

Oxidačná fosforylácia

25.11.2015

Stupeň 1

lipidy

↓
mastné kyseliny
a glycerol

sacharidy

↓
glukóza a iné
monosacharidy

bielkoviny

↓
aminokyseliny

Stupeň 2

β-oxidácia
mastných kyselín

glykolýza

rozklad
aminokyselín



Stupeň 3

acetyl-CoA

citrátový
cyklus



FADH₂

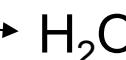
NADH

Stupeň 4

ATP

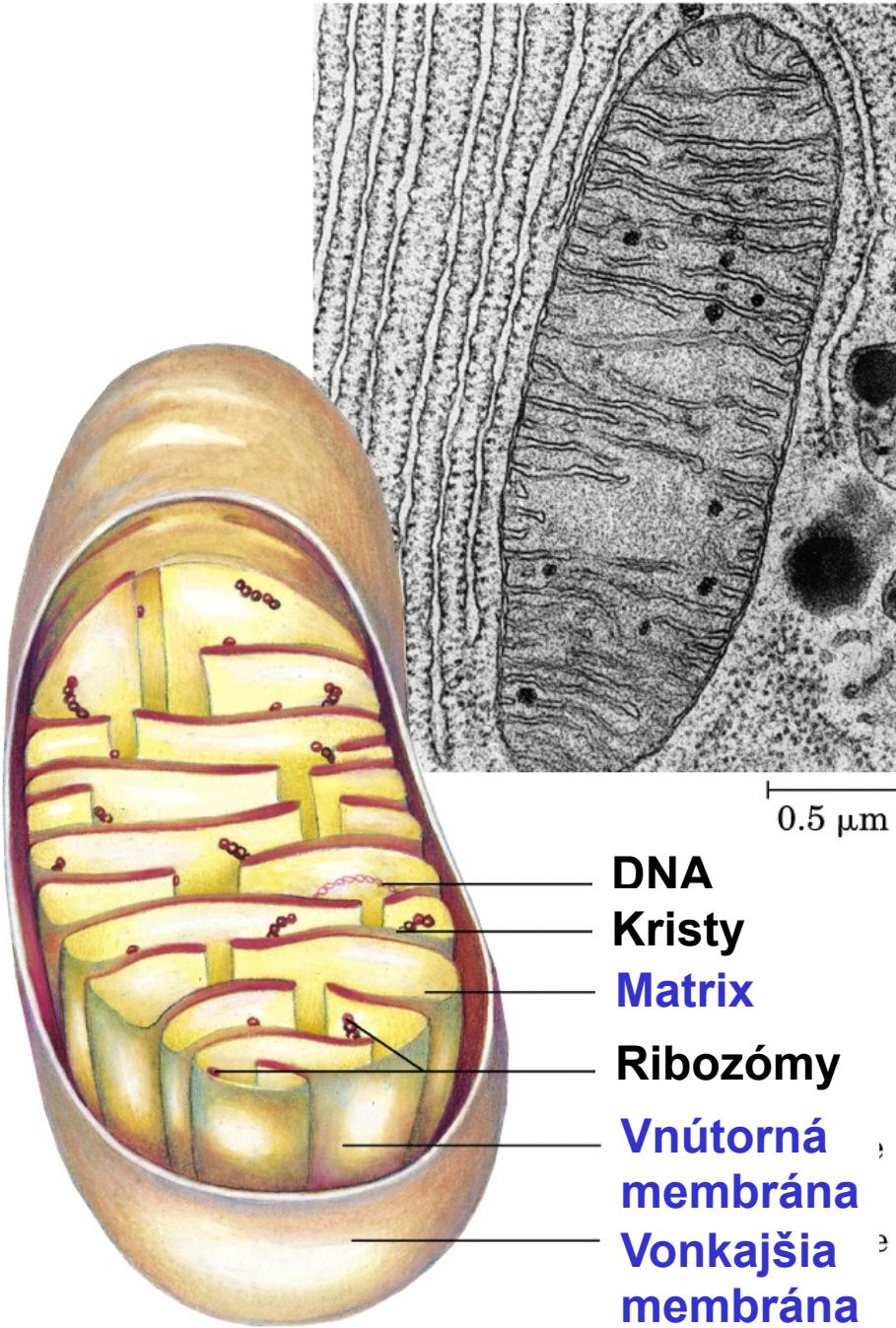
ADP + P_i

dýchací reťazec



Podstata oxidačnej fosforylácie

- 1. *Transport elektrónov:* Elektróny z redukovaných koenzýmov sa prenášajú reťazcom proteínov a koenzýmov (dýchací reťazec), čím umožnia vytvorenie protónového gradientu cez vnútornú mitochondriálnu membránu
- 2. *Oxidačná fosforylácia:* Energia protónového gradientu sa využíva na syntézu ATP



Vonkajšia membrána

Voľne prieplustná pre malé molekuly a ióny (**cez poríny**)

Vnútorná membrána

Neprieplustná pre väčšinu malých molekúl a iónov, vrátane **H⁺**

Obsahuje:

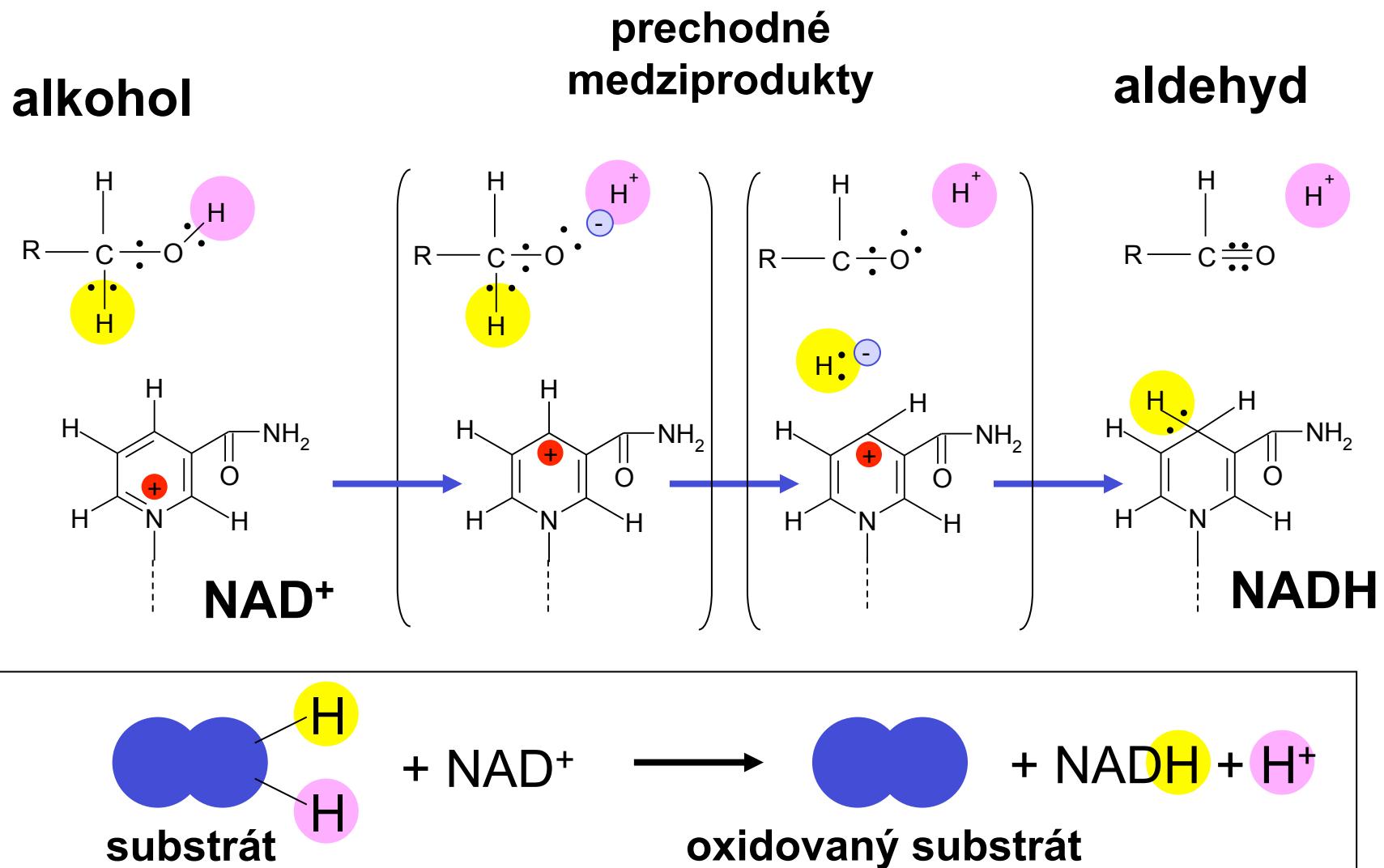
- elektrónové prenášače (Komplexy I-IV)
- ADP-ATP translokázy
- ATP syntázu (F_0F_1)
- Ďalšie membránové transportéry

Matrix

Obsahuje:

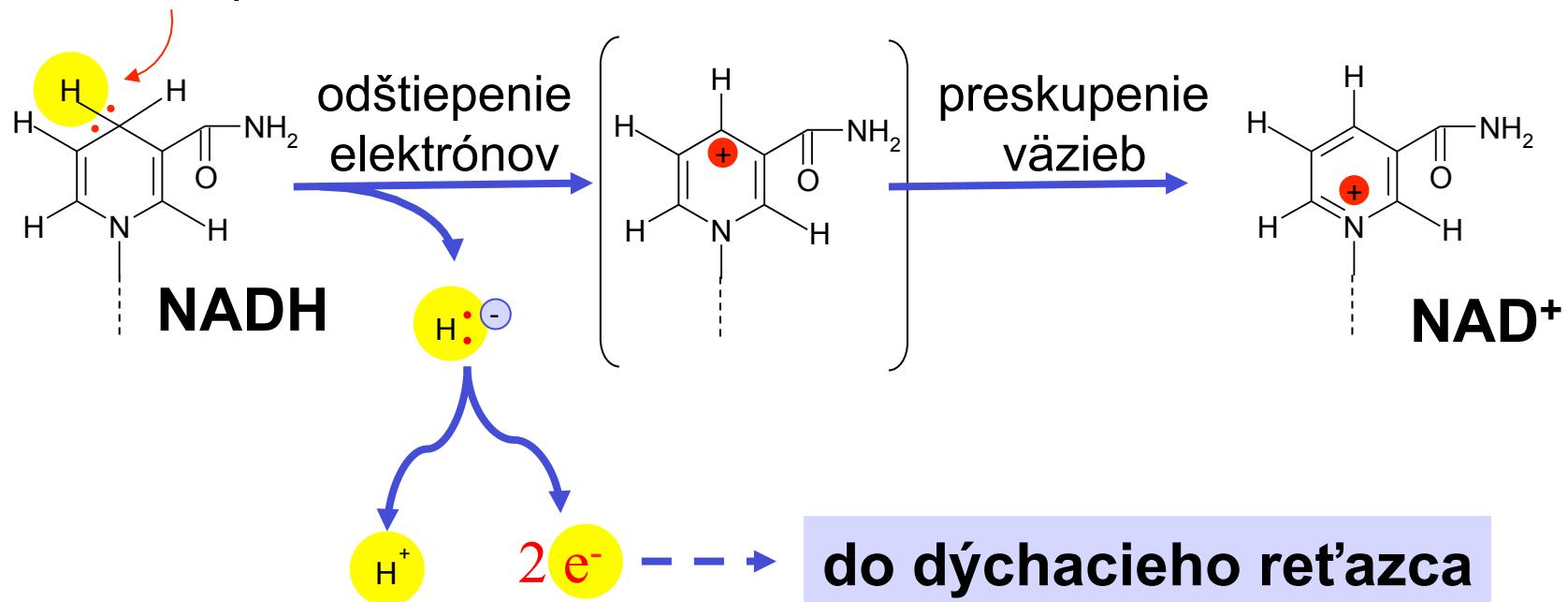
- pyruvátdehydrogenázový komplex
- enzýmy citrátového cyklu
- enzýmy β-oxidácie mastných kyselín
- enzýmy oxidácie aminokyselín
- DNA, ribozómy
- mnohé ďalšie enzymy a metabolické medziprodukty
- ATP, ADP, P_i, Mg²⁺, Ca²⁺, K⁺

Odkiaľ pochádzajú elektróny, ktoré sa prenášajú dýchacím ret'azcom?



Odkiaľ pochádzajú elektróny, ktoré sa prenášajú dýchacím reťazcom?

Dva elektróny
z oxidácie napr. sacharidov



Elektrónový transport

- Proces elektrónového transportu sa začína vtedy, keď sa hydridový anión H^- odštiepi z NADH a premení sa na H^+ a $2 e^-$
- $2 e^-$ sa prenesú na prvý z cca 15 prenášačov elektrónov v dýchacom reťazci
- Prenos prebieha od prenášačov s najnižšou afinitou k e^- cez prenášače s postupne vzrástajúcou afinitou k e^- až na O_2 , ktorý je konečným akceptorom e^-

Typy prenášačov elektrónov v dýchacom ret'azci

Nízkomolekulové prenášače

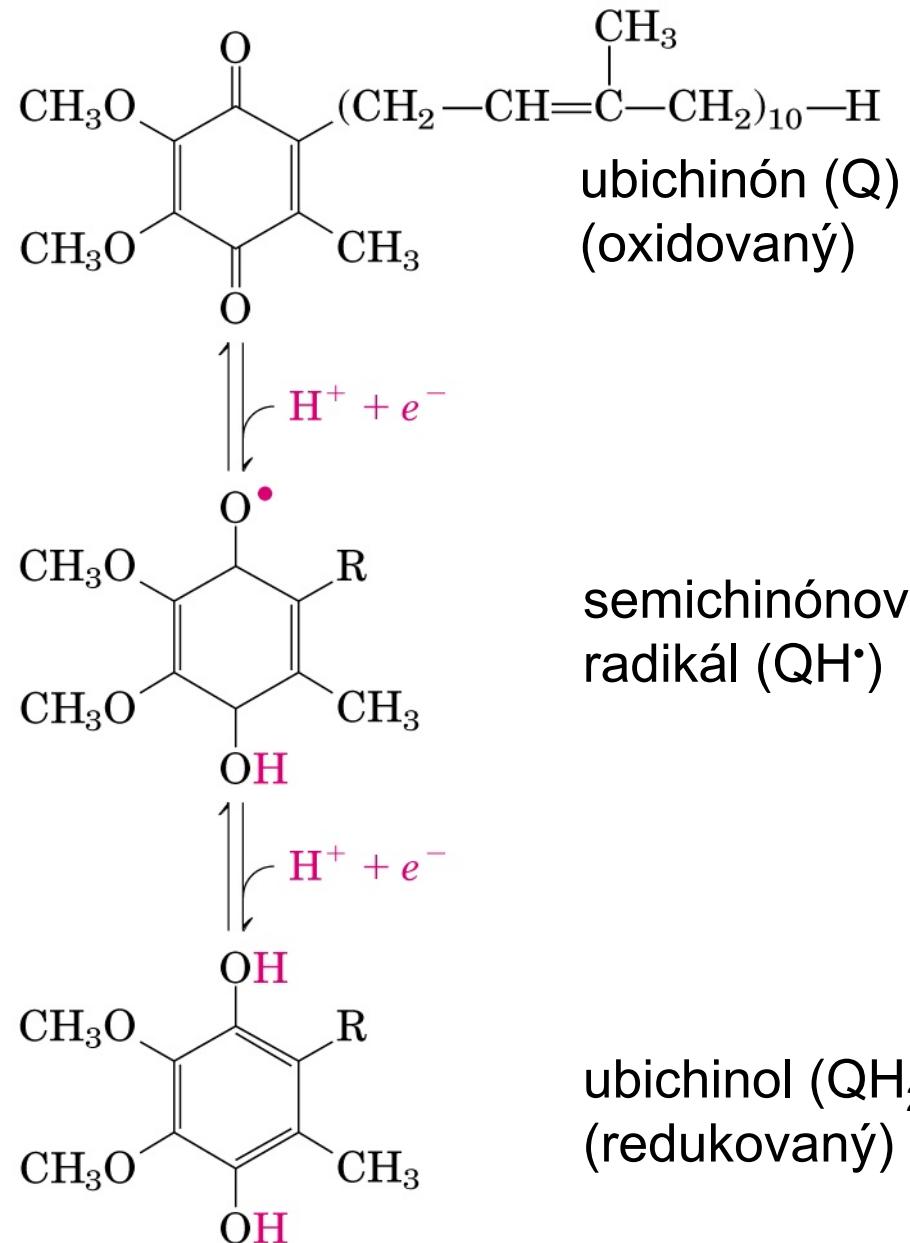
- NADH
- Ubichinón

Proteíny

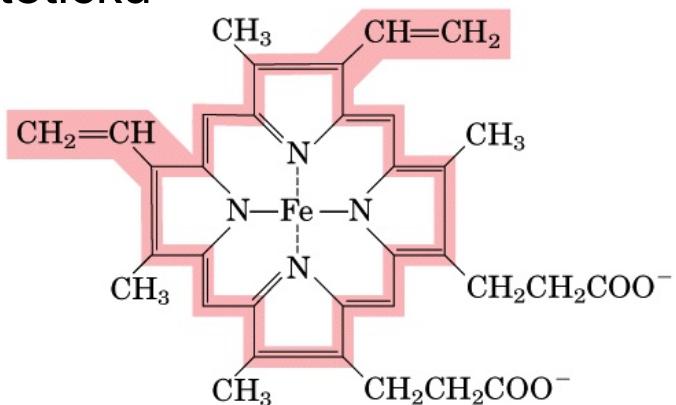
- Cytochrómy
- Proteíny s nehemovo viazaným železom
- Flavoproteíny

Ubichinón (koenzým Q)

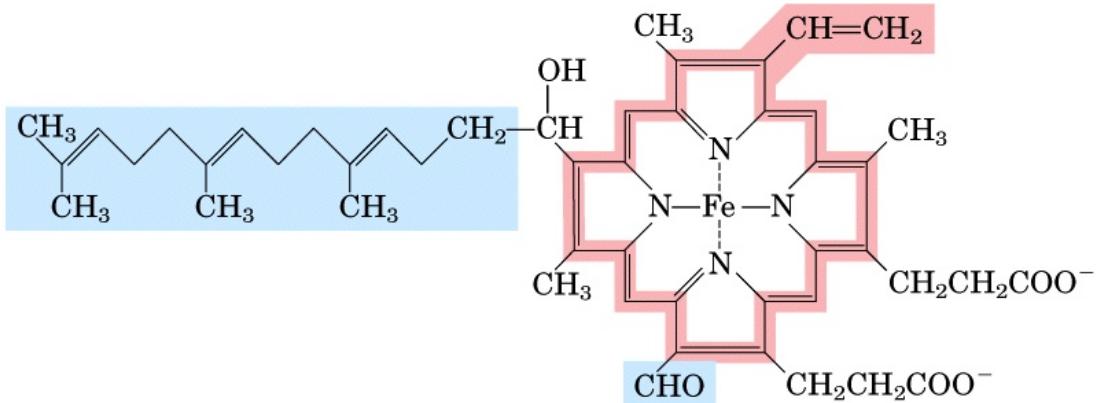
- benzochinón s dlhým izoprenoidným reťazcom
- je malý a hydrofóbny → umožňuje transport elektrónov (a protónov) vo fosfolipidovej dvojvrstve



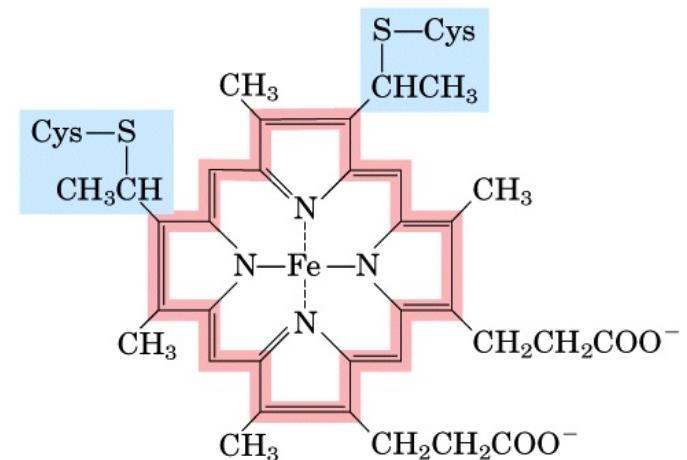
Cytochrómy – proteíny, ktoré obsahujú prostetickú skupinu hém



Protoporfyrín IX
(v *b*-type cytochrómov)



Hém A
(v *a*-type cytochrómov)

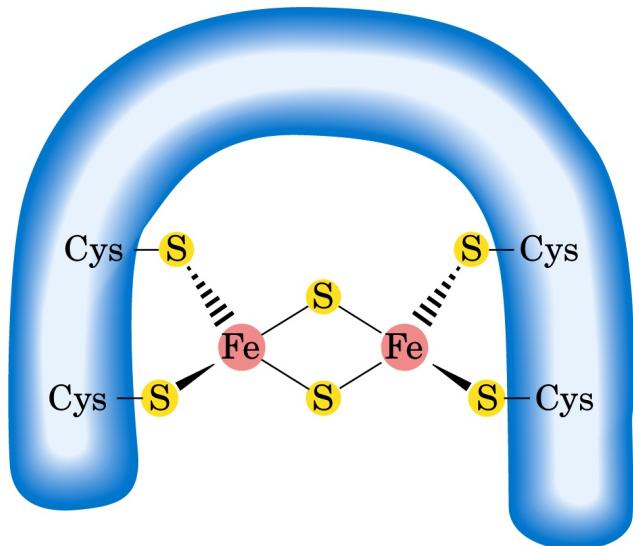


Hém C
(v *c*-type cytochrómov)

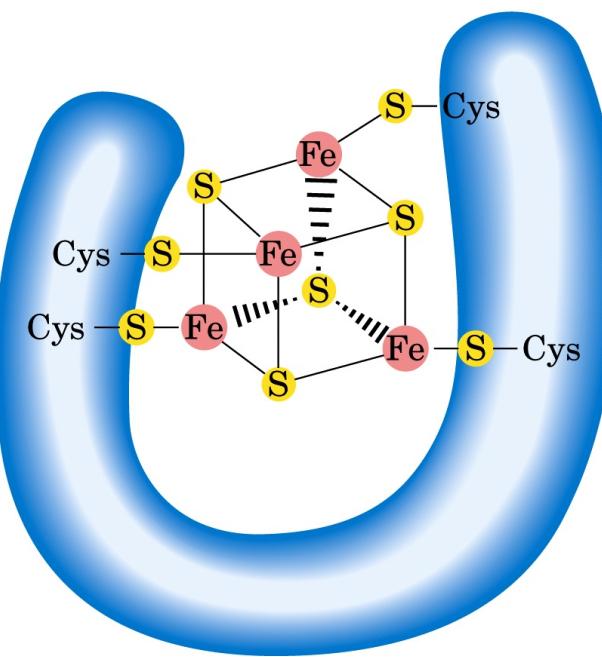
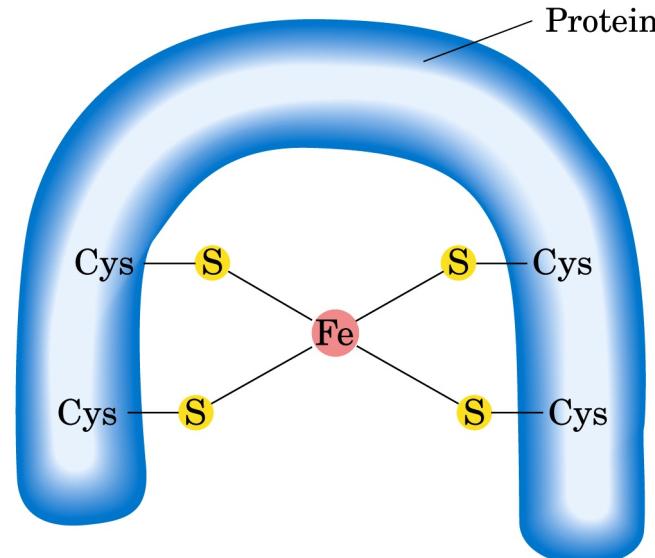


Proteíny s nehemovo viazaným železom (Fe-S proteíny)

-Fe sa viaže s bočnými reťazcami cysteínu, resp. so zvyškami cysteínu a atómami síry



2Fe-2S



4Fe-4S

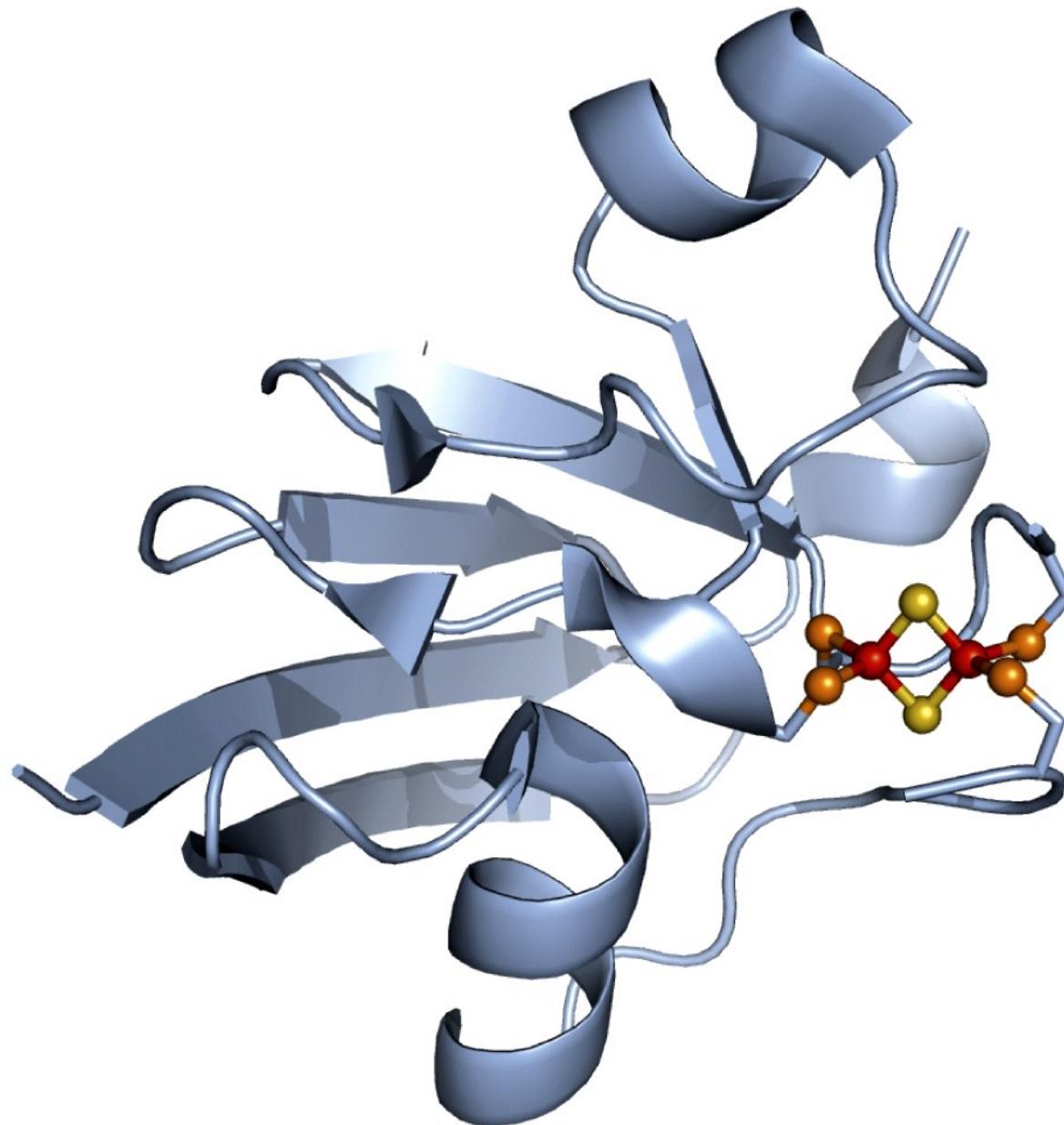


Figure 19-5d

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

TABLE 19–2

Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

Redox reaction (half-reaction)	E° (V)
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2\text{)}$	Komplex I
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	} Komplex III 0.077
$\text{Cytochrome } c_t (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c_t (\text{Fe}^{2+})$	
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	} Komplex IV 0.29
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.35
	0.8166

Table 19-2

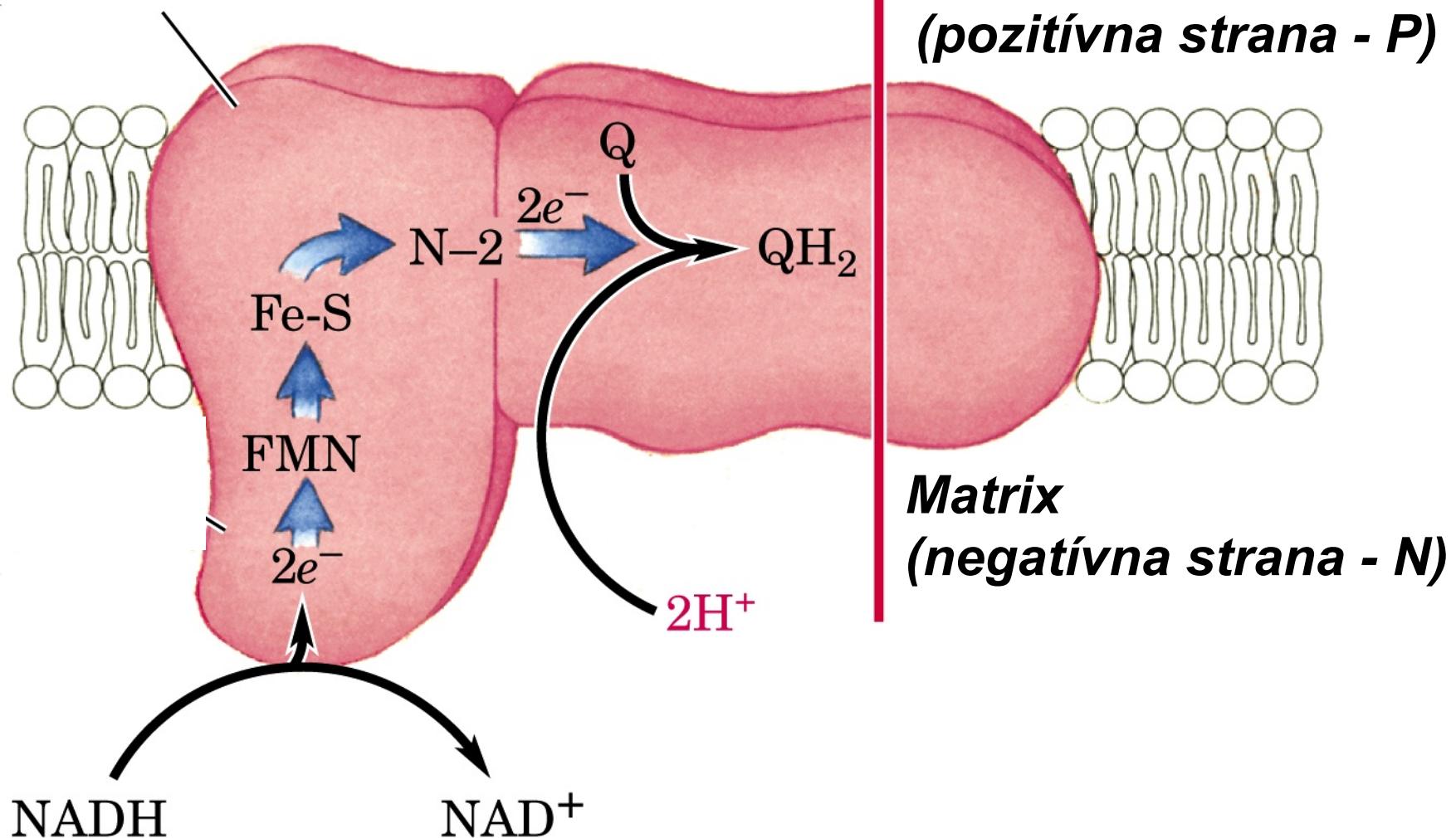
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

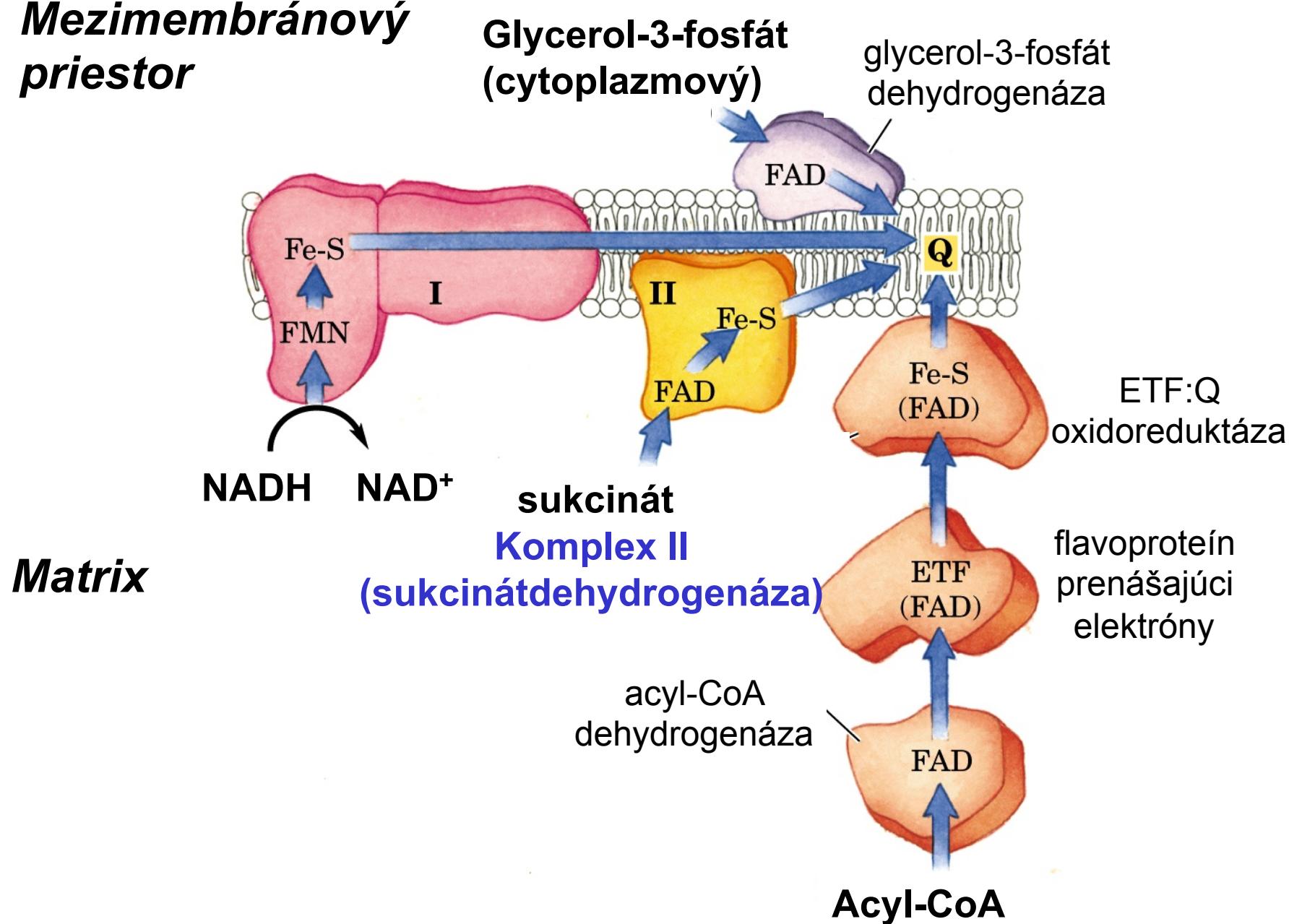
Proteínové zložky mitochondriálneho dýchacieho reťazca

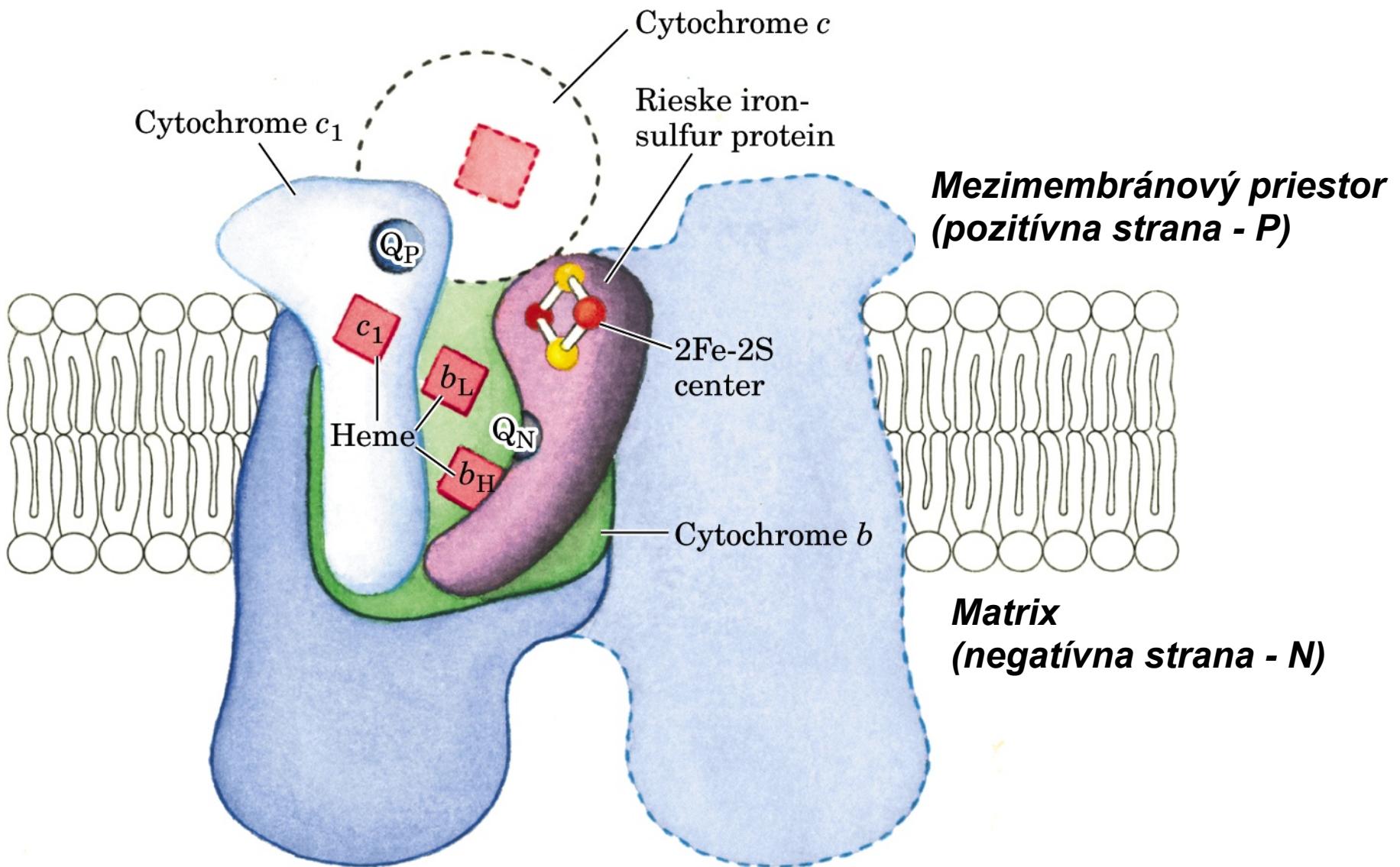
Enzýmový komplex	Molekulová hmotnosť (kDa)	Počet podjednotiek	Prostetické skupiny
I NADH dehydrogenáza	850	43 (14)	FMN, Fe-S
II Sukcinátdehydrogenáza	140	4	FAD, Fe-S
III Ubichinón:cytochróm c oxidoreduktáza	250	11	hémy, Fe-S
Cytochróm c (<i>nie je súčasťou enzýmového komplexu</i>)	13	1	hém
IV Cytochrómoxidáza	160	13 (3-4)	hémy; Cu _A , Cu _B

Komplex I (NADH dehydrogenáza) (prenos elektrónov z NADH na ubichinón)



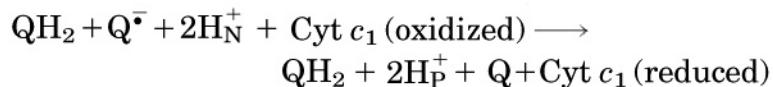
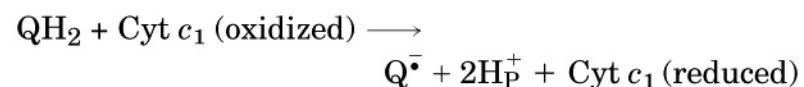
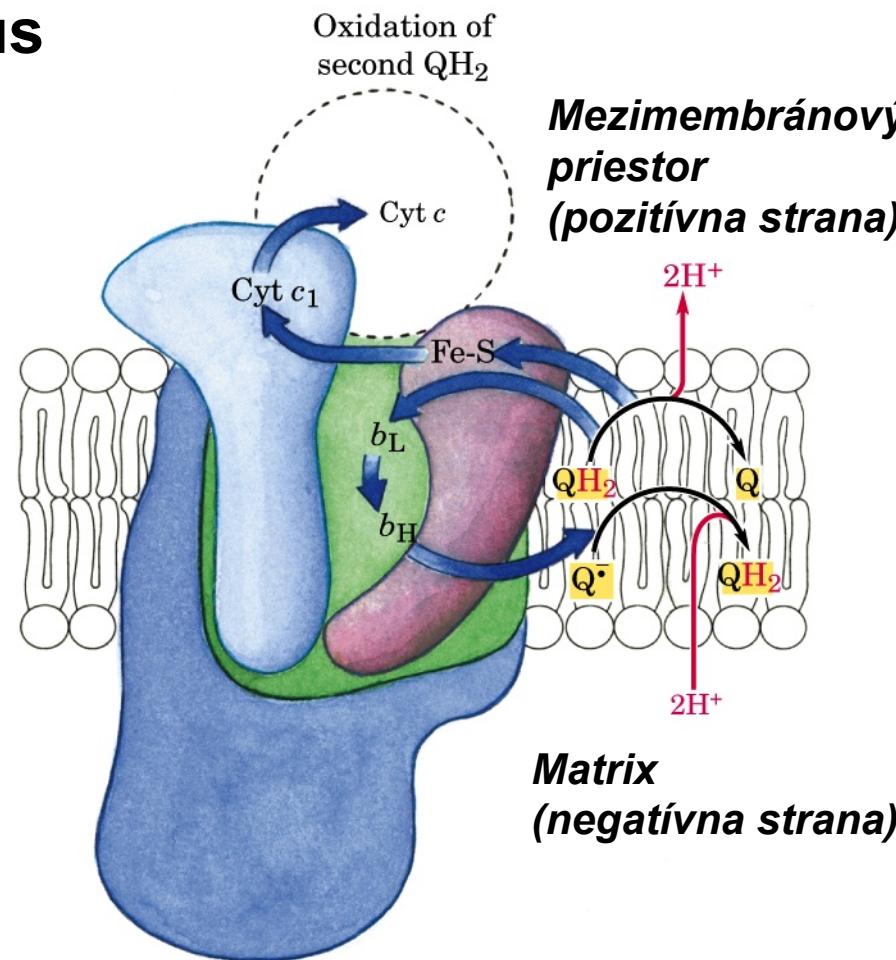
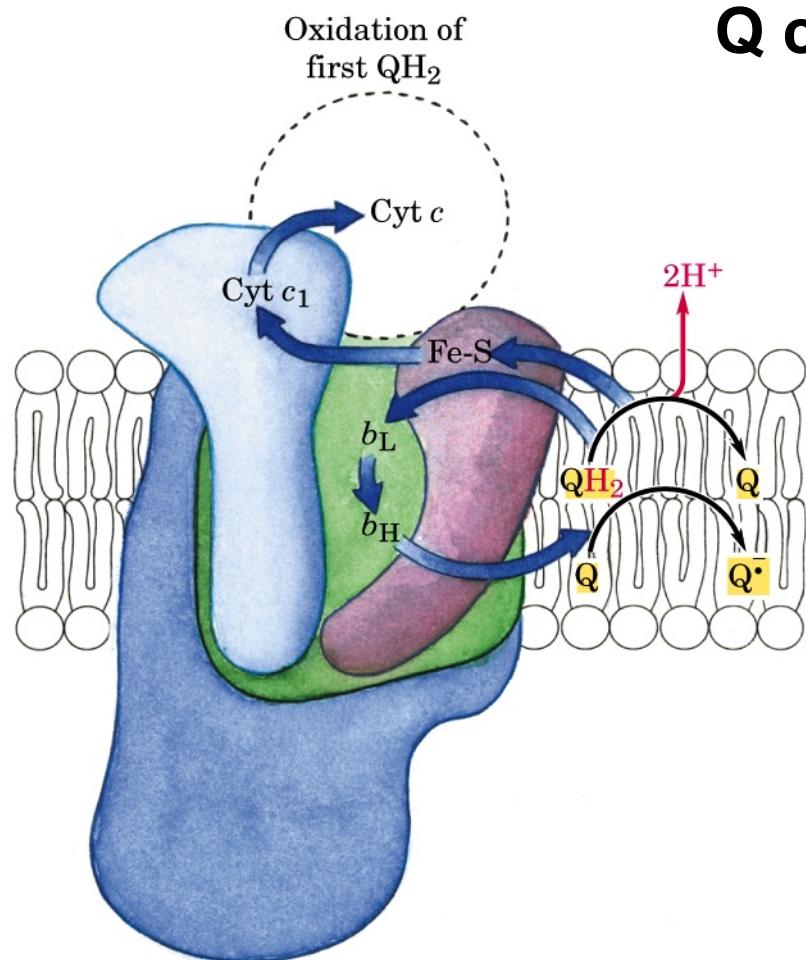
Mezimembránový priestor





Komplex III (Ubichinón:cytochróm c oxidoreduktáza)
(prenos elektrónov z ubichinónu na cyt c)

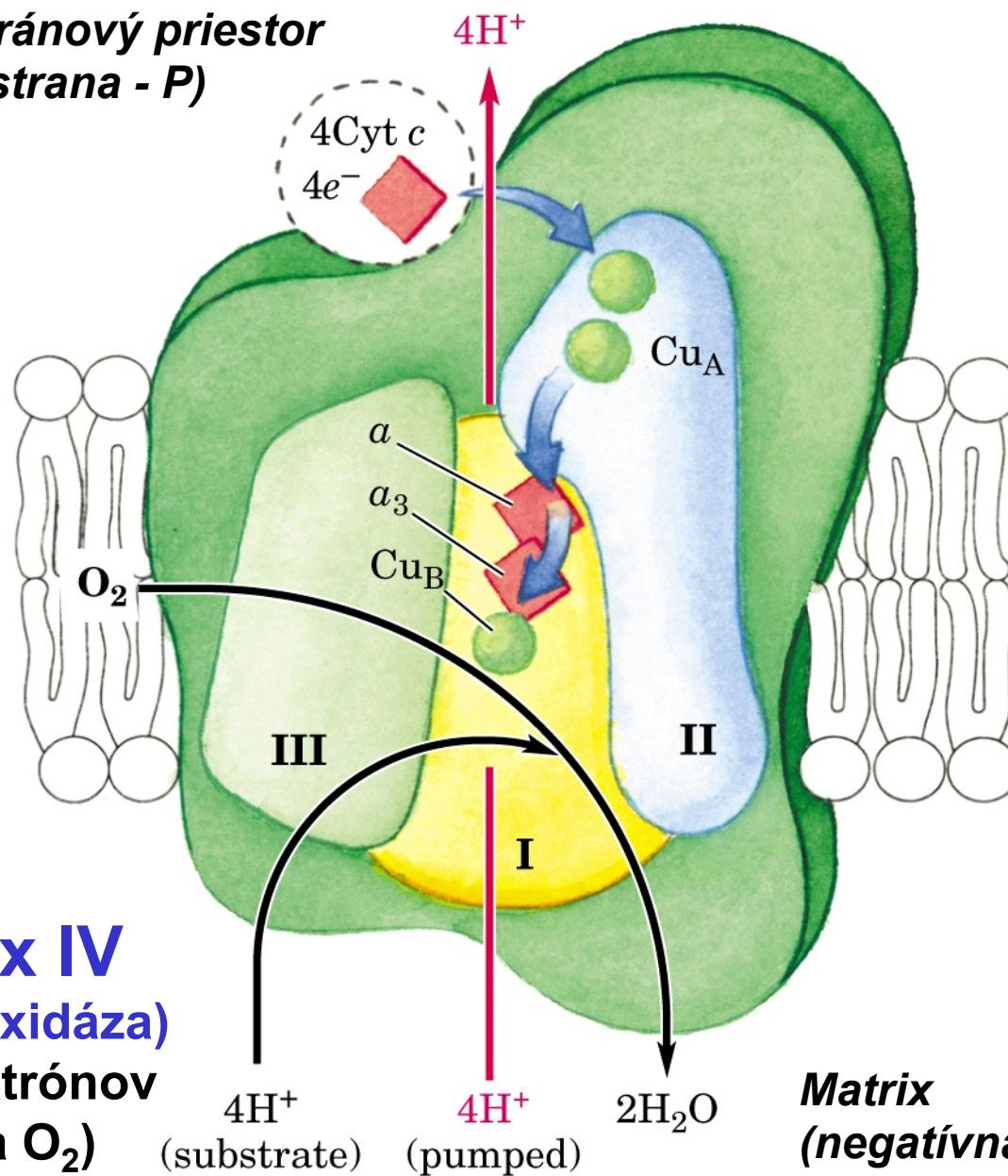
Q cyklus



Net equation:



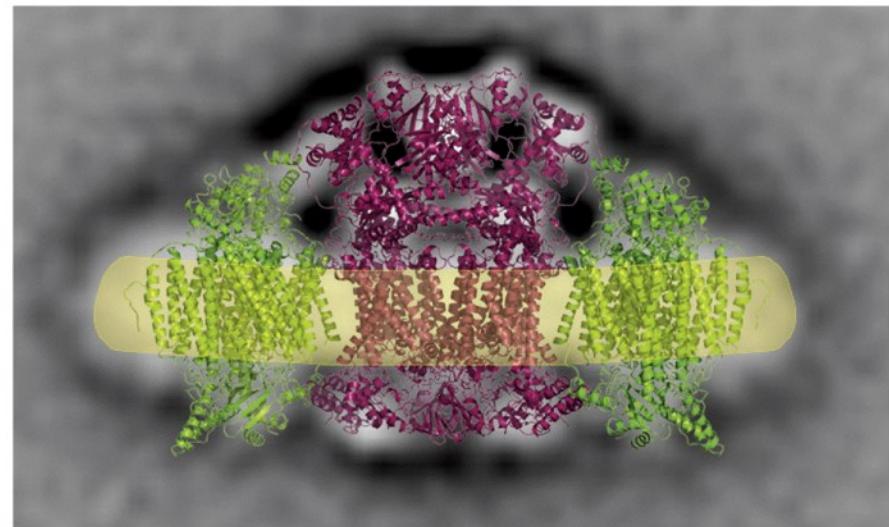
**Mezimembránový priestor
(pozitívna strana - P)**



“Respirazóm” z kvasinky – komplexy III (fialový) a IV (zelený)



(a)



(b)

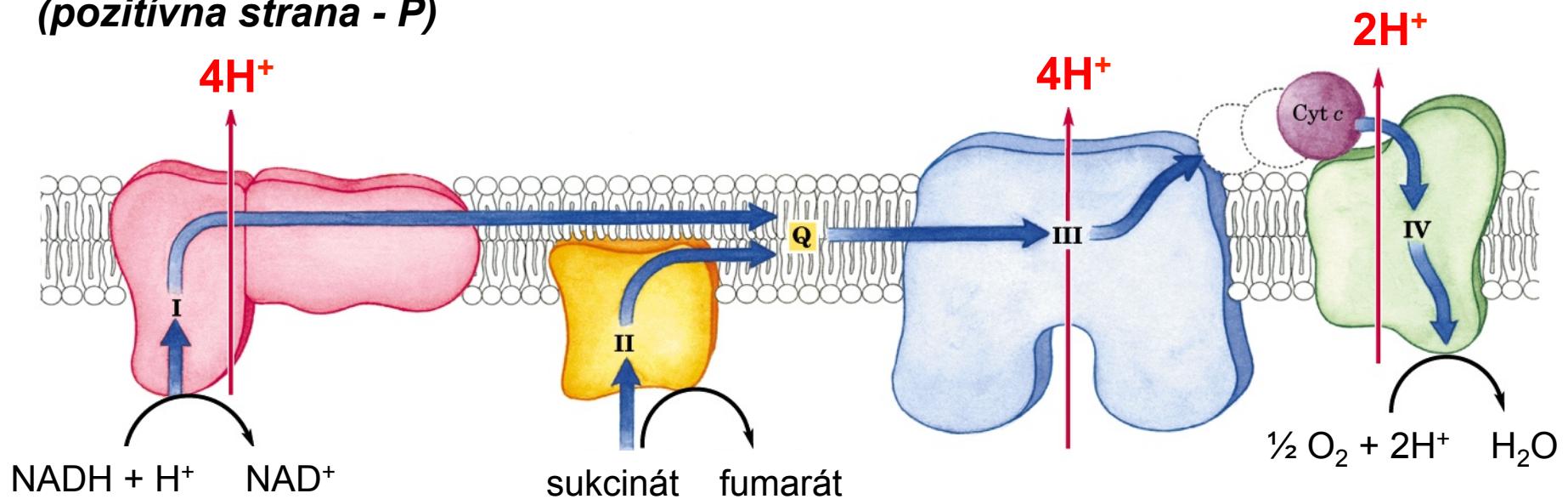
Figure 19-15

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Prehľad toku elektrónov a protónov štyrmi komplexami dýchacieho ret'azca

*Mezimembránový priestor
(pozitívna strana - P)*



*Matrix
(negativna strana - N)*

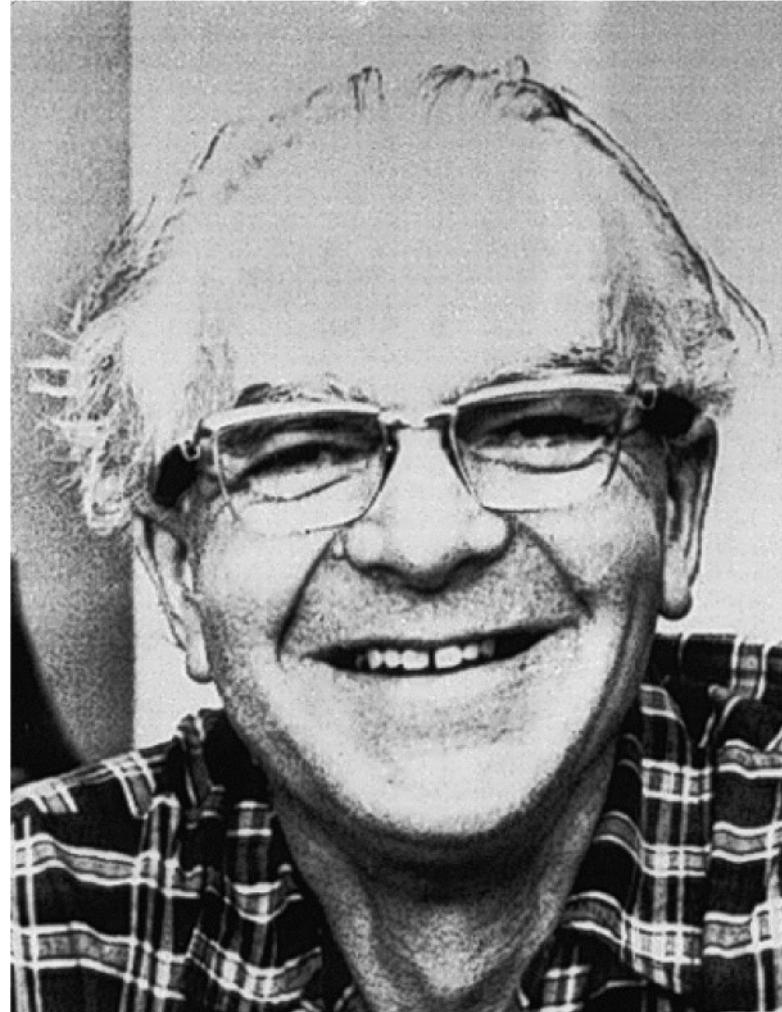
Spriahnutie elektrónového transportu a syntézy ATP- CHEMIOSMOTICKÝ MODEL (Peter Mitchell, 1961)

- Elektrochemická energia daná rozdielom koncentrácie protónov a separáciou náboja cez vnútornú mitochondriálnu membránu (tzv. **protónmotívna sila**) poháňa syntézu ATP pri pasívnom toku protónov späť do matrix cez F_o podjednotku ATP-syntázy.

The Nobel Prize in Chemistry 1978

"for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory"

„za príspevok k pochopeniu prenosu biologickej energie formulovaním chemiosmotickej teórie“



**Peter Mitchell,
1920–1992**

Unnumbered 19 p723
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

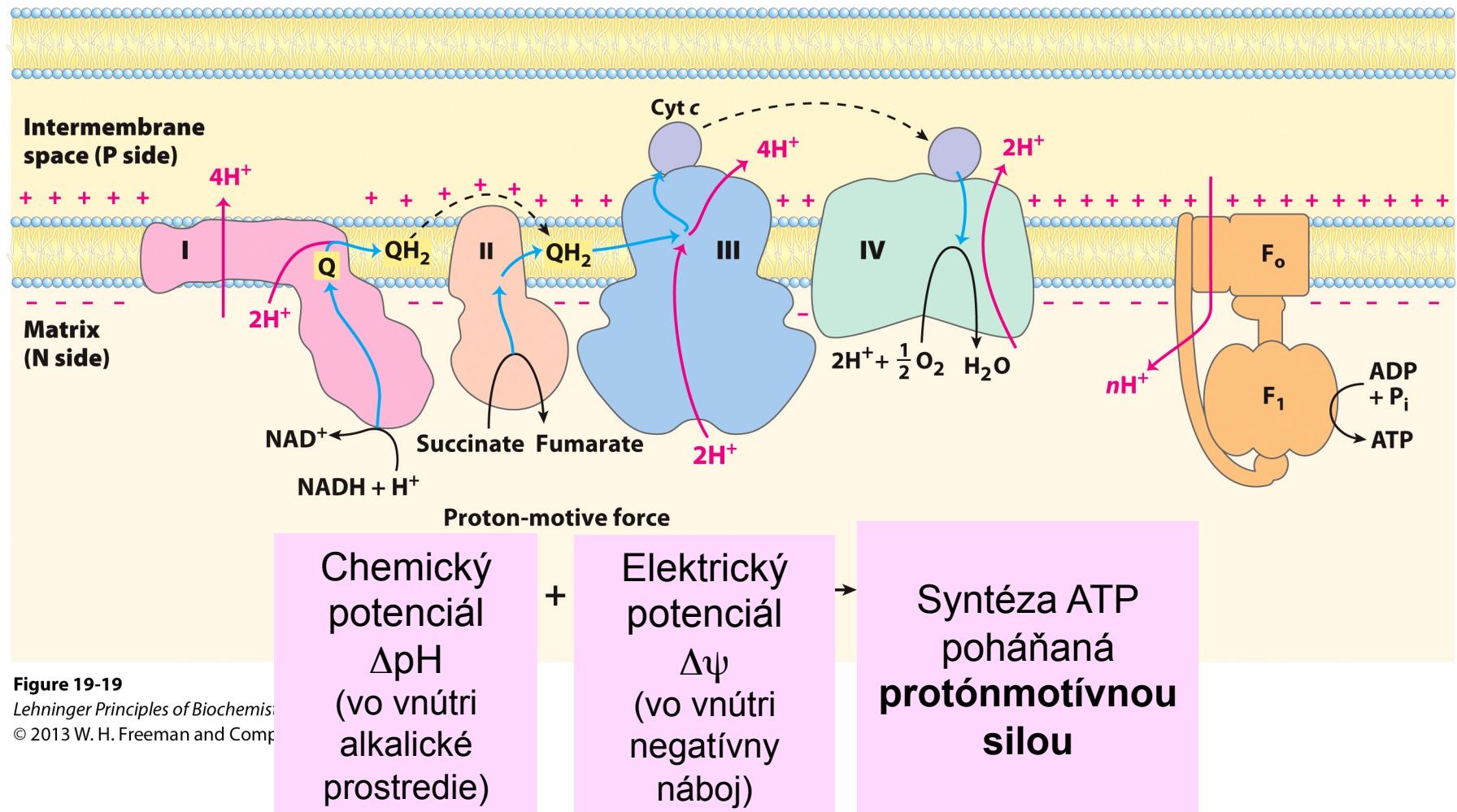
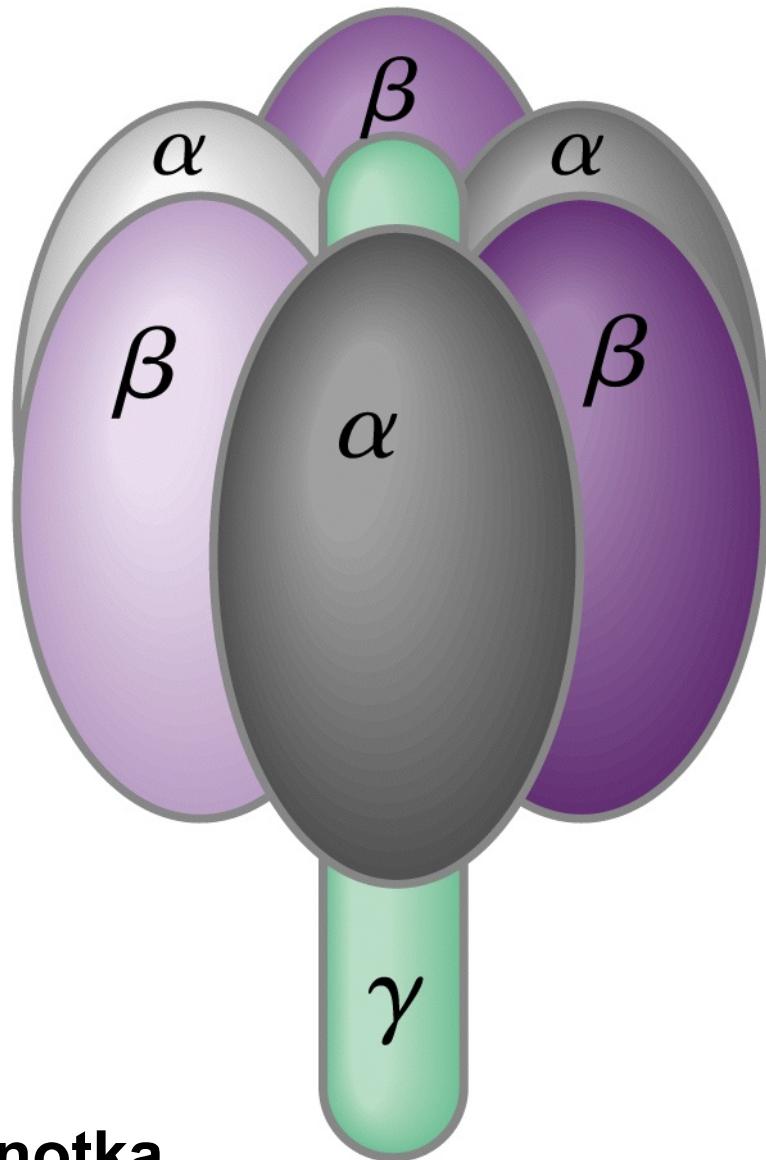
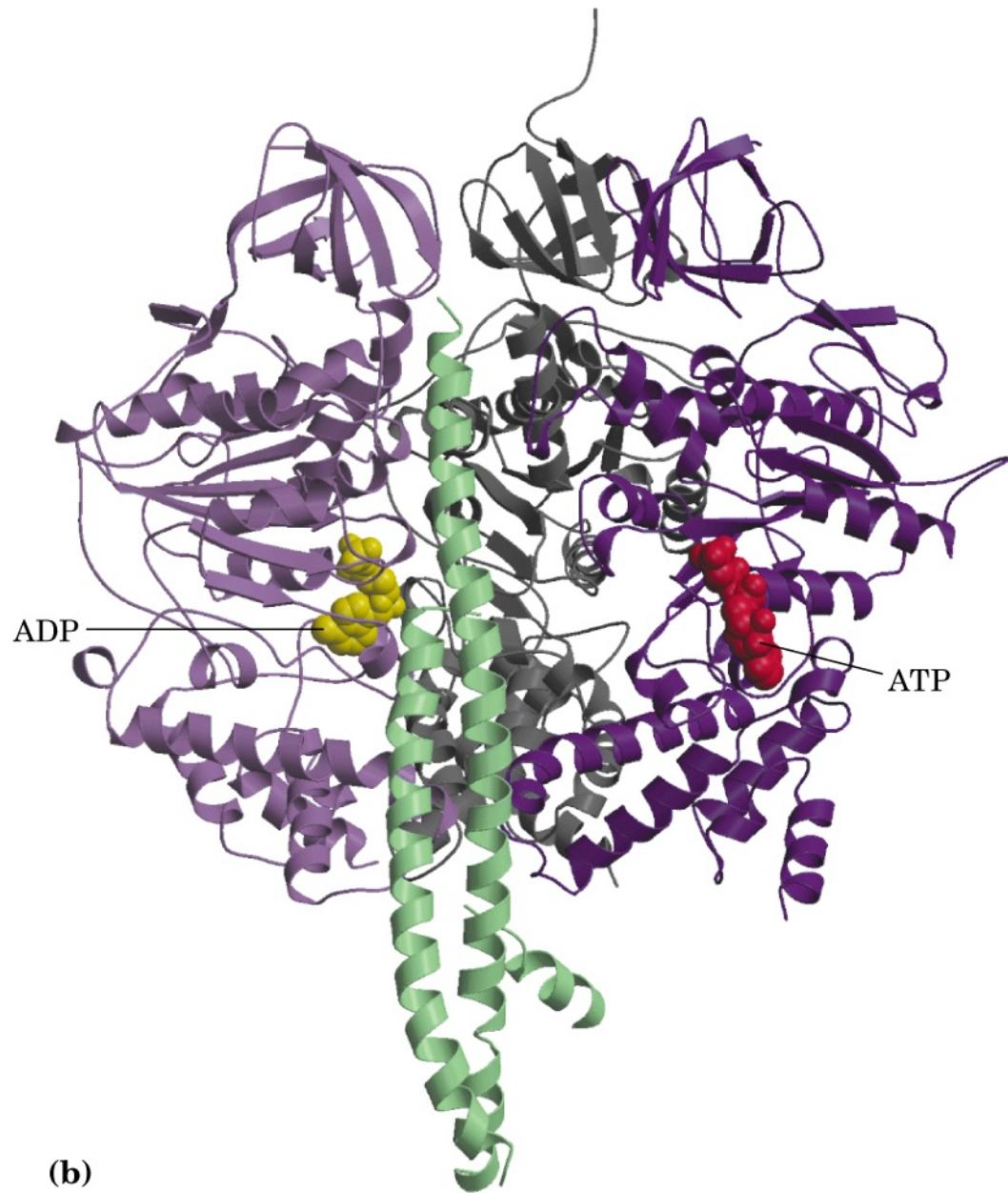


Figure 19-19
Lehninger Principles of Biochemistry
 © 2013 W. H. Freeman and Company



F₁ podjednotka
ATP syntázy



Top view of F₁

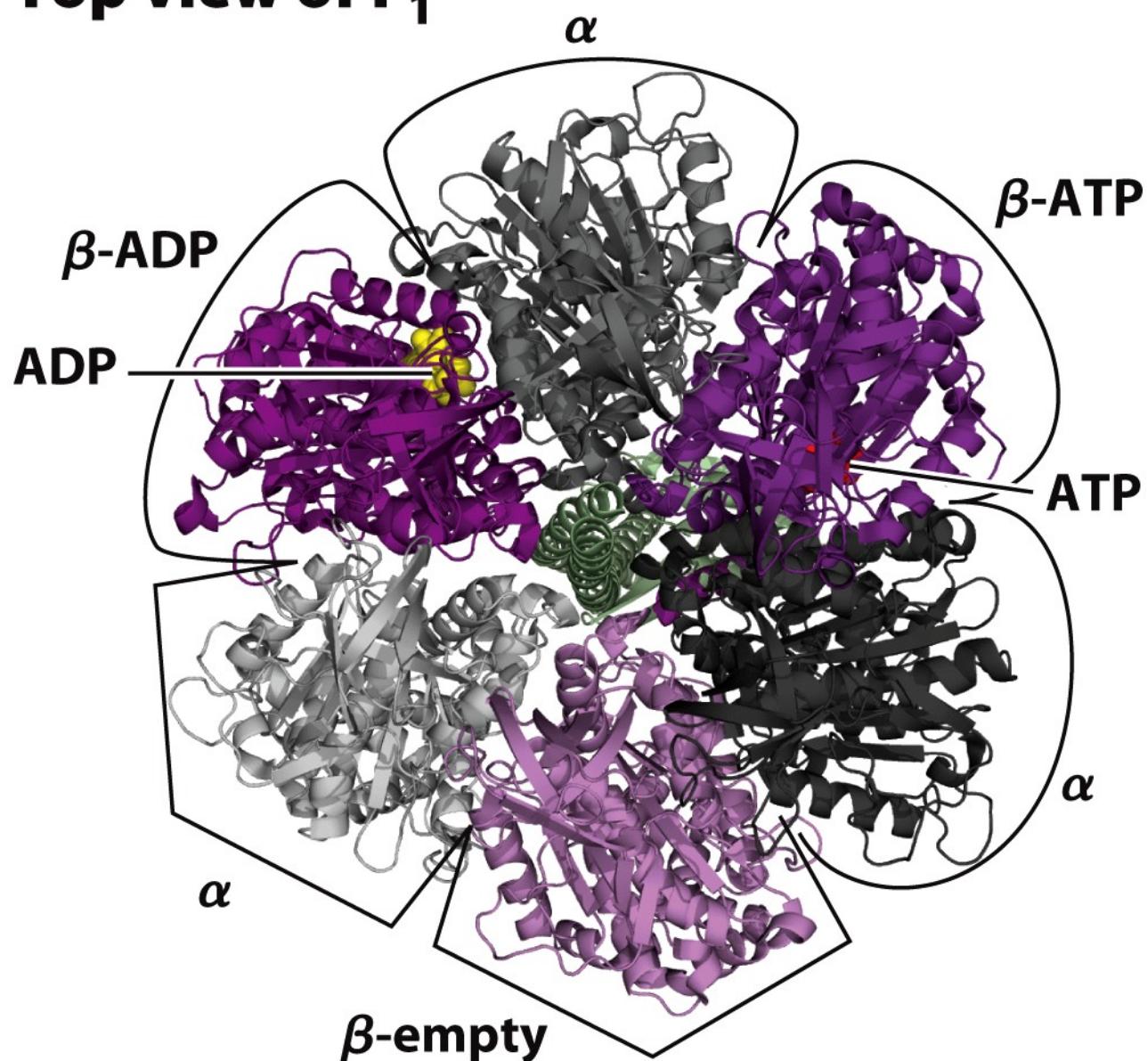


Figure 19-25b

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition

© 2013 W. H. Freeman and Company

Side view of F_0F_1

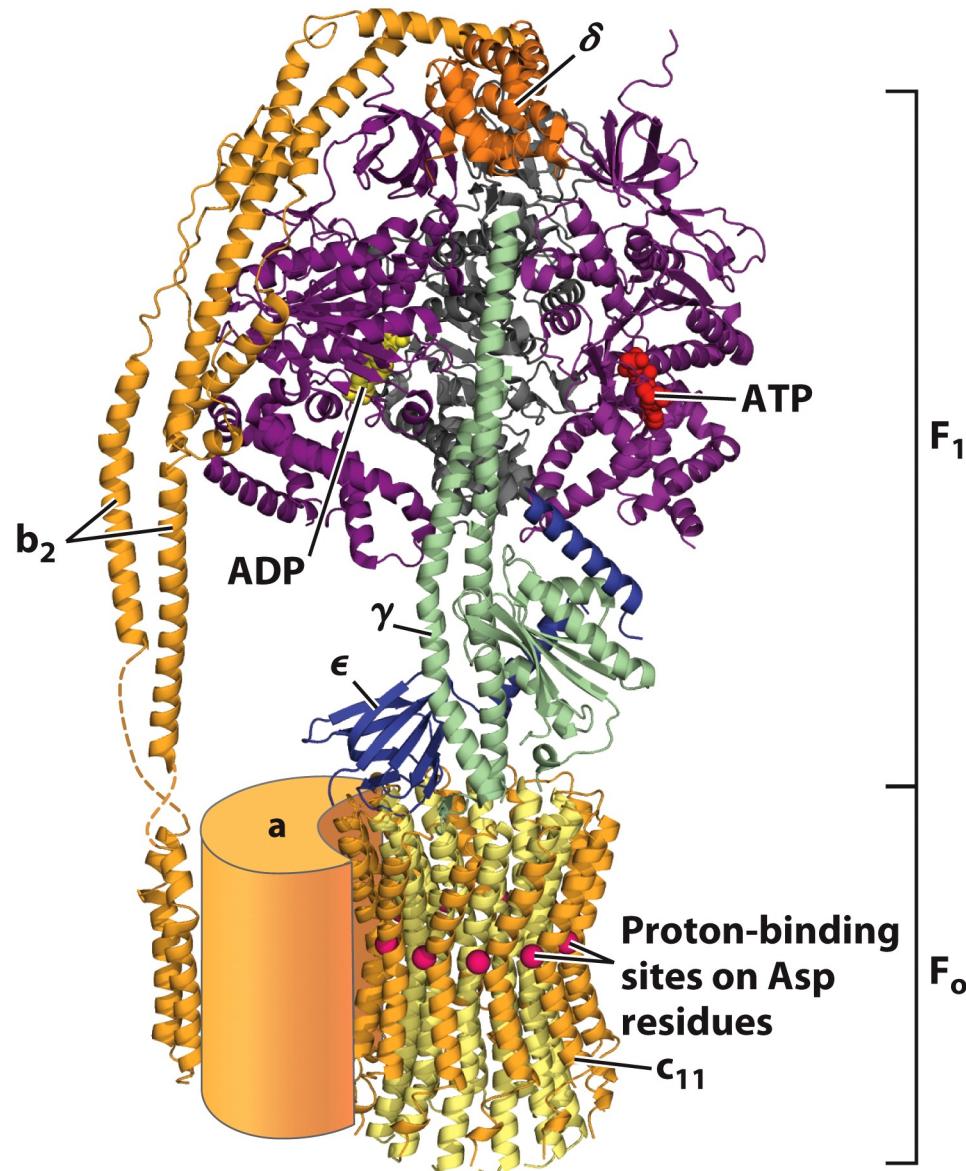


Figure 19-25c

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Bottom view of F_o

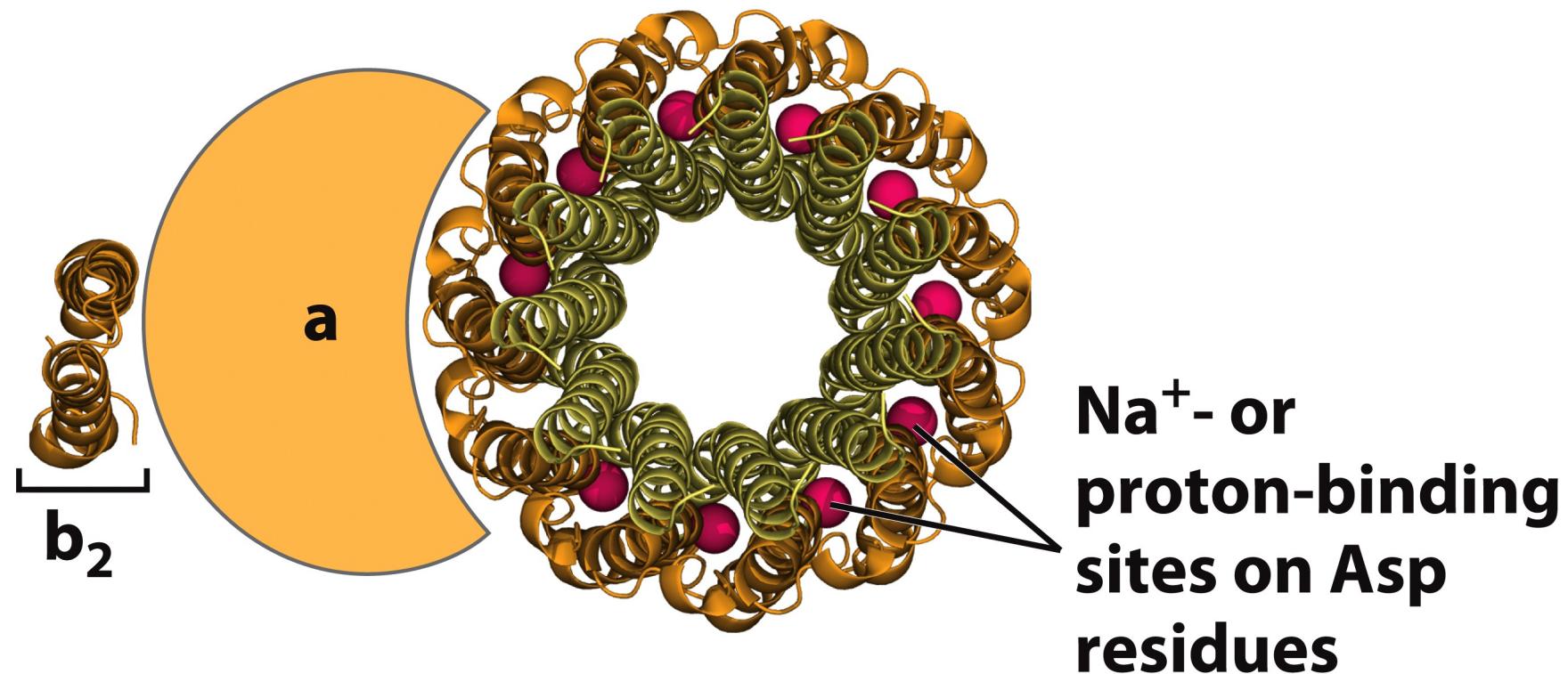


Figure 19-25d

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

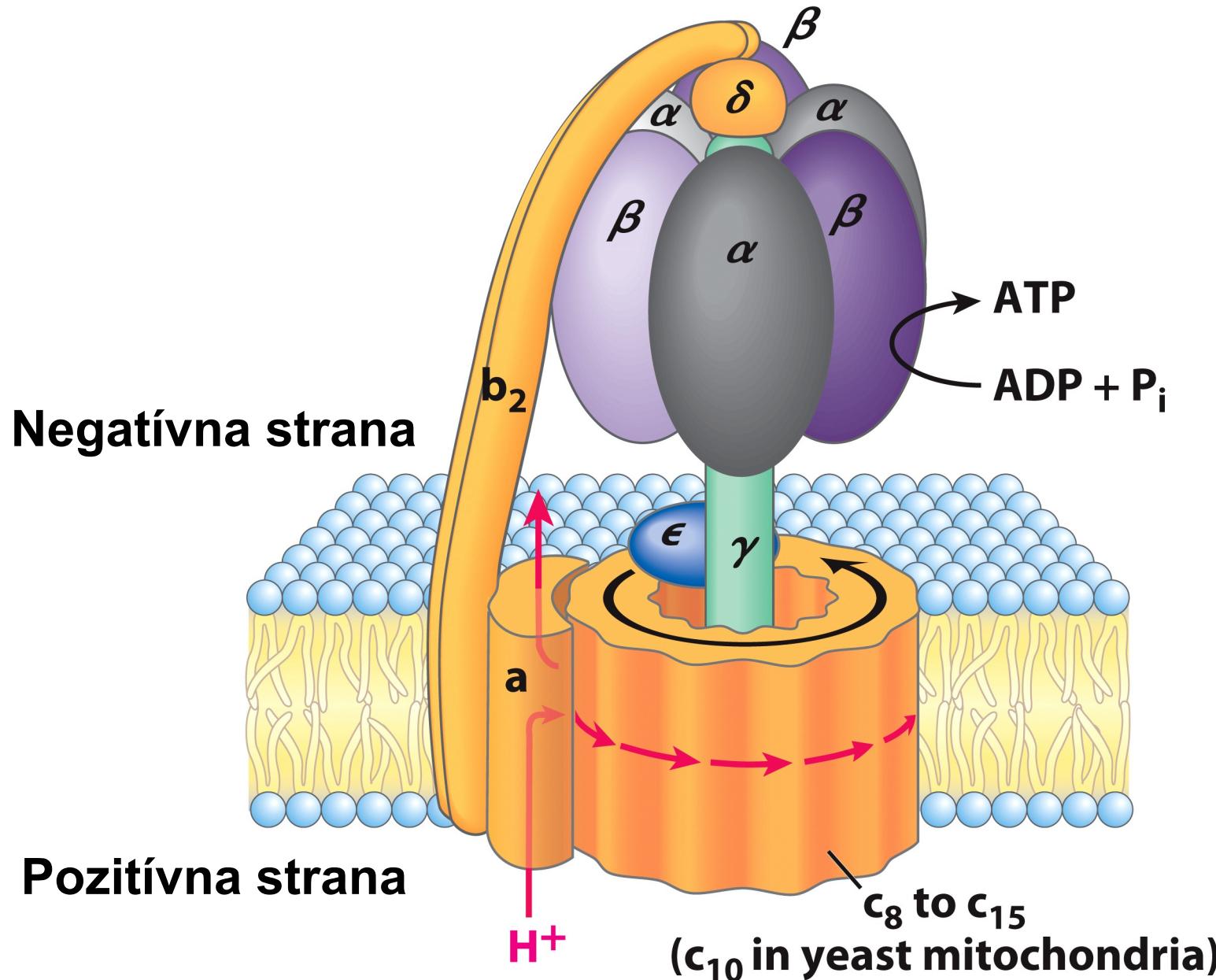
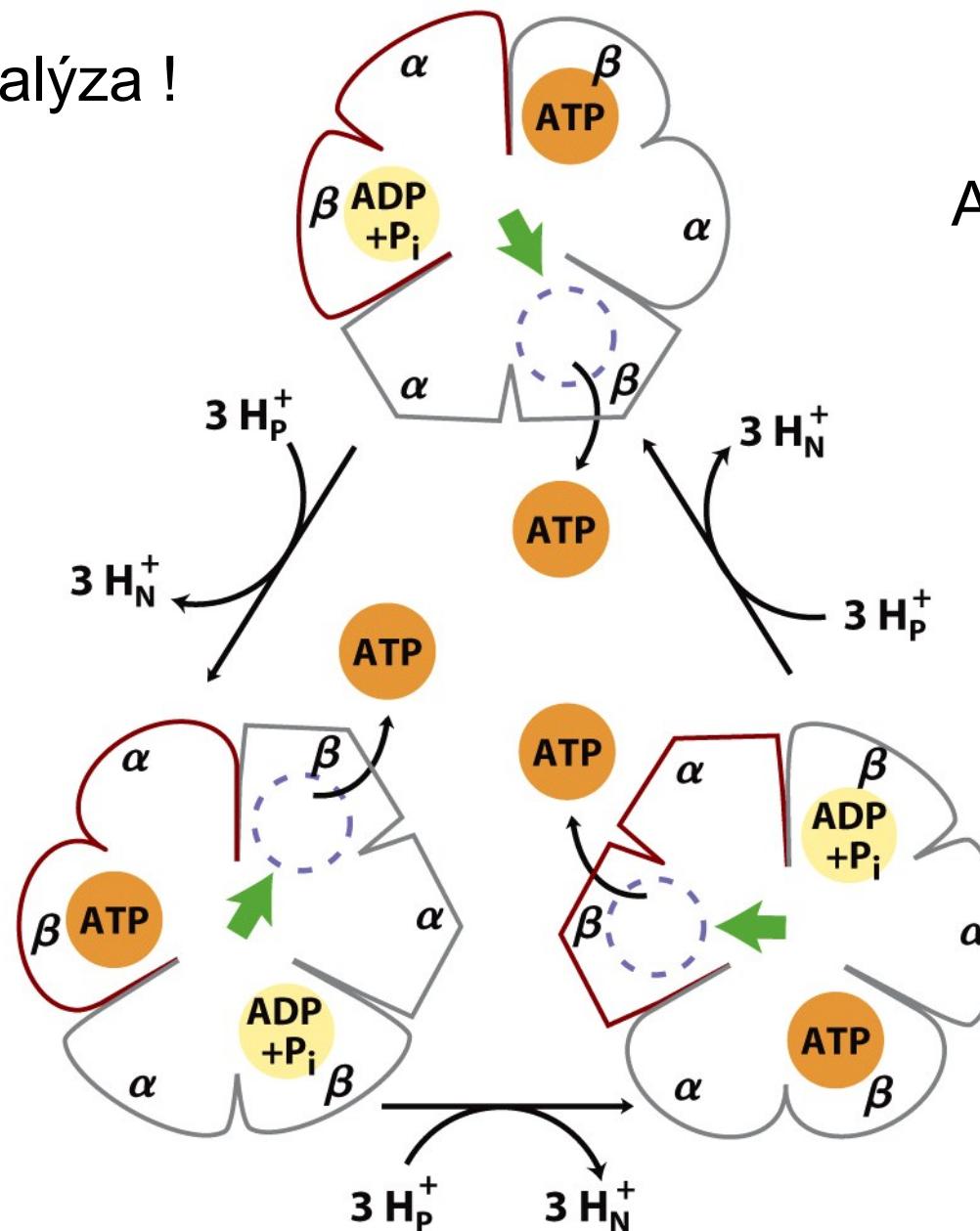


Figure 19-25a

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Rotačná katalýza !



Až 100 otáčok
za sekundu!

Figure 19-26
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

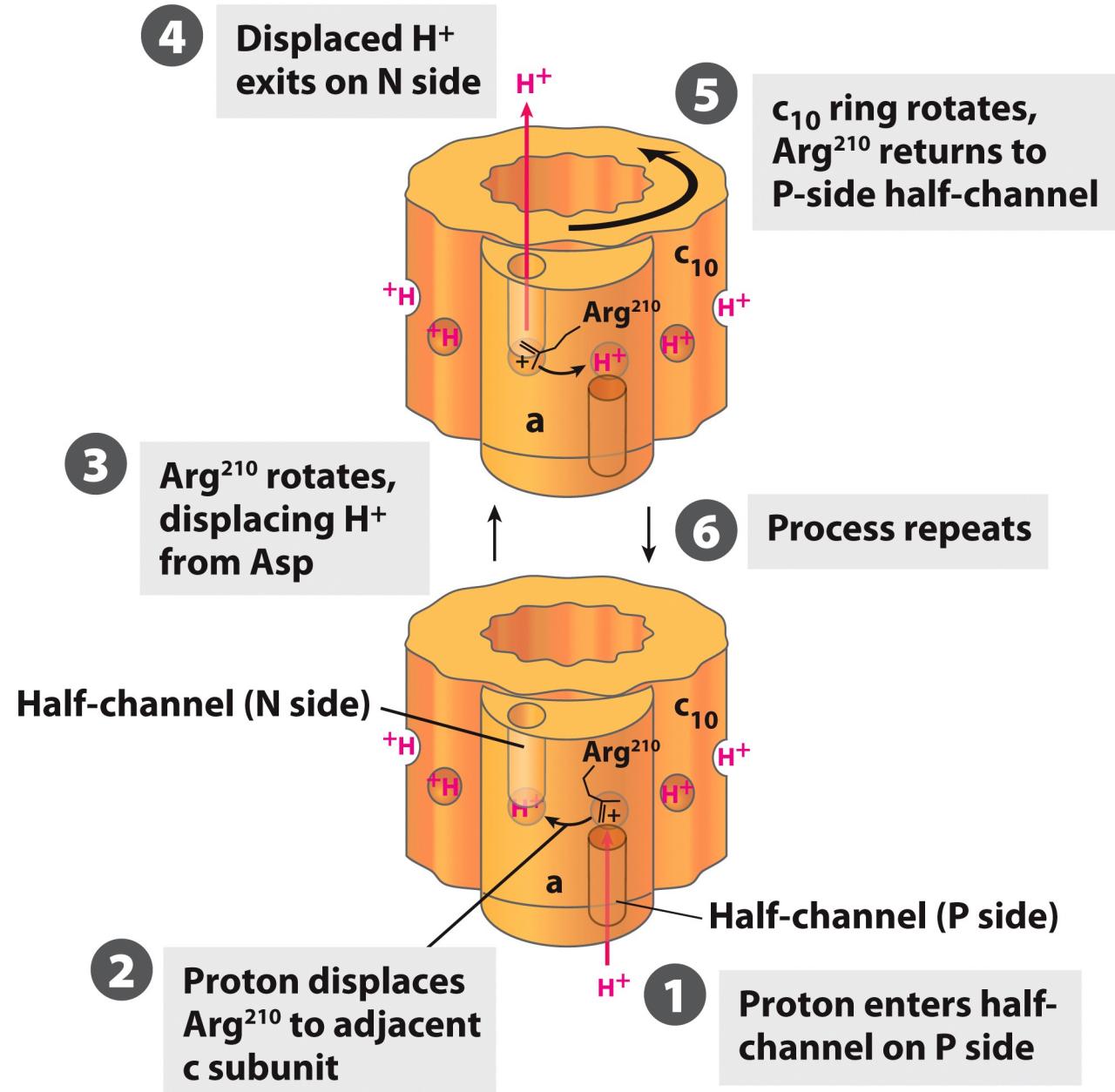


Figure 19-28

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

<http://www.youtube.com/watch?v=PjdPTY1wHdQ>

Inhibítory oxidačnej fosforylácie

- Rotenón – inhibuje komplex I
- Kyanid, azid, CO – inhibujú komplex IV; viažu sa k Fe^{3+} forme cytochrómu a_3
- Oligomycín a DCCD
(dicyklohexylkarbodiimid) – inhibítory ATP-syntázy

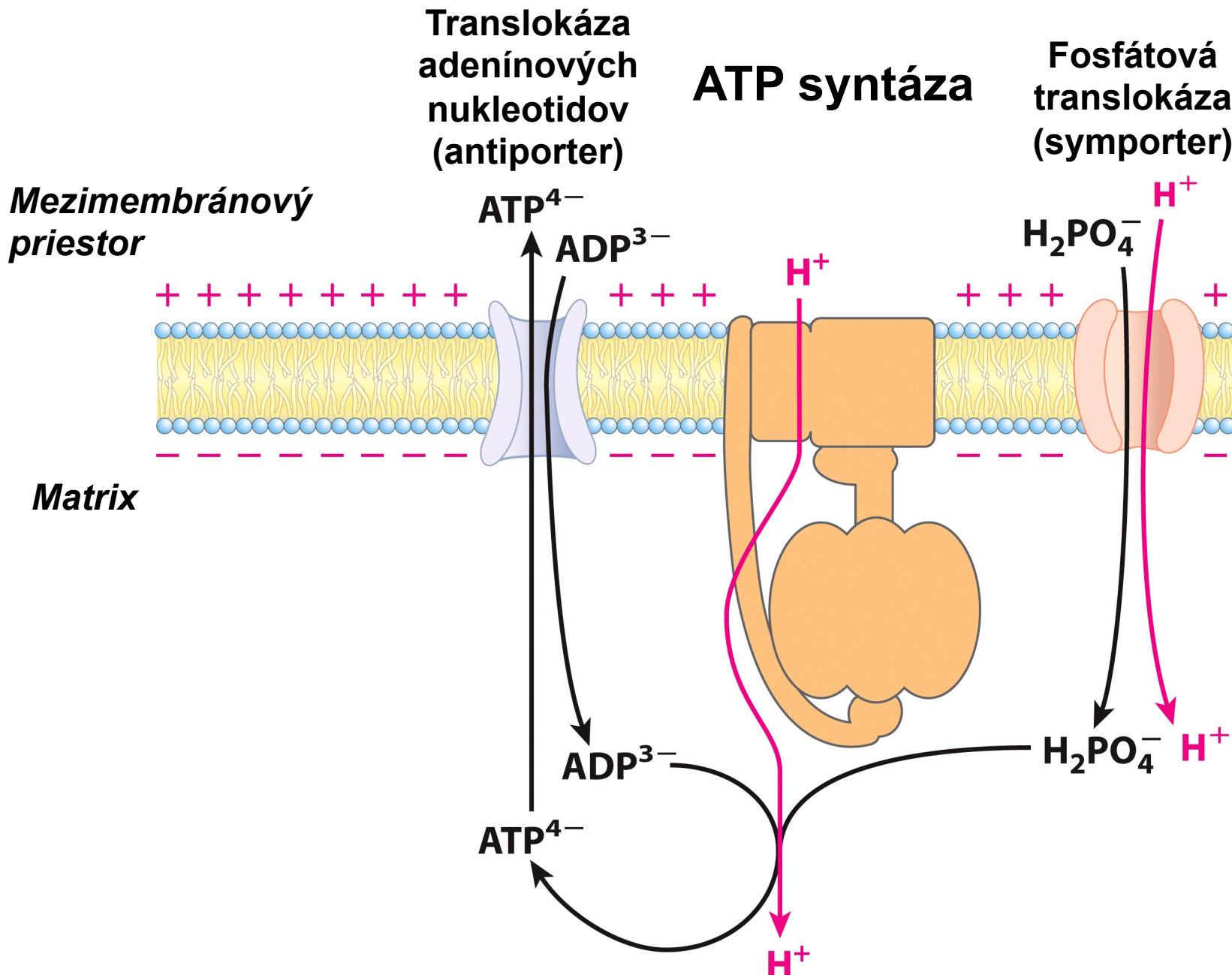


Figure 19-30

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
 © 2013 W. H. Freeman and Company

Koľko molekúl ATP vznikne pri prenose 1 páru elektrónov dýchacím reťazcom ? (Aký je P/O pomer?)

- Pri prenose 2 e⁻ z NADH dýchacím reťazcom na kyslík sa „prepumpuje“ 10 H⁺
- na vznik 1 ATP sa prenášajú späť do matrix 4H⁺
- $10/4 = 2,5$ molekúl ATP na pári e⁻ z NADH
- Pri prenose 2 e⁻ zo sukcinátu (FADH₂) sa „prepumpuje“ 6 H⁺
- $6/4 = 1,5$ molekúl ATP na pári e⁻ zo sukcinátu

(Stretnete sa aj s údajmi 3 ATP z NADH a 2 ATP z FADH₂)

Ako sa oxiduje NADH, ktoré vzniká v cytoplazme?

- Vnútorná mitochondriálna membrána je pre NADH nepriepustná!
- Transportné systémy pre elektróny z cytoplazmového NADH:
 - **Malát-aspartátový člnok** (v pečeni, v obličkách, v srdci) – využíva malát na transport e⁻ do matrix
 - **Glycerolfosfátový člnok** (vo svaloch a v mozgu) – glycerol-3-fosfát odovzdáva e⁻ FAD priamo v dýchacom reťazci

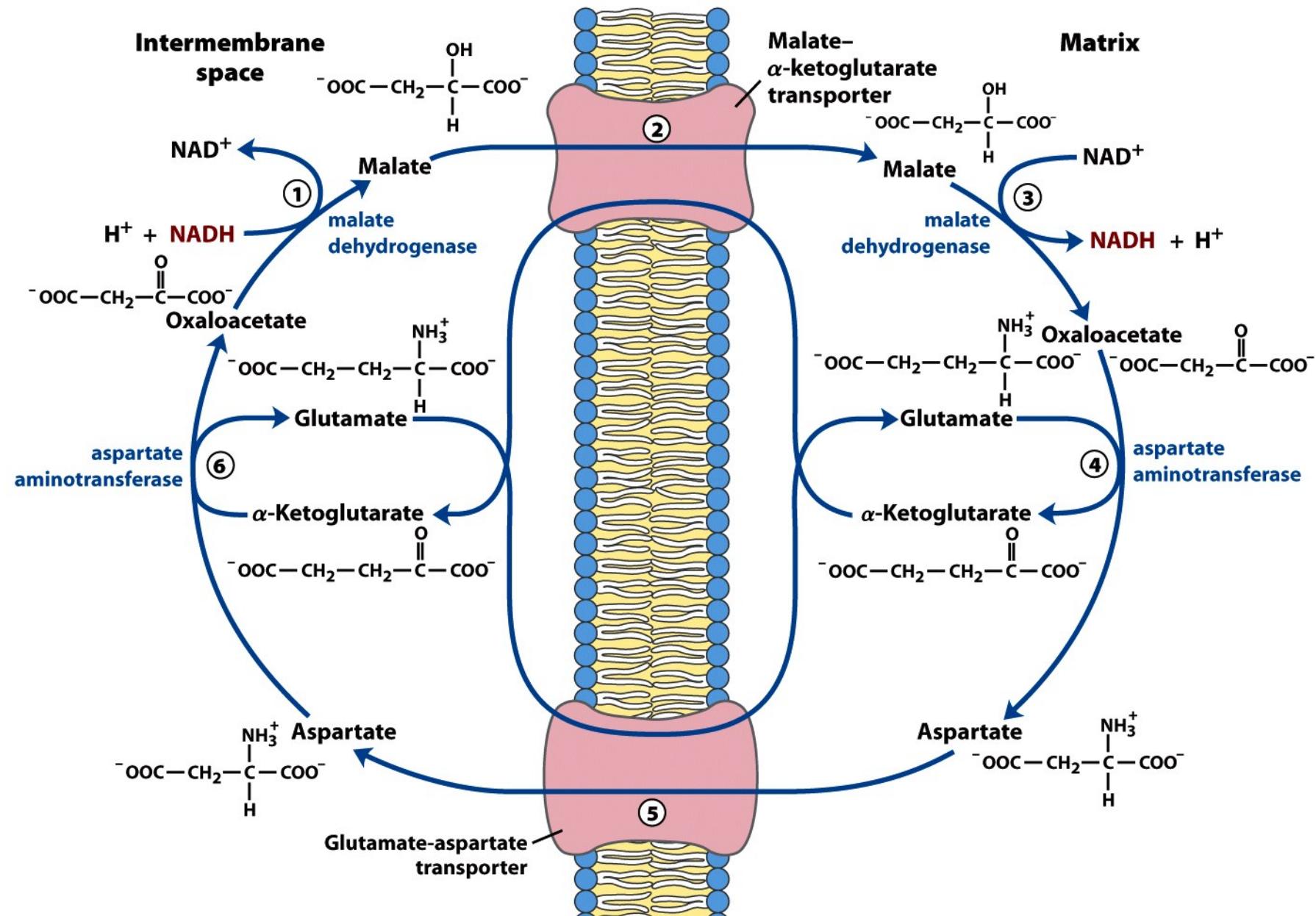


Figure 19-29

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

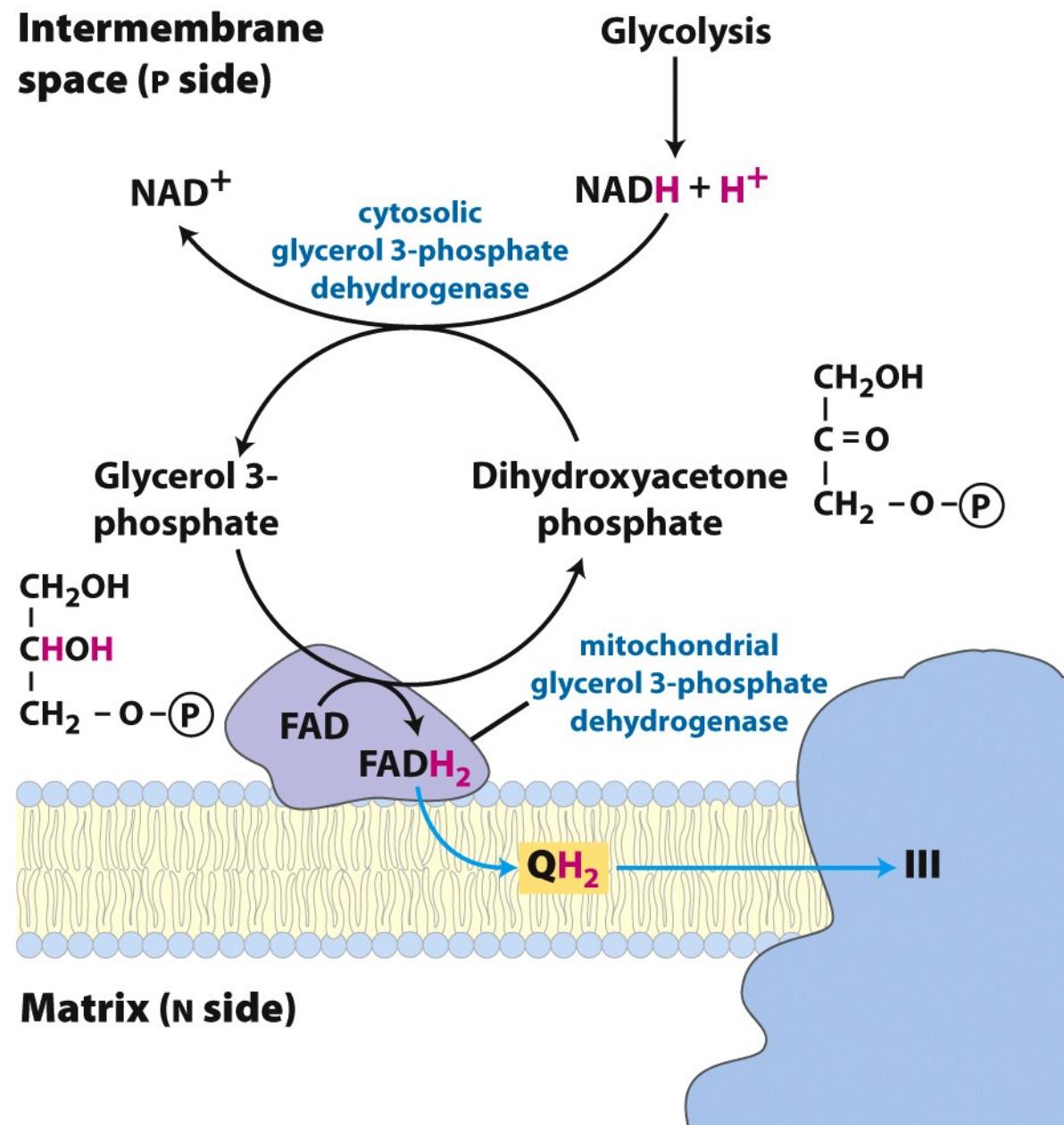


Figure 19-30
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

Výt'ažok ATP pri kompletnej oxidácii glukózy

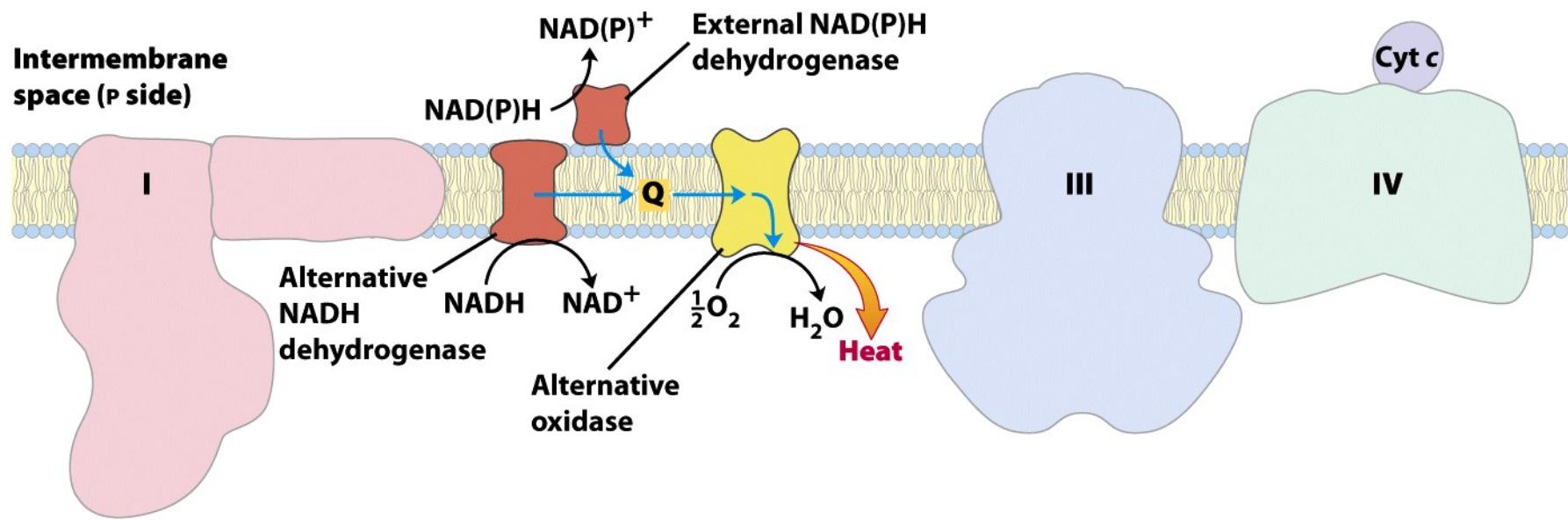
Proces	Priamy produkt	Počet molekúl ATP
Glykolýza	2 NADH (cyt.) 2 ATP	3 alebo 5 2
Oxidácia pyruvátu (2 na 1 glukózu)	2 NADH (mit.)	5
Oxidácia acetyl-CoA v citrátovom cykle (2 na 1 glukózu)	6 NADH (mit.) 2 FADH ₂ 2 ATP alebo 2 GTP	15 3 2
Celkový výt'ažok na molekulu glukózy		30 alebo 32



Box 19-1 figure 1

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company



Matrix (N side)

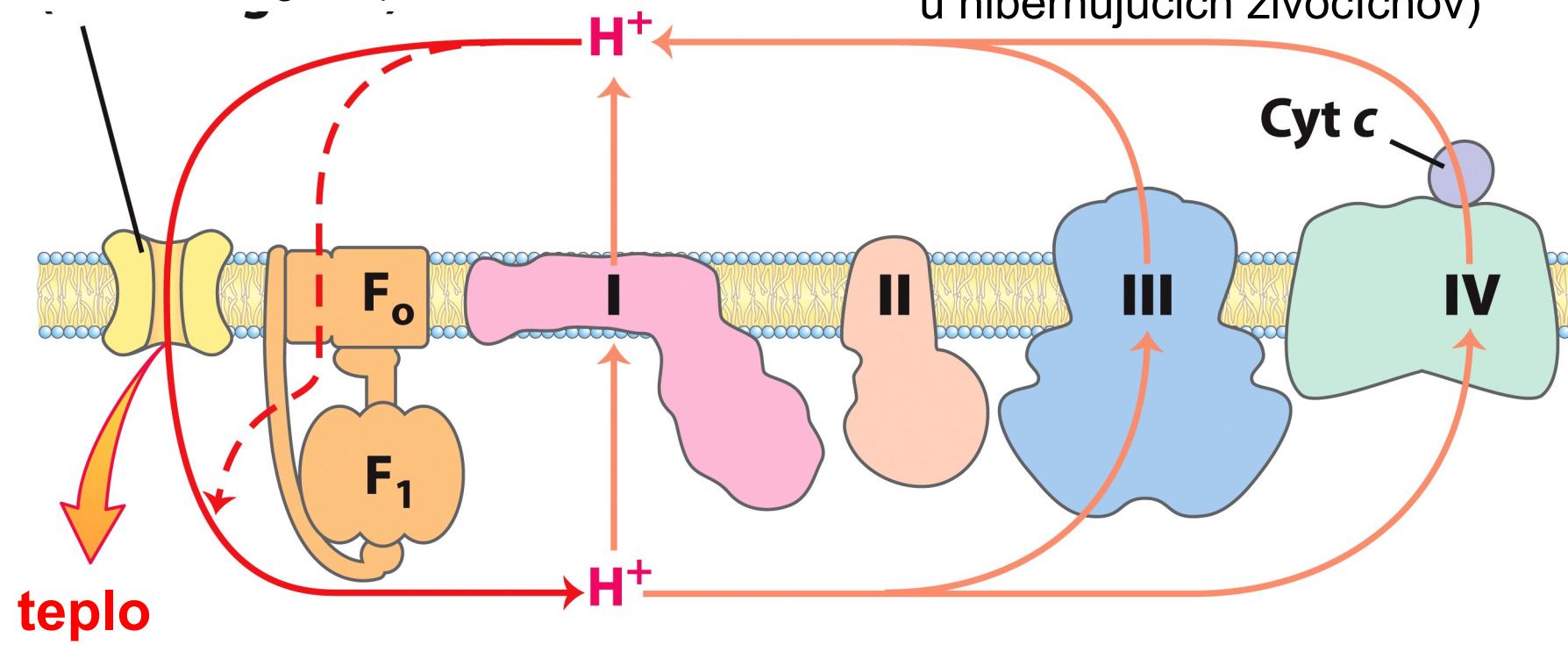
Box 19-1 figure 2

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Intermembrane space (P side)

Odpojovací proteín (uncoupling protein – UCP1, termogenín)



Matrix (N side)

Alternatívne využitie protónového gradientu

-termogenéza

(v hnedom tuku novonarodených cicavcov;
u hibernujúcich živočíchov)

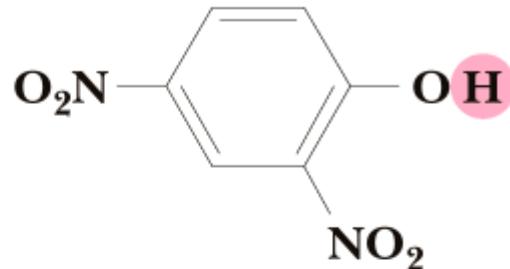
Figure 19-36

Lehninger Principles of Biochemistry, Sixth Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

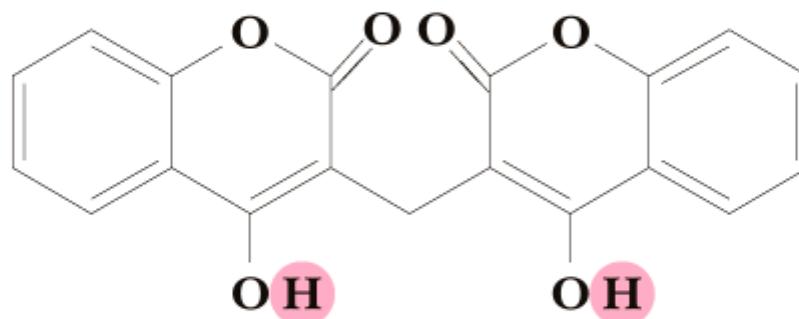
Odpojovače elektrónového transportu a oxidačnej fosforylácie

- prerušujú spriahnutie transportu e^- so vznikom ATP disipáciou protónového gradientu
- sú to hydrofóbne molekuly s disociovatelným protónom
- prenášajú protóny cez membránu

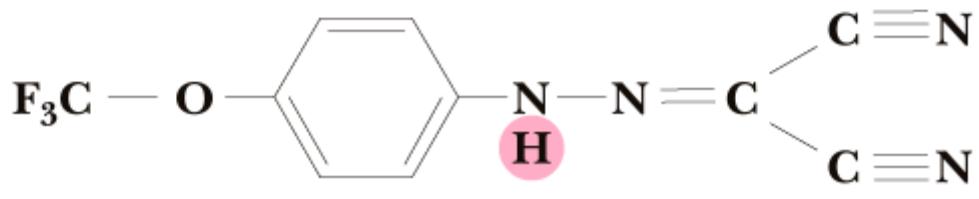
Dinitrophenol



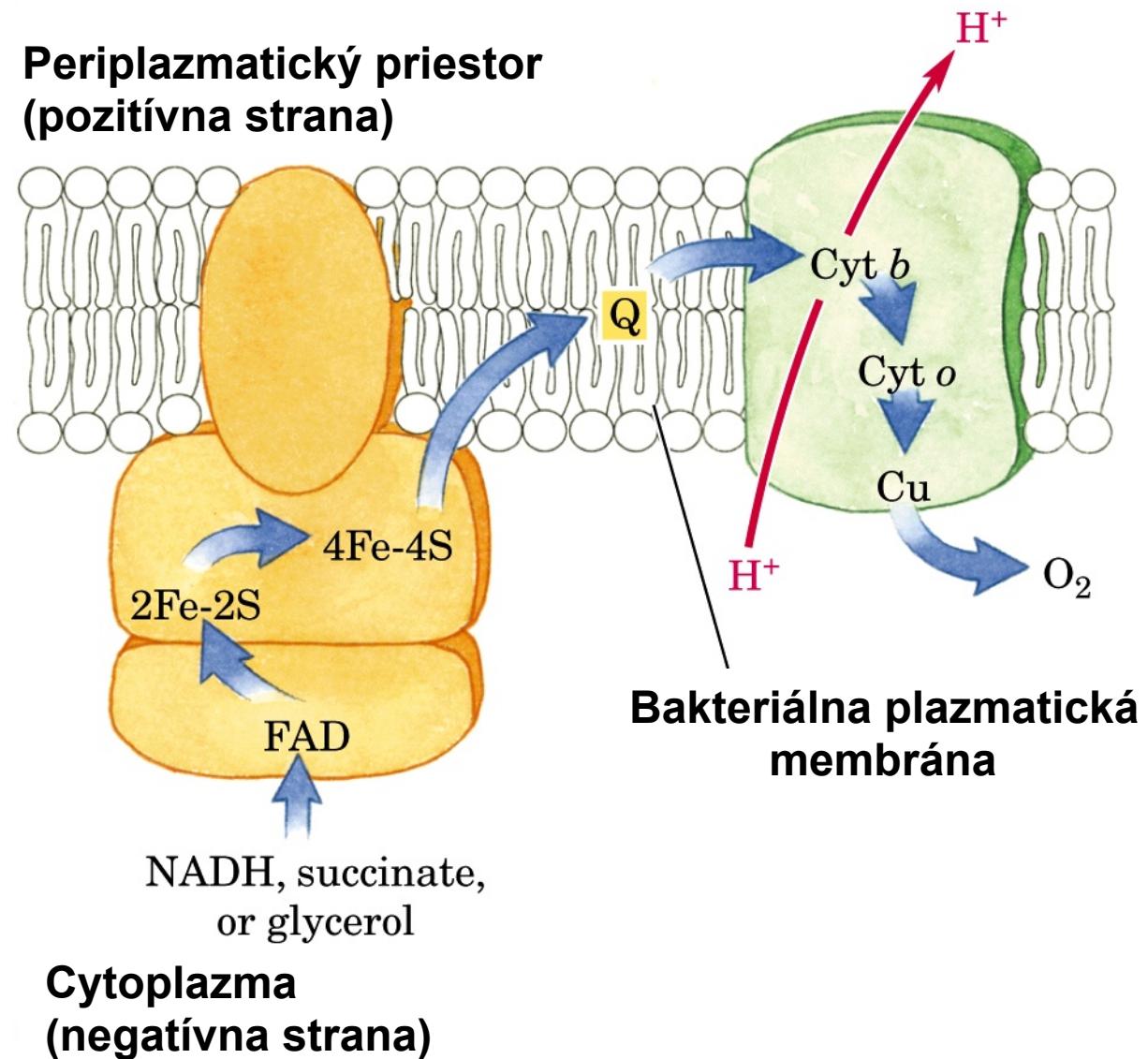
Dicumarol



Carbonyl cyanide-p-trifluoro-methoxyphenyl hydrazone
—best known as FCCP; for Fluoro Carbonyl Cyanide Phenylhydrazone



Bakteriálny dýchací ret'azec



Využitie protónmotívnej sily na flagelárnu rotáciu

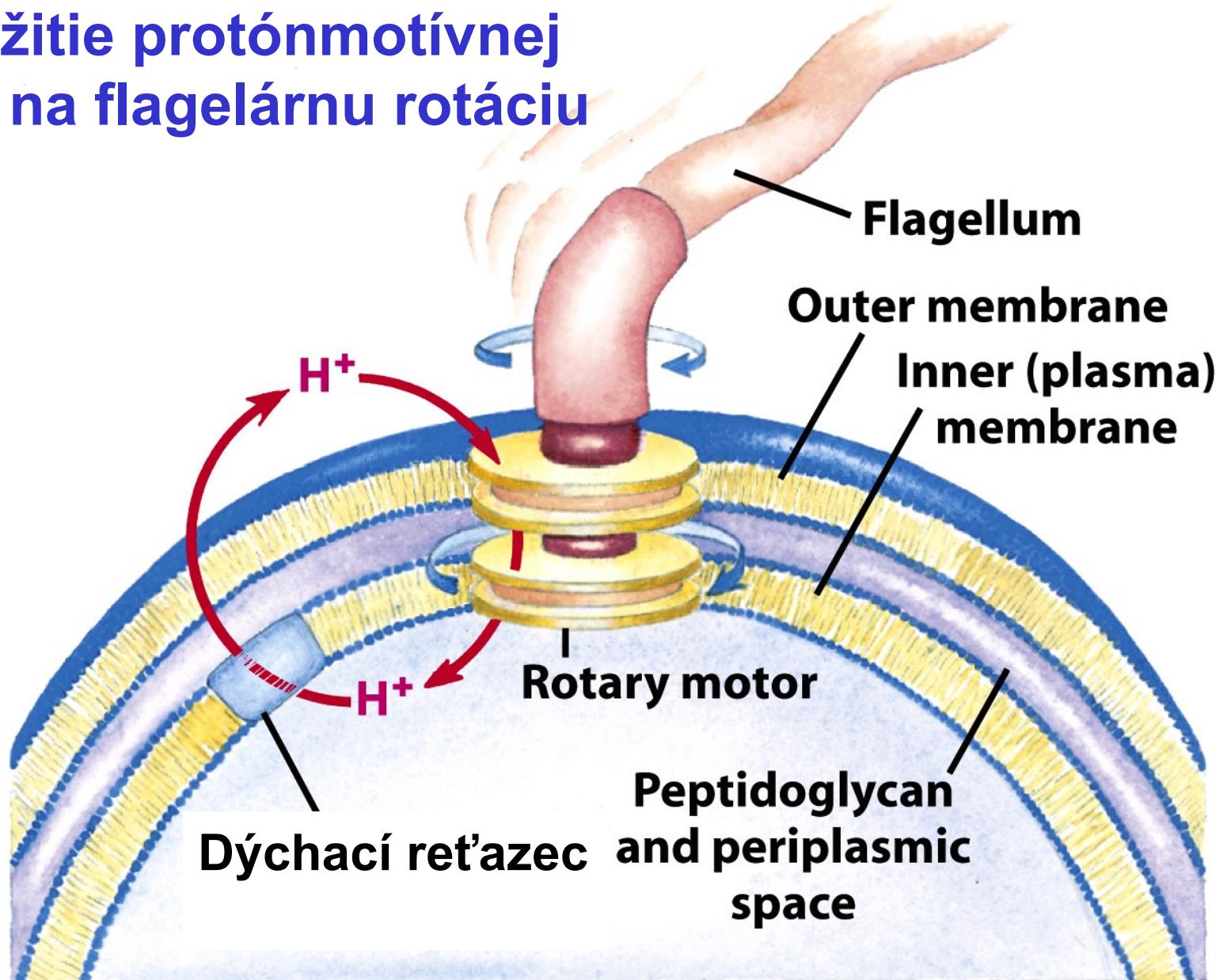


Figure 19-39

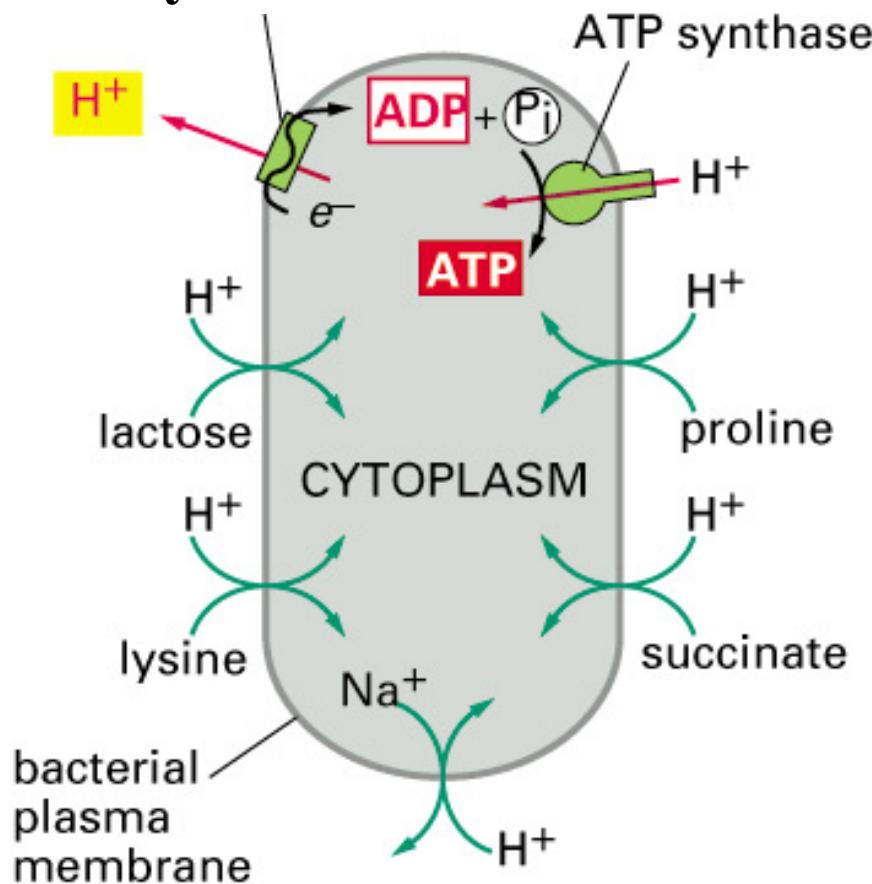
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Využitie protónmotívnej sily na transport živín

(A) AEROBIC CONDITIONS

dýchací reťazec



(B) ANAEROBIC CONDITIONS

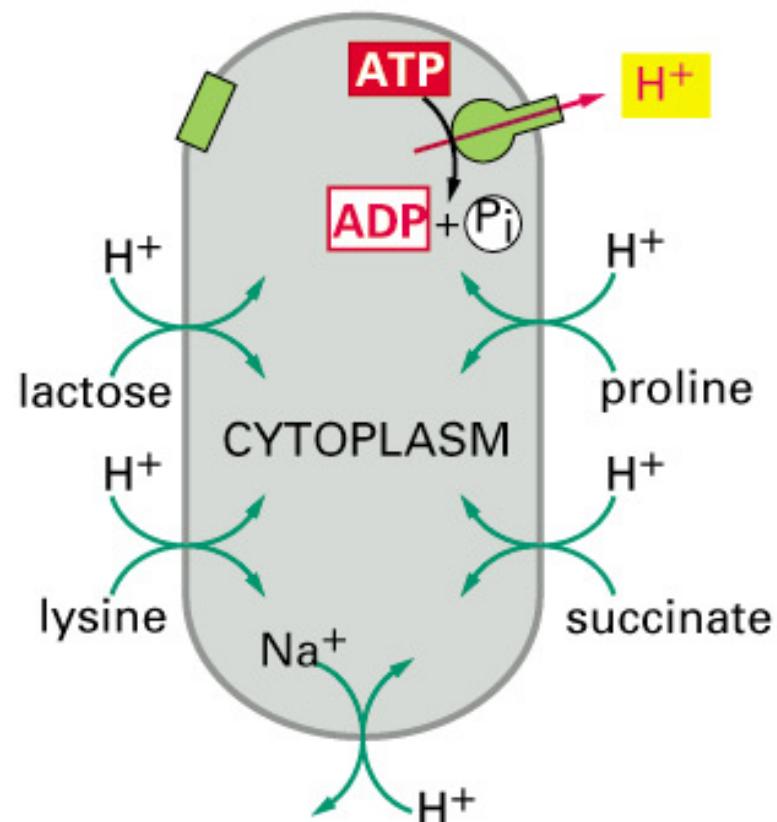


Figure 14–32. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.