

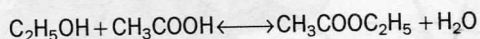
5

PRODUKCJA ATP

5.1

Równowaga chemiczna

W większości procesów zachodzących w organizmach żywych energia pochodzi z reakcji chemicznych. Podobnie jak każda reakcja chemiczna tak i przedstawiona poniżej reakcja estryfikacji przebiega w obie strony.



Po osiągnięciu charakterystycznego dla każdej reakcji chemicznej stężenia produktów i substratów, prędkości reakcji chemicznych przebiegających w obie strony zrównują się i osiągany jest stan równowagi. Dla każdej reakcji chemicznej (w danej temperaturze) istnieje stała równowagi K . Dla przykładowej reakcji:



gdzie: A, B, C, D to odpowiednie substancje chemiczne a $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ to współczynniki stechiometryczne (liczba moli) – stała równowagi jest opisana równaniem:

$$K = \frac{[C]^\gamma \cdot [D]^\delta}{[A]^\alpha \cdot [B]^\beta}$$

gdzie: $[c]$ – stężenie odpowiedniej substancji (A, B, C, D). Dla przykładu dotyczącego reakcji estryfikacji stała równowagi przyjmuje wartość około 4. Dla innych reakcji chemicznych liczba ta może być znacznie większa np. $K = 10^{30}$. Im stała równowagi reakcji chemicznej jest bliższa jedności, tym bardziej stężenia produktów i substratów są do siebie zbliżone. W przykładzie związanym z estryfikacją zmieszanie 1 mola kwasu octowego i 1 mola alkoholu etylowego (lub 1 mola estru octanu etylu i 1 mola wody) spowoduje po pewnym czasie wytworzenie:

$$K = \frac{[\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5] \cdot [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}] \cdot [\text{CH}_3\text{COOH}]} = \frac{2/3 \cdot 2/3}{1/3 \cdot 1/3} = 4$$

2/3 mola estru i wody oraz 1/3 mola kwasu i alkoholu. W zależności od stanu początkowego reakcja chemiczna przebiega w stronę lewą lub w stronę prawą.

Kierunek przesuwania się reakcji chemicznej jest opisywany przez funkcję stanu, zwaną entalpią swobodną G . W stałej temperaturze i pod stałym ciśnieniem entalpia swobodna jest równa pracy odwracalnej, pomniejszonej o pracę objętościową, czyli maksymalnej pracy

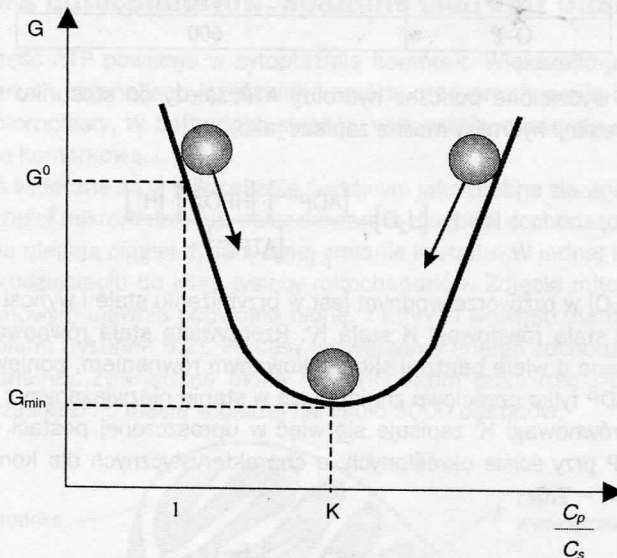
użytecznej. W przypadku reakcji chemicznych (biochemicznych, biofizycznych) praca użyteczna przejawia się przede wszystkim w postaci ciepła, czasem w postaci energii elektrycznej, a niekiedy – np. w układach koloidalnych – pracy powierzchniowej. Bez względu na kierunek reakcji chemicznej, samorzutnie zachodzi tylko ta, dla której zmiana swobodnej entalpii jest mniejsza od zera ($\Delta G < 0$). Reakcja chemiczna przebiega w stronę równowagi, dla której $\Delta G = 0$ (rysunek 5.1). Stała równowagi chemicznej K wyznacza tzw. standardową entalpię swobodną reakcji chemicznej:

$$G^0 = -RT \ln [K]$$

Entalpia swobodna przy stężeniach produktów i substratów różnych od jedności jest równa:

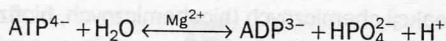
$$\Delta G = G^0 + RT \ln \frac{[C_C]^{\gamma} \cdot [C_D]^{\delta}}{[C_A]^{\alpha} \cdot [C_B]^{\beta}}$$

Różnica entalpii swobodnych jest więc zależna od stopnia odsunięcia stężeń od stanu równowagi G_{\min} .



Rysunek 5.1. W stanie równowagi entalpia swobodna osiąga stan najniższy G_{\min} . Jeżeli stosunek stężeń produktów do substratów jest odsunięty od stanu równowagi w jedną bądź drugą stronę, to powrotowi do równowagi towarzyszy wydzielanie energii

Wszystkie żywe komórki mają zdolność do wytwarzania i magazynowania energii (jednym z nielicznych wyjątków jest tu erytrocyt). W komórce energia jest magazynowana w różnych substancjach, z których najważniejszą jest ATP (adenozynotrifosforan), którego hydroliza do ADP (adenozynodifosforanu) i HPO_4^{2-} (jonu fosforanowego) dostarcza energii wielu innym, endotermicznym procesom chemicznym zachodzącym w komórce. Magnez jest katalizatorem hydrolizy lub bierze udział w tej reakcji.



Należy podkreślić, że używane czasem w biologii pojęcie „wiązań wysokoenergetycznego” nie ma żadnego sensu naukowego (pochodziło z obalanej hipotezy wytwarzania ATP). „Wiązanie wysokoenergetyczne” było przypisywane połączeniu między grupami fosforanowymi w ATP. Z punktu widzenia energii wiązań wiązanie między atomem tlenu i atomem fosforu ma przeciętną wielkość energii – tabela 13.

Tabela 13. Energie molowe wiązań pomiędzy dwoma atomami

Wiązanie	Energia molowa [kJ/mol]
C-C	600
C-H	340
C-N	770
C-O	1070
N-H	310
N-N	940
N-O	630
O-P	600

Ilość energii wydzielona podczas hydrolizy ATP zależy od stosunku stężeń ATP/ADP. Stałą równowagi reakcji hydrolizy można zapisać jako:

$$K' = K \cdot [\text{H}_2\text{O}] = \frac{[\text{ADP}^{3-}] \cdot [\text{HPO}_4^{2-}] \cdot [\text{H}^+]}{[\text{ATP}^{4-}]}$$

Stężenie wody $[\text{H}_2\text{O}]$ w roztworze wodnym jest w przybliżeniu stałe i wynosi 55,6 M. Dlatego możemy zastąpić stałą równowagi K stałą K' . Rzeczywista stała równowagi hydrolizy ATP powinna być opisana o wiele bardziej skomplikowanym równaniem, ponieważ zarówno molekuly ATP, jak i ADP tylko częściowo znajdują się w stanie niezwiązany z jonem magnezu. Równanie stałej równowagi K' zapisuje się więc w uproszczonej postaci sumy wszystkich form ATP, ADP i P przy ściśle określonych, a charakterystycznych dla komórki, stężeniach $\text{Mg}^{2+} = 10 \text{ mM}$ i $\text{pH} = 7,0$:

$$K'_{\text{Mg}^{2+} = 10 \text{ mM}; \text{pH} = 7,0} = \frac{[\sum \text{ADP}] \cdot [\sum \text{PO}_4]}{[\sum \text{ATP}]} = 1,0 \cdot 10^5$$

W cytoplazmie komórek stężenia fosforanów wahają się w niewielkich granicach i wynoszą w przybliżeniu $\sum \text{ATP} + \sum \text{ADP} = 10 \text{ mM}$ i $\sum \text{PO}_4 = 10 \text{ mM}$. Możemy więc łatwo wyliczyć, że efekt energetyczny procesu hydrolizy ATP nie przyniesie zysku energetycznego ($\Delta G = 0$), gdy stężenie ATP = 1 nM:

$$\sum \text{ATP} = \frac{\sum \text{ADP} \cdot \sum \text{PO}_4}{K'} = \frac{10^{-2} \cdot 10^{-2}}{10^5} = 10^{-9} [\text{Mol}]$$

Gdyby stężenie ATP w komórce było mniejsze od 1 nM, wtedy korzystna energetycznie byłaby reakcja syntezy ATP z ADP i fosforanu. W tabeli 14 podano wielkość efektu energetycznego hydrolizy ATP w zależności od stężenia ATP w komórce.

Tabela 14. Wielkość efektu energetycznego hydrolizy ATP w zależności od stężenia ATP w komórce. Założono, że w komórce stężenia są następujące $\Sigma\text{ATP} + \Sigma\text{ADP} = 10 \text{ mM}$, $\Sigma\text{PO}_4 = 10 \text{ mM}$, $\text{Mg}^{2+} = 10 \text{ mM}$, $\text{pH} = 7,0$

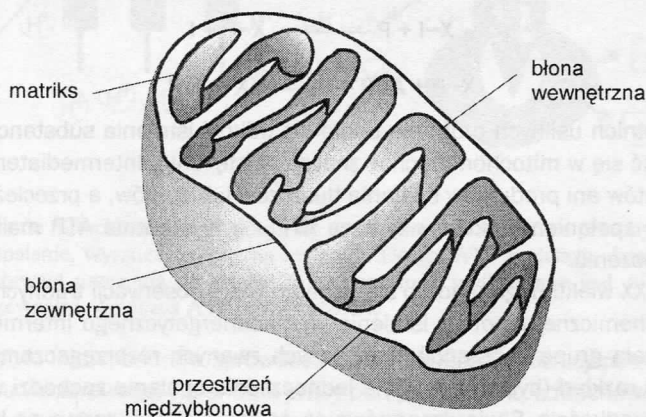
ΣATP [Mol]	ΔG [kJ/Mol]
$1 \cdot 10^{-9}$	0
$1 \cdot 10^{-7}$	-11,4
$1 \cdot 10^{-5}$	-22,8
$1,1 \cdot 10^{-3}$	-34,2
$9 \cdot 10^{-3}$	-45,6

5.2

Budowa mitochondriów, spalanie cukrów i tłuszczów

Niewielka część ATP powstaje w cytoplazmie komórek. Większość jest produkowana w wyspecjalizowanych organellach (częściach komórki otoczonych swoją błoną), takich jak mitochondria i chloroplasty. W bakteriach systemy wytwarzające energię również związane są z błoną – błoną komórkową.

Mitochondria widoczne są w mikroskopie świetlnym jako drobne ziarenka kuliste (o średnicy dziesiątych części mikrometra) lub pałeczkowate o długości dochodzącej do 3 mikrometrów. Mitochondria ulegają ciągłej dynamicznej zmianie kształtu. W jednej komórce znajduje się zwykle od kilkudziesięciu do kilku tysięcy mitochondriów. Zdjęcie mitochondrium w mikroskopie elektronowym ujawnia podwójną błonę, z których wewnętrzna ma wiele wpukleń zwanych grzebieniami (rysunek 5.2). Procesy wytwarzania energii zachodzą w wewnętrznej błonie mitochondrialnej. Zewnętrzna błona mitochondrium pełni rolę sita molekularnego zatrzymującego cząsteczki o masie większej niż około 5000 daltonów.



Rysunek 5.2. Budowa mitochondrium. Synteza ATP zachodzi na wewnętrznej błonie

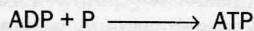
W mitochondriach do produkcji ATP używana jest energia pochodząca z końcowego etapu procesu spalania cukrów, to znaczy kwas pirogronowy CH_3COCOOH przekształca się w acetylokoenzym A (Ac-Co-A), który jest następnie spalany w cyklu kwasów trójkarboksylowych (Krebsa) do CO_2 i wody. Przy przemianie jednej molekuly pirogronianu do Ac-Co-A wytwarzana jest jedna molekula NADH (dinukleotyd nikotynoamido-adeninowy). A przy spalaniu Ac-Co-A w cyklu Krebsa wytwarzane są jeszcze 3 molekuly NADH, 1 molekula FADH i 1 GTP (przekształcanego enzymatycznie do ATP). Molekuly NADH i FADH ulegają utlenieniu, czyli dostarczają wysokoenergetycznych elektronów zapoczątkowujących przemiany zachodzące w mitochondriach.

W mitochondriach zachodzi również końcowy etap spalania tłuszczów – proces β -oksydacji. Kwasy tłuszczowe dzielone są kolejno na dwuwęglowe fragmenty Ac-Co-A, przy czym tworzy się 1 molekula NADH i 1 molekula FADH.

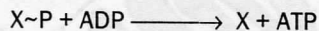
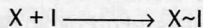
5.3

Teoria chemiosmotyczna Mitchella

Biochemia, nauka rozwijająca się intensywnie w XX wieku, natrafiła od samego początku na trudności w wyjaśnieniu mechanizmu wytwarzania ATP.



Nie było wiadome, co jest źródłem energii do tej endotermicznej reakcji (wymagającej dopływu energii z zewnątrz). Wydawało się, że dobrym kandydatem na substancję dostarczającą energii jest cukier spalany w organizmie, ale zmieszanie ADP z fosforanem i cukrem oraz enzymami pochodzącymi ze zhomogenizowanych mitochondriów nie prowadzi do wytworzenia ATP. Założono wobec tego, że spalanie cukrów prowadzi do wytworzenia tajemniczej substancji, zwanej wysokoenergetycznym intermediatem (pośrednikiem) X~I, który przeprowadza reakcję fosforylacji ADP według serii reakcji:

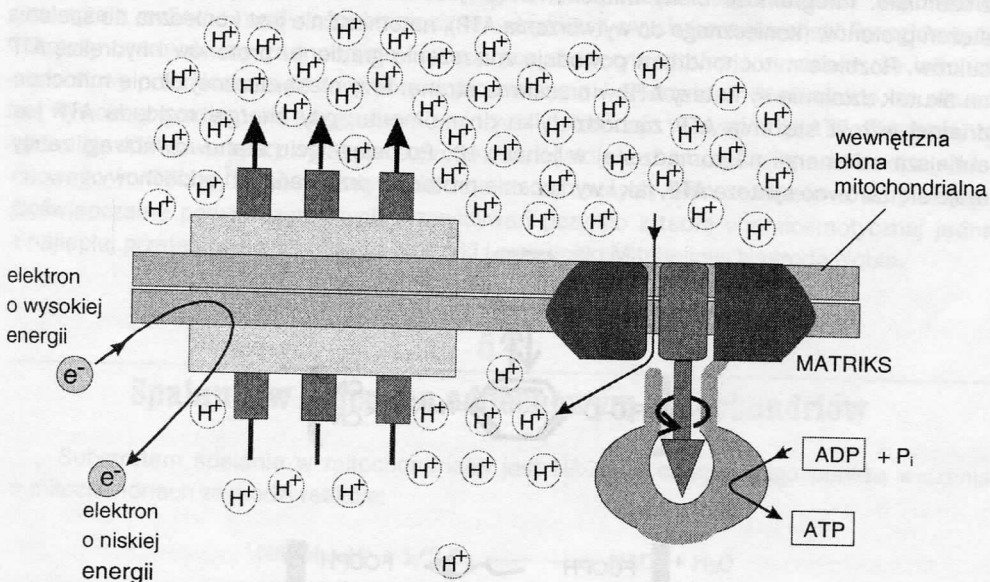


Pomimo wieloletnich usilnych prób, nie udało się odkryć istnienia substancji X~I, która powinna znajdować się w mitochondriach w znacznym stężeniu. Intermediatem nie okazał się żaden z substratów ani produktów spalania tłuszczów lub cukrów, a przecież wykryto powiązanie pomiędzy spalaniem cukrów i syntezą ATP – gdy stężenie ATP malało, to spalanie ulegało przyspieszeniu.

Do połowy XX wieku nagromadziło się ponadto wiele obserwacji trudnych do wyjaśnienia na gruncie biochemicznej hipotezy istnienia wysokoenergetycznego intermediatu. Na przykład poznano całą grupę substancji chemicznych zwanych rozprzęgaczami. Rozprzęgacze wywołują szybki rozkład (hydrolizę) ATP, a jednocześnie spalanie zachodzi w ich obecności z maksymalną prędkością. Stwierdzono również, że antybiotyk oligomycyna hamuje zarówno wytwarzanie ATP, jak i spalanie cukrów, a zastosowany wraz z rozprzęgaczem zapobiega

rozpadowi ATP, lecz nie hamuje spalania. Wykryto również, co było najbardziej zaskakujące z punktu widzenia biochemii, że do wytwarzania ATP konieczne są całe mitochondria z nie-naruszoną błoną. Uszkodzenie błony powodowało szybkie spalanie cukrów i szybki rozkład ATP. Pojawiło się pytanie: dlaczego do wytwarzania ATP wymagana jest integralność błony mitochondrium, a do spalania cukrów i rozpadu ATP – nie?

Wobec wielkich trudności, na jakie natrafiła hipoteza wysokoenergetycznego intermediatu, Mitchell w 1961 r. wystąpił z nową, biofizyczną koncepcją wytwarzania ATP, zwaną hipotezą chemiosmotyczną. Założył on, że w błonie wewnętrznej mitochondrium istnieją dwie odrębne pompy protonowe, z których jedna jest łańcuchem oddechowym, a druga syntetazą ATP – patrz rysunek 5.3. Łańcuch oddechowy jest pompą wyrzucającą protony na zewnątrz mitochondrium. Spalanie powoduje więc zmniejszenie stężenia jonów H^+ i powstanie ujemnego potencjału elektrycznego wewnątrz mitochondrium. Do wyrzucenia kolejnych jonów H^+ potrzebna jest coraz większa ilość energii. Wobec tego łańcuch oddechowy działa tylko tak długo, aż gradient elektrochemiczny protonów $\Delta\mu_H$ osiągnie wartość równą maksymalnej wydajności energetycznej łańcucha oddechowego. Druga pompa, zwana syntetazą ATP, wytwarza ATP, gdy protony wnikają przez nią do wnętrza mitochondrium. Jeżeli gradient protonów ulegnie zmniejszeniu, to ATP-aza zaczyna pracować w odwrotną stronę, wyrzucając z wnętrza mitochondrium protony kosztem hydrolizy ATP do ADP – rysunek 5.3.



Rysunek 5.3. W błonie mitochondrium znajdują się dwie pompy przenoszące protony. Jedna potrójna, napędzana przez spalanie, wyrzuca protony na zewnątrz. Druga, ATP-syntetaza, działa w dwie strony. Gdy protony napływają przez nią do środka mitochondrium, wytwarzane jest ATP. Gdy protony wyrzucane są na zewnątrz, wówczas ATP jest rozkładane

Opis energetyki mitochondriów sprowadza się do określenia różnicy potencjałów elektrochemicznych jonu wodorowego. Na skutek pracy pompy łańcucha oddechowego wytwarzana jest różnica potencjałów elektrochemicznych, czyli różnica energii protonów wewnątrz (indeks w) i na zewnątrz (z) mitochondrium:

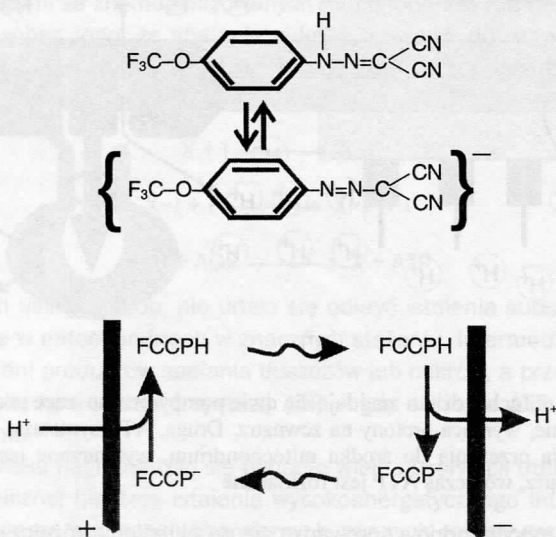
$$\Delta\bar{\mu}_{H^+} = \bar{\mu}_{w,H^+} - \bar{\mu}_{z,H^+} = RT \cdot \ln \frac{c_{w,H^+}}{c_{z,H^+}} - F \cdot (\varphi_w - \varphi_z)$$

gdzie: R - stała gazowa, T - temperatura, F - stała Faradaya, c - stężenie, φ - potencjał elektryczny. W opisie energetyki mitochondriów zamiast różnicy potencjałów elektrochemicznych (wyrażonej w jednostkach energii) przyjęto stosować tzw. siłę protonomotoryczną μ_H (wyrażoną w voltach):

$$\begin{aligned} \mu_H = \frac{\Delta\bar{\mu}_{H^+}}{F} &= \frac{RT}{F} \cdot \ln \frac{c_{w,H^+}}{c_{z,H^+}} - (\varphi_w - \varphi_z) = 60 \text{ mV} \cdot (\text{pH}_z - \text{pH}_w) + (\varphi_z - \varphi_w) = \\ &= 60 \text{ mV} \cdot \Delta\text{pH} + \Delta\varphi \end{aligned}$$

Maksymalna wydajność łańcucha oddechowego wynosi około 220 mV, z tego różnica potencjałów elektrycznych odpowiada za około 180-200 mV, a różnica pH za około 20 do 40 mV. Czyli maksymalna energia, jaką może wytworzyć mitochondrium wynosi około 0,22 eV = $3,5 \cdot 10^{-20}$ J (około 8,5 kT).

Hipoteza chemiosmotyczna wytłumaczyła zjawiska, które do jej pojawienia się były niezrozumiałe. Integralność błony mitochondrium jest konieczna do wytworzenia gradientu stężeń protonów (koniecznego do wytworzenia ATP), natomiast nie jest konieczna do spalania cukrów. Rozbite mitochondrium powoduje zniszczenie gradientu protonów i hydrolizę ATP na skutek działania syntetazy ATP w przeciwną stronę. Przy nienaruszonej błonie mitochondrialnej wzrost stężenia ATP zachodzi tylko do momentu, gdy energia rozkładu ATP jest mniejsza od energii nagromadzonej w jonach H^+ . Po osiągnięciu stanu równowagi zatrzymuje się zarówno synteza ATP, jak i wyrzucanie protonów przez łańcuch oddechowy.



Rysunek 5.4. Mechanizm działania typowego rozprzegacza. Rozprzegacz przenosi protony ze strony, gdzie jest ich więcej a potencjał elektryczny jest dodatni, na drugą stronę błony. W wyniku tego likwidowany jest gradient protonów

Hipoteza chemiosmotyczna tłumaczy również wpływ rozpręgaczy na oddychanie i syntezę ATP. Rozpręgacze są substancjami zdolnymi do przenoszenia protonów przez błonę komórkową. Są słabymi kwasami, których aniony mają ładunek elektryczny zdelokalizowany (rozproszony) po całej molekułe – rysunek 5.4. Jon rozpręgacza, np. FCCP⁻, łatwo rozpuszcza się w błonie (jest hydrofobowy); następnie przenosi się na stronę, gdzie potencjał elektryczny jest bardziej dodatni. Anion rozpręgacza może połączyć się z protonem, zamieniając się w niezdysocjowany kwas FCCPH również rozpuszczalny w błonie. FCCPH może przedyfundować przez błonę i oddać swój proton po drugiej stronie błony, zamieniając się z powrotem w anion FCCP⁻. Anion FCCP⁻ ma tendencję do gromadzenia się po tej stronie błony, której potencjał elektryczny jest bardziej dodatni; przeważnie jest to strona mająca również więcej protonów. Znosząc gradient protonów, rozpręgacze powodują maksymalne przyspieszenie oddychania (niehamowanego już przez rosnące stężenie protonów) i szybką hydrolizę ATP do ADP.

Oligomycyna jest substancją blokującą syntetazę-ATP (czyli zużywanie protonów). Jej zastosowanie powoduje wytworzenie się gradientu elektrochemicznego protonów hamującego oddychanie (czyli wyrzucanie kolejnych protonów). Dodatkowe użycie rozpręgaczy, które likwidują gradient elektrochemiczny protonów, przywraca oddychanie komórki, nie wpływając na zablokowaną oligomycyną syntetazę-ATP.

W ten sposób hipoteza chemiosmotyczna tłumaczyła nagromadzone wątpliwości i stwarzała liczne możliwości empirycznej weryfikacji swych konsekwencji. Po ogłoszeniu hipotezy chemiosmotycznej podjęto liczne prace eksperymentalne i wykazano, że łańcuch oddechowy przemieszcza protony powodując zmianę pH środowiska. Stwierdzono, że sztucznie wywołany gradient pH lub gradient elektryczny powoduje wytwarzanie ATP. Zbadano, że hydrolizie ATP towarzyszy wyrzucanie protonów. Udało się rozdzielić białka łańcucha oddechowego i ATP-azy, a po wbudowaniu ich do sztucznych błon rozdzielono ich funkcje. Doświadczalne potwierdzenie tych przewidywań uczyniło z teorii chemiosmotycznej jedną z najlepiej przetestowanych hipotez biofizyki i przyniosło Mitchellowi Nagrodę Nobla.

5.4

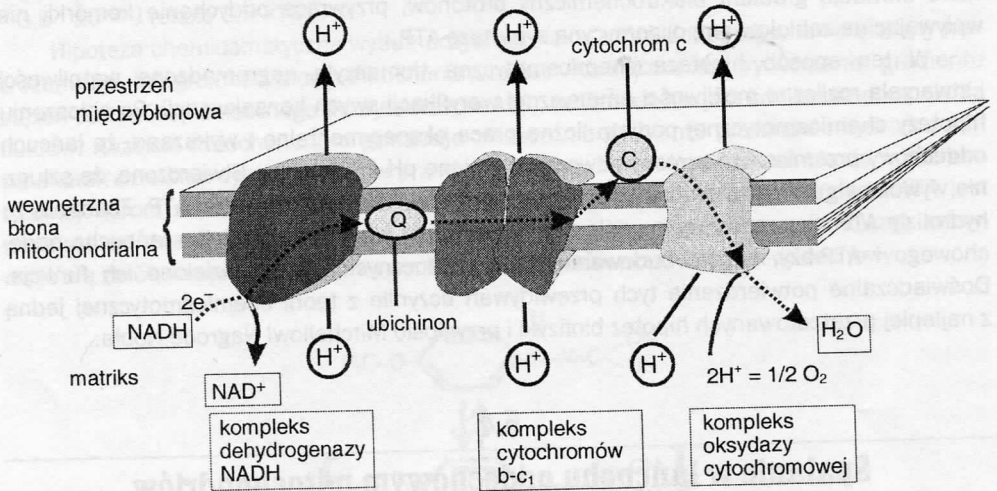
Spalanie w łańcuchu oddechowym mitochondriów

Substratem spalania w mitochondriach jest NADH. Z chemicznego punktu widzenia w mitochondriach zachodzi reakcja:



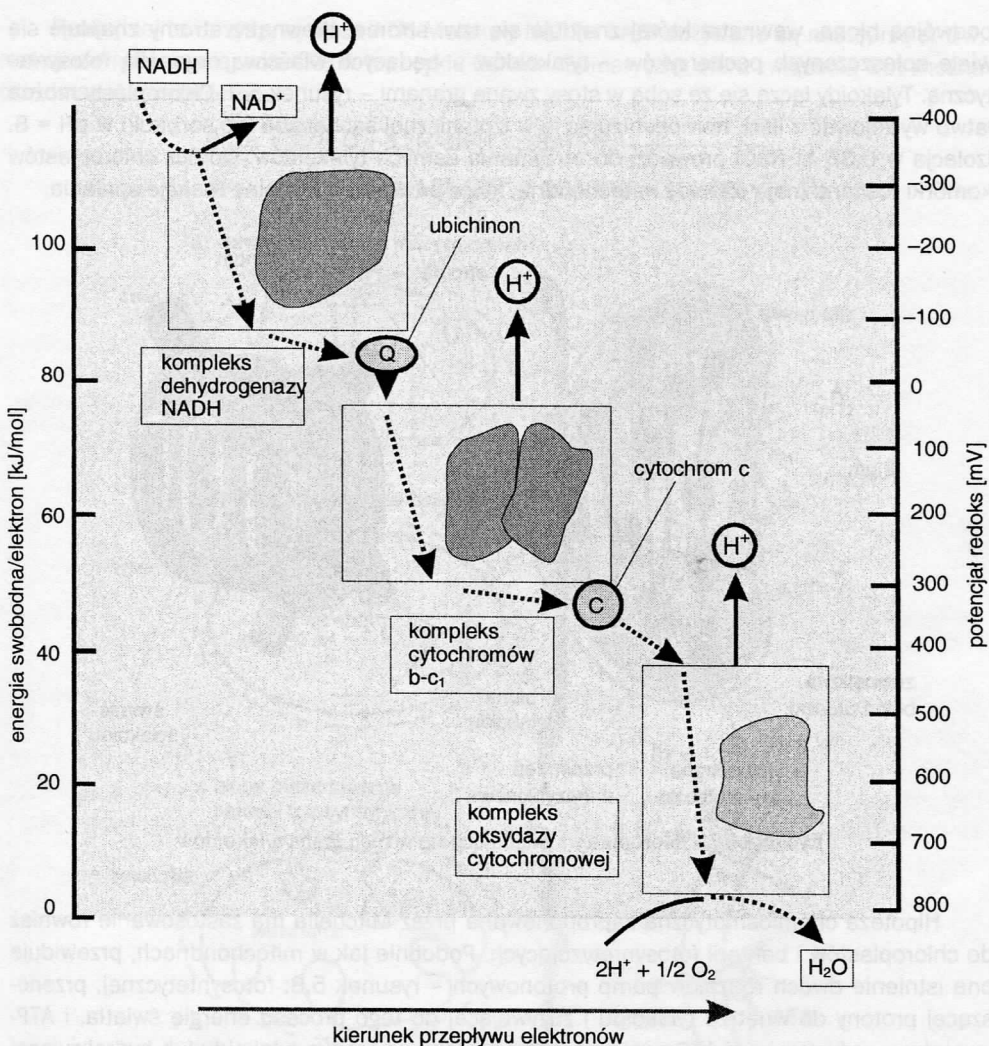
czyli dwa elektrony z molekuly NADH są przenoszone na atom tlenu. W reakcji tej wydziela się energia $4 \cdot 10^{-15}$ J, czyli około 56 kT. Ilość energii wydzielana w tej reakcji jest tak duża, że wystarczyłaby np. na ogrzanie 8 molekuł wody od 20 °C do wrzenia lub 100 molekuł wody o 35 °C. Wydzielenie tak wielkiej ilości energii powodowałoby zbyt duże lokalne podwyższenie temperatury i uszkodzenie molekuł biologicznych. Dlatego w organizmie reakcja spalania zachodzi w kilku kolejno po sobie następujących etapach, polegających na przenoszeniu elektronów na kolejne molekuly. Możemy porównać reakcję spalania zachodzącą w mitochondriach do kaskady, w której zamiast jednego spadku występują trzy duże (i kilka mniejszych).

Z chemicznego punktu widzenia spalanie to przenoszenie elektronów z substratu na tlen. W mitochondriach proces taki rzeczywiście zachodzi. Ponieważ reakcja przekazania elektronów jest typową reakcją redoks, to możemy spadek potencjału elektronu na coraz niższy poziom energetyczny opisać w postaci potencjału redoks. Drogię elektronów w mitochondriach pokazano na rysunku 5.5, a zmianę ich potencjału redoks na rysunku 5.6. Doświadczalnie wykazano, że łańcuch oddechowy jest liniowy i można go przerwać w trzech miejscach stosując odpowiednie inhibitory, kolejno: rotenon, antymycynę A i cyjanek. Rotenon przerywa kaskadę energetyczną elektronów między wartością początkową -320 mV charakterystyczną dla $\text{NADH} + 30$ mV. Dostarczając do zablokowanego rotenonem łańcucha oddechowego nowy substrat – bursztynian – mający potencjał redoks równy $+30$ mV wprowadza się elektrony poniżej potencjału blokowanego przez rotenon i spalanie zaczyna ponownie zachodzić. Ominięcie następnej blokady spowodowanej przez zastosowanie antymycyny A można uzyskać przez zastosowanie TMPD mającego potencjał redoks $+260$ mV. Cyjanek blokuje łańcuch oddechowy na poziomie około $+430$ mV i nie dopuszcza do przeniesienia elektronów z łańcucha oddechowego na tlen, którego potencjał redoks wynosi $+820$ mV.



Rysunek 5.5. Przepływ elektronów przez 3 kompleksy enzymów oddechowych podczas ich przeniesienia z NADH na tlen. Energia przechodzących elektronów jest wykorzystywana do wyrzucania protonów na zewnątrz

Przenoszeniu elektronów przez kolejne substancje w dół kaskady energetycznej towarzyszy wydzielanie energii. Jednak tylko część energii przenoszenia elektronów jest rozpraszana w postaci ciepła, a większość jest magazynowana w protonach, które w trzech miejscach łańcucha oddechowego są na koszt energii elektronów przenoszone ze środka mitochondrium na zewnątrz. Molekularny mechanizm działania pomp łańcucha oddechowego nie jest jeszcze całkowicie wyjaśniony. Nie jest również sprawą całkowicie pewną stechiometria wyrzucanych protonów (nie jest całkiem pewne, czy przejście dwóch elektronów na molekułę tlenu powoduje przeniesienie sześciu czy nieco mniejszej liczby protonów). Niemniej podczas spalania energia jest magazynowana, niczym w akumulatorze, w formie elektrochemicznego gradientu protonów.



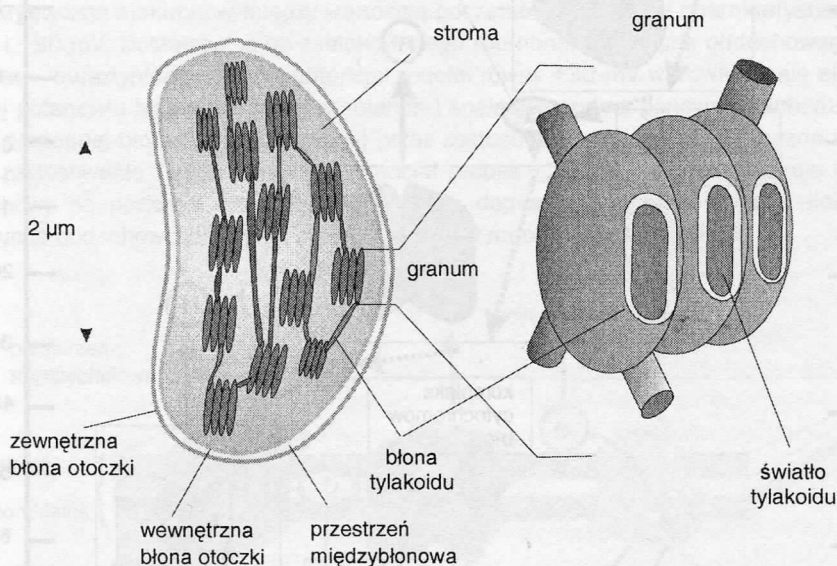
Rysunek 5.6. Spadek potencjału redoks elektronów (i ich energii) podczas przechodzenia z NADH na tlen. Część z energii traconej przez elektrony jest zużywana na wyrzucanie protonów

5.5

Synteza ATP w chloroplastach i bakteriach

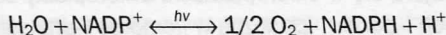
Spalanie związków organicznych w łańcuchu oddechowym jest jednym ze źródeł energii do syntezy ATP w organizmach żywych, innym źródłem energii jest światło. Przekształcanie energii świetlnej w ATP odbywa się w chloroplastach. Chloroplasty są organellami charakterystycznymi dla roślin wyższych i glonów. Ich liczba w komórce waha się od jednego do stu. Średnica chloroplastów wynosi 4 do 10 μm, a grubość od 1 do 2 μm. Chloroplast jest otoczony

podwójną błoną, wewnątrz której znajduje się tzw. stroma. Wewnątrz stromy znajduje się wiele spłaszczonych pęcherzyków – tylakoidów – będących właściwą organellą fotosyntezy. Tylakoidy łączą się ze sobą w stopy zwane granami – rysunek 5.7. Chloroplasty można łatwo wyizolować z liści, homogenizując je w izotonicznej sacharozie lub sorbitolu w pH = 8. Izolacja w 0,35 M NaCl prowadzi do otrzymania samych tylakoidów. Oprócz chloroplastów komórki roślinne mają również mitochondria, które prowadzą normalne reakcje spalania.

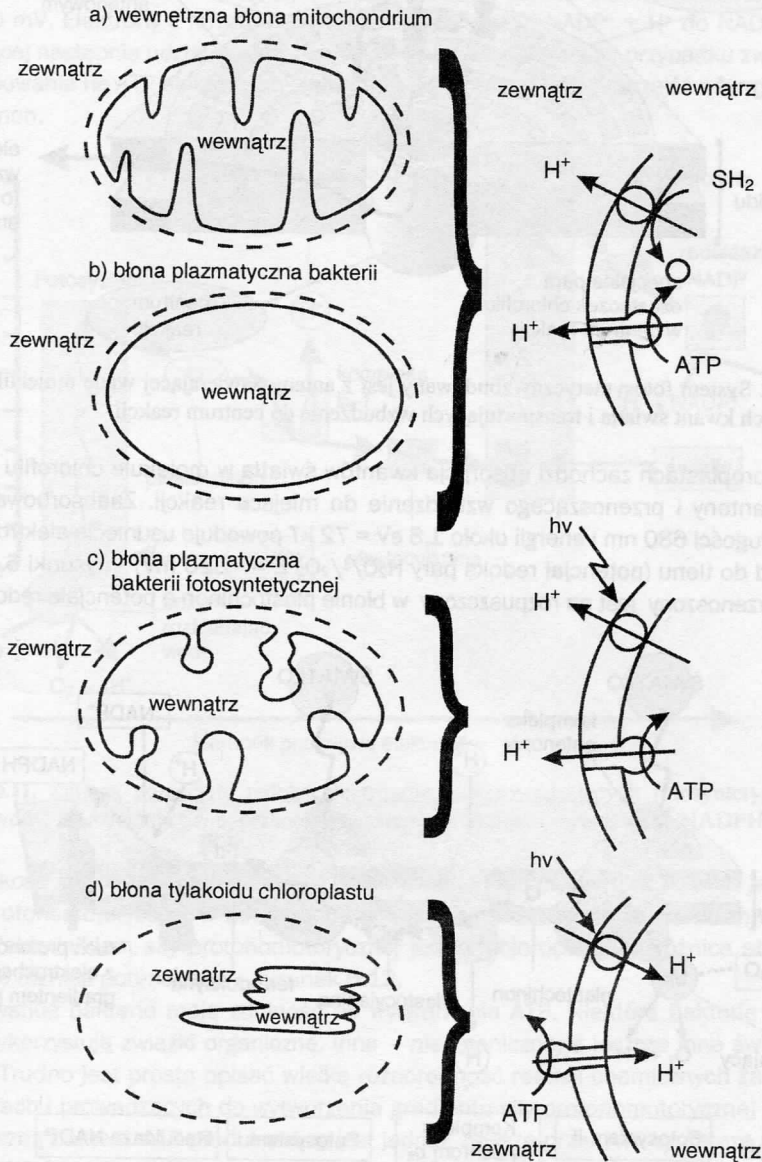
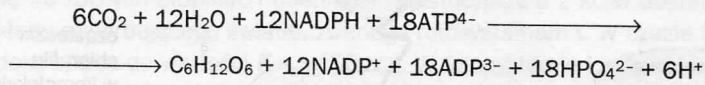


Rysunek 5.7. Chloroplasty i znajdujące się w nich grana tylakoidów

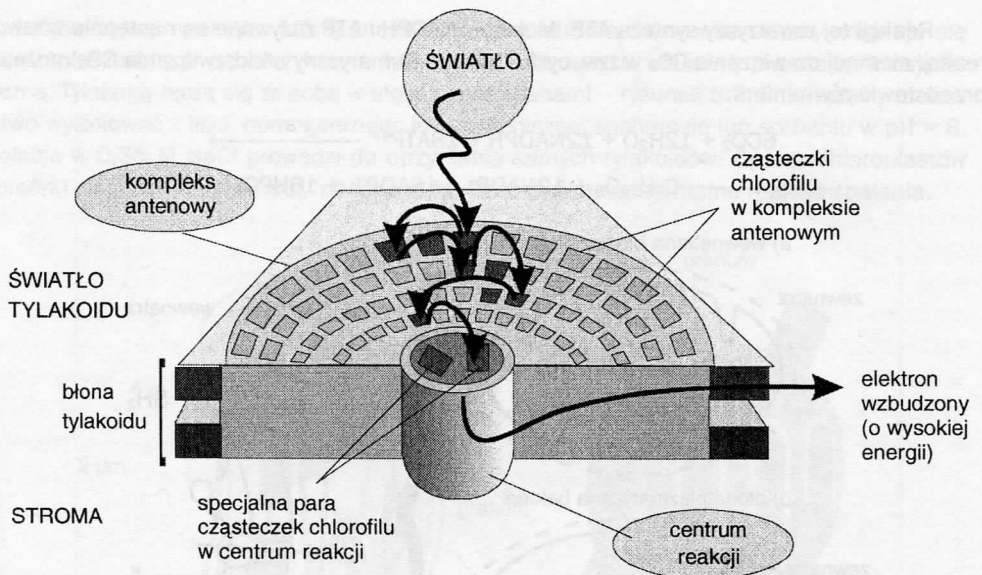
Hipoteza chemiosmotyczna zaproponowana przez Mitchella ma zastosowanie również do chloroplastów i bakterii fotosyntetyzujących. Podobnie jak w mitochondriach, przewiduje ona istnienie dwóch rodzajów pomp protonowych – rysunek 5.8: fotosyntezy, przenoszącej protony do wnętrza tylakoidu i zużywającej do tego procesu energię światła, i ATP-syntetazy, wytwarzającej ATP przy przepływie protonu ze środka tylakoidu lub hydrolizującej ATP z wyrzuceniem protonu w przypadku za małego gradientu elektrochemicznego napędzającego tę pompę (porównaj rysunek 5.3). Tylakoid chloroplastu jest miejscem reakcji fotosyntezy. Kwanty światła padające na tylakoid są absorbowane przez zielony barwnik – chlorofil. Absorpcja kwantu światła powoduje wybicie elektronu i przeniesienie go na wyższy poziom energetyczny. Większość molekuł chlorofilu pełni funkcje anten zbierających fotony i przekazujących wzbudzenie poprzez elektrony do właściwego miejsca reakcji. Na każdy chlorofil prowadzący reakcję przypada około 2500 molekuł chlorofilu pełniących funkcję anten zbierających kwanty światła – rysunek 5.9. W centrum reakcji zachodzi rozkład wody na tlen i wodór oraz elektrony, które w efekcie końcowym przenoszone są na NADP⁺:



Reakcji tej towarzyszy synteza ATP. Molekuły NADPH i ATP zużywane są następnie w tzw. reakcji ciemnej do wiązania CO₂ w tzw. cyklu Calvina. Sumaryczny efekt wiązania CO₂ można przedstawić równaniem:

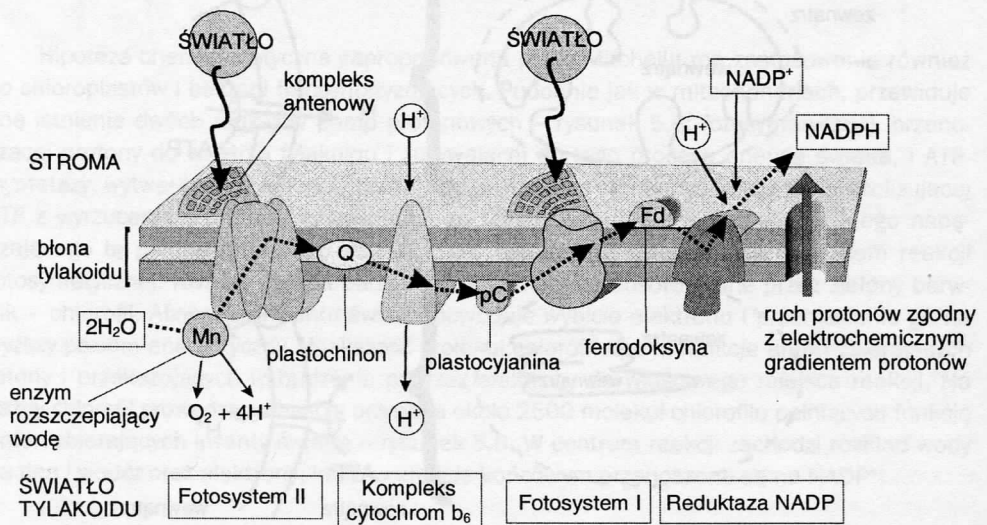


Rysunek 5.8. Struktury błonowe wytwarzające ATP w mitochondriach, bakterii oddychających, bakterii fotosyntetycznych i tylakoidach chloroplastów



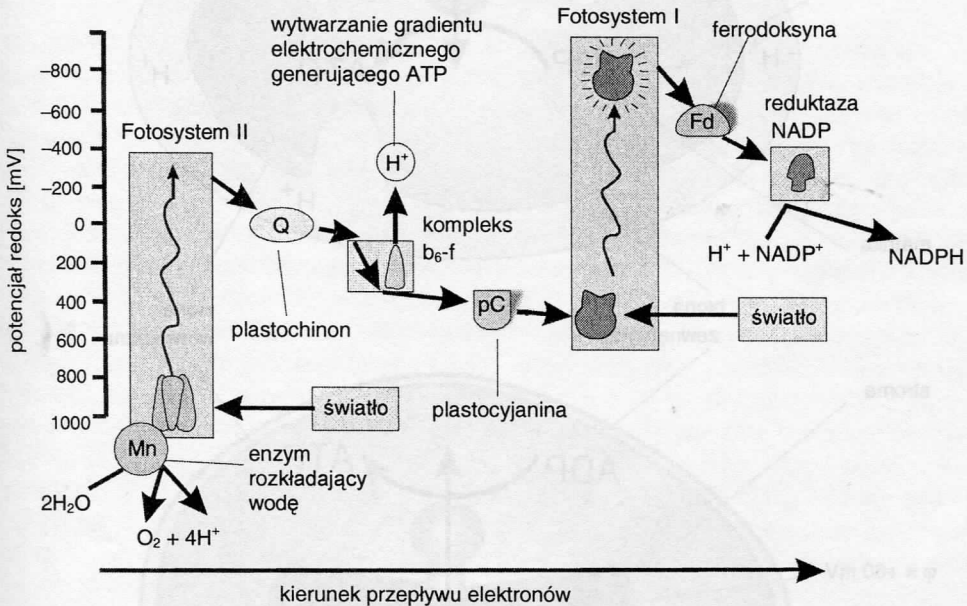
Rysunek 5.9. System fotosyntetyczny zbudowany jest z anteny zawierającej wiele molekuł chlorofilu absorbujących kwant światła i transportujących wzbudzenie do centrum reakcji

W chloroplastach zachodzi absorpcja kwantów światła w molekułach chlorofilu spełniających rolę anteny i przenoszącego wzbudzenie do miejsca reakcji. Zaabsorbowany kwant światła o długości 680 nm i energii około $1,8 \text{ eV} = 72 \text{ kT}$ powoduje usunięcie elektronu z wody i jej rozkład do tlenu (potencjał redoks pary $\text{H}_2\text{O}/\frac{1}{2}\text{O}_2$ $E = +820 \text{ mV}$) – rysunki 5.10 i 5.11. Elektron przenoszony jest na rozpuszczony w błonie plastochinon o potencjale redoks około



Rysunek 5.10. Przepływ elektronów przez kompleksy fotosyntetyczne w błonie tylakoidu

$E = 0$ mV. Plastochinon przenosi elektrony i protony na kompleks cytochromów b_6-f , który pracuje jak pompa przenosząca protony na drugą stronę błony tylakoidu. Odbiorcą elektronów od kompleksu cytochromów b_6-f jest plastocyjanina, w której rolę redoks pełni jon miedzi znajdujący się na różnych stopniach utlenienia. Plastocyjanina z kolei dostarcza elektrony do innego układu absorbującego światło, zwanego fotosystemem I. W czasie tych przemian potencjał redoks spada do wartości $E = +450$ mV. W fotosystemie I inny chlorofil absorbuje kwant światła o długości mniejszej niż 700 nm i przenosi elektrony na ferrodoksynę $E = -530$ mV. Elektrony z ferrodoksyny prowadzą redukcję $NADP^+ + H^+$ do NADPH – molekuly biorącej następnie udział w wiązaniu CO_2 w tzw. cyklu Calvina. W przypadku zwiększonego zapotrzebowania na ATP elektron z układu fotosyntetycznego I może przejść z ferrodoksyny na plastochinon.

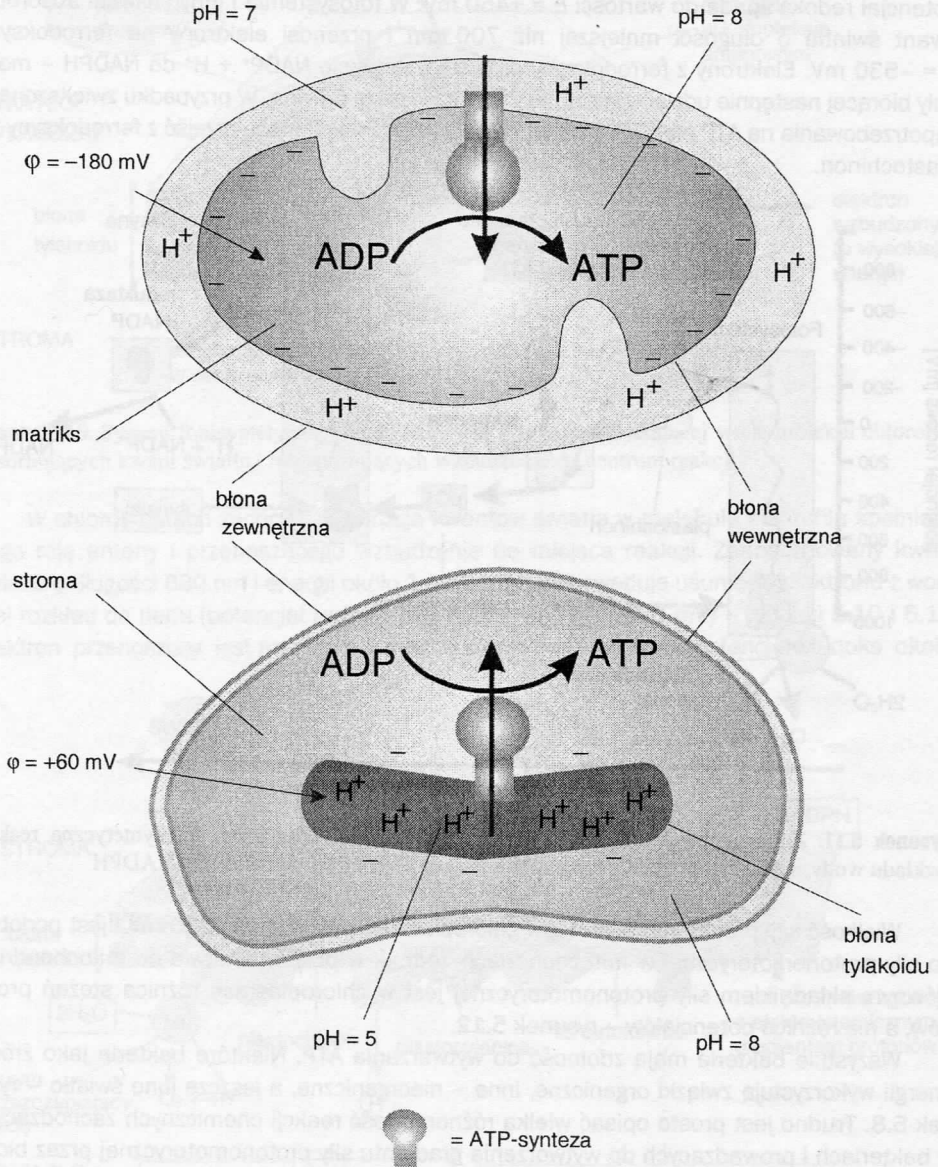


Rysunek 5.11. Zmiana potencjału redoks elektronów przeprowadzających fotosyntetyczną reakcję rozkładu wody, wydzielania tlenu, przepompowywania protonów i wytwarzania NADPH

Wielkość siły protonomotorycznej w chloroplastach wynosi około 230 mV i jest podobna do siły protonomotorycznej w mitochondriach, jednak w przeciwieństwie do mitochondriów głównym składnikiem siły protonomotorycznej jest w chloroplastach różnica stężeń protonów, a nie różnica potencjałów – rysunek 5.12.

Wszystkie bakterie mają zdolność do wytwarzania ATP. Niektóre bakterie jako źródło energii wykorzystują związki organiczne, inne – nieorganiczne, a jeszcze inne światło – rysunek 5.8. Trudno jest prosto opisać wielką różnorodność reakcji chemicznych zachodzących w bakteriach i prowadzących do wytworzenia gradientu siły protonomotorycznej przez błonę plazmatyczną bakterii. ATP produkowany jest jednak zawsze przez ATP-syntetazę wbudowaną w błonę. Wśród bakterii fotosyntetyzujących znajdują się takie, które wykorzystują chlorofil, rozkładają wodę z wydzielaniem tlenu, są więc bardzo podobne do tylakoidów roślin. Wśród

bakterii oddychających znajdują się takie, w których zachodzące reakcje chemiczne są niezwykle podobne do reakcji zachodzących w mitochondrium. Wiele innych bakterii oddychających wykorzystuje inne szlaki metaboliczne (np. fermentację) lub przekształcają związki nieorganiczne, np. utleniając H_2S do siarki, aby uzyskać wysokoenergetyczne elektrony służące do wypompowania protonów wykorzystywanych później do produkcji ATP.



Rysunek 5.12. Porównanie siły protonomotorycznej na wewnętrznej błonie mitochondrialnej (powyżej, głównie różnica potencjałów elektrycznych) oraz w błonie tylakoidu (poniżej, głównie różnica stężeń protonów)

Mechanizm wytwarzania ATP w komórkach bakterii i mitochondriów oraz u bakterii fotosyntetyzujących i chloroplastów jest podobny. Mitochondria i chloroplasty mają swój własny DNA. Wsunięto wobec tego hipotezę, że wzięły one swój początek od symbiontów żyjących wewnątrz innych komórek. Prachloroplasty były podobne prawdopodobnie do cyjanobakterii, a pramitochondria do bakterii purpurowych.

nie-
cha-
jązki
rony

bidu

wyżej,
stężeń