

MitoSeminář II:

Trochu výpočtů v bioenergetice

MUDr. Jan Pláteník, PhD.
Ústav lékařské biochemie 1.LF UK

(se zahrnutím cenných připomínek, kterými přispěl
prof. MUDr. Jiří Kraml, DrSc.)

1

Dýchací řetězec a oxidativní fosforylace: Souhrn

- * **Proud elektronů** soustavou redoxních kofaktorů dýchacího řetězce na kyslík
- * **Přenos protonů** z matrix mitochondrie na cytosolovou stranu vnitřní mitochondriální membrány (protonový gradient).
Protonmotivní síla = pH gradient + elektrický potenciál
- * Protony se vrací zpět přes *ATP synthasu* and pohání **syntézu ATP.**

2

Bilance oxidativní fosforylace

- Pokud F_0 komplex u savců má 10 c podjednotek: jedna otočka znamená průtok 10 protonů.
- F_1 část má 3 ATP tvořící místa: jedna otočka znamená syntézu tří ATP from ADP + Pi
- **Nejméně 3 H^+ musí být dýchacím řetězcem přeneseny z matrix na výrobu 1 ATP**
- **Další H^+ se spotřebuje na import fosfátu**
- Transport 2 elektronů z NADH na kyslík (komplexy I, III, IV) vypumpuje 10 protonů, z $FADH_2$ na kyslík (komplexy III, IV) 6 protonů.
- **Oxidace 1 NADH produkuje 2.5 ATP**
- **Oxidace 1 $FADH_2$ produkuje 1.5 ATP**

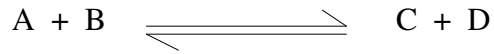
3

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

Chemická reakce může proběhnout jen pokud ΔG je negativní.
(produkty musí obsahovat méně volné energie než výchozí látky)

4

ΔG a chemická rovnováha



$$K_{eq} = \frac{[C_{eq}][D_{eq}]}{[A_{eq}][B_{eq}]}$$

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$



5

Standardní volná enthalpie

$$\Delta G^{o'} = -RT \ln K_{eq}'$$

1.0M, 25 °C pH 7.0

R ... univerzální plynová konstanta 8.3143 J mol⁻¹K⁻¹

T ... absolutní teplota v Kelvinech (298.15 K = 25°C)

$$\Delta G = -RT \ln K_{eq} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$$\Delta G = \Delta G^{o'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

6

Table 1.1 Relationship of the equilibrium constant (K_{eq}) of a reaction* to the $\Delta G^{0'}$ value of that reaction

Approximate $\Delta G^{0'}$ (kJ mol ⁻¹)	K'_{eq}
+17.1	0.001
+11.4	0.01
+5.7	0.1
0	1.0
-5.7	10.0
-11.4	100
-17.1	1000

*For a reaction $A + B \leftrightarrow C + D$, the equilibrium constant is the molar concentration of $C \times D$ divided by that of $A \times B$.

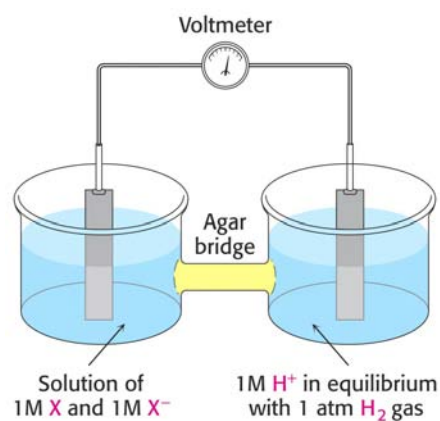
$$\left(K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}\right); K'_{eq} \text{ is the } K_{eq} \text{ at pH 7.0.}$$

7

Redoxní potenciál



Rozdíl afinity k elektronům mezi dvěma redoxními páry, udává se ve voltech.



8

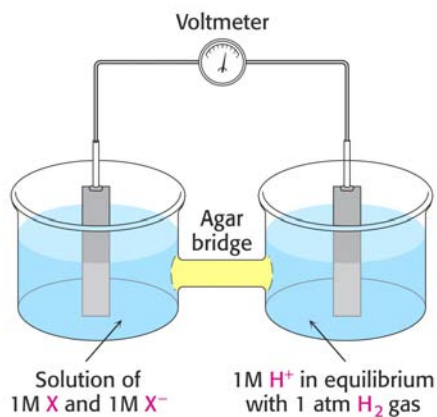
Redoxní potenciál

E° ...standardní redoxní potenciál, 1.0 M, pH 0

$E^{\circ'}$... standardní redoxní potenciál, 1.0 M, pH 7

Referenční vodíková elektroda:

$E^{\circ} = 0.0 \text{ V}$ $E^{\circ'} = -0.42 \text{ V}$



9

Tab. 13-1. Některé významné redox-potenciály v oxidačních systémech savců.

System	E_0' (V)
sukcinát/ α -ketoglutarát	-0,67
H⁺/H₂	-0,42
NAD ⁺ /NADH	-0,32
lipoát; ox/red	-0,29
acetacetát/ β -hydroxybutyrát	-0,27
pyruvát/laktát	-0,19
oxalacetát/malát	-0,17
flavoprotein; ox/red	-0,12
fumarát/sukcinát	+0,03
cytochrom b; ox/red	+0,08
ubichinon; ox/red	+0,10
cytochrom c; ox/red	+0,22
cytochrom a; ox/red	+0,29
O ₂ /H ₂ O	+0,82

(Murray et al.: Harperova Biochemie, H&H 1998)

Vztah mezi volnou enthalpií a redoxním potenciálem

$$\Delta G = -nF \Delta E$$

n .. počet přenášených elektronů

F ... Faradayova konstanta = 96 485 C /mol

C (Coulomb) = J/ V

11

Nernstova rovnice

Udává napětí galvanického článku, případně redoxní potenciál, pro různé koncentrace komponent.

$$\Delta G = \Delta G^{o'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} + \Delta G = -nF \Delta E$$

$$\Delta E = \Delta E^{o'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[OX]}{[RED]}$$

Walther Hermann Nernst (1864-1941): Nobel Prize 1920

Rovnice někdy též zvana Nernst-Petersova

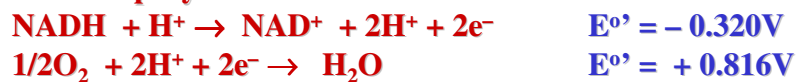
(Peters aplikoval Nernstovu rovnici na oxidoredukční děje)

12

Příklad I: Přenos elektronů z NADH na kyslík:



Redoxní páry:



Pro celou reakci:

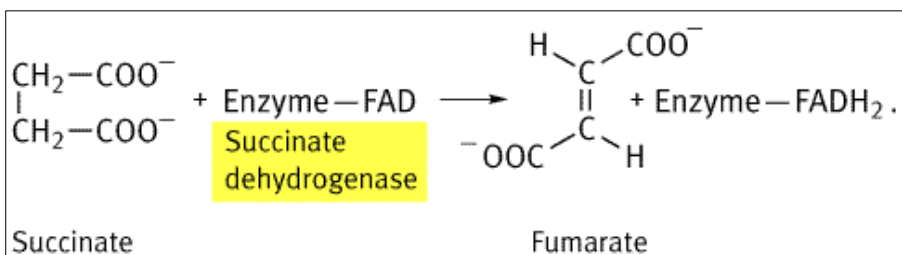
$$\Delta E^{\circ'} = 0.816\text{V} - (-0.320\text{V}) = 1.136\text{V}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E^{\circ'}$$

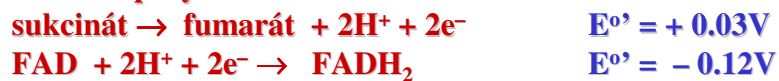
$$\Delta G^{\circ'} = -2(96.5 \text{ kJ V}^{-1} \text{ mol}^{-1})(1.136\text{V}) = \underline{-219.25 \text{ kJ mol}^{-1}}$$

13

Příklad II: Sukcinátdehydrogenasa



Redoxní páry:



$$\Delta G^{\circ'} = -2(96.5 \text{ kJ V}^{-1} \text{ mol}^{-1})(-0.15\text{V}) = \underline{+28.95 \text{ kJ mol}^{-1}}$$

Reakce nemůže probíhat ???

14

Příklad II: Sukcinátdehydrogenasa

Redoxní páry:



Ale, jestliže je fumarát odebírán další reakcí, stejně tak FAD reoxidováno, skutečné poměry sukcinát/fumarát a FAD/FADH₂ nebudou 1:1

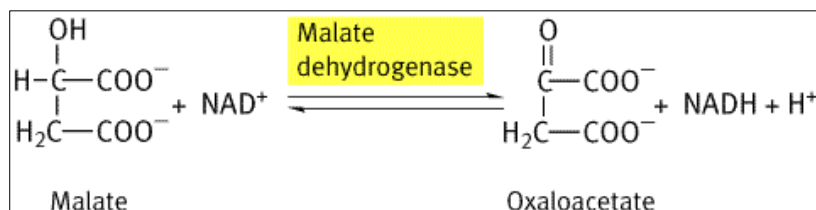
Pokud sukcinát : fumarát bude 500:1, redoxní potenciál soustavy dle Nernstovy rovnice vyjde:

$$\Delta E = \Delta E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{OX}]}{[\text{RED}]} = 0.03 + (-0.08) = - 0.05 \text{ V}$$

$$\text{A pro FAD/FADH}_2 \text{ 500:1 } \Delta E = -0.12 + 0.08 = - 0.04 \text{ V}$$

15

obdobně malátdehydrogenasová reakce:

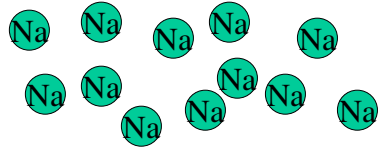


Redoxní páry:



16

Iontový gradient na membráně může konat práci



$$c(\text{Na}^+)_1 = 120 \text{ mmol/l}$$



$$c(\text{Na}^+)_2 = 12 \text{ mmol/l}$$

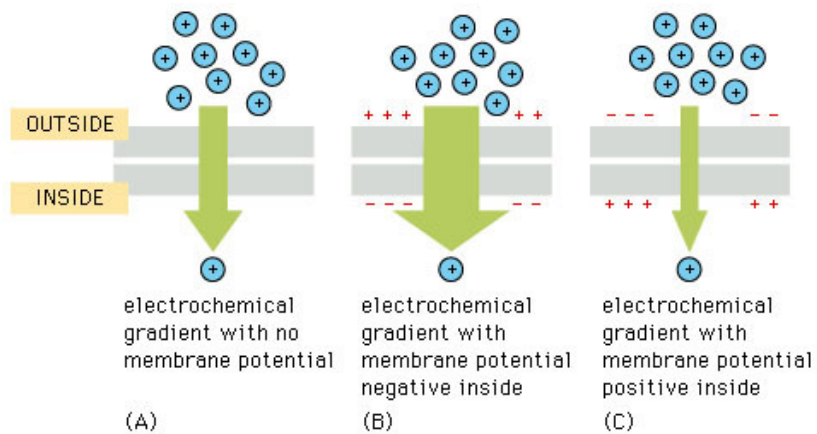
$$\Delta G = -RT \ln \frac{c_1}{c_2}$$

$$= -(8.3143 \times 298.15) \times \ln 10 =$$

$$= -5.7 \text{ kJ/mol}$$

Rovnice platí, jestliže $c_1 > c_2$ (difúze do c_2); pro 37 °C je koeficient – 5.9

17



©1998 GARLAND PUBLISHING

18

Protonmotivní síla

$$\Delta p = \Delta \text{pH} + \Delta \psi$$

Rozdíl v
koncentraci protonů
as 1 jednotka pH
... dle Nernstovy
rovnice odpovídá
asi 60 mV

Elektrický
potenciál na
vnitřní membráně.
Musí se změřit,
udávaná hodnota
např. 160 mV

$$\Delta p = 60 \text{ mV} + 160 \text{ mV} = 220 \text{ mV}$$

19

Účinnost mitochondriální výroby ATP

Oxidace 1 molu NADH vede k přečerpání 10 molů protonů a výrobě 2.5 molu ATP, protonmotivní síla je 220 mV

Oxidace 1 molu NADH: $\Delta G^{\circ} = -219.25 \text{ kJ/mol}$

Protonmotivní síle $\Delta p = 220 \text{ mV}$ odpovídá:

$$\Delta G = \Delta_{\mu} \text{H}^+ = -F \cdot \Delta p = -21.2 \text{ kJ/mol}$$

$\Delta_{\mu} \text{H}^+$
je elektrochemický
protonový gradient

Na přečerpání 10 molů protonů: $\Delta G = 10 \times (21.2) = 212 \text{ kJ}$

...Prakticky veškerá energie z oxidace je převedena do protonového gradientu

20

Účinnost mitochondriální výroby ATP

Oxidace 1 molu NADH vede k přečerpání 10 molů protonů a výrobě 2.5 molu ATP, protonmotivní síla je 220 mV

Oxidace 1 molu NADH: $\Delta G^{\circ} = -219.25 \text{ kJ/mol}$

Protonmotivní síle $\Delta p = 220 \text{ mV}$ odpovídá:

$$\Delta G = \Delta_{\mu}H^{+} = -F \cdot \Delta p = -21.2 \text{ kJ/mol}$$

$\Delta_{\mu}H^{+}$
je elektrochemický
protonový gradient

Na přečerpání 10 molů protonů: $\Delta G = 10 \times (21.2) = 212 \text{ kJ}$

Na 1 ATP je potřeba: $\Delta G^{\circ} = 30.5 \text{ kJ/mol}$,

v buňce reálně (při přebytku ATP): $\Delta G' = \text{asi } 50 \text{ kJ/mol}$

**4 protony vykonají práci 84.9 kJ/mol,
což na 1 ATP bohatě stačí**

21

Účinnost mitochondriální výroby ATP

Oxidace 1 molu NADH vede k přečerpání 10 molů protonů a výrobě 2.5 molu ATP, protonmotivní síla je 220 mV

Oxidace 1 molu NADH: $\Delta G^{\circ} = -219.25 \text{ kJ/mol}$

Protonmotivní síle $\Delta p = 220 \text{ mV}$ odpovídá:

$$\Delta G = \Delta_{\mu}H^{+} = -F \cdot \Delta p = -21.2 \text{ kJ/mol}$$

$\Delta_{\mu}H^{+}$
je elektrochemický
protonový gradient

Na přečerpání 10 molů protonů: $\Delta G = 10 \times (21.2) = 212 \text{ kJ}$

Na 1 ATP je potřeba: $\Delta G^{\circ} = 30.5 \text{ kJ/mol}$,

v buňce reálně (při přebytku ATP): $\Delta G' = \text{asi } 50 \text{ kJ/mol}$

**Oxidace 1 molu NADH poskytuje teoreticky energii na
výrobu 4.4 molů ATP, prakticky se vyrobí 2.5 molu
... účinnost cca 57 % (pro standardní podmínky cca 35 %)**

22