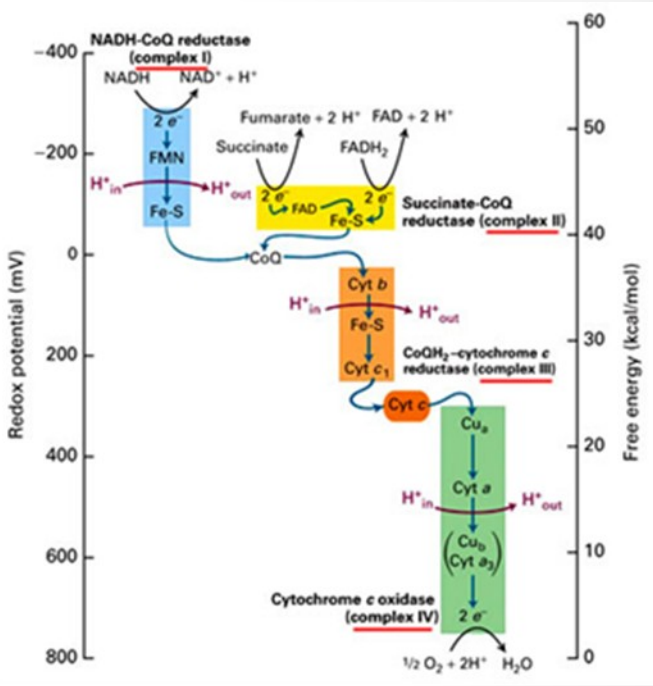
Tvorba ATP při respiraci

Mechanismus konverse 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

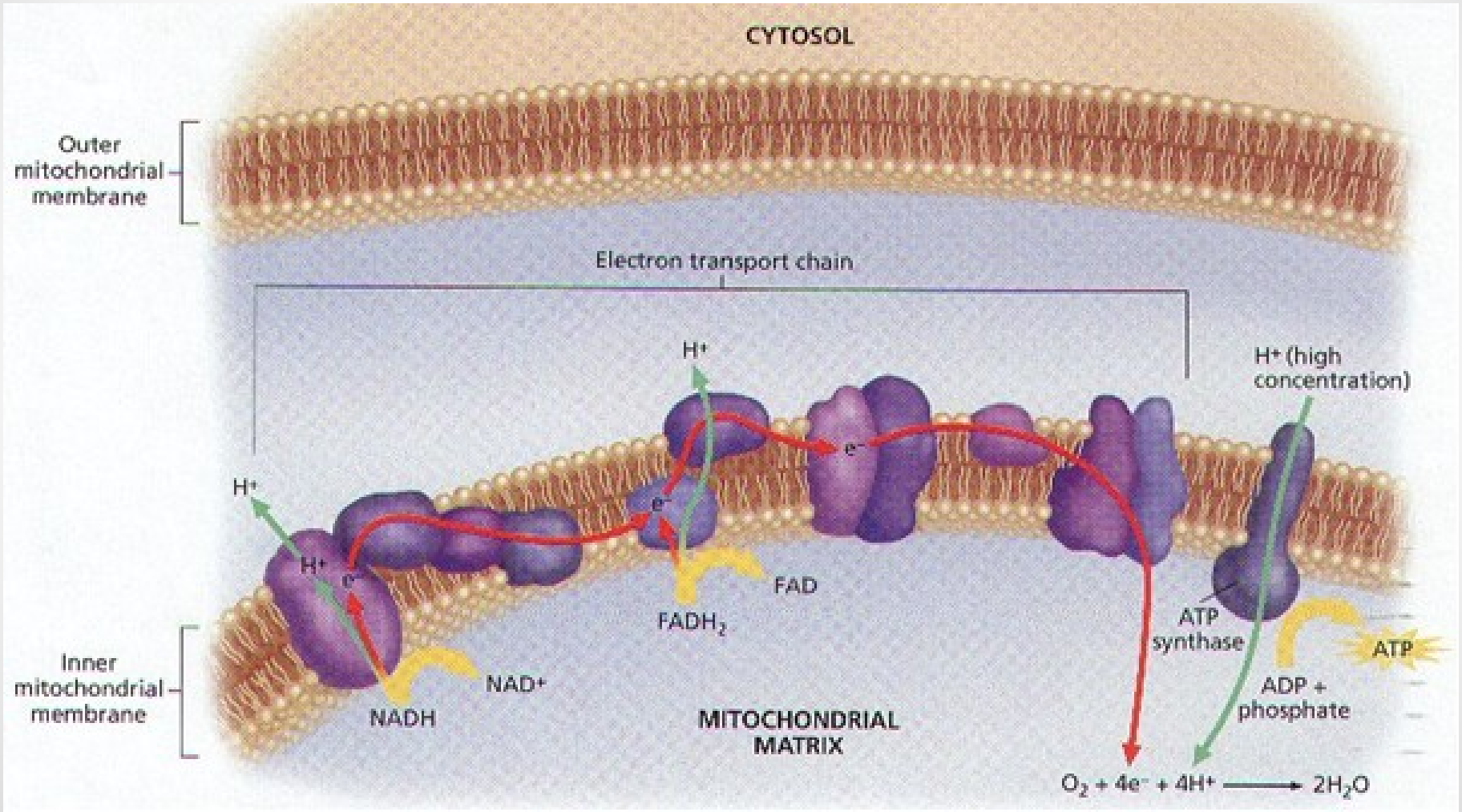




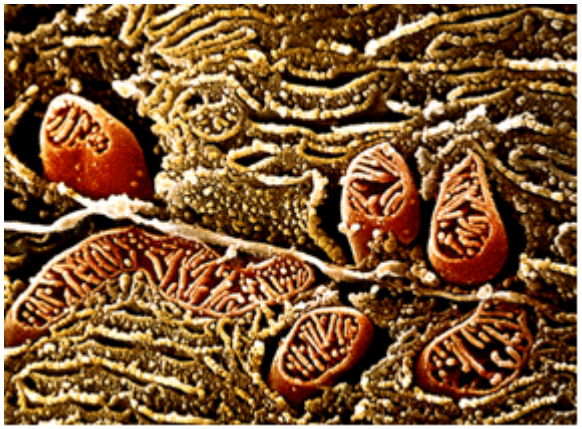
P/O kvocienty – „fosforylační místa“- vztah ΔE a ΔG

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

Lokalizace respiračního řetězce

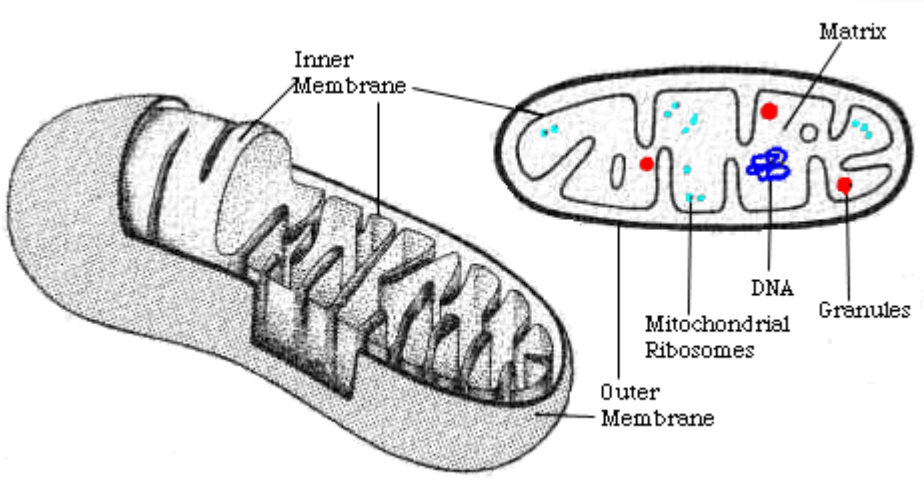


Mitochondrie

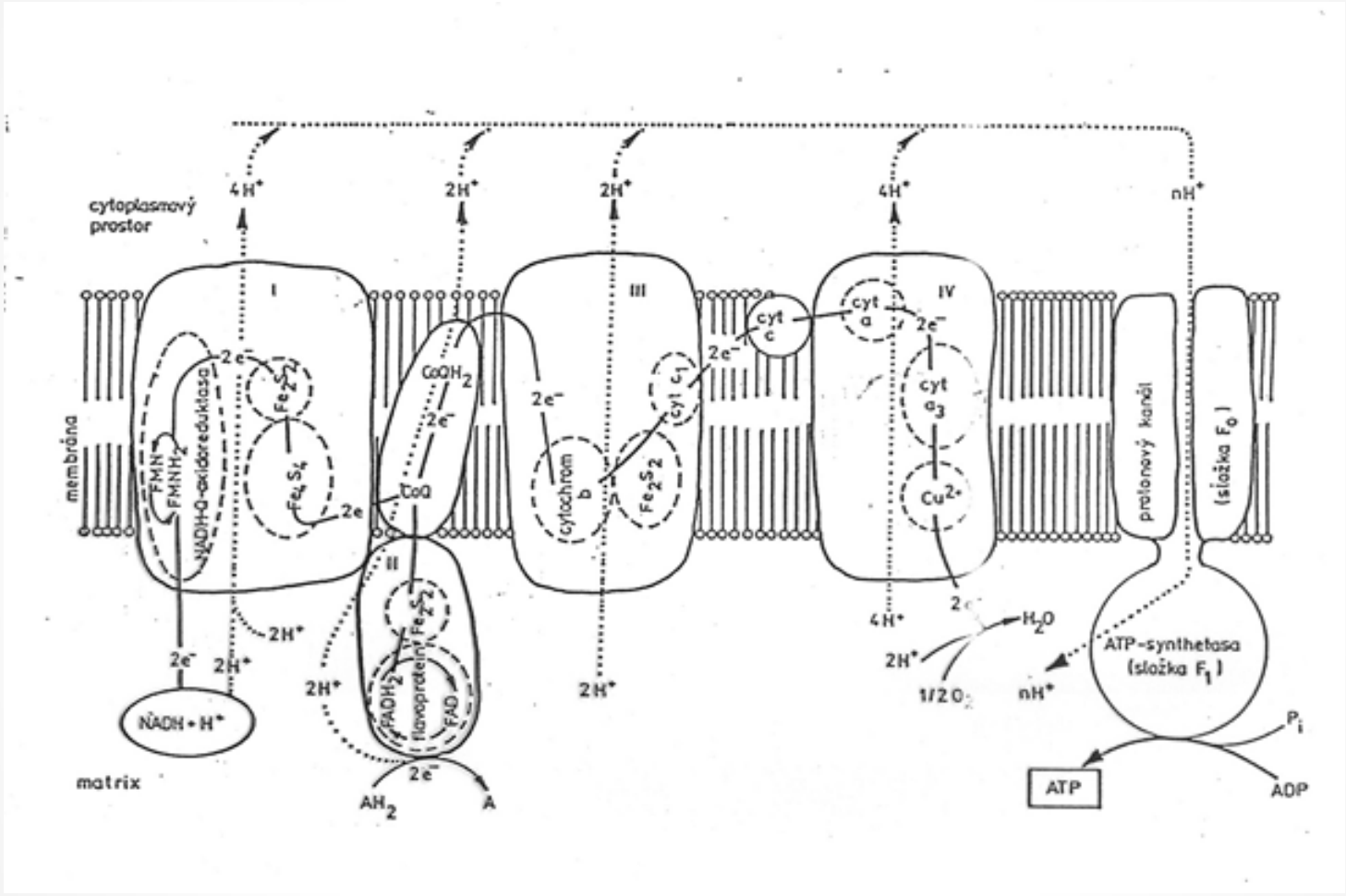


Elmikroskopické snímky

Schema struktury



Mechanismus oxidační fosforylace

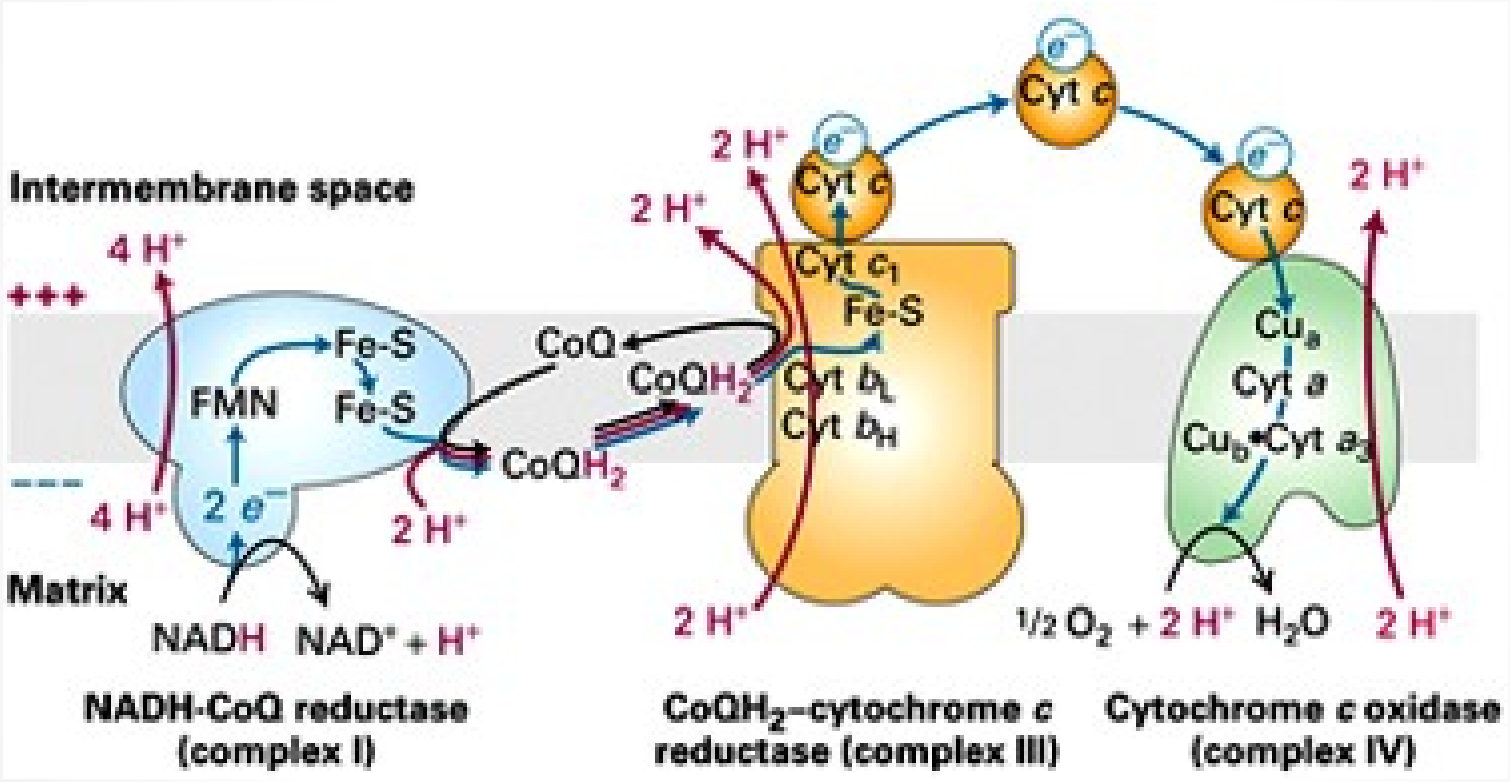


- Transmembránový přenos H^+

Chemiosmotický mechanismus tvorby ATP

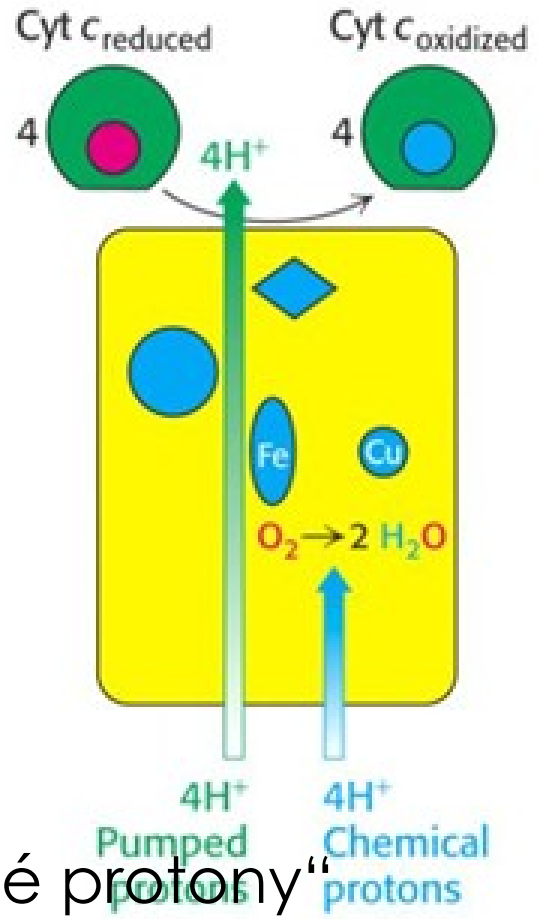
- Gradient protonů jako forma energie
- Protonmotivní síla – kvantitativní vyjádření této potenciální energie
- Chemický potenciál gradientu látky $\Delta G = RT \cdot \ln (c_i/c_o)$
- pro H^+ $\Delta G = RT \cdot \ln ([H^+]_i/([H^+]_o) = - 2{,}3RT \cdot (pH_i - pH_o) = -2{,}3RT \cdot \Delta pH$
-
-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

Protonmotivní síla



- Mechanismus vzniku – „chemické a pumpované protony“

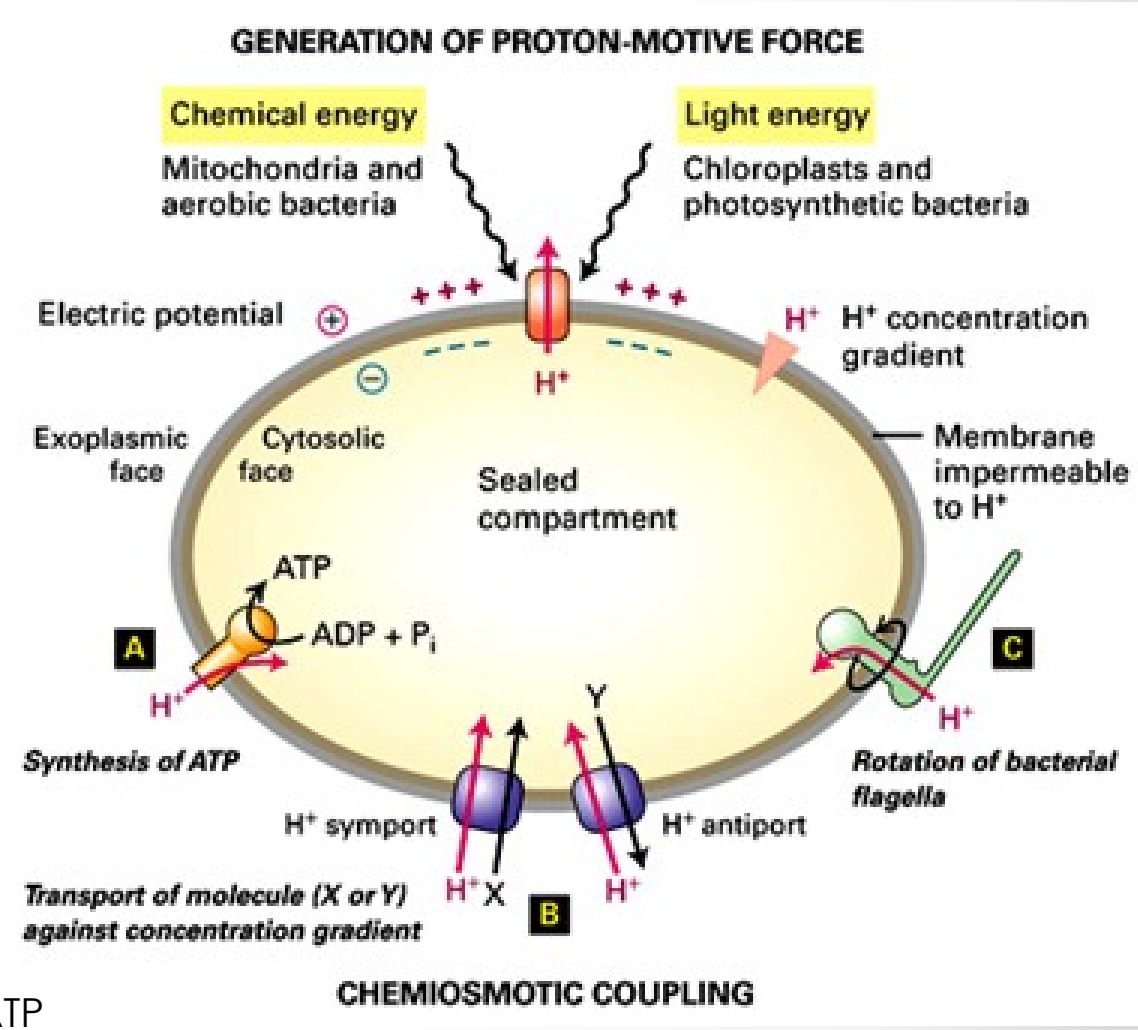
Protonmotivní síla



Mechanismus vzniku –
„chemické a pumpované protony“

Využití Δp

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

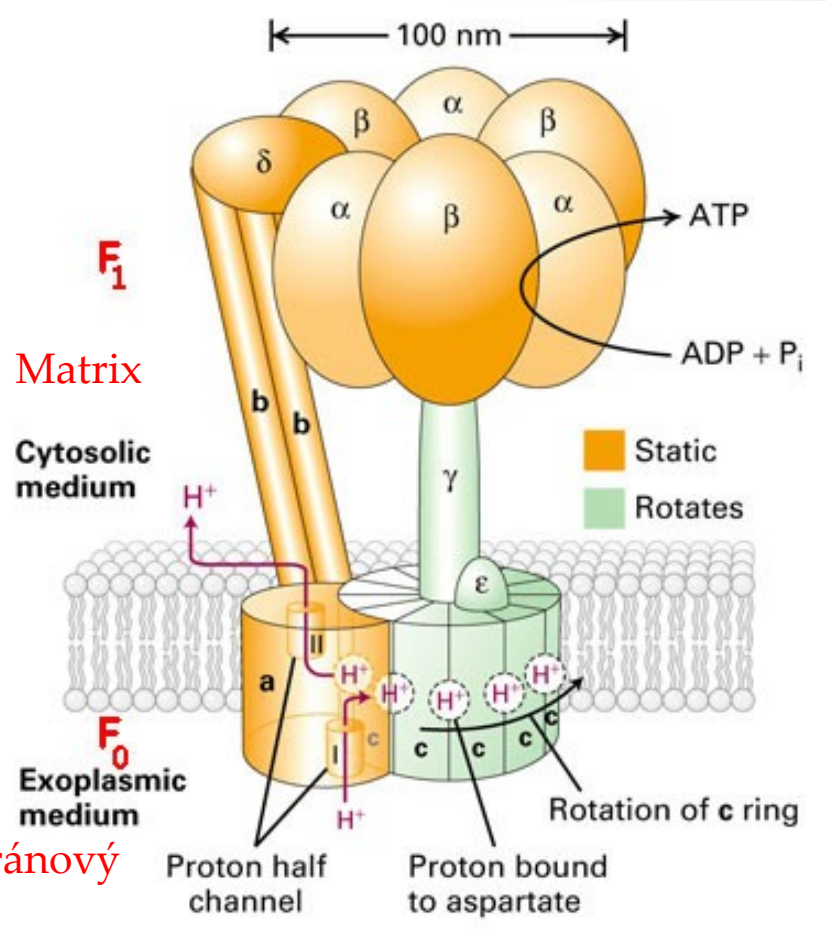


Syntéza ATP komplexem V

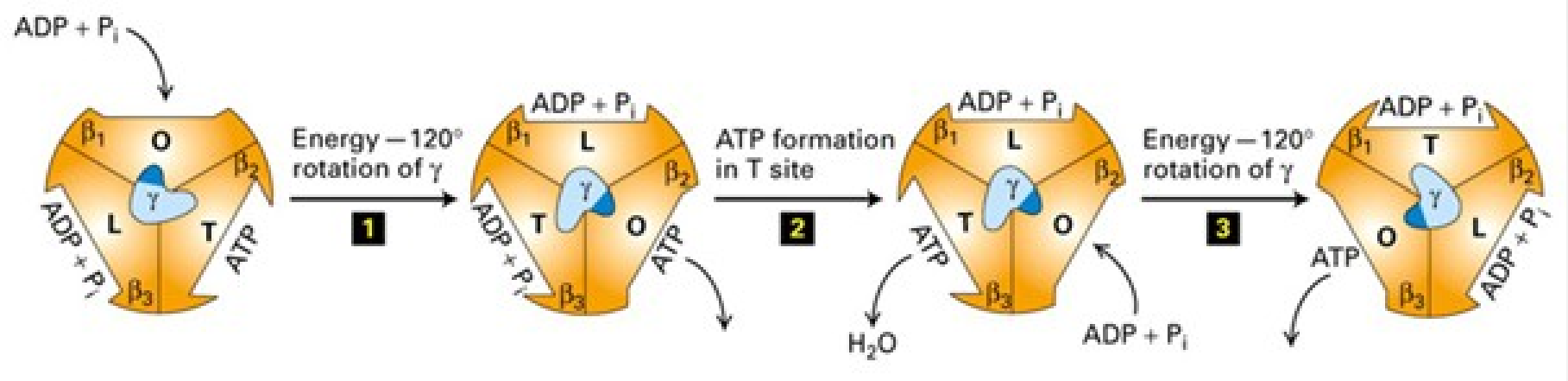
- Mechanismus
  - P. D. Boyer, J. Walker – NC 1997
- F_oF_1-ATPasa
  - Komplex V – formálně
  - Spřažení přenosu H^+ a syntézy ATP
  - Tok H^+ půlkanálky (Asp)
  - Mechanická práce – rotace

  – molekulární motor – dynamo
  - Transformace energie

  konformačními změnami

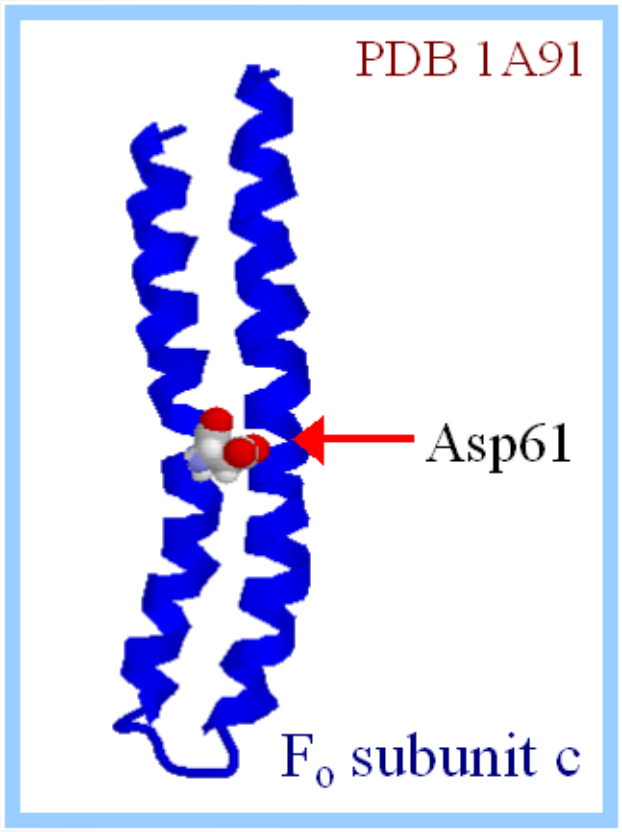


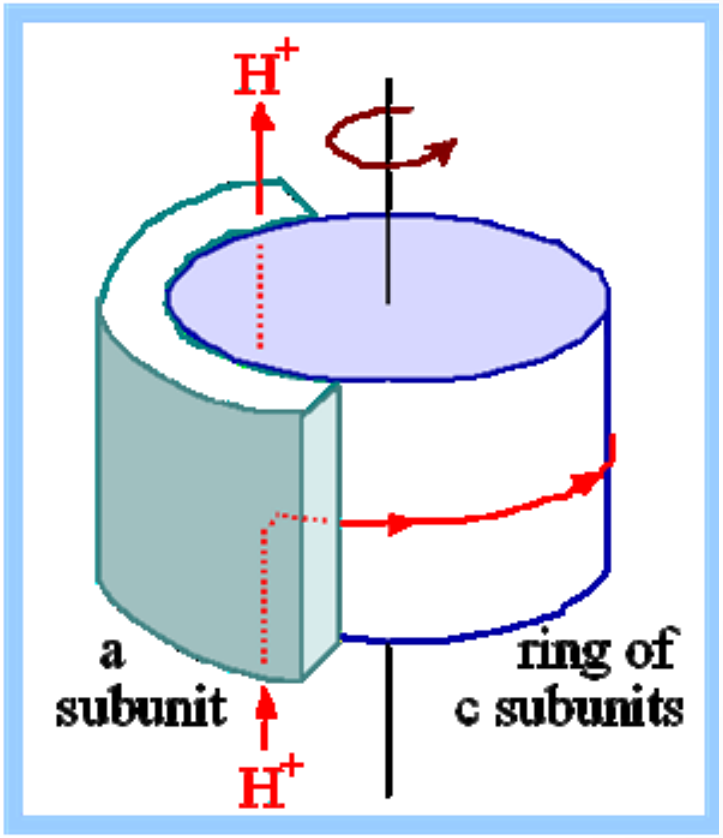
Syntéza ATP komplexem V



- 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

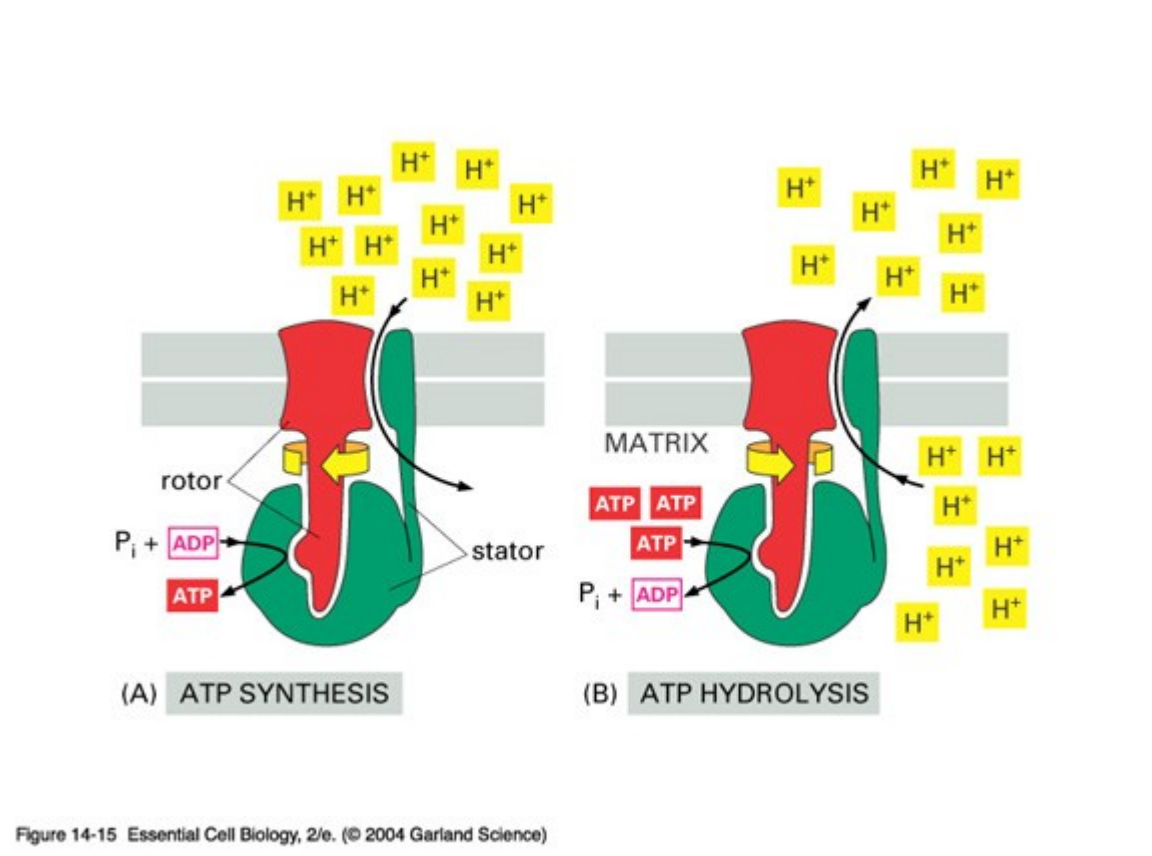
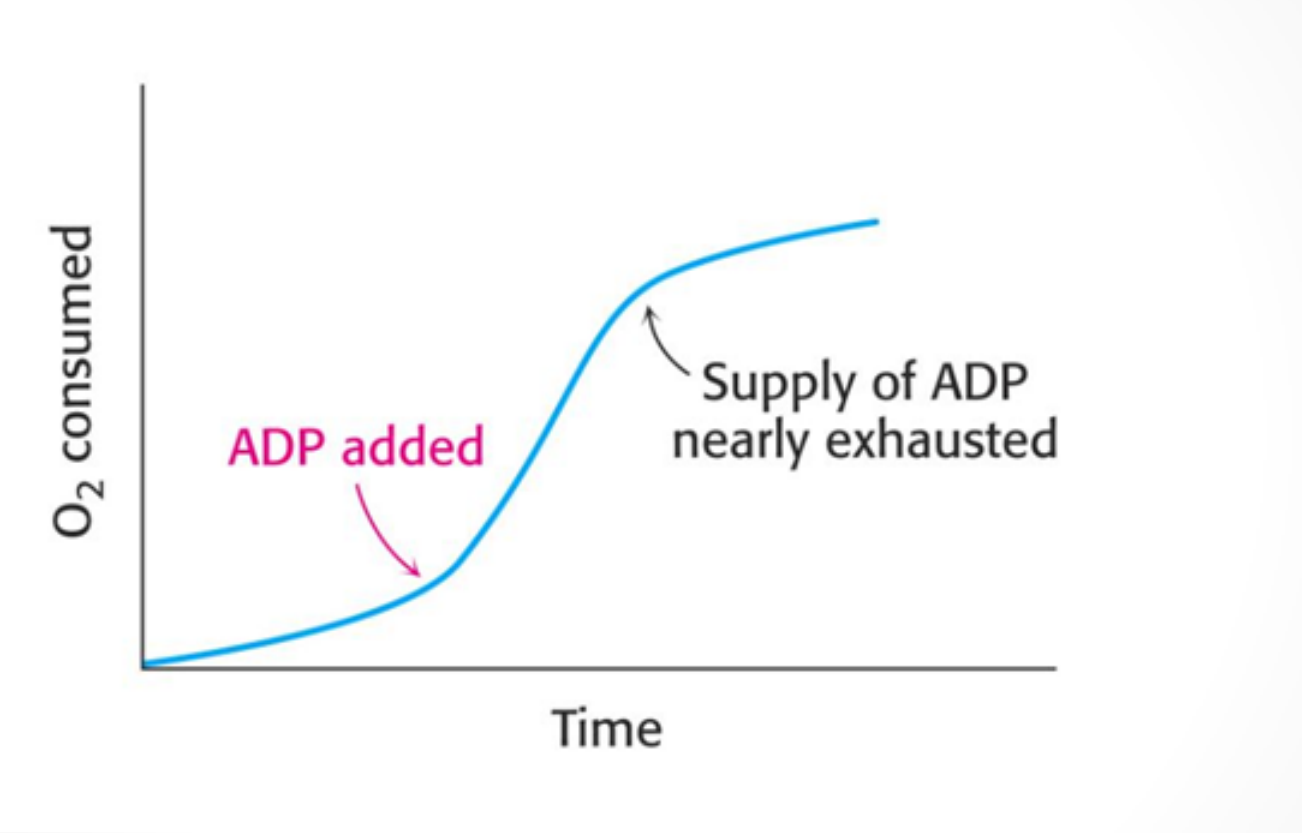


Figure 14-15 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

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

Respirační kontrola

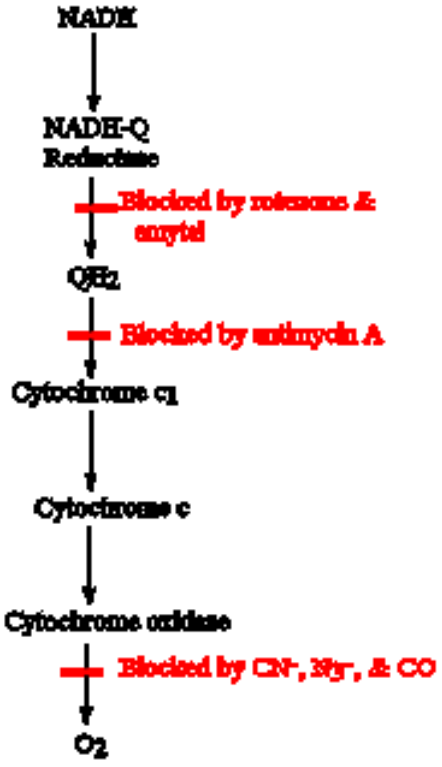


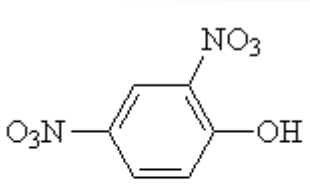
- Regulace spotřeby substrátu
  - Brzdění vysokým Δψ

Nástroje studia

- Umělé donory a akceptory elektronů
  - dodávají a odebírají e^- v různých místech

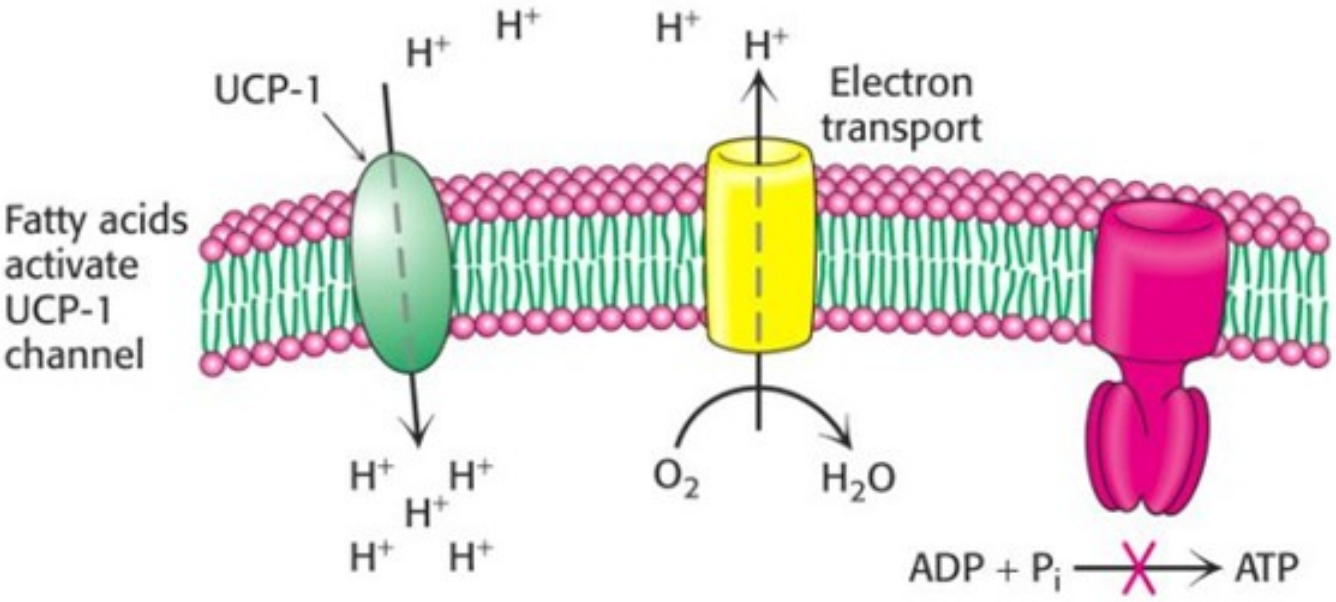
- Inhibitory
  - inhibitory transportu elektronů
  - rozpojovače (2,4-DNP)
  - inhibitory H^+-ATPasy (oligomycin)





2,4-dinitrophenol
DNP

Termogeneze



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