

# 10.

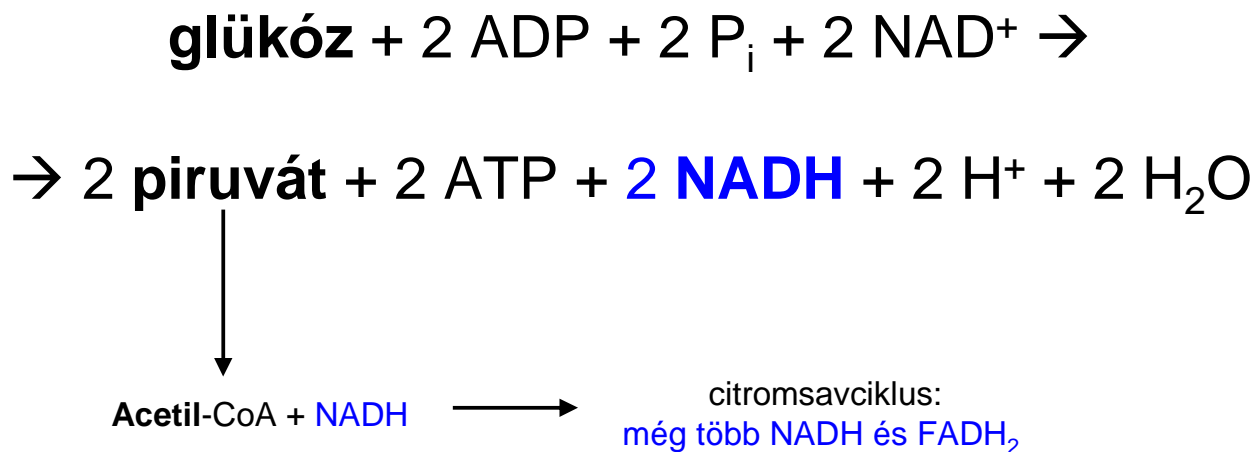
## Oxidatív foszforiláció

1

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

Előzmények

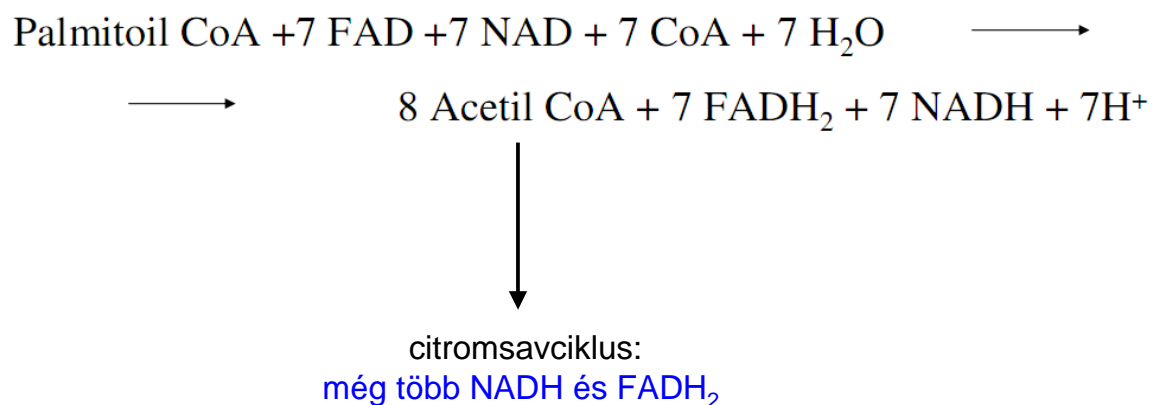
Glikolízis:



2

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Zsírsavak lebontása (→ később)



3

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

## Előzmények

### Citrát kör:



4

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

# Egy kis történelem

## Peter Mitchell és a kemiozmotikus hipotézis

1961: Kemiozmotikus hipotézis (Nature cikk)

1963-1965: rövid ideig visszavonult

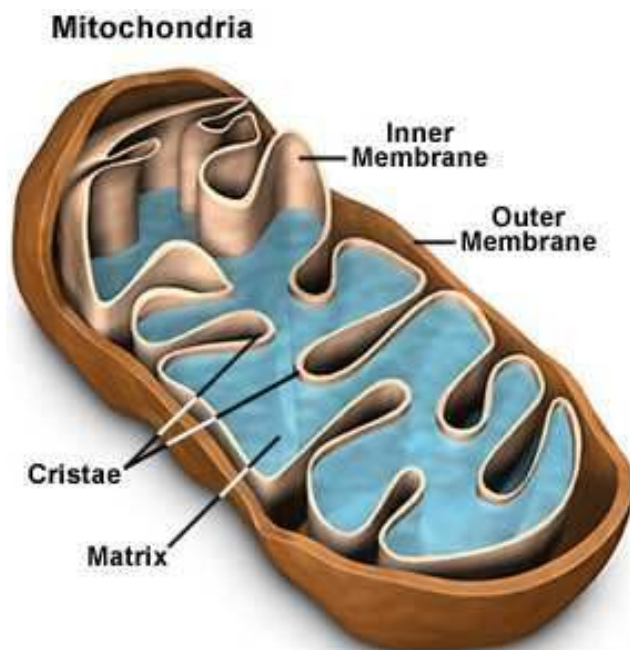
1965: Glynn Research Laboratories

1978: Kémiai Nobel díj



5

## A mitokondrium felépítése



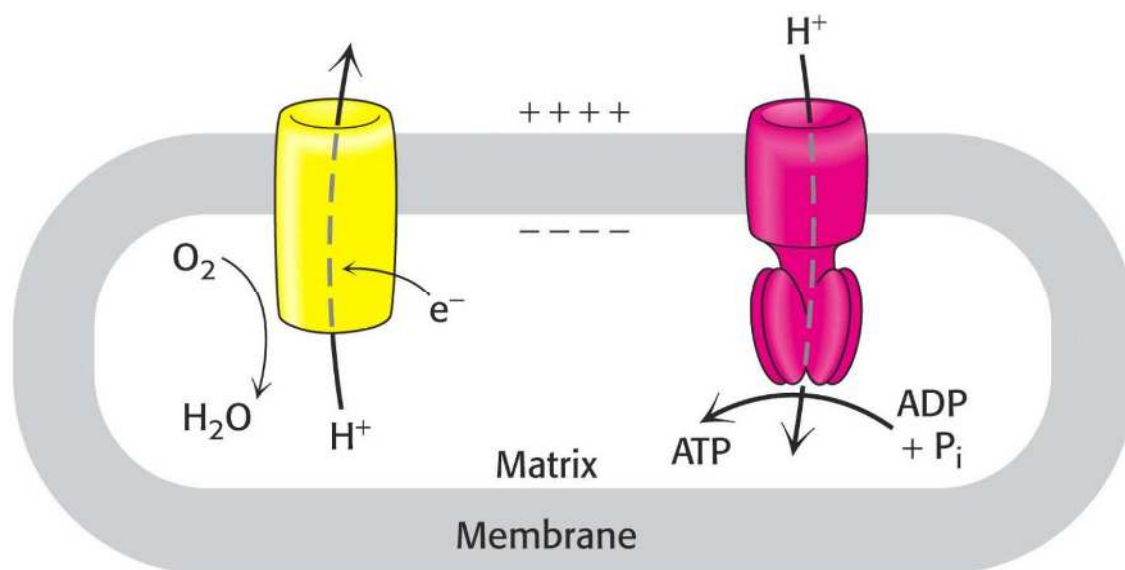
Eukariótákban az oxidatív foszforiláció a mitokondriumokban, azon belül a belső membránon történik.

Betüremkedések (cristae, azaz kriszták): megnövelik a felületet.

Milyen eddig tanult folyamatok játszódnak le a mitokondriumokban és azon belül hol?

6

## Az oxidatív foszforiláció lényege



7

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Négy komplex felelős a NADH és $FADH_2$ oxidációjáért

### Komplex I:

NADH-Q oxidoreduktáz

### Komplex II:

szukcinát-Q reduktáz

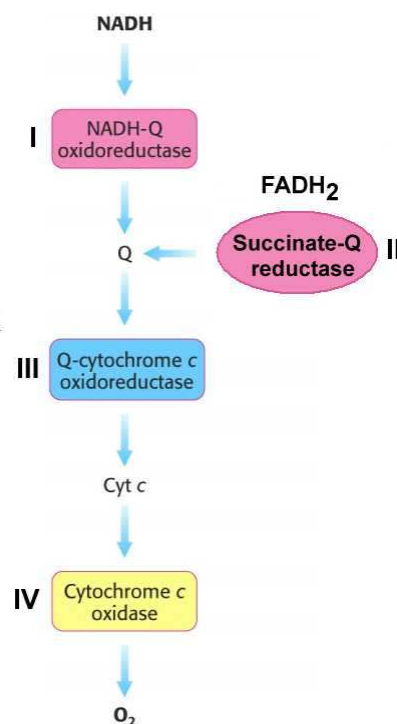
### Komplex III:

Q-citokróm c oxidoreduktáz

### Komplex IV:

citokróm c oxidáz (itt lép be az oxigén)

A redox reakciókkal egyidejűleg a komplex I, III és IV protonokat pumpál a mátrixból az intermembrán térbe

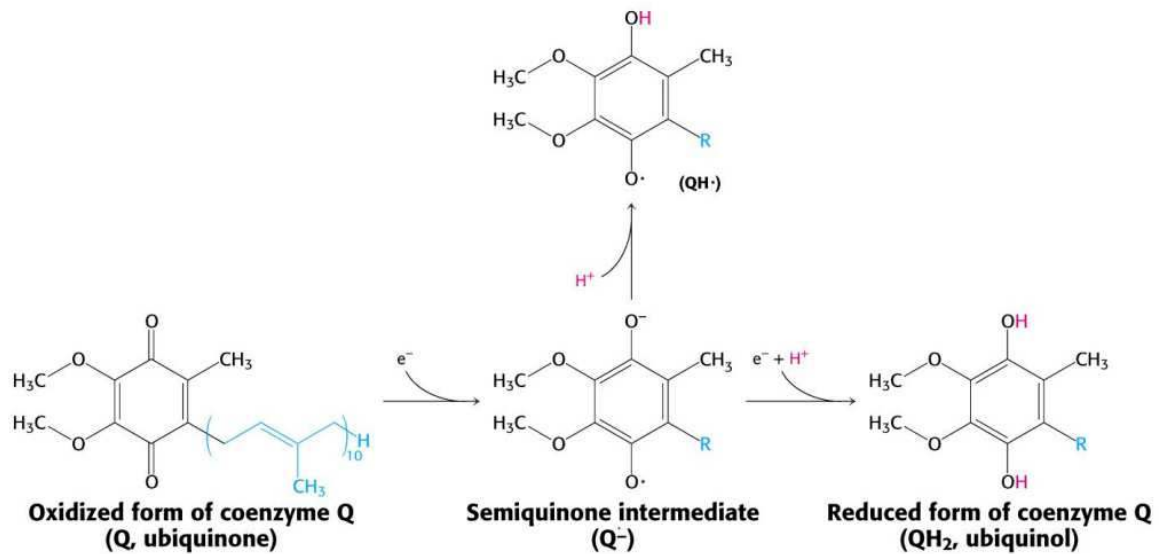


8

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Koenzim Q = ubikinon - közös komponens

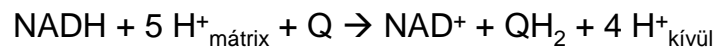
szabadon mozog a membránban, protonokat is szállít



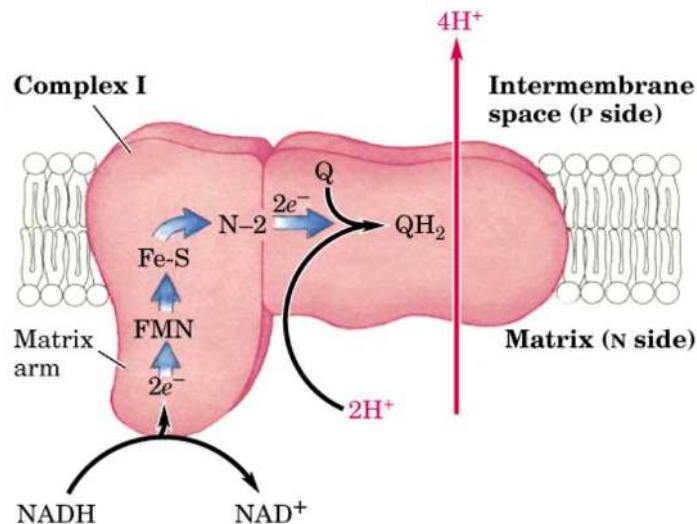
9

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Komplex I (NADH-Q oxidoreduktáz)



A komplex I katalizálja a NADH oxidációját. Több lépésben, FMN és vas-kén centrumokon keresztül redukálódik az ubikinon miközben 4 proton kerül ki az intermembrán térbe.

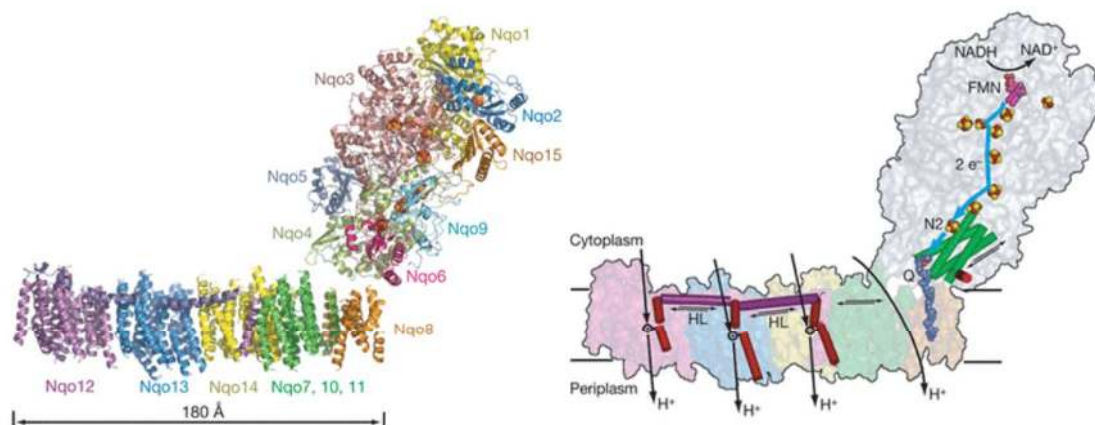


10

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

# Egy bakteriális komplex I szerkezet

(a mitokondriális bonyolultabb, több alegysége van)



**Left:** The structure consists of the atomic model for the hydrophilic domain, determined previously (PDB 3I9V), and the alpha-helical model for the membrane domain. Fe-S clusters are shown as red and yellow spheres, and FMN as magenta spheres. Each subunit is coloured differently and indicated.

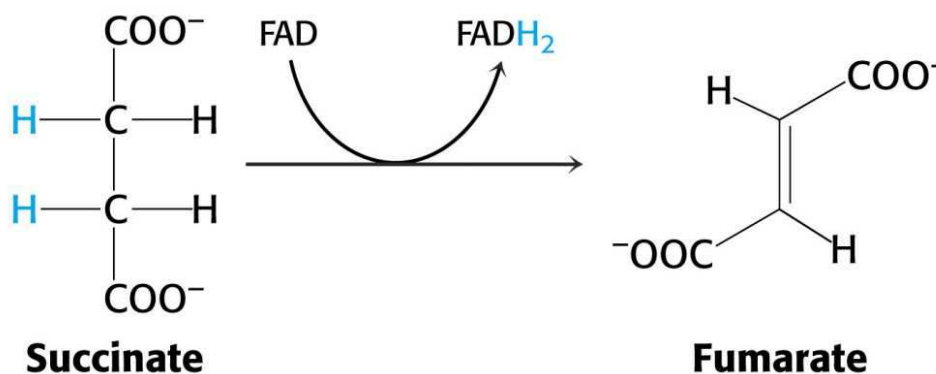
**Right:** Proposed model of proton translocation by complex I. NADH, via FMN (magenta), donates two electrons to the chain of Fe-S clusters (red and yellow spheres), which are passed on (blue line), via terminal cluster N2, to the quinone (dark blue, moved out of the membrane by about 10 angstroms). Electron transfer is coupled to conformational changes (indicated by arrows) in the hydrophilic domain, observed for Nqo4 four-helix bundle (green cylinders) and Nqo6 helix III (red). These changes are transmitted to the amphipathic helix IIL (magenta), which tilts three discontinuous helices (red) in antiporter-like subunits, changing the conformation of ionizable residue inside respective proton channels, resulting in translocation of three protons. The fourth proton is translocated at the interface of the two main domains.

\* Reprinted by permission from Macmillan Publishers Ltd: [Nature](#), 465, 441-445. Copyright 2010.

11

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Visszatekintés: Citrát kör 6. lépés: szukcinát dehidrogenáz



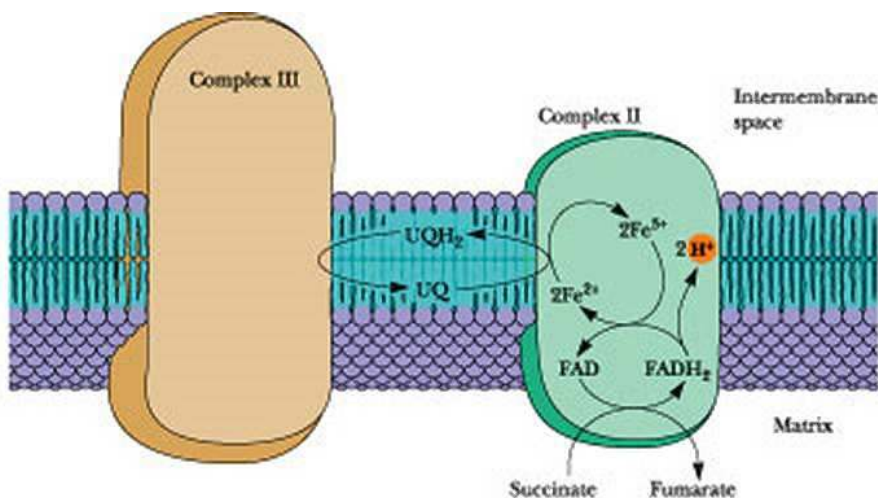
(borostyánkősav, más néven szukcinsav)

12

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Komplex II (szukcinát-Q reduktáz)

Nem szállít protonokat.



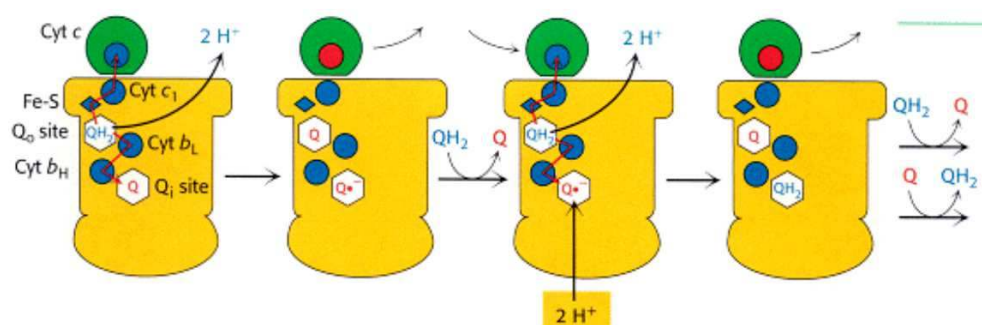
A citromsavciklus és a légzési lánc ezen a ponton közvetlenül összekapcsolódik a **szukcinát dehidrogenáz** enzim a komplex II része.

13

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Komplex III (Q-citokróm c oxidoreduktáz)

### A Q ciklus



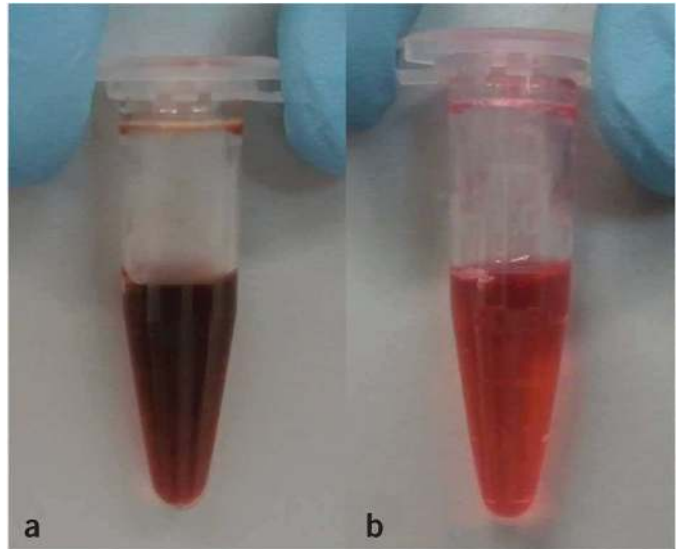
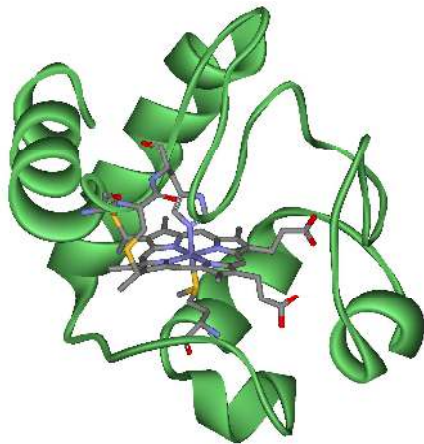
**Figure 18.17. Q Cycle.** The two electrons of a bound  $\text{QH}_2$  are transferred, one to cytochrome  $c$  and the other to a bound  $\text{Q}$  to form the semiquinone  $\text{Q} \cdot^-$ . The newly formed  $\text{Q}$  dissociates and is replaced by a second  $\text{QH}_2$ , which also gives up its electrons, one to a second molecule of cytochrome  $c$  and the other to reduce  $\text{Q} \cdot^-$  to  $\text{QH}_2$ . This second electron transfer results in the uptake of two protons from the matrix. Prosthetic groups are shown in their oxidized forms in blue and in their reduced forms in red.



14

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

# Citokróm c

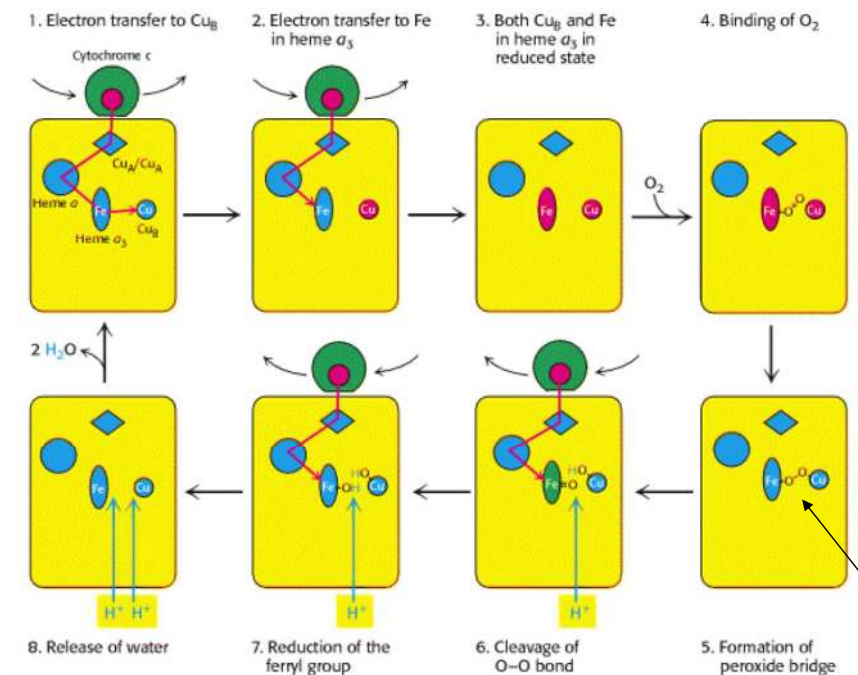


oxidált

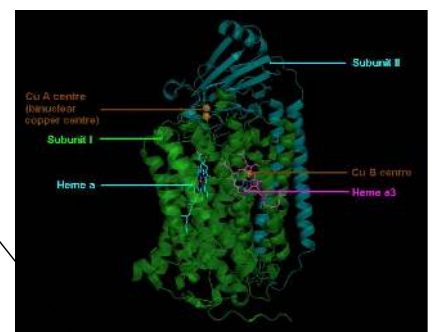
redukált

Kicsi perifériális membránfehérje, **a külső oldalon** található, könnyen oldatba vihető, fajok között meglehetősen konzervált.

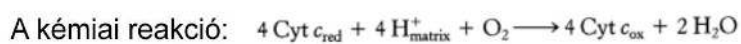
15



Komplex IV  
(citokróm c oxidáz)

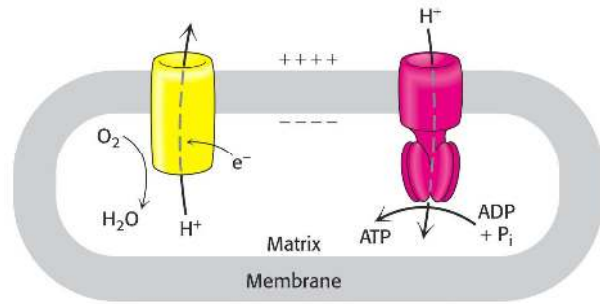


peroxid !



16

## Hogyan kapunk a proton gradiensből kémiai energiát ?



**Nem töltött anyag egy membrán két oldalán:**

„reakció”:  $A_{\text{belső}} \rightarrow A_{\text{külső}}$

kémiai potenciál (szabadentalpia):  $\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ( [A_k]/[A_b] )$

**Protonok a mitokondriális membrán két oldalán:**

$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ( [H^+_k]/[H^+_b] ) + z \cdot F \cdot \Delta U$  (A protonok kijutására jellemző pozitív érték)

**z:** töltés (+1), **F:** Faraday állandó,  **$\Delta U$**  ~ 0.14 V: membrán potenciál

17

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Proton motive force (PMF)

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ( [H^+_k]/[H^+_b] ) + z \cdot F \cdot \Delta U$$

(A protonok kijutására jellemző pozitív érték)

A koncentráció különbségből  
adó tag

Az elektromos (membrán)  
potenciálból adó tag

**A PMF számos biológiai folyamat / reakció hajtóereje.**

18

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Házi feladat

**Nem töltött anyag a membrán két oldalán:**

„reakció”:  $A_{\text{belső}} \rightarrow A_{\text{külső}}$   
kémiai potenciál (szabadentalpia):  $\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{[A_k]}{[A_b]} \right)$

$[A_k] = 100 \text{ mM}$

$[A_b] = 1 \text{ mM}$

37 °C-on mennyi a  $\Delta G$  értéke?

**Protonok a membrán két oldalán:**

$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \left( \frac{[H^+_k]}{[H^+_b]} \right) + z \cdot F \cdot \Delta U$

$z = +1$  (töltés),  $F = 96\,485 \text{ C/mol}$  (Faraday állandó),  $\Delta U \approx 0.14 \text{ V}$  (membrán potenciál)

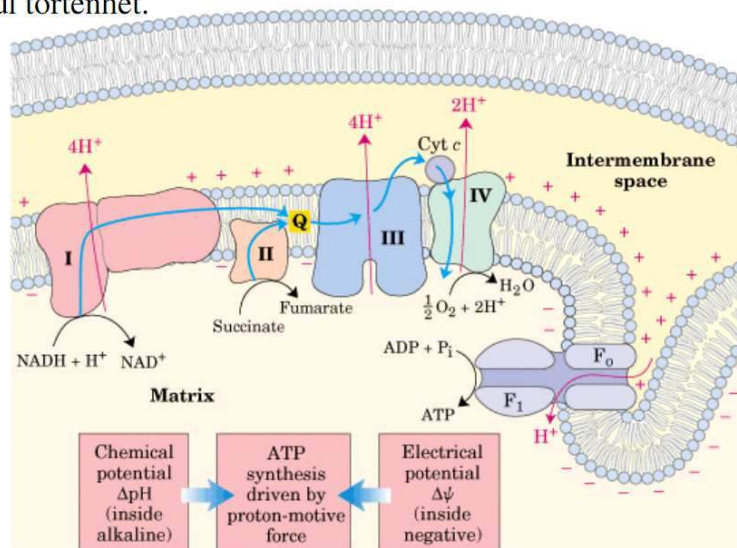
$[H_k]/[H_b] = 25$  esetén, 37 °C-on mennyi a  $\Delta G$  ?

Hány proton (egész szám) visszajutása fedezi 1 ATP szintézisét ( $\Delta G^\circ = 30.5 \text{ kJ/mol}$ ), ha feltételezzük, hogy a hatásfok ~50%?

19

## A légzési lánc és az ATP szintézis kapcsolata

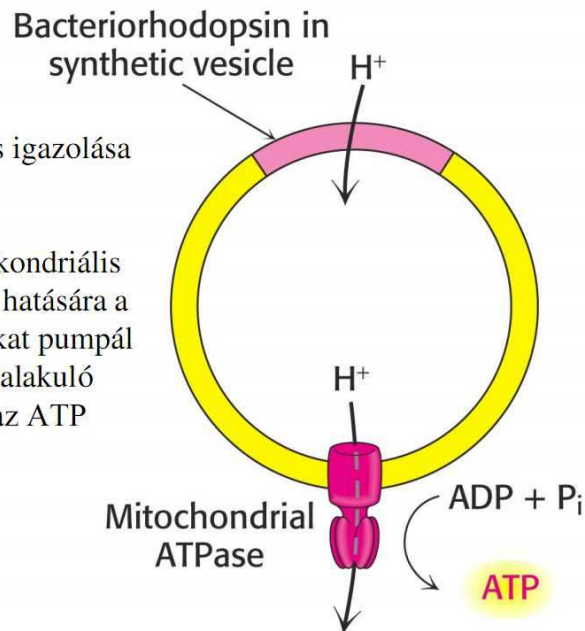
Peter Mitchell kemiozmotikus modellje. A légzési lánc működése során protonok pumpálódnak a mátrixból az intermembrán térbe. Így kémiai és elektromos potenciál alakul ki. A protonok számára a membrán nem átjárható, visszaáramlásuk csak az  $F_0F_1$  ATP szintáz komplexen keresztül történhet.



20

## A kemiozmotikus hipotézis kísérleti igazolása

A kemiozmotikus hipotézis igazolása rekonstruált membrán vezikulumokon, melyekbe bakteriorodopszin és mitokondriális ATPázt építettek be. Fény hatására a bakteriorodopszin protonokat pumpál a vezikulum belsejébe, a kialakuló protongradiens működteti az ATP szintetizáló komplexet.



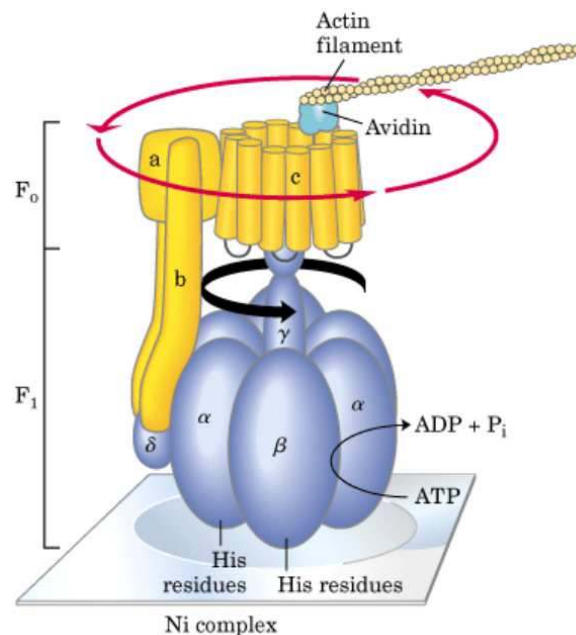
21

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Az $F_0F_1$ ATP szintáz működés közben forog

### A $\gamma$ alegység és a c gyűrű forgásának megmutatása:

- Az  $\alpha_3\beta_3$  hexamert egy polihisztidin „tag” segítségével rögzítették kötött  $Ni^{2+}$  ionokat tartalmazó lemezre.
- A „c” gyűrűre biotin és avidin segítségével fluoreszcensen jelölt aktin filamentumokat kötöttek ki.
- ATP hozzáadására (fordított reakció) az aktin küllő forgása fluoreszcens mikroszkópban látható volt.

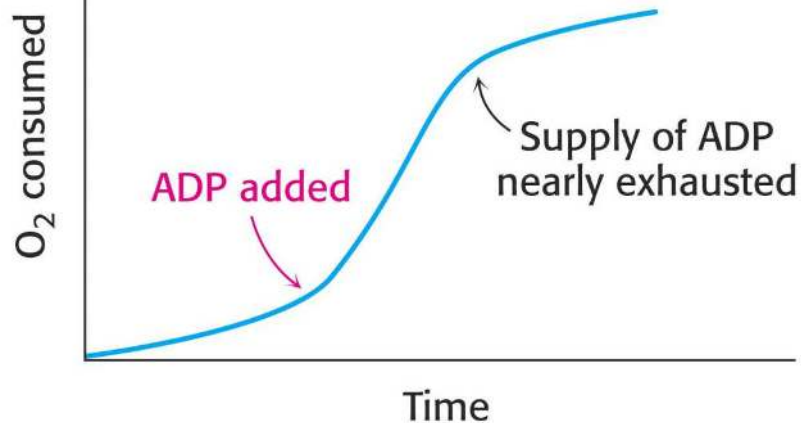


22

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## A légzési lánc szabályozása - ADP

Az elektron transzport lánc működését az ADP szabályozza. A légzési láncban ADP jelenlétében nagy intenzitással működik az oxidatív foszforiláció. Az ADP koncentráció csökkenésével az elektron transzport lánc feleslegesen nem működik. Ezt a szabályozást akceptor kontrollnak nevezzük.

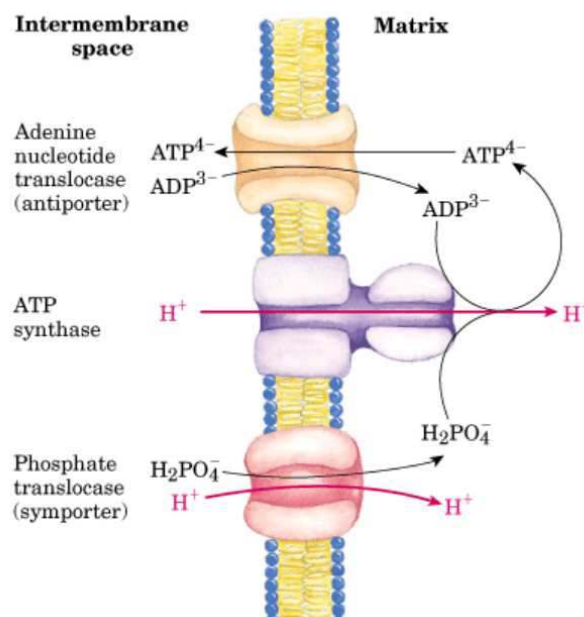


23

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

Hogyan jut át az ATP, ADP és a foszfát a mitokondriális membránon?

A mitokondrium belső membránjában az adenin nukleotid és a foszfát átjutását biztosító transzlokázok működnek.



24

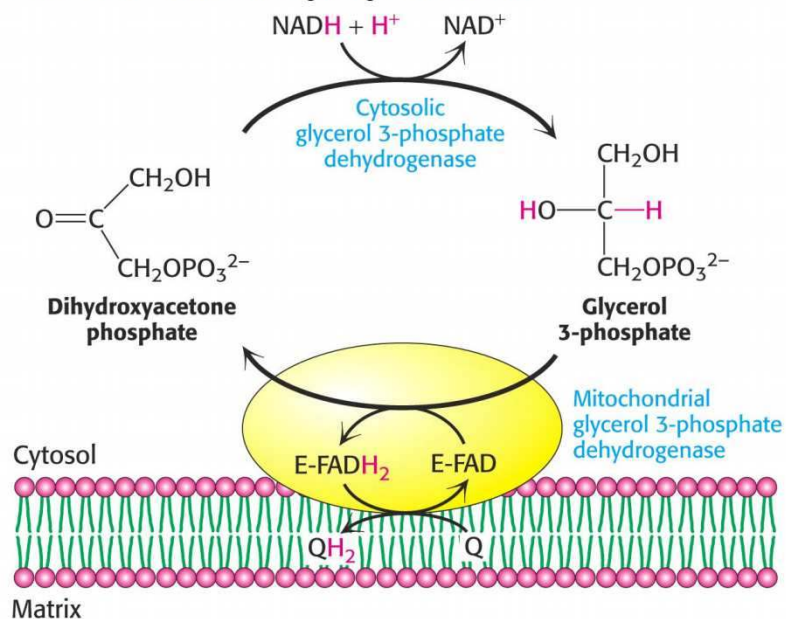
2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás - Dobó József

# Hogyan „közlekedik” a NADH ?

## I. mechanizmus

Ez az egyszerűbb, de rosszabb az energia hatékonysága.

A NADH közvetlenül nem jut be a mátrixba, a kommunikáció reverzibilis redox reakciók segítségével történik



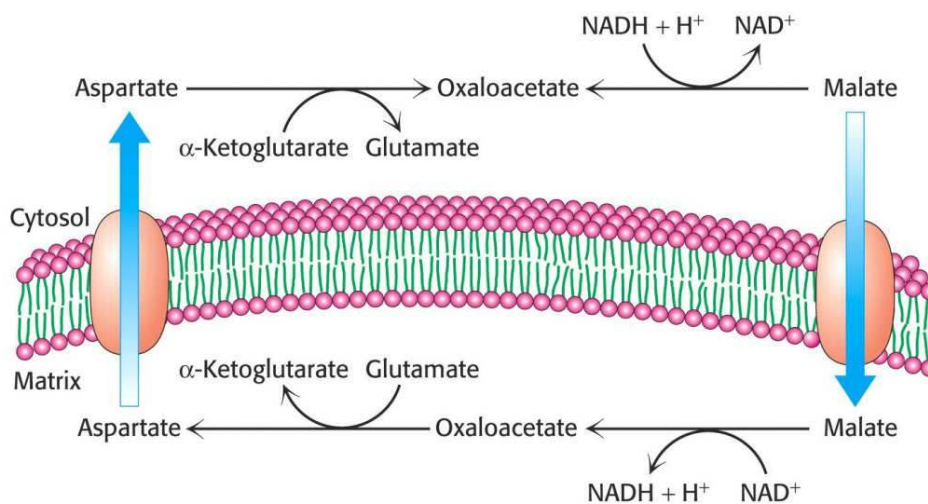
25

# Hogyan „közlekedik” a NADH ?

## II. mechanizmus

### malát – aszpartát inga

A malát-aszpartát ingáját segítségével a citoszólban keletkező NADH redukív kapacitása a mitokondriumban található NAD NADH-vá redukálásaként jelenik meg a membrán mindkét oldalán megtalálható enzimek közreműködésével.



26

# Egy glükóz molekula teljes oxidációjának mérlege: 30-32 ATP

table 19-5

ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose		
Process	Direct product	Final ATP
Glycolysis	2 NADH (cytosolic)	3 or 5*
	2 ATP	2
Pyruvate oxidation (two per glucose)	2 NADH (mitochondrial matrix)	5
Acetyl-CoA oxidation in citric acid cycle (two per glucose)	6 NADH (mitochondrial matrix)	15
	2 FADH <sub>2</sub>	3
	2 ATP or 2 GTP	2
<b>Total yield per glucose</b>		<b>30 or 32</b>

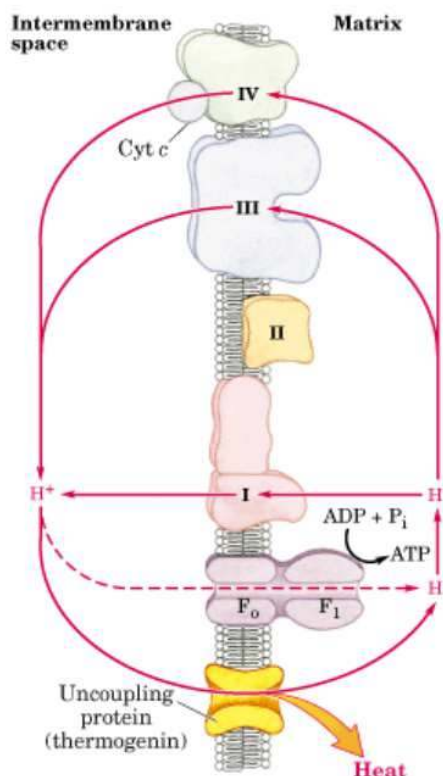
\*The number depends on which shuttle system transfers reducing equivalents into mitochondria.

27

## Pl. a barna zsírszövetben ATP helyett hő termelődik

A thermogenin visszaengedi a protonokat

Az oxidatív foszforiláció szétkapcsolásával nem ATP, hanem hő termelődik.



28

# Amit tudni illik

Az Oxidatív foszforiláció témakörből

## Kémiai képletek:

ATP (korábbról)

## Fogalmak:

mitokondrium felépítése, kemiozmotikus elmélet,  
elektron-transzport lánc (légzési lánc),  
komplex I, II, III, IV, V  
ubikinon, citokróm c  
ATP szintáz, barna zsírszövet,

## Egyenletek:

$$\Delta G = R \cdot T \cdot \ln ( [H_k]/[H_b] ) + z \cdot F \cdot \Delta U$$

29

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

## Kapcsolódó könyvfejezet:

**J.M. Berg, J.L. Tymoczko, L. Stryer: Biochemistry 5th edition  
W.H. Freeman and Co.**

### **18. Oxidative Phosphorylation**

30

2015 - PPKE ITBK - Molekuláris bionika szak - Biokémia előadás- Dobó József

