

Předmět:
KBB/BB1P; KBB/BUBIO

Energie z mitochondrií a chloroplastů

Cíl přednášky: seznámit posluchače se základními principy získávání energie v mitochondriích a chloroplastech

Klíčová slova: mitochondrie, chloroplast, protonový gradient, redoxní potenciál, fotosyntéza

Obrázky v následující prezentaci jsou převzaty z níže uvedené knihy výlučně k výukovým účelům.

The illustrations in following lecture are taken from Alberts et al. *Molecular Biology of the Cell*, 5th Edition (Garland Science 2008) only and exclusively for the educational purposes.

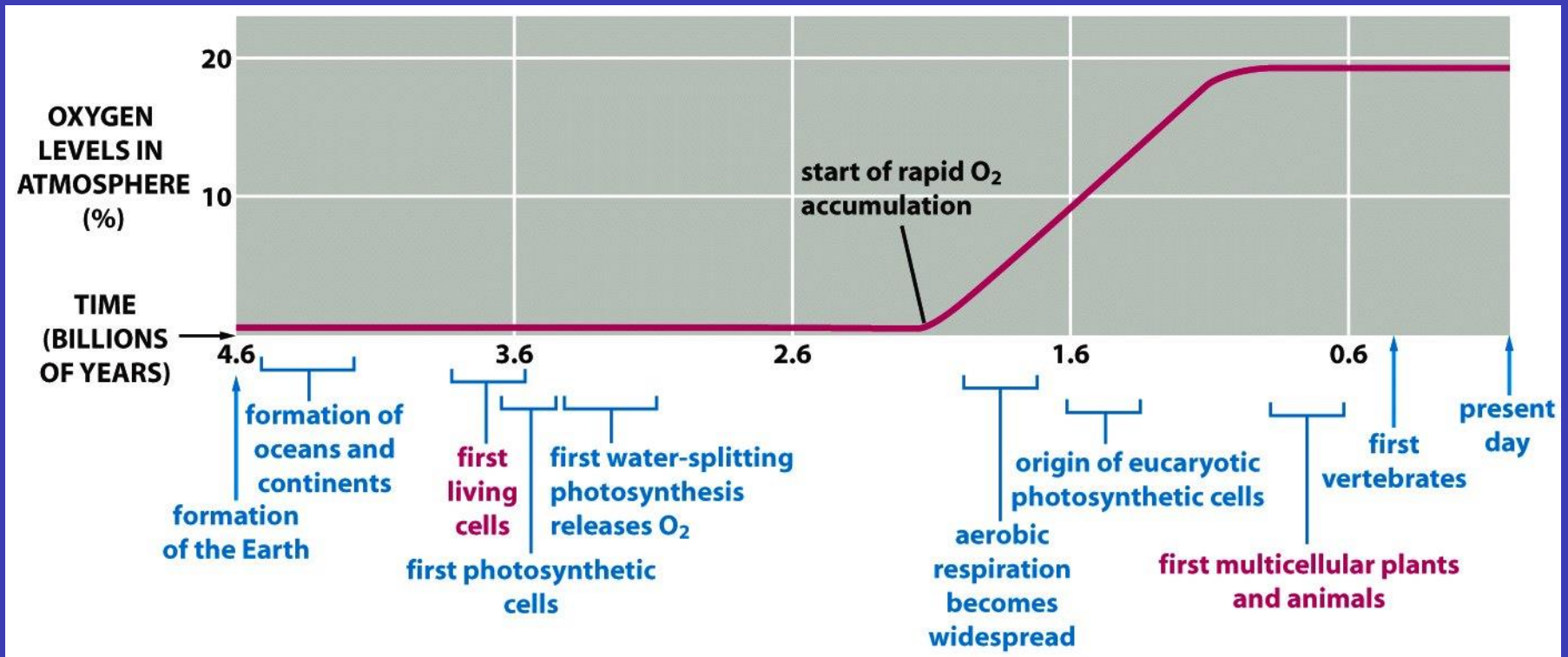
Alberts • Johnson • Lewis • Raff • Roberts •
Walter
Molecular Biology of the Cell
Fifth Edition

Copyright © Garland Science 2008

Geologická perspektiva

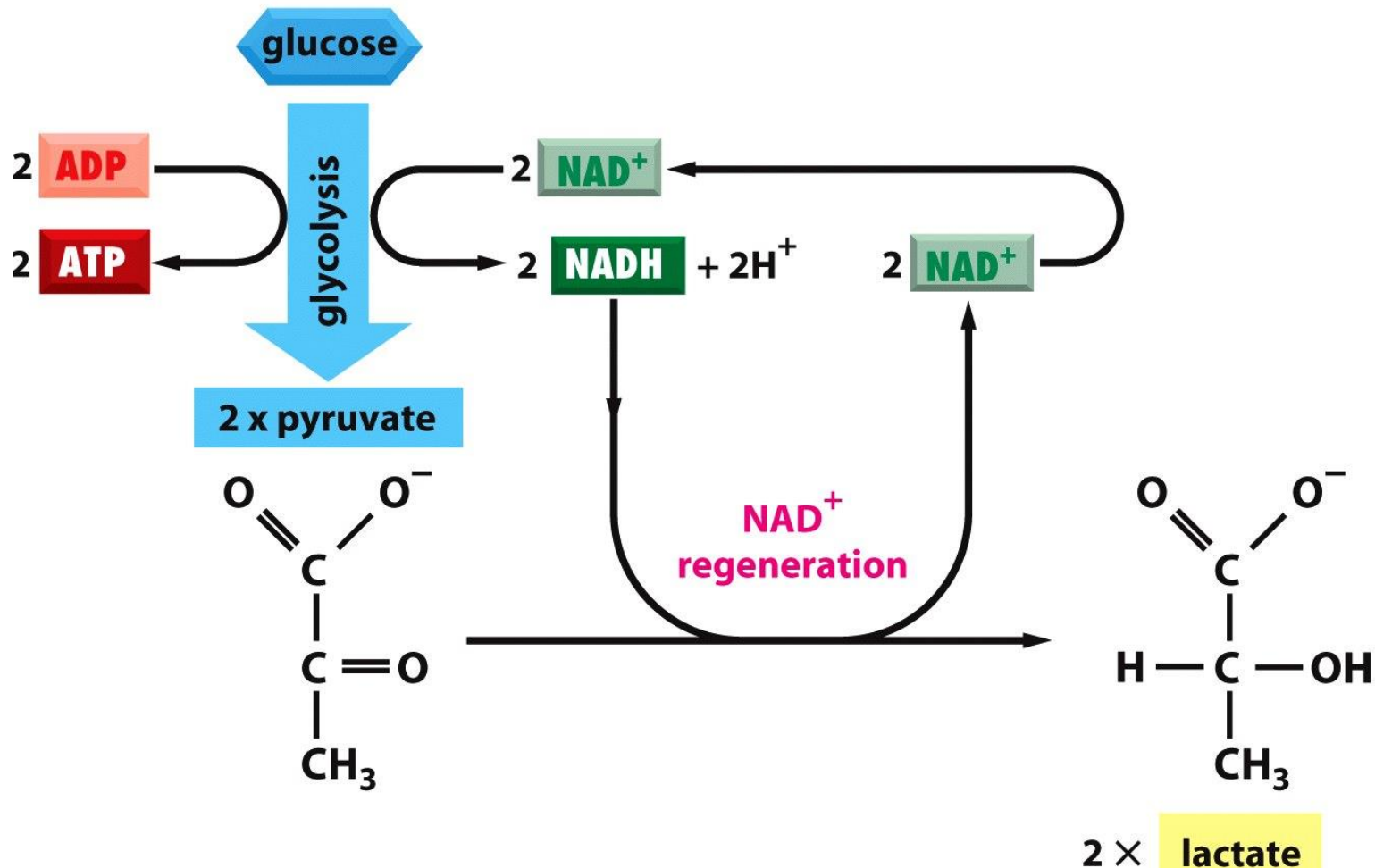
- v době počátků života na Zemi nebyl v atmosféře žádný kyslík, proto první živé organismy získávaly energii **anaerobně** (např. dodnes fungující mechanismus **fermentace**)
- asi před 3,5 miliardami let ovšem už existovaly **první fotosyntetické organismy**, které **produkovaly kyslík** a postupně (během dalších dvou miliard let) změnily složení atmosféry
- přítomnost kyslíku v atmosféře umožnila **dýchání**, čili **aerobní uvolňování energie** „spalováním“ organických látek za vzniku vody a oxidu uhličitého – dýchání je charakteristické pro všechny vyšší formy života

- fotosyntéza a dýchání jsou založeny na využití **transportu elektronů v membránách**

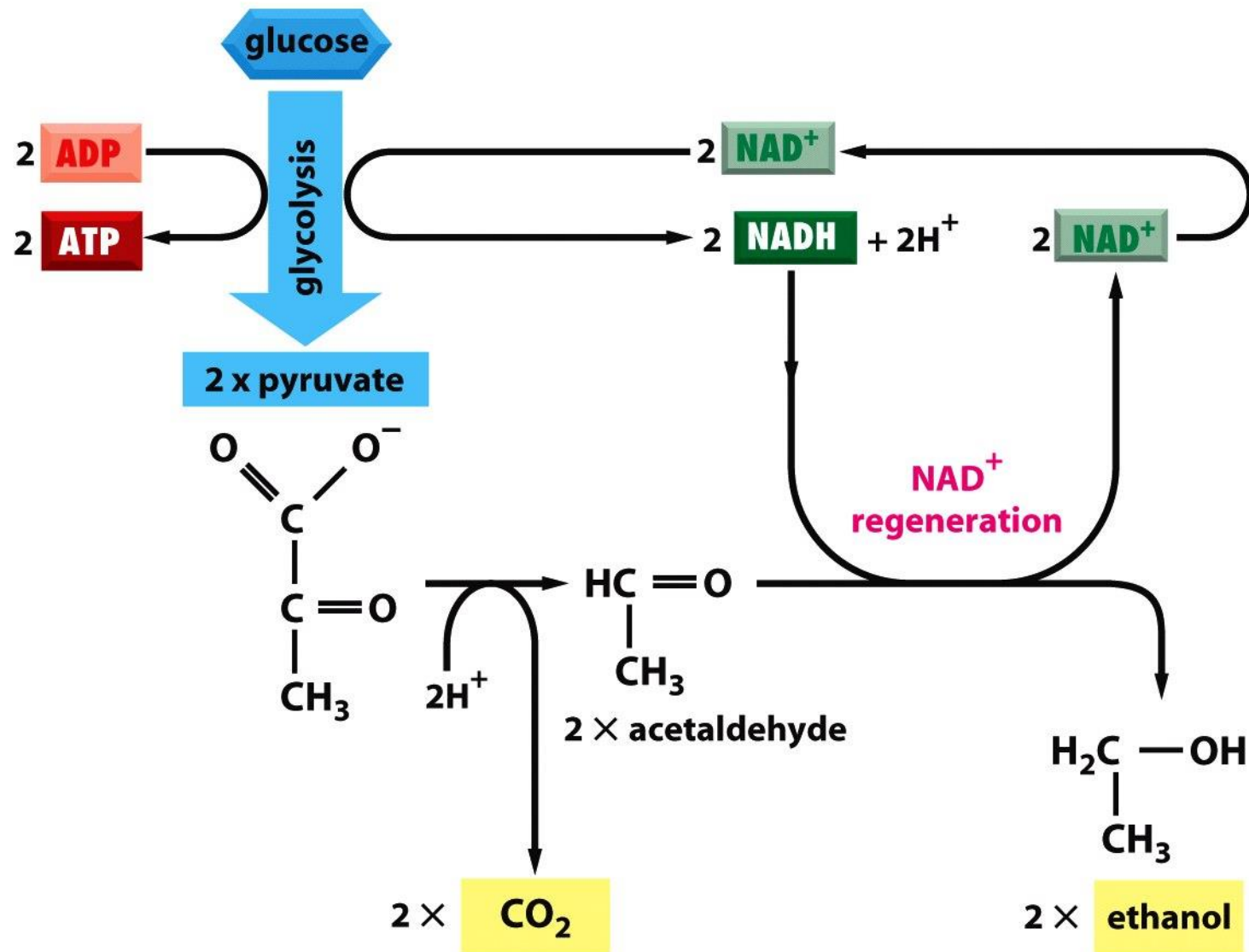


Fermentace (kvašení)

FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF LACTATE



FERMENTATION LEADING TO EXCRETION OF ALCOHOL AND CO₂



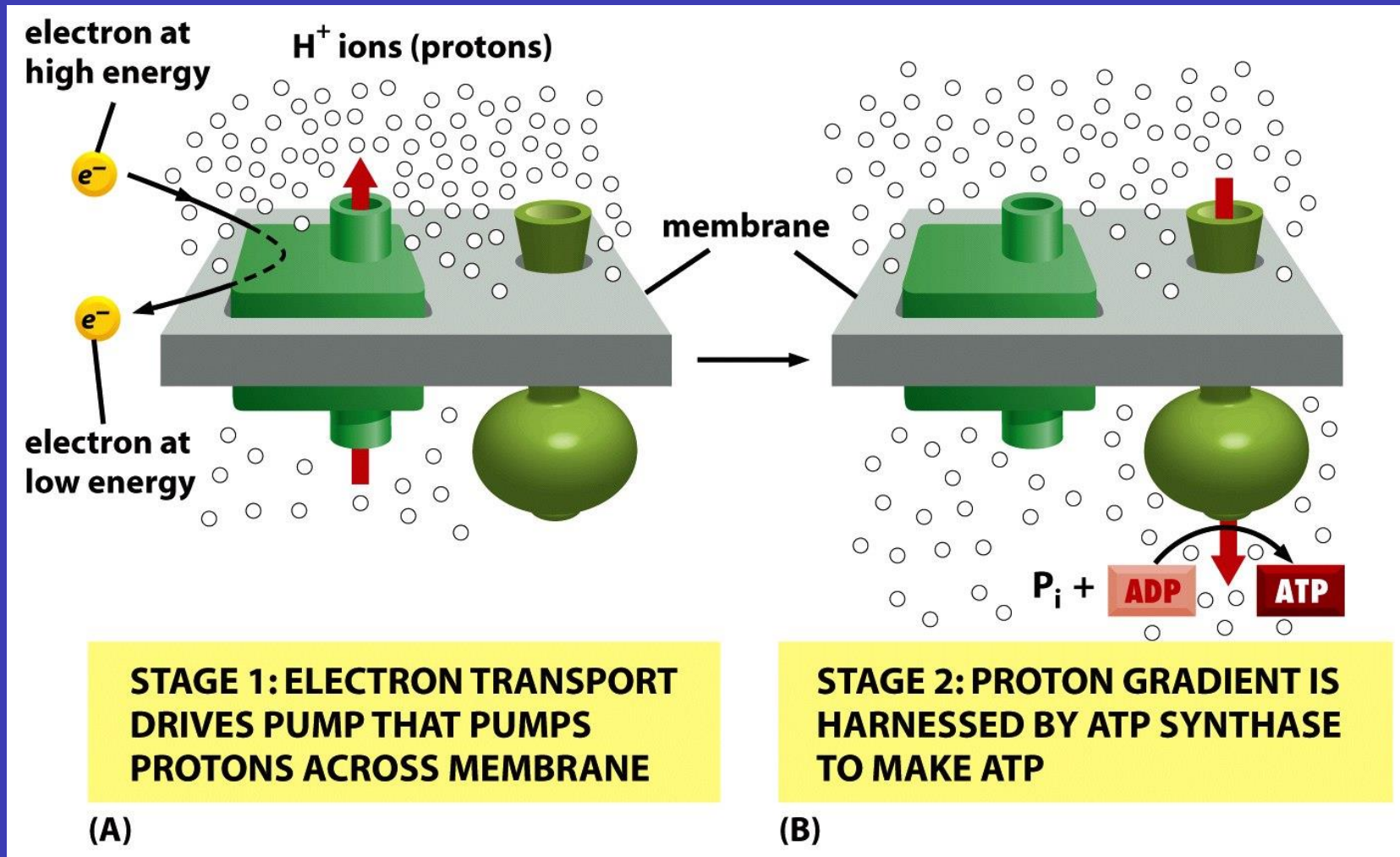
Chemiosmotické spřažení

- jak víme, **malé množství ATP** se v běžné buňce tvoří při **glykolýze** v cytosolu, **většina ATP** se ale tvoří na **membránách mitochondrií a chloroplastů**, a to ve dvou fázích:

1. fáze: elektrony (pocházející z oxidace molekul potravy či odjinud) jsou přenášeny řadou **přenašečů elektronů**, která je zanořená v membráně – tak se získá energie, jež je využita pro **transport protonů (H^+ iontů) přes membránu** – vzniká tak **elektrochemický gradient protonů**

2. fáze: protony posléze proudí zpět **ve směru gradientu** (čili samovolně) dovnitř přes membránu, pohánějí enzym **ATP-syntázu**, který převádí **ADP na ATP**

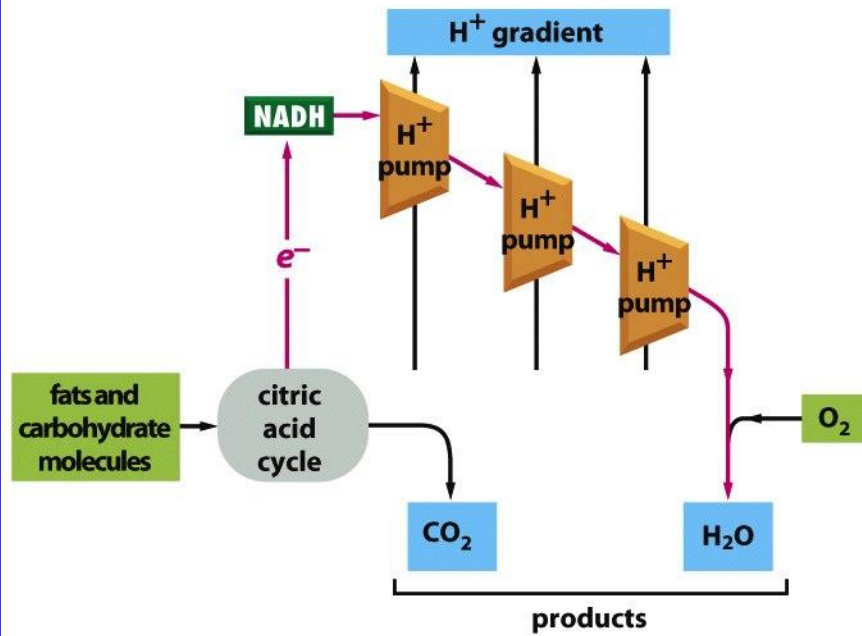
- spojení těchto dvou fází se nazývá **chemiosmotické spřažení** (Mitchell – Nobelova cena 1978)



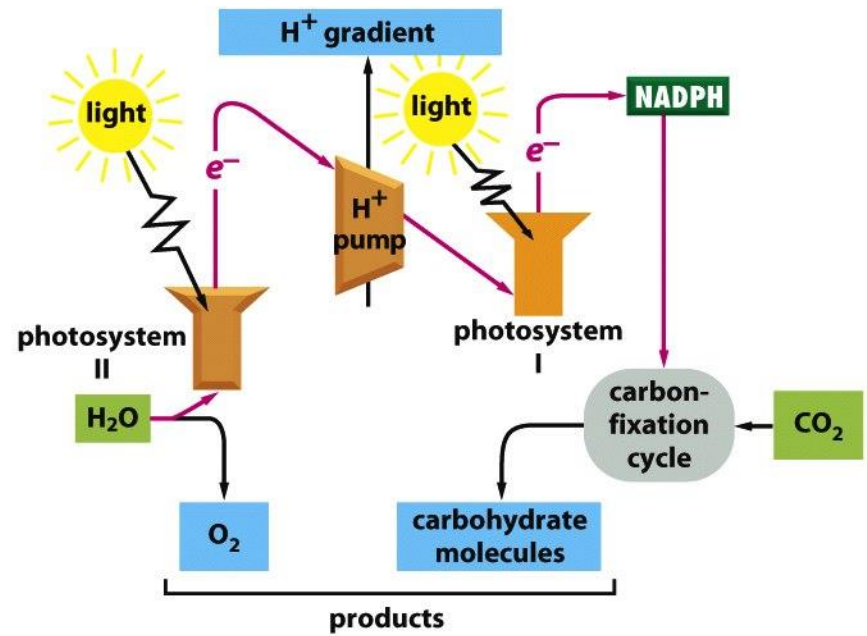
Původ chemiosmotického spřažení

- chemiosmotické spřažení se nejprve vyvinulo u bakterií a sinic, teprve **pohlcením bakterií a sinic** vznikly **mitochondrie a chloroplasty** v eukaryotní buňce
- **u dýchání vysokoenergetické elektrony** pocházejí z oxidace glukózy nebo mastných kyselin (tedy **z potravy**) a konečným příjemcem elektronů je kyslík (za vzniku vody)
- **některé bakterie** jsou schopny vysokoenergetické elektrony získávat z **anorganických látek** (např. sirné bakterie)
- **u fotosyntézy** jsou vysokoenergetické elektrony získány při **působení světla** na molekulu **chlorofylu** (dojde k rozkladu vody na kyslík, protony a elektrony – elektrony přeberou energii světla a stanou se vysokoenergetickými)

(A) MITOCHONDRION

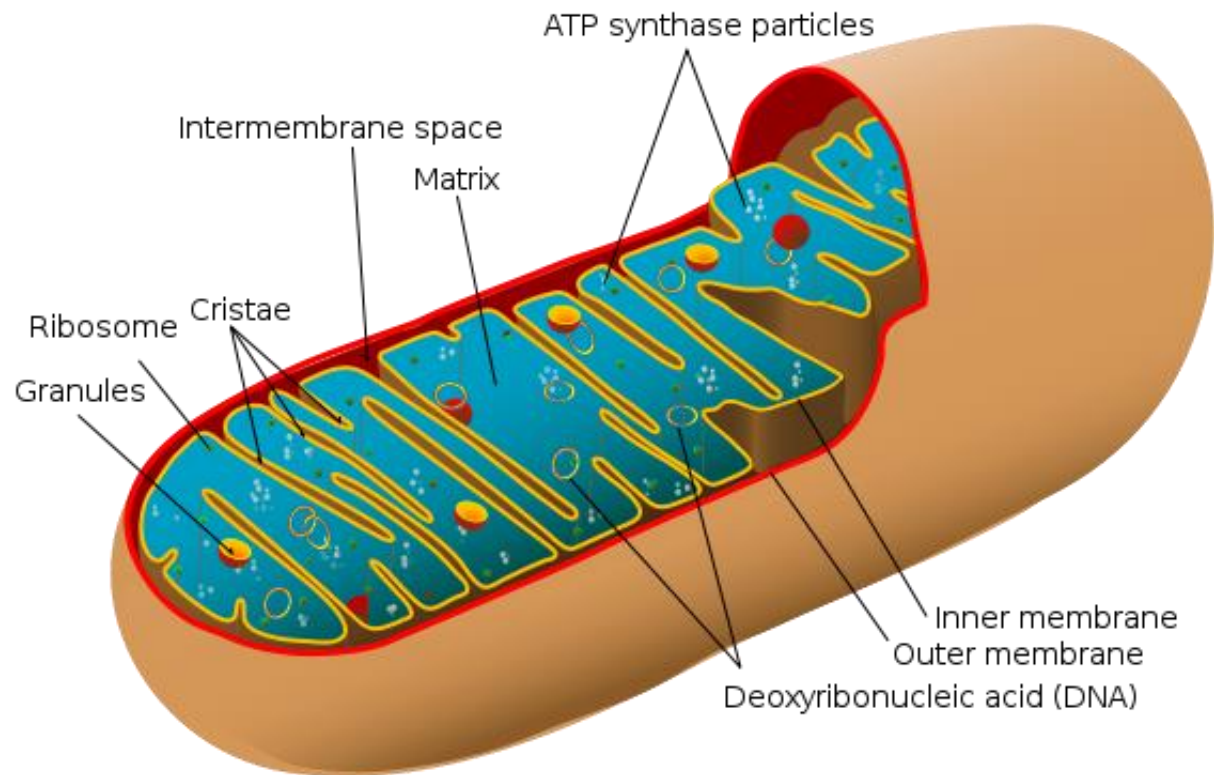


(B) CHLOROPLAST

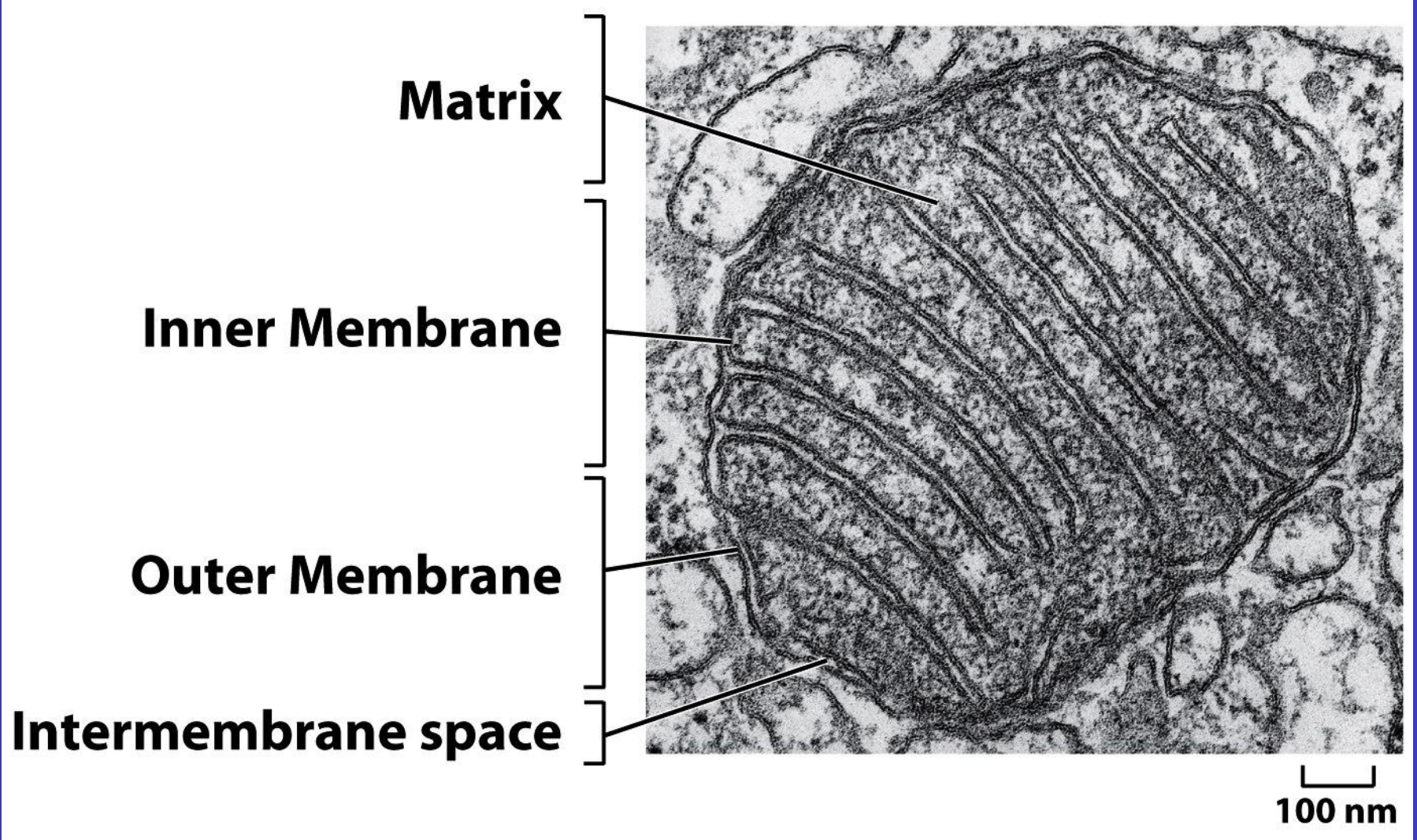


Mitochondrie

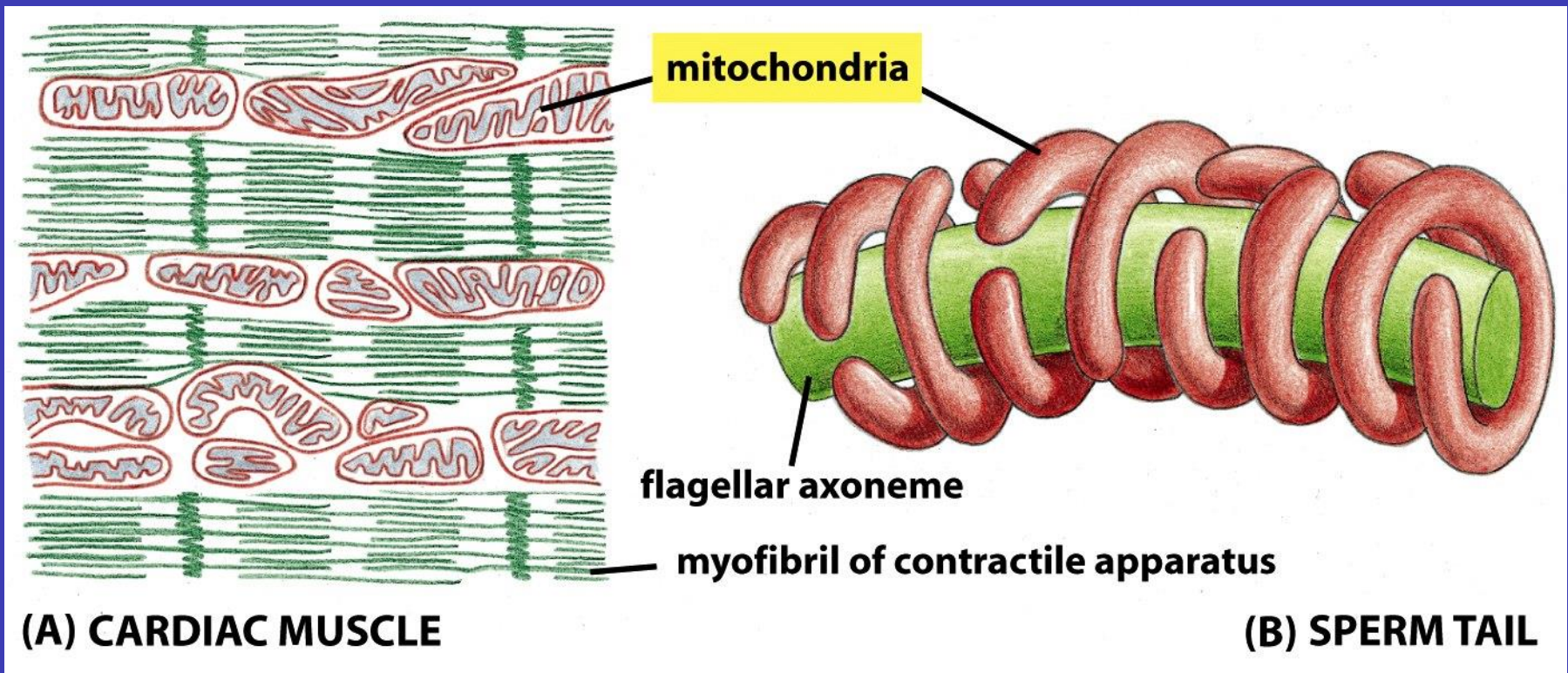
- mitochondrie obsahují **svou vlastní DNA, RNA** a také **ribozomy** a obecně se podobají bakteriím – provádějí svou vlastní transkripci a translaci (**semiautonomní organely**)
- mitochondrie má **dvě membrány – vnější a vnitřní**, prostor obklopený vnitřní membránou je tzv. **matrix**, prostor mezi membránami je **mezimembránový prostor** – každá z těchto částí mitochondrie obsahuje jedinečnou sbírku proteinů
- vnitřní membrána tvoří řadu záhybů, známých jako **kristy**, které zasahují do prostoru matrix a značně **zvětšují povrch vnitřní membrány**



Wikipedie



- v některých buňkách jsou mitochondrie přítomny ve velkém množství, rychle se pohybují a mění tvar, v jiných buňkách jsou pevně vázány v jednom místě, aby dodávaly ATP do míst vysoké spotřeby (např. srdeční sval nebo bičík spermie)

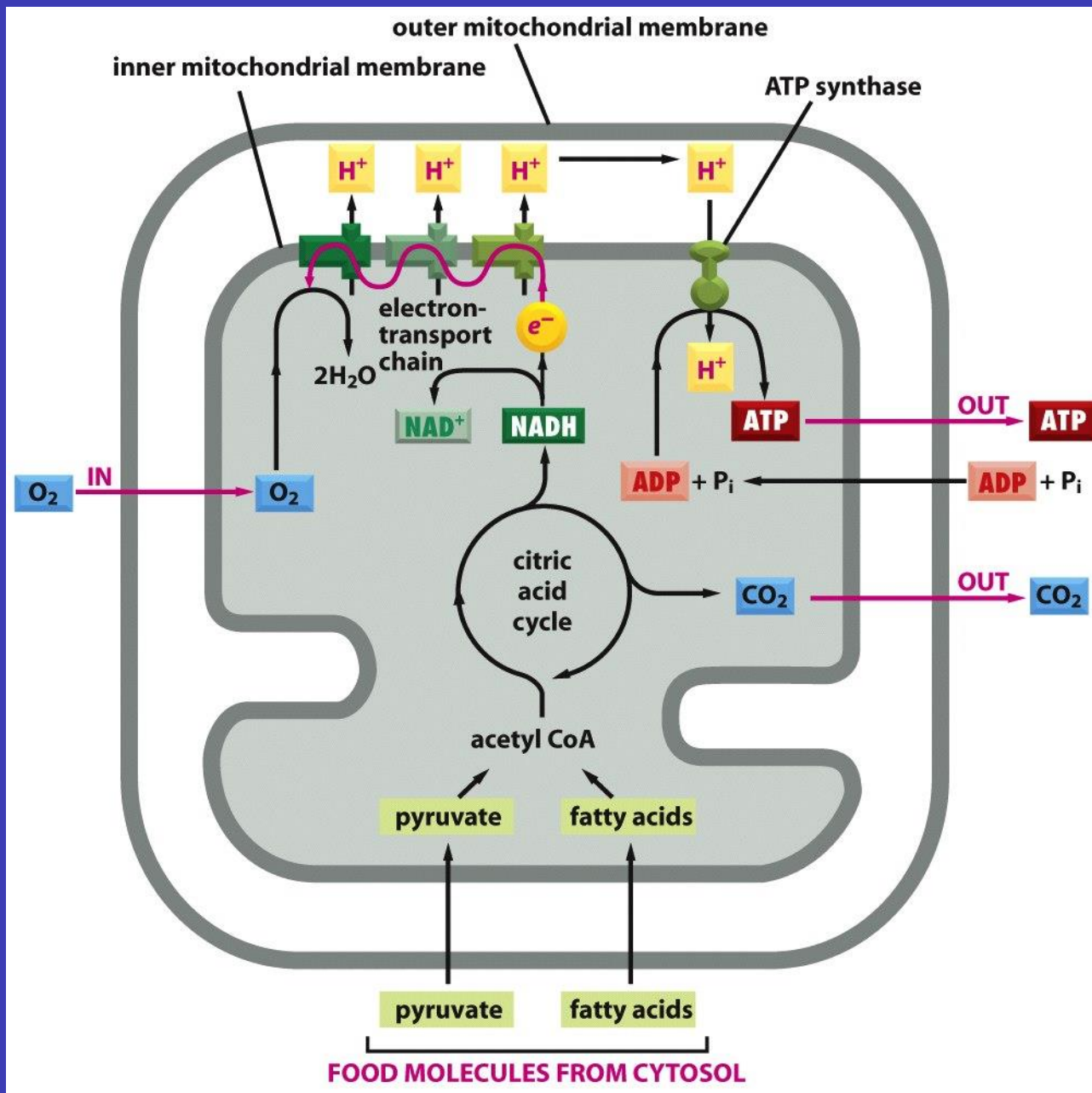


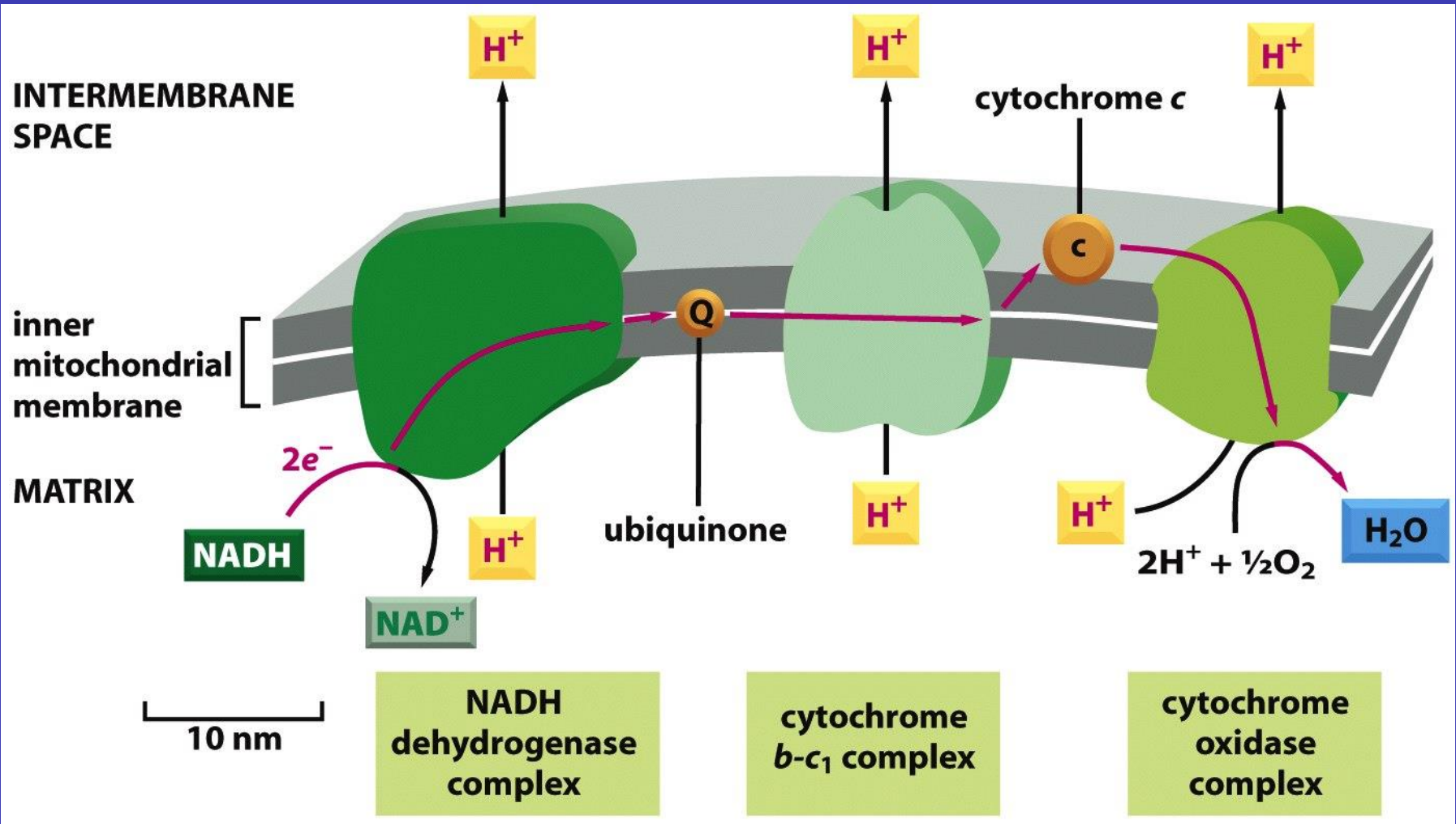
Funkční struktura mitochondrie

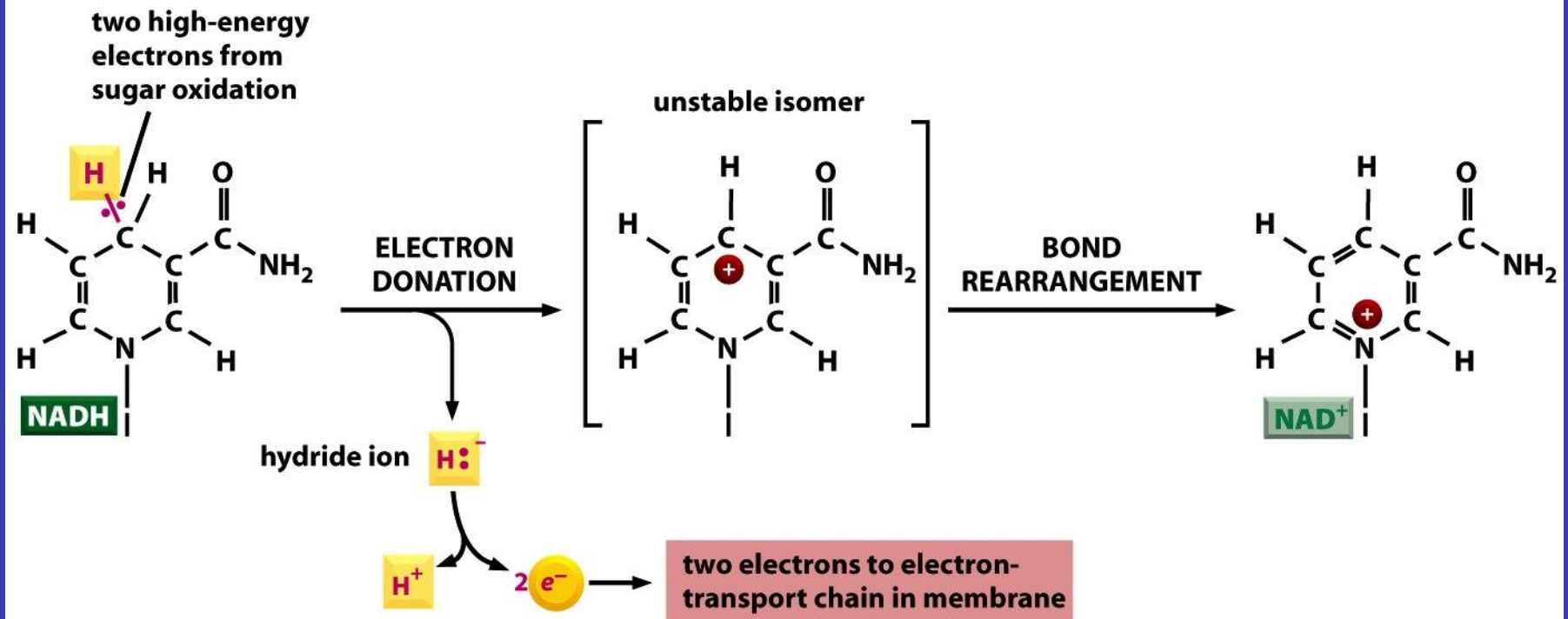
- **vnější membrána** obsahuje molekuly transportního proteinu **porinu**, který tvoří **vodné kanály** dvojnou vrstvou lipidů. Vnější membrána je tedy **propustná** jako síto pro všechny malé molekuly – to činí mezimembránový prostor **chemicky ekvivalentním cytosolu**
- **vnitřní membrána** je naopak **nepropustná** pro ionty a většinu malých molekul – tato membrána je místem přenosu elektronů a H^+ a obsahuje **enzymy elektrontransportního řetězce, ATP-syntázu a transportní proteiny** umožňující vstup a výstup metabolitů z/do matrix
- **matrix** – enzymy účastnící se **oxidace pyruvátu a mastných kyselin**, enzymy **citrátového cyklu**, DNA, RNA, ribozomy

Přenos elektronů ve vnitřní membráně

- trávení → glykolýza/ β oxidace mastných kyselin (tvorba acetyl-CoA) → citrátový cyklus (opakování!)
- citrátový cyklus produkuje kromě odpadního CO_2 také **vysokoenergetické elektrony na NADH a FADH_2** a ty jsou potom přenášeny na vnitřní membránu, kde vstupují do **elektrotransportního řetězce (dýchací řetězec)**
- ten zajišťuje oxidativní fosforylaci a obsahuje více než 40 proteinů, z nichž 15 je přímo zapojeno do přenosu elektronů. Je složen ze 3 enzymových komplexů:
 - 1. NADH-dehydrogenázový komplex**
 - 2. komplex cytochromů b- c_1**
 - 3. cytochromoxidázový komplex**



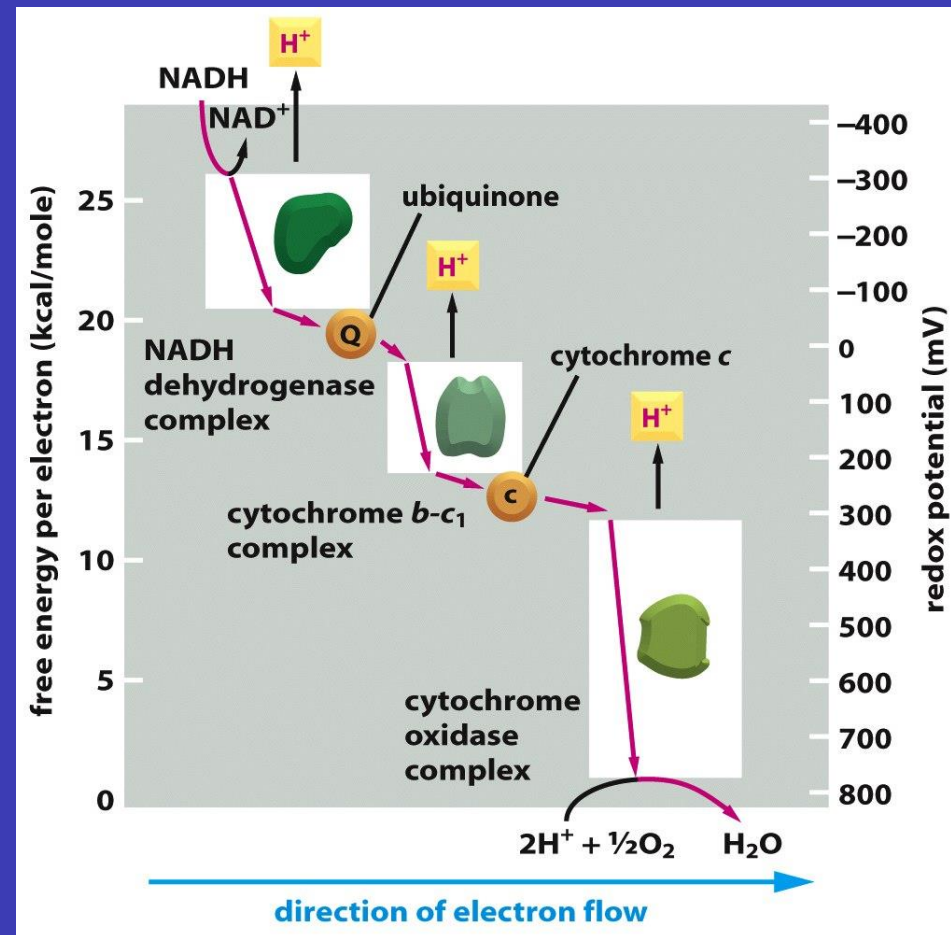




Elektrontransportní řetězec

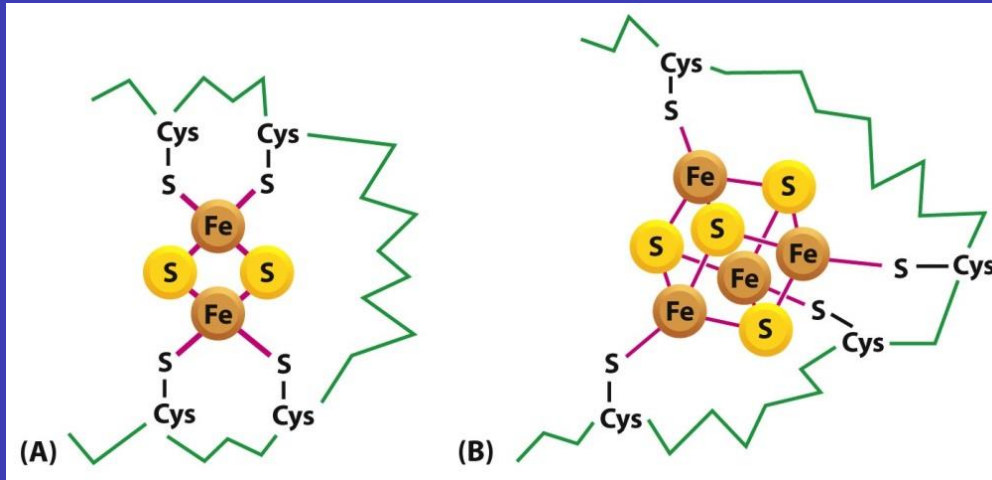
- přenos elektronů v elektrontransportním řetězci probíhá na základě rozdílných hodnot **redoxního potenciálu** jednotlivých molekul (tendence molekul přijímat elektrony)

Elektrony přitom přecházejí z molekul s **nižším redoxním potenciálem** na ty s **vyšším redoxním potenciálem**

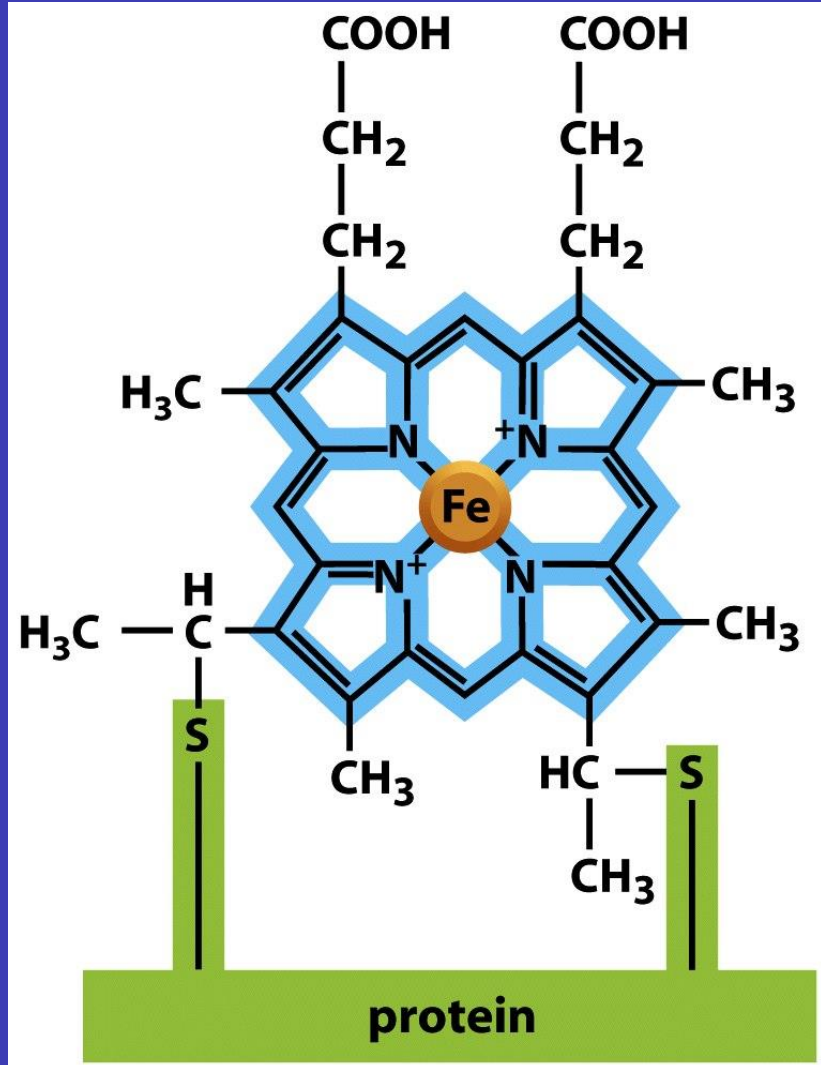


- **NADH-dehydrogenáza** obsahuje několik **Fe-S-center**, která si „předávají“ elektrony až na další molekulu **ubichinon**
- další část řetězce je tvořena **cytochromy** – obsahují atomy železa vázané v **hemových skupinách** a mají vyšší afinitu k elektronům (vyšší redoxní potenciál) než ubichinon
- také **cytochromoxidázy** jsou tvořeny **hemovými skupinami**, v nichž je vázáno buď železo nebo měď

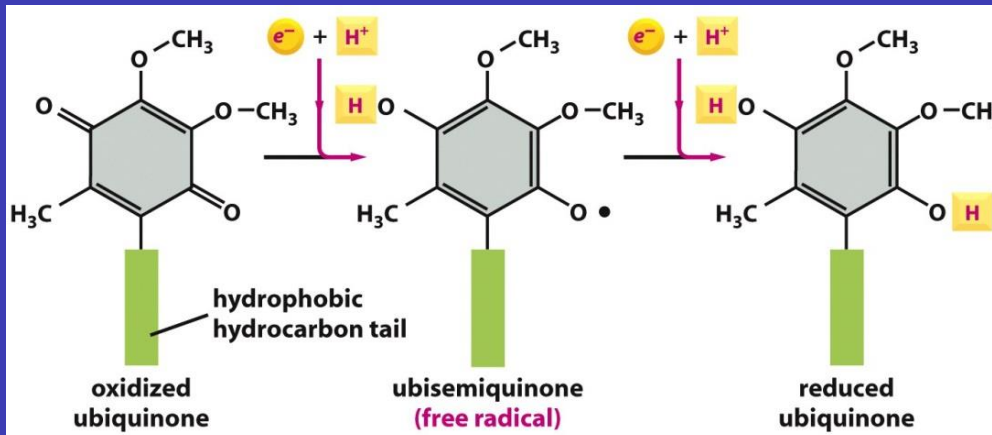
Fe-S centra



hemová skupina

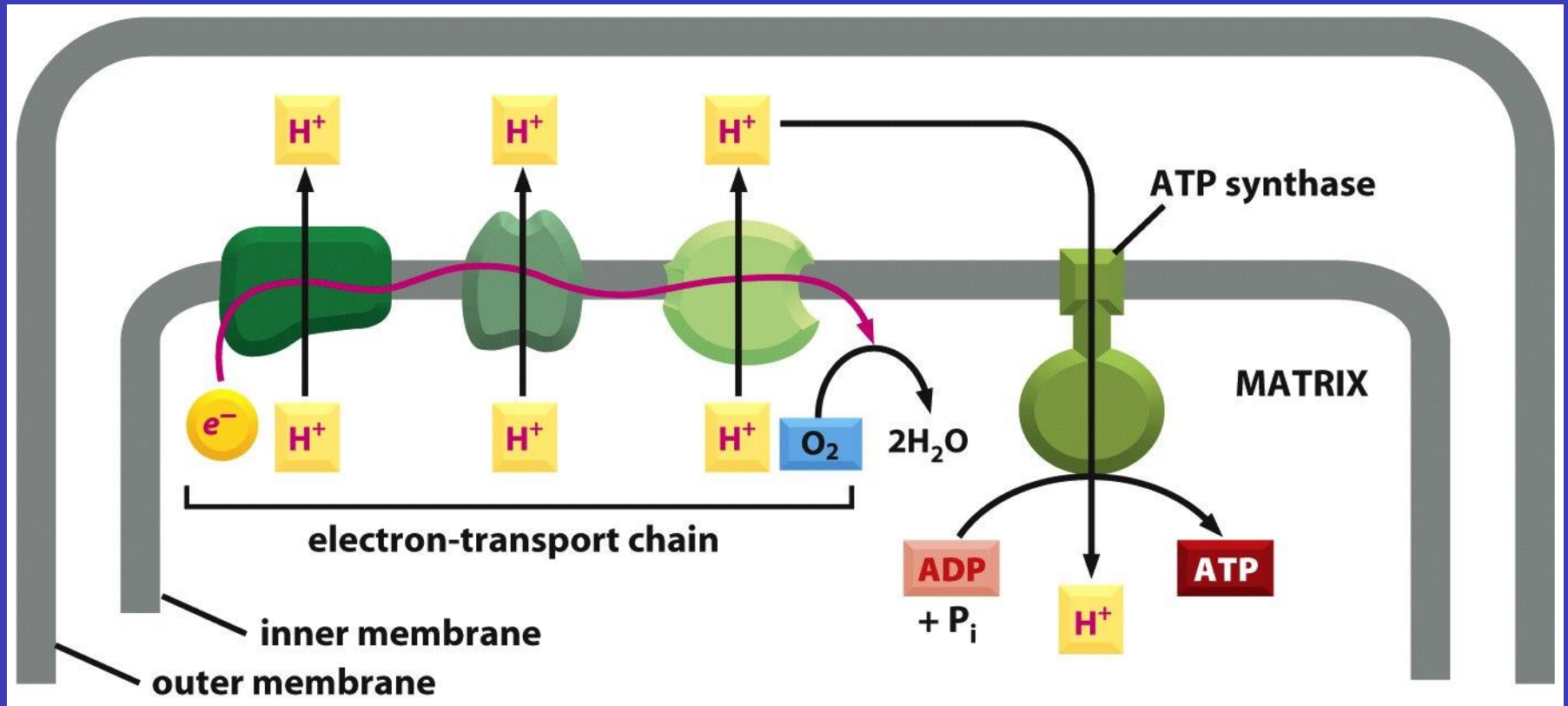


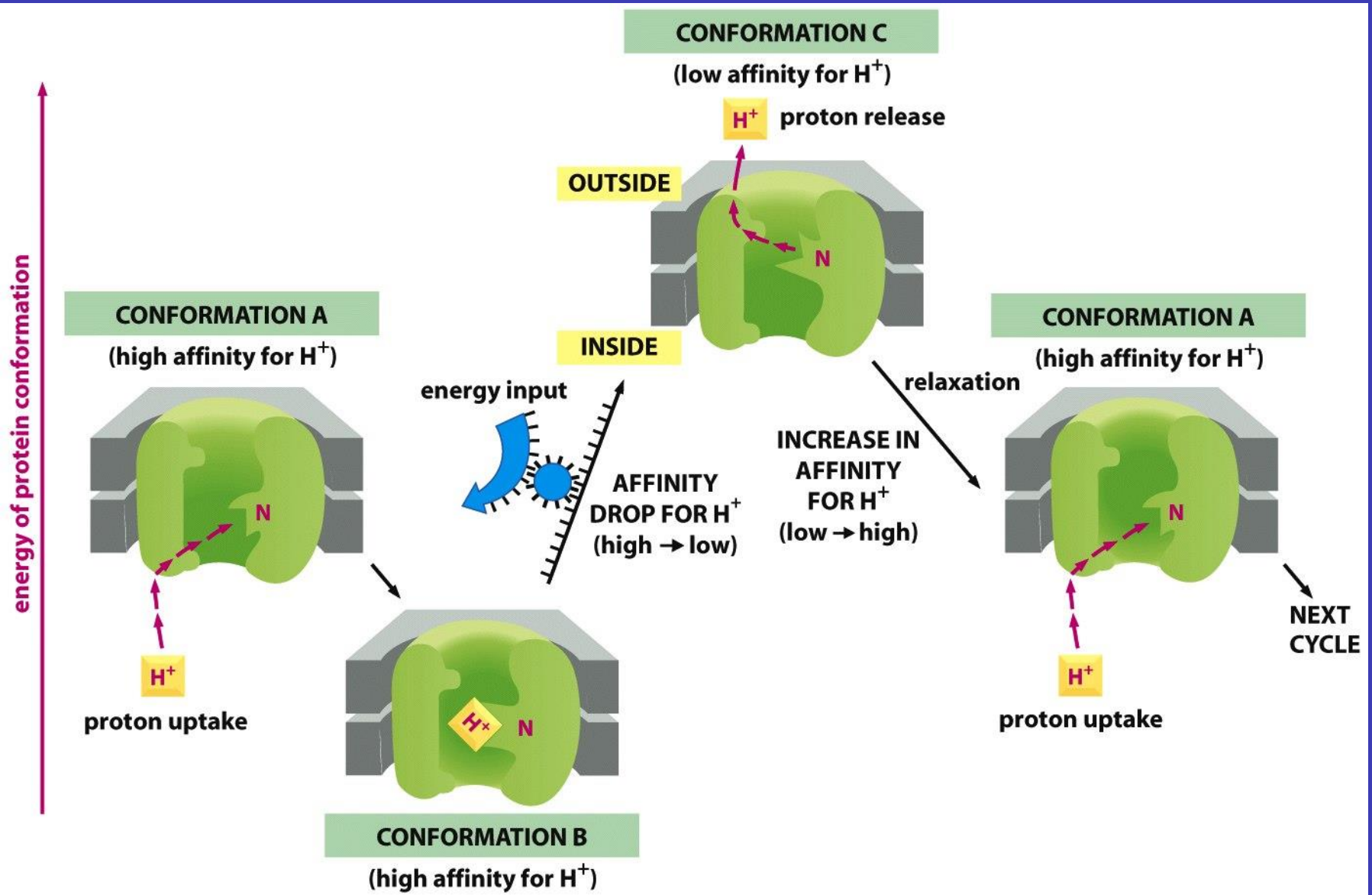
ubichinon



Aktivní přenos protonů

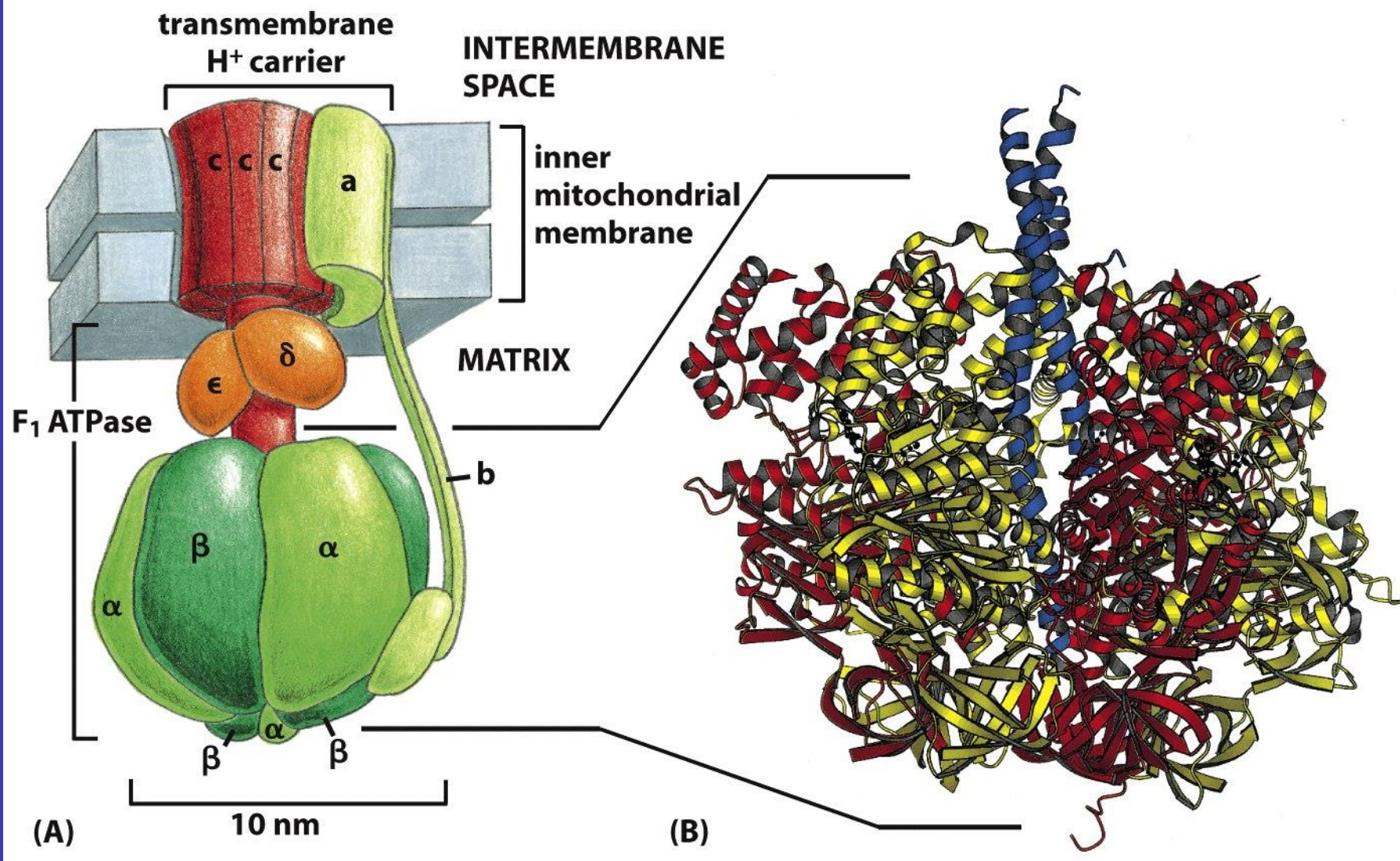
- při **průchodu elektronů** každým ze tří komplexů je přes membránu **ven čerpán (aktivně) vodíkový kation (proton)**
- mechanismus detailně známe pouze u cytochromoxidázy, která přebírá elektrony z cytochromu c, a tím ho oxiduje
- čerpání protonů je vyvoláno **allosterickými změnami** v konformaci proteinu (cytochromoxidázy), které jsou **poháněny energií**, pocházející z **transportu elektronů**
- cytochromoxidáza **přenáší elektrony na kyslík** (a tím ho redukuje – kyslík má mimořádně vysoký redoxní potenciál a hned po fluoru nejvyšší afinitu k elektronům v rámci celé periodické soustavy) a **vytváří tak oxidový anion**, který se **spojuje s protony za vzniku vody** (konec dýchacího řetězce)

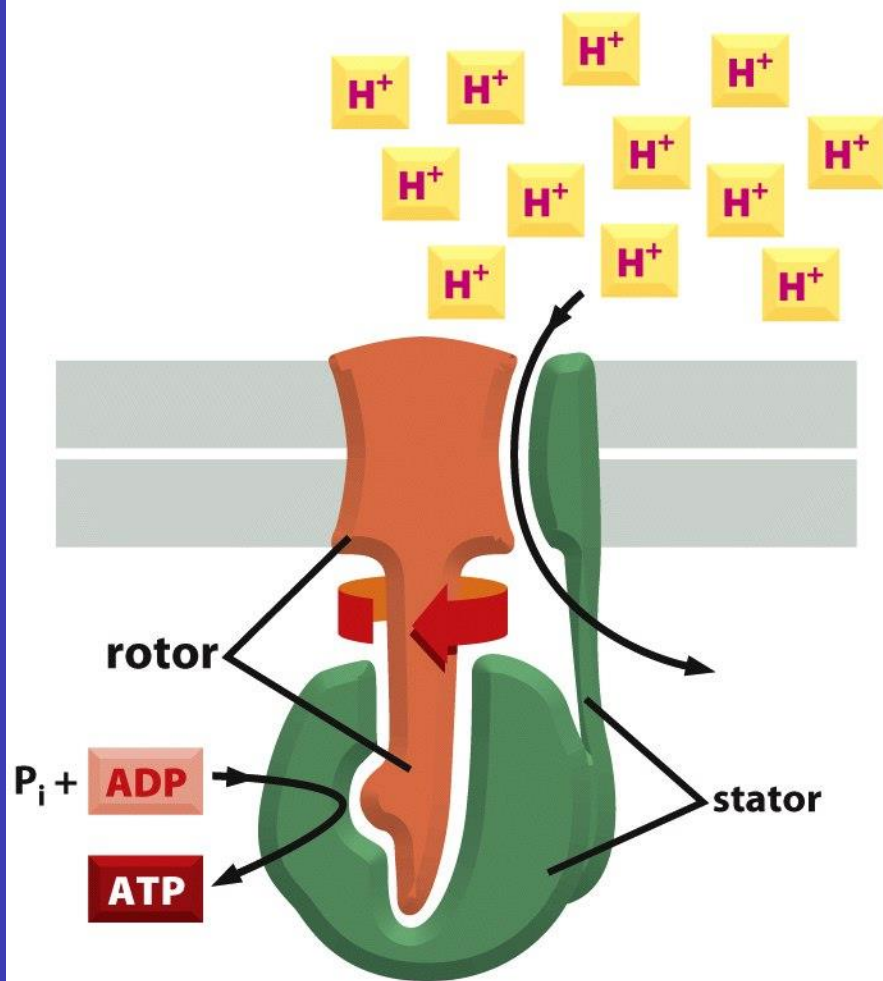




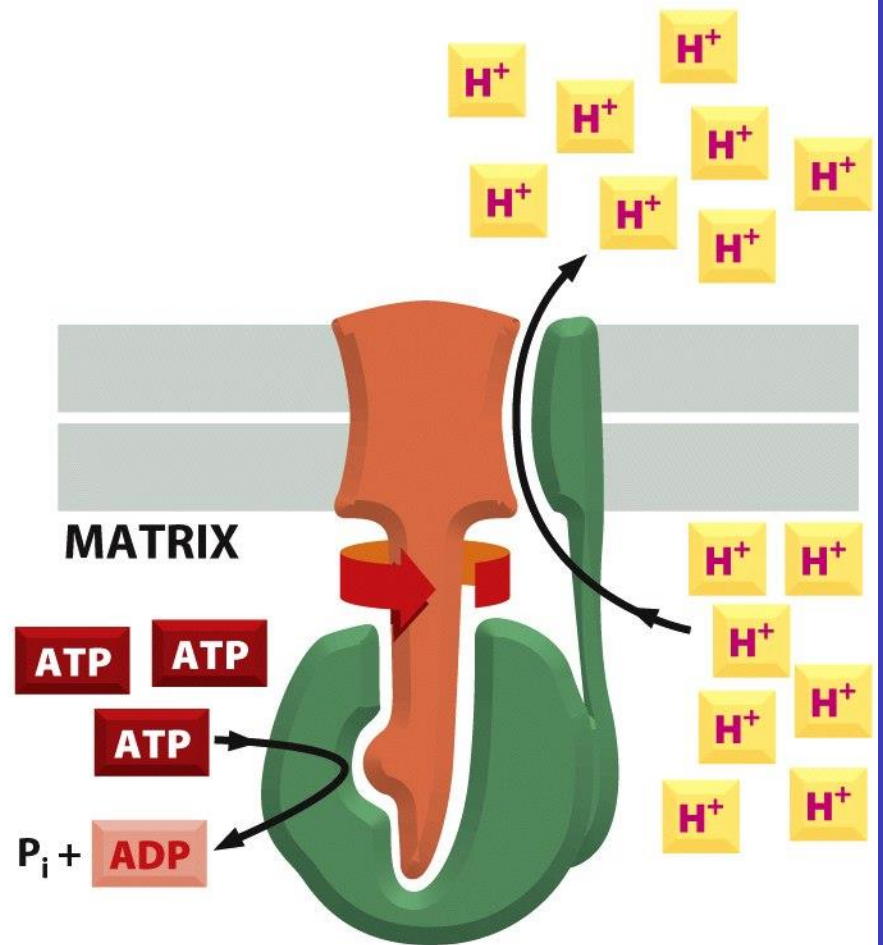
Oxidativní fosforylace

- vysokoenergetické elektrony jsou ve vnitřní membráně přenášeny tak, že jejich **energie klesá** a je **uvolňována k aktivnímu přenosu H^+** přes vnitřní membránu ven
- takto se pohání aktivní transport protonů přes vnitřní membránu **do mezimembránového prostoru a tím se vytváří gradient náboje (potenciál) i koncentrační gradient**
- tento gradient žene protony zpět do matrix mitochondrie v místě, kde je navázaná **ATP-syntáza**, a otáčí jí, čímž dochází k **syntéze ATP** v procesu tzv. **oxidativní fosforylace** (více než 100 molekul ATP za vteřinu)
- elektrochemický gradient je hnací silou také pro transport některých látek (pyruvát, P_i , ADP, ATP)

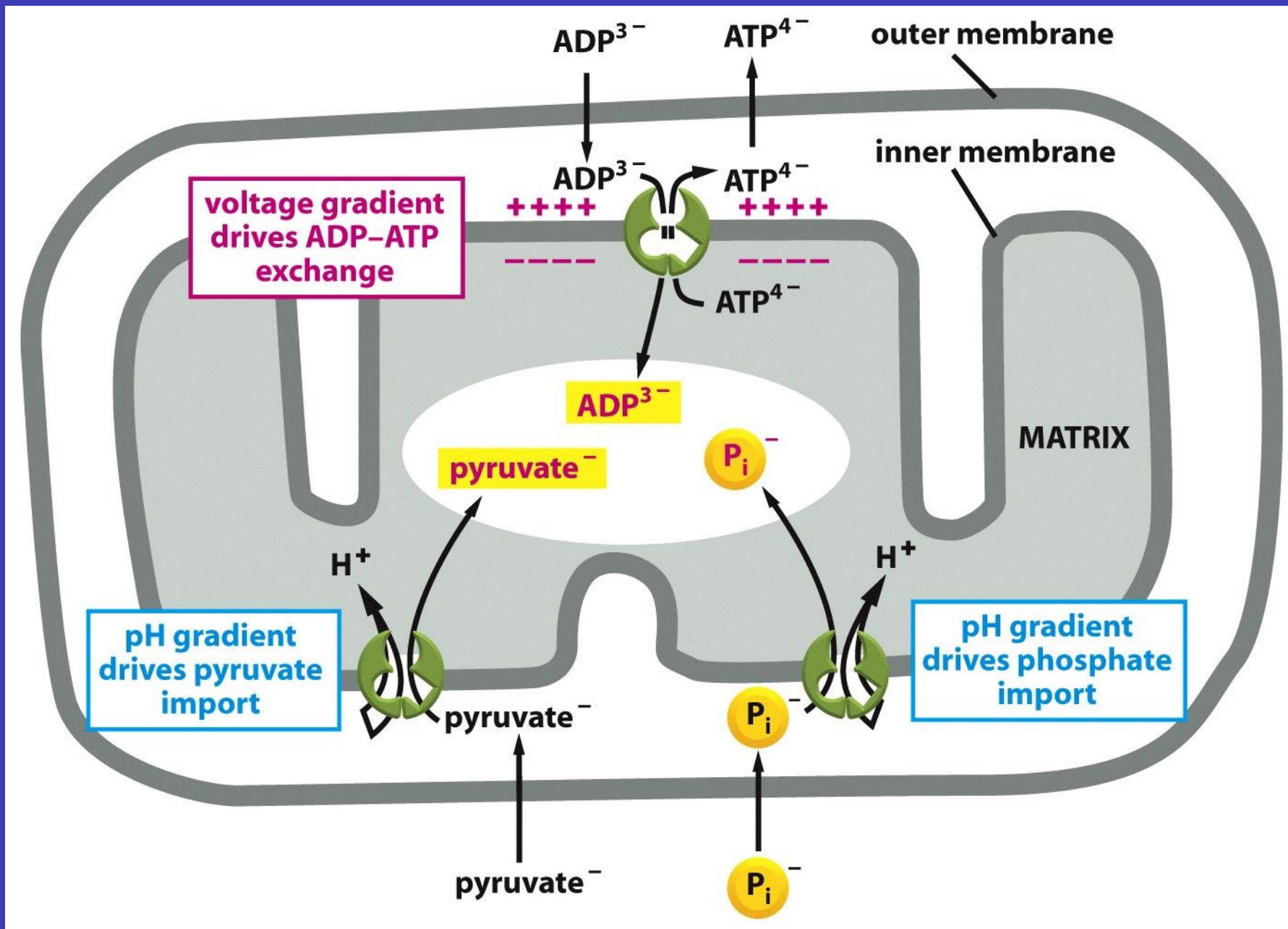




(A) ATP SYNTHESIS



(B) ATP HYDROLYSIS



Energetická bilance

A. NET PRODUCTS FROM OXIDATION OF ONE MOLECULE OF GLUCOSE

In cytosol (glycolysis)



In mitochondrion (pyruvate dehydrogenase and citric acid cycle)



Net result in mitochondrion



B. NET PRODUCTS FROM OXIDATION OF ONE MOLECULE OF PALMITOYL COA (ACTIVATED FORM OF PALMITATE, A FATTY ACID)

In mitochondrion (fatty acid oxidation and citric acid cycle)



Net result in mitochondrion



Fotosyntéza

- všechny organické (uhlíkaté) látky, které vyžadují dnešní běžné buňky, vznikají při **fotosyntéze**, kdy se **energie světla využívá k syntéze organických molekul z oxidu uhličitého, který je přítomen v atmosféře**
- rostliny, řasy a fotosyntetizující bakterie využívají elektrony z vody a energii světla na převedení CO_2 na organické sloučeniny (typicky *glukózu*)
- v rostlinách provádějí fotosyntézu organely zvané **chloroplasty**, které využívají denní **světlo na výrobu ATP a NADPH, pomocí nichž se CO_2 uvnitř chloroplastu mění na cukry** – cukry jsou pak přenášeny do cytosolu, kde se používají buď pro dýchání nebo k syntéze jiných molekul

Struktura chloroplastů

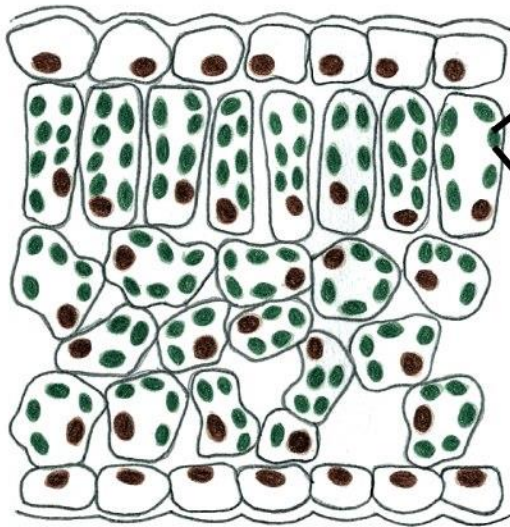
- podobně jako mitochondrie i chloroplasty patří mezi **semiautonomní organely** a jejich **vnitřní membrána** je rovněž mnohem **méně propustná než vnější** (ve vnitřní membráně jsou pak zanořeny transportní proteiny)
- vnitřní membrána neobsahuje elektrontransportní řetězec, místo toho jsou **elektrontransportní řetězec, ATP-syntáza a systémy zachycující světlo** obsaženy v tzv. **thylakoidní membráně**, která tvoří soubor váčků, nazývaných **thylakoidy**
- thylakoidy jsou uspořádány v **granach** a prostory uvnitř thylakoidů jsou propojeny tak, že tvoří jednotný prostor
- chloroplast se tedy skládá z: **vnější a vnitřní membrány, mezimembránového prostoru, stromy a thylakoidů**

CHLOROPLAST

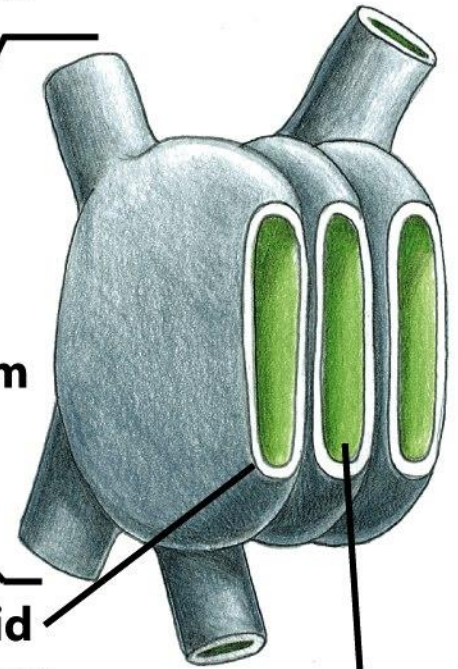
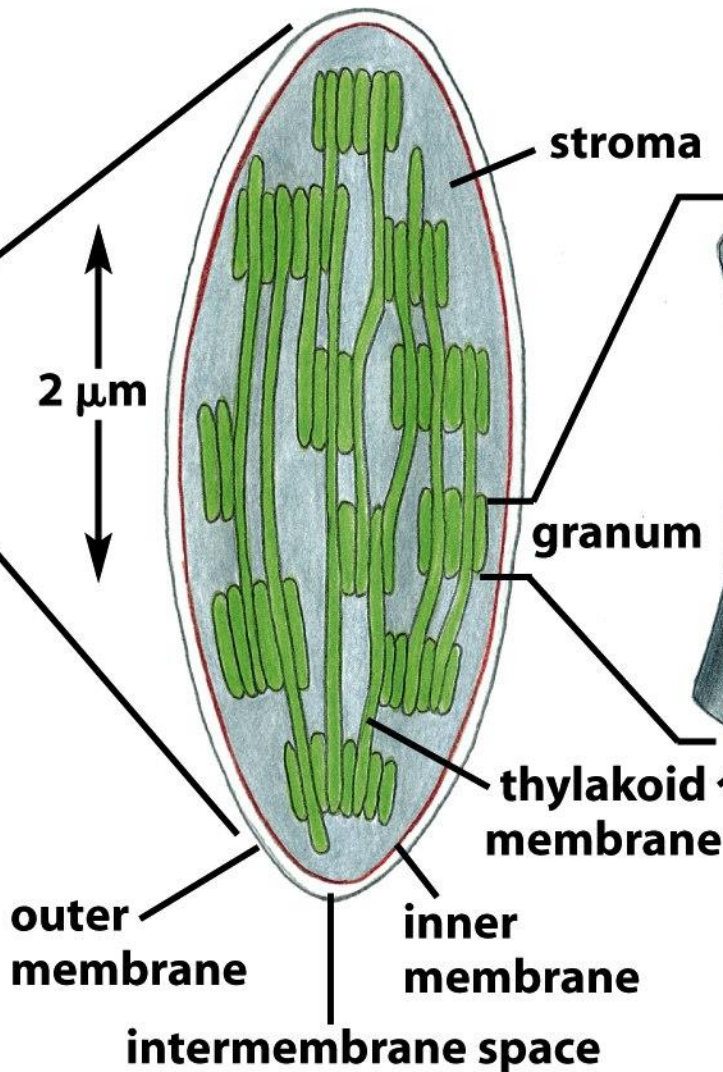
GRANUM

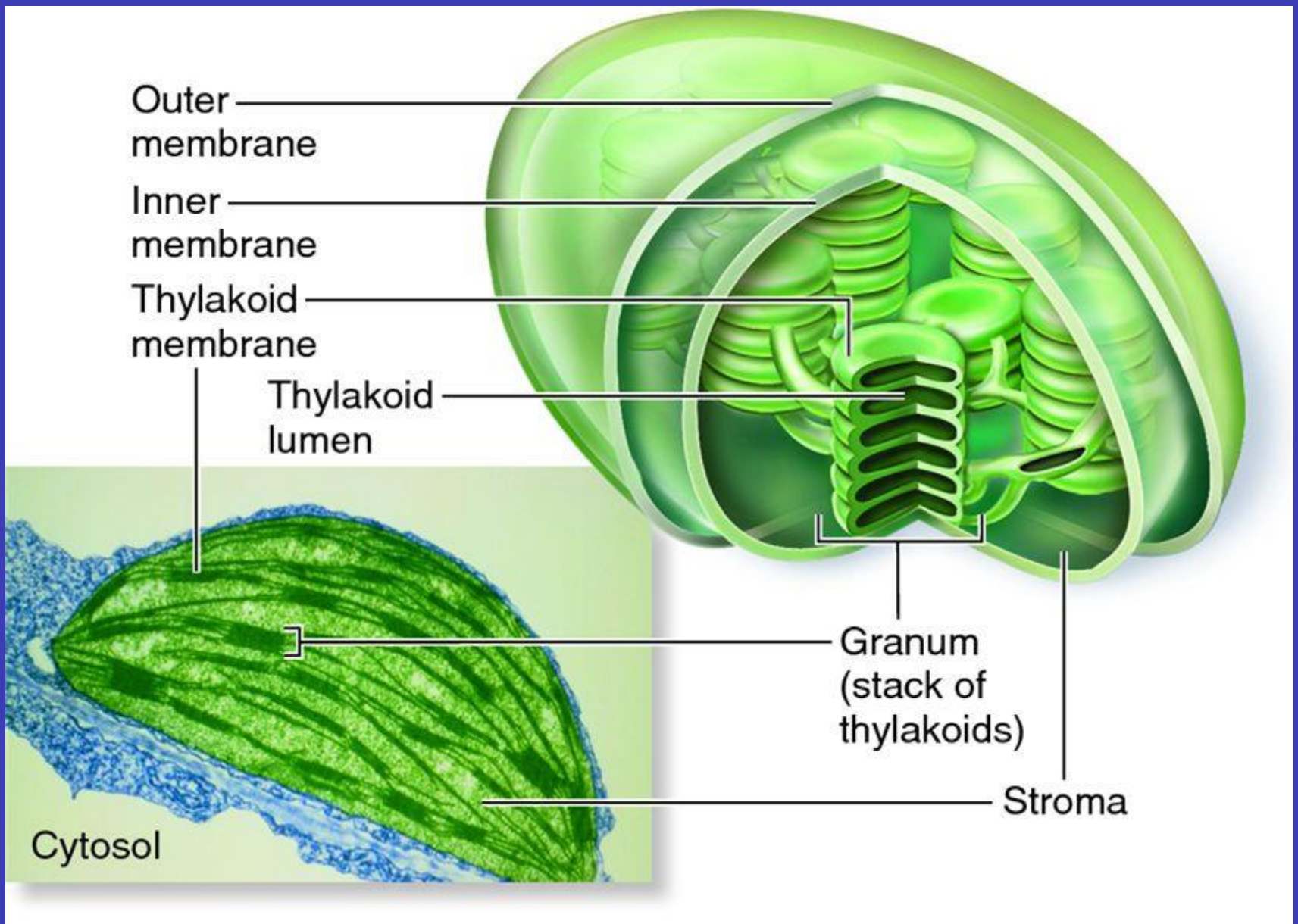
LEAF

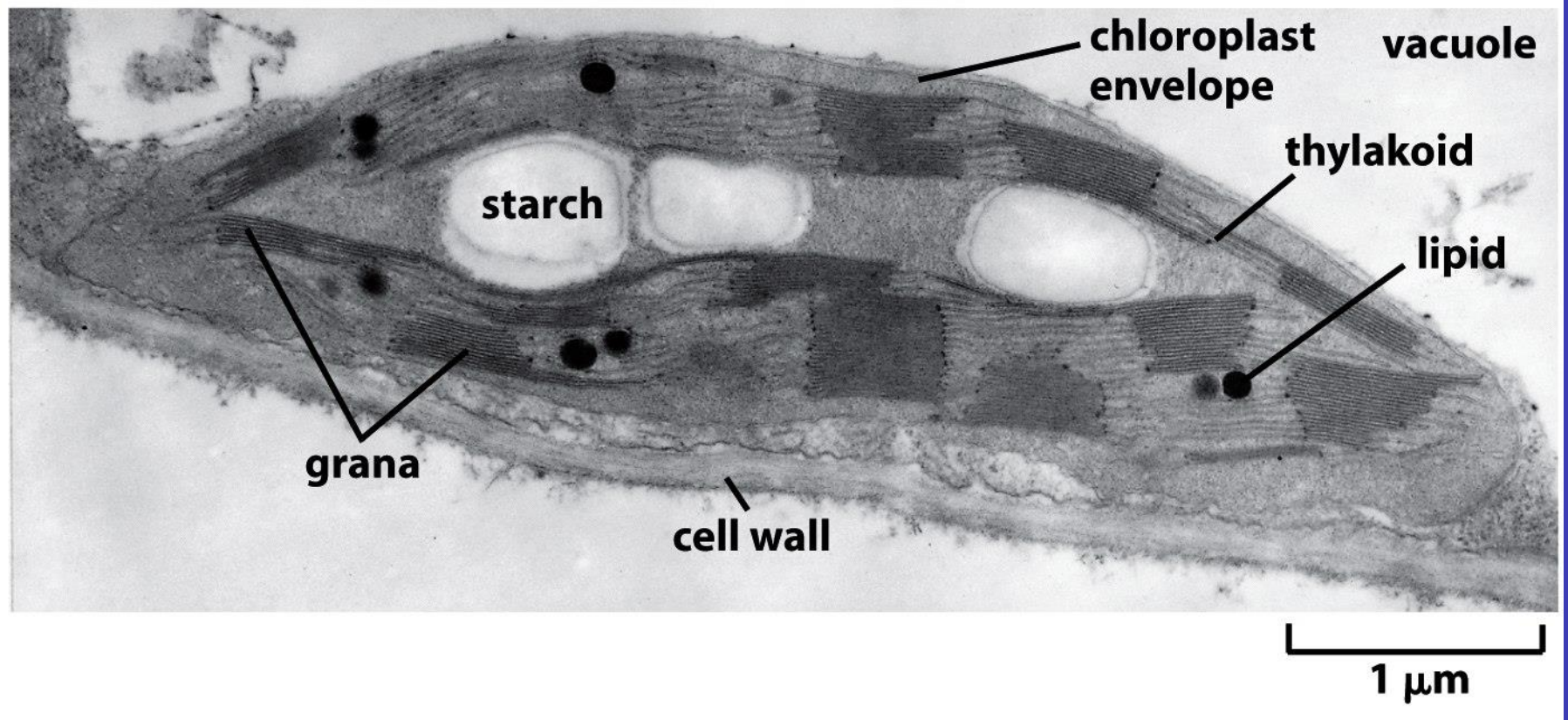
upper epidermis



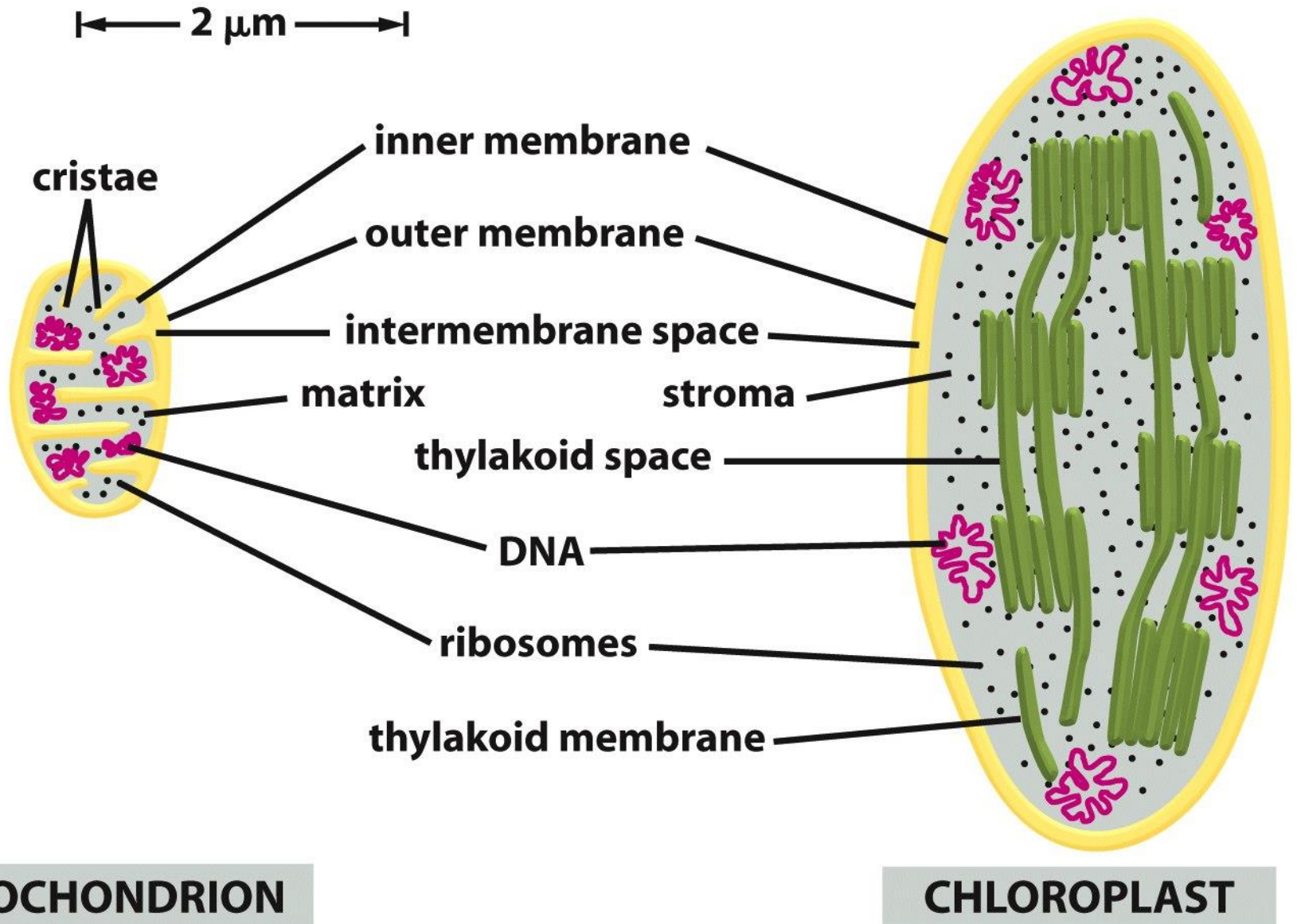
lower epidermis







Chloroplast vs. mitochondrion



Fáze fotosyntézy

1. (světelná) fáze: energie ze **slunečního světla** je pohlcena elektronem v zeleném barvivu **chlorofylu**, čímž vznikají elektrony s vysokým obsahem energie, jež putují **elektrontransportním řetězcem** v thylakoidní membráně

- chlorofyl získává své **elektrony z vody**, a tím je oxidový anion z vody oxidován na **O₂** a **uvolněn do okolí (fotolýza vody)**
- během putování elektronů v řetězci dochází k uvolnění jejich energie, jež je využita na **aktivní transport protonů** přes thylakoidní membránu **dovnitř thylakoidů**. Vzniká tak elektrochemický gradient, což následně vede k **syntéze ATP** ve stromatu chloroplastu

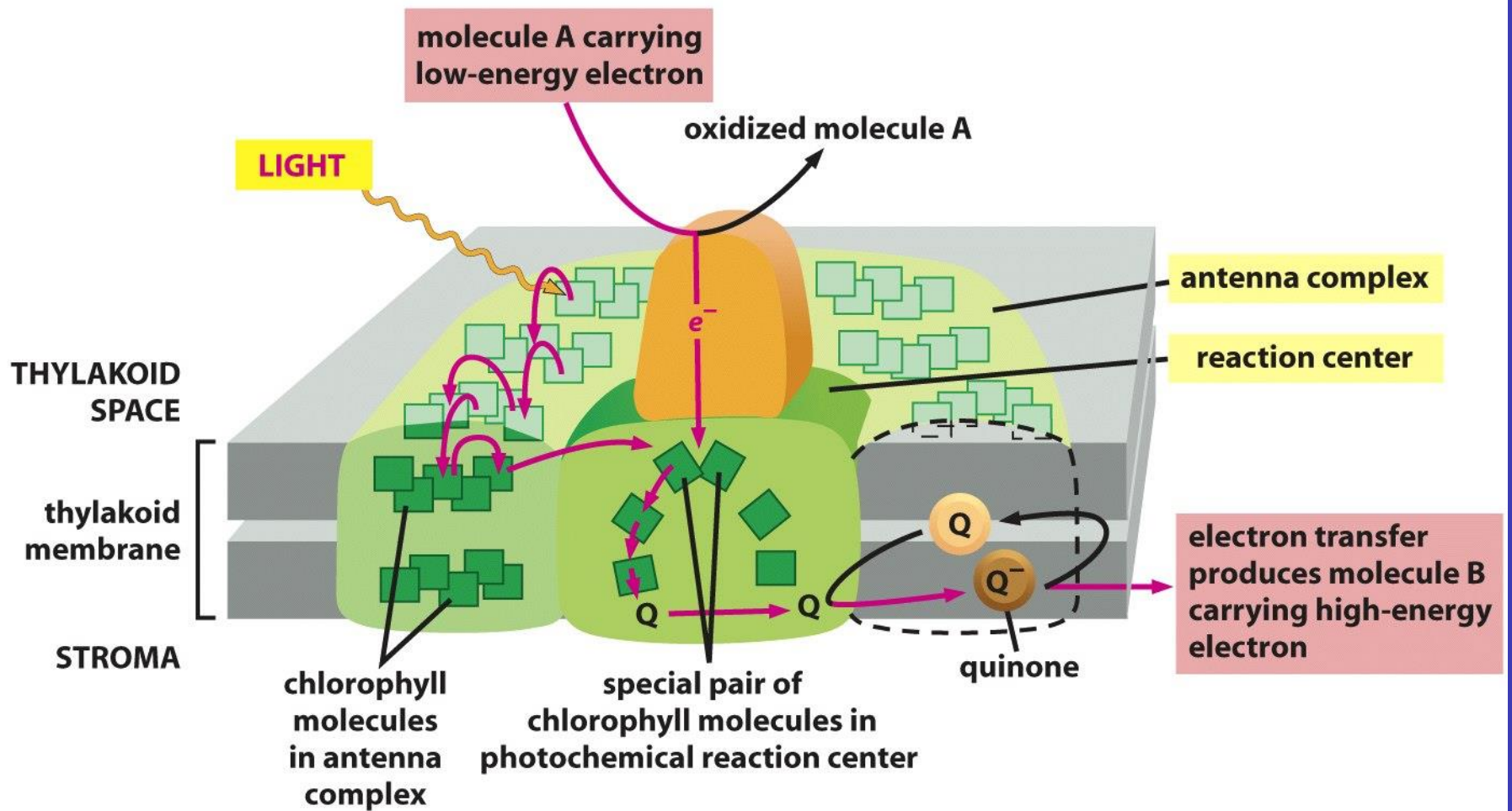
- v posledním kroku řetězce se vysokoenergetické elektrony (společně s H^+) spojí s molekulou $NADP^+$ a vzniká tak **NADPH**
- všechny tyto reakce probíhají uvnitř chloroplastu

2. (temnostní) fáze: ve světelné fázi fotosyntézy vytvořené **ATP a NADPH** slouží jako **zdroj energie pro redukci CO_2** při syntéze organických látek, tzv. **fixace uhlíku** – tento proces začíná ve stromatu a pokračuje v cytoplasmě

- ve 2. fázi fotosyntézy se odehrává **Calvinův cyklus**

1. (světelná) fáze fotosyntézy

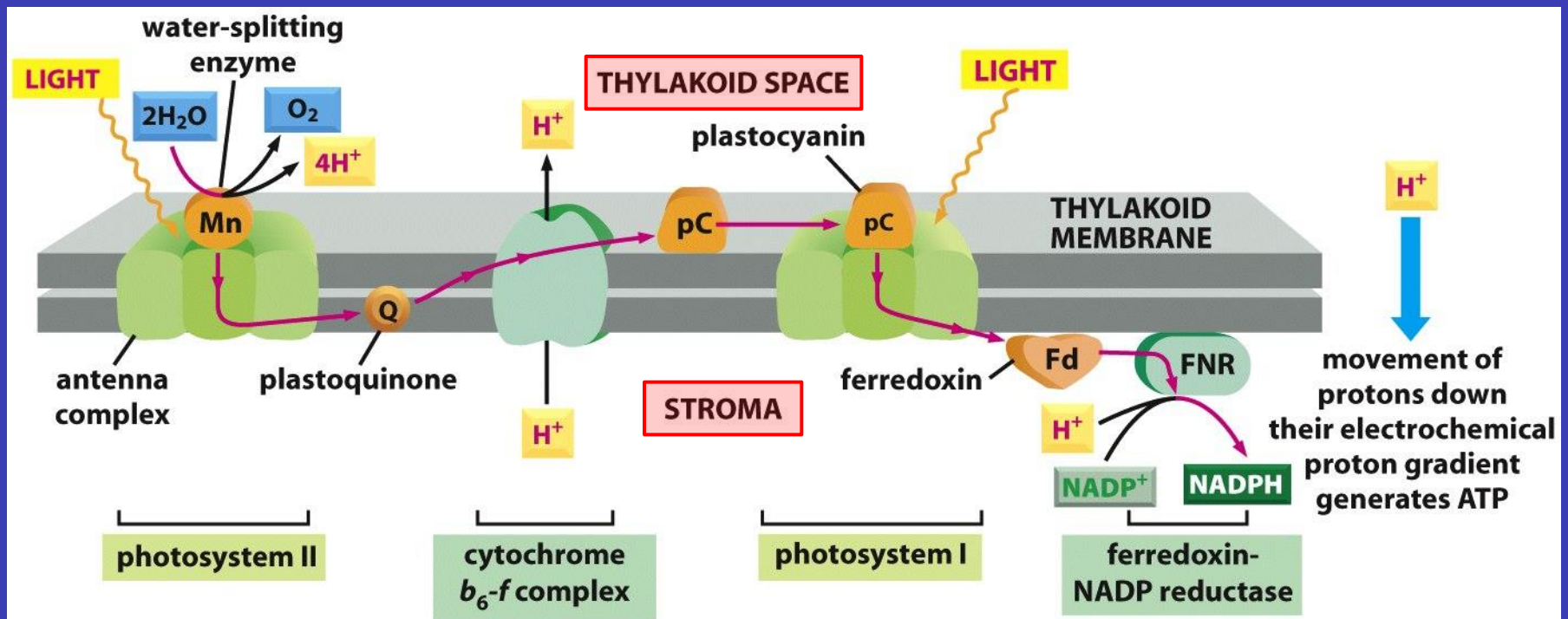
- světelná energie je absorbována molekulami chlorofylu nacházejícími se ve velkých multiproteinových komplexech – **fotosystémech (fotosystém II a fotosystém I)**
- část fotosystému složena ze stovek molekul chlorofylu zvaná **anténa** zachycuje fotony a jejich energie je využita k excitaci elektronů
- energie excitovaných elektronů je postupně předávána od jedné molekuly chlorofylu ke druhé až do tzv. **reakčního centra** fotosystému
- v reakčním centru je vysokoenergetický elektron přenesen do **elektrontransportního řetězce** v thylakoidní membráně

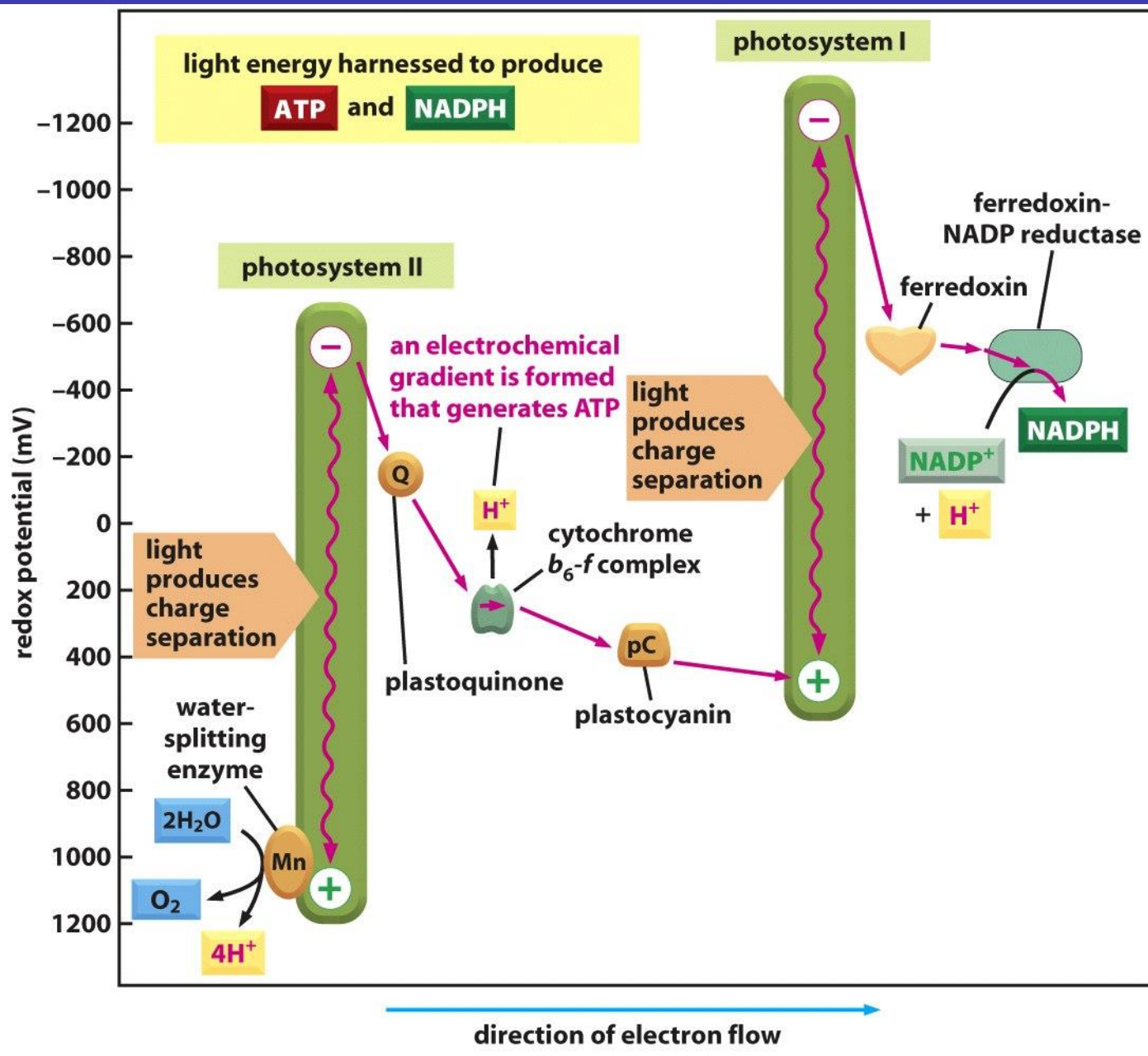


Průběh světelná fázi fotosyntézy

- k fotosyntéze je zapotřebí **dvou fotonů**
- světelná energie (**první foton**) je nejprve absorbována **fotosystémem II**, kde vzniká vysokoenergetický elektron, který je přepravován elektrotransportním řetězcem za vzniku **elektrochemického gradientu H^+** . Gradient je následně využit k pohonu ATP-syntázy a **tvorbě ATP**
- z fotosystému II je elektron přenesen do **fotosystému I**, z kterého je přepravován elektrotransportním řetězcem za **vzniku NADPH**. Protože energie elektronu při přechodu z fotosystému II do fotosystému I byla využita na transport H^+ , ke vzniku vysokoenergetického elektronu je nutné opětovně dodat energii (**druhý foton**)

- v celém procesu je elektron odstraněn z reakčního centra fotosystému II předán molekule NADPH. Tento **elektron** je **nahrazen** elektronem vznikajícím při **fotolýze vody**





2. (temnostní) fáze fotosyntézy

- ve druhé fázi fotosyntézy se CO_2 z atmosféry spojuje nejprve s pětiuhlíkovým cukerným fosfátem a vodou za vzniku dvou **trojuhlíkatých molekul** – enzym katalyzující tuto reakci se nazývá **ribulosa-1,5-bisfosfát karboxyláza (RuBisCO)**, je velmi pomalý a musí ho být tedy v chloroplastu velké množství
- reakce probíhají v strome chloroplastů až ke vzniku **glyceraldehyd-3-fosfátu** (NADPH se oxiduje na NADP^+ , spotřeba ATP), který může přejít do cytosolu (např. do glykolýzy, nebo se z něj vytváří sacharóza a zejména **škrob**) – nebo může být zpět regenerován na pětiuhlíkatý cukerný fosfát, který na sebe opět váže oxid uhličitý a cyklus (tzv. **Calvinův cyklus**) se stále opakuje

