

Ako sa mení energia v živej hmote

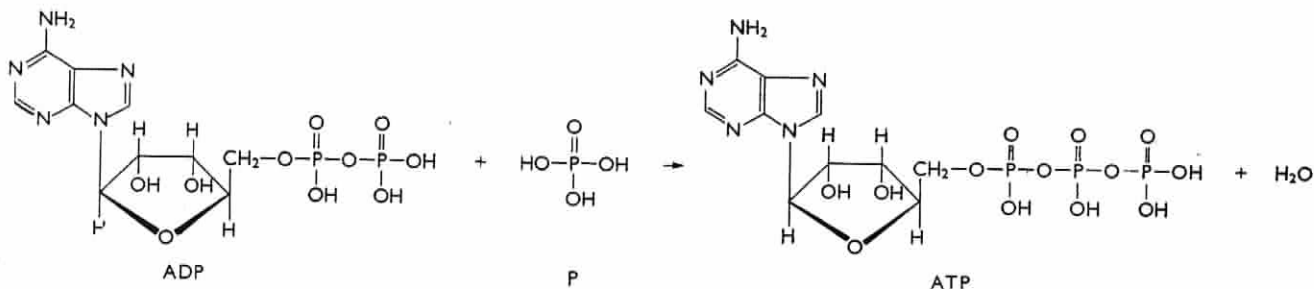
Doc.RNDr.CSc.LADISLAV KOVÁČ
Krajská psychiatrická liečebňa
Pezinok

K výkonu všetkých svojich funkcií potrebujú organizmy energiu. Je všeobecne známe, že základným zdrojom temer všetkej energie, ktorou disponujú živé organizmy, je slnečné žiarenie. Energia slnečného žiarenia je zachytávaná zelenými rastlinami, transformovaná na chemickú energiu organických zlúčenín a v tejto podobe využívaná ostatnými organizmami.

Z energetického hľadiska možno organické zlúčeniny v organizme rozdeliť na tri typy: Prvými sú terciárne zdroje energie. Sú to bielkoviny, polysacharidy, neutrálne lipidy. V nich môže byť energia dlhodobe uskladnená. V okamžiku potreby menia sa tieto látky, väčšinou hydrolytickými reakciami, na sekundárne zdroje energie, čo sú nízkomolekulové organické zlúčeniny, sacharidy, aminokyseliny, organické kyseliny. Chemickou transformáciou zlúčenín prevádza sa chemická energia do chemickej štruktúry kyseliny adenosíntrifosforečnej (ATP), ktorú môžeme považovať za primárny zdroj energie. Chemická energia ATP sa priamo využíva pre výkon takých funkcií, ako je výstavba nukleových kyselín a replikácia génov, syntéza enzýmov, tvorba bunkových membrán, transport látok cez bunkové membrány, svalový pohyb, vedenie nervového impulzu, príjem a spracovanie informácie nervovým systémom.

Ako sa v organizme tvorí ATP?

ATP vzniká v organizmoch z adenosíntrifosforečnej kyseliny (ADP) a anorganického fosforečnanu (P):



Ako každá chemická reakcia, je aj táto reakcia vratná, ale jej rovnováha je silno posunutá na ľavú stranu. Aby reakcia bežala zľava doprava, tj. aby bola ATP syntetizovaná, musí táto reakcia dostávať energiu z iných chemických reakcií. Takýmito reakciami, pri ktorých sa uvoľňuje energia, je rozpad sekundárnych zdrojov energie. Napríklad za anaerobných podmienok, ako vo svaloch pri veľmi aktívnej činnosti, uvoľní sa rozpadom jednej molekuly glukózy toľko energie, že dostane na syntézu dvoch molekúl ATP.

Za prítomnosti kyslíka, v aerobných podmienkach, je rozpad glukózy energeticky oveľa účinnejší. Rozkladom jednej molekuly glukózy za aerobných podmienok uvoľní sa toľko energie, že sa pritom môže syntetizovať 36 molekúl ATP.

Aerobný rozpad organických zlúčenín, spojený s efektívnou syntézou ATP, prebieha v živej bunke vo špecializovaných organelách, mitochondriách (viď V.Kubišta, Vesmír 50, 11, 326, 1971). Proces, ktorým sa chemická energia organických zlúčenín transformuje v mitochondriách na chemickú energiu ATP, sa volá oxidatívna fosforylácia. V učebniciach biochémie sa možno dočítať o tom, ako si biochemici donedávna predstavovali mechanizmus oxidatívnej fosforylácie: Podľa týchto predstáv vodík z organických zlúčenín je vo viacerých dielčích reakciách prenášaný na molekulový kyslík za tvorby vody. Pri týchto dielčích reakciách tvorí sa hypotetická „vysokoenergetická látka“ a tá sa ďalšou chemickou premenou mení na ATP.

Kríza doterajších predstáv o premenách energie

Osemnásť rokov od vytvorenia takejto teórie oxidatívnej fosforylácie, podľa ktorej sú oxidačno-redukčné reakcie a syntéza ATP v mitochondriách spojené spoločným „vysokoenergetickým intermediátom“, pokúšali sa vynikajúci svetoví biochemici teóriu experimentálne dokázať. Veľké úsilie, dokumentované tisíckami vedeckých publikácií, nevedlo však dosiaľ k úspechu. Zdá sa, že výskum bol vedený nie celkom správnym smerom a že teória, ktorú bolo treba dokázať, nebola asi správna. Celá veľká oblasť biochémie, týkajúca sa energetiky živej bunky, nachádza sa už niekoľko rokov v kríze, ktorá sa zdá naznačovať, že klasická teória premeny energie v mitochondriách neodpovedá skutočnosti.

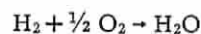
Východisko z krízy naznačuje nová teória, vytvorená anglickým biochemikom Petrom Mitchellom (viď tiež J.Koryta, Vesmír 50, 329, 1971). Ukážeme si, ako vyzerá premena energie v organizme podľa Mitchellovej „chemiosmotickej teórie“.

Zivočíšny organizmus:

Mitochondrie ako palivové články

Chemická energia zlúčenín uvoľňuje sa v mitochondriách v priebehu ich oxidácie molekulovým kyslíkom. Zjednodušene by sme si mohli predstaviť organické zlúčeniny ako rezervoáre vodíka; ako uhlíkové tyče, na ktorých sú navesané vodíkové molekuly. Základná oxidačno-redukčná reakcia v mitochondriách, ktorou sa uvoľňuje

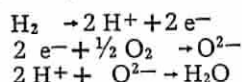
energia, je potom zlučovanie vodíka s kyslíkom za tvorby vody:



Aká veľká je energia, ktorá sa uvoľňuje pri tejto reakcii, vieme z praktického života. Vhodná zmes vodíka a kyslíka po zapálení exploduje; spaľovaním vodíka sa poháňajú reaktívne motory; a kyslíko-vodíkový plameň sa používa tam, kde treba použiť vysokých teplôt.

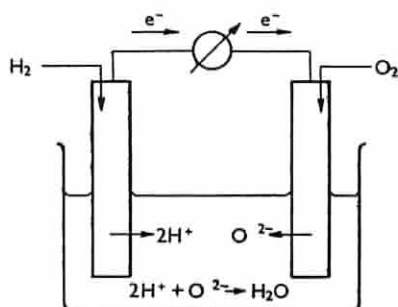
Pri zlučovaní vodíka s kyslíkom prevládajú sa elek-

tróny z vodíkového atómu na kyslíkový atóm, takže súmárna reakcia je vlastne zložená z viacerých dielčích reakcií (e^- je symbol pre elektrón):



Pri horení vodíka v kyslíku sú molekuly oboch plynov v úzkom kontakte, prenos elektrónov sa deje medzi susednými molekulami, je to vlastne akési „krátke spojenie“. Pri takomto usporiadaní celá chemická energia reakcie môže sa uvoľniť jediným spôsobom, vo forme tepla.

Keď sa však zlučovaniu vodíka s kyslíkom nechá prebehnúť tak, aby nedošlo ku „krátkému spojeniu“, uvoľnená chemická energia sa nemusí meniť na teplo, ale na iné formy energie. Takýmto spôsobom vieme uskutočniť túto reakciu v palivovom kyslíko-vodíkovom článku (viď J.Koryta, Vesmír 49, 303, 1970). V tomto článku (obr. 1) je jedna elektróda z ušľachtileho

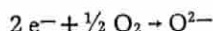


1 Princíp kyslíko-vodíkového palivového článku

kovu sýtená plynným vodíkom a druhá plynným kyslíkom; článok je naplnený vhodným elektrolytom. Keď sa obidve elektródy spoja vodičom, prebieha na vodíkovej elektróde reakcia



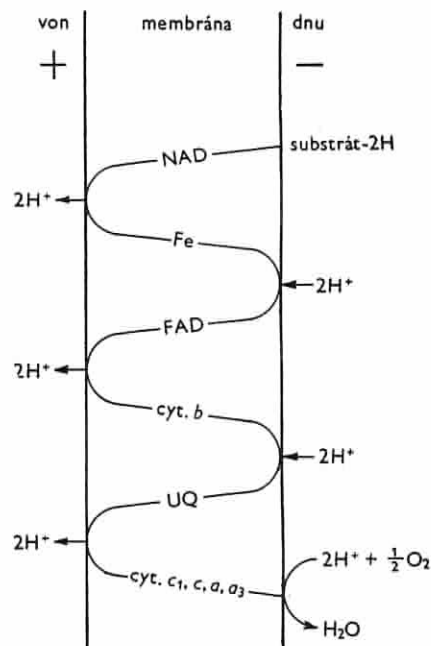
a na kyslíkovej elektróde reakcia



Ióny obidvoch prvkov reagujú vo vodnom prostredí a elektróny sú prevádzané vodičom z vodíkovej na kyslíkovú elektródu. Vcelku prebieha v palivovom článku zlučovanie vodíka s kyslíkom, ale vzhľadom k tomu, že sú elektróny prevádzané z vodíka na kyslík „vonkajším vedením“, energia chemickej reakcie sa neuvolňuje ako teplo, ale mení sa na elektrickú energiu.

Kyslíko-vodíková reakcia prebieha v mitochondriách na podobnom princípe ako v palivovom kyslíko-vodíkovom článku. Jej energia mení sa však pritom na energiu elektrickú len sčasti; ďalšia časť sa premieňa na osmotickú energiu. Obr. 2 ukazuje, ako podľa Mitchella prebieha v mitochondriách zlučovanie vodíka, uvoľneného z organických substrátov, s kyslíkom.

Klasický respiračný reťazec je podľa Mitchellovej predstavy usporiadaný v mitochondriách do niekoľkých „slučiek“ prenášajúcich vodíkové atómy a elektróny z jednej strany mitochondriálnej membrány na druhú. Vodík zo substrátu je na vnútornej strane mitochondriálnej membrány pripojený na nikotínamidadenín dinukleotid (NAD) a prenesený na vonkajšiu stranu membrány. Tam sú z neho odobrané dva elektróny, prenesené na nehémovú zlúčeninu železa (Fe) a ňou opäť transportované na vnútornú stranu membrány, zatiaľ čo vodíkové atómy po zbavení elektrónov sa uvoľnia vo forme protónov do prostredia na vonkajšej strane mitochondriálnej membrány. Elektróny z nehémového železa sa na vnútornej strane membrány pripoja k dvom protónom z prostredia, vytvorené vodíkové atómy sa priviažu na flavinadeníninu-



2 Usporiadanie respiračného reťazca v mitochondriálnej membráne podľa chemi-osmotickej teórie

kleotid (FAD) a zas prenesú na vonkajšiu stranu membrány. Tu opäť dojde k uvoľneniu protónov do média a prenosu elektrónov na vnútornú stranu prostredníctvom cytochrómu *b*. Celý cyklus sa potom ešte raz zopakuje, pričom ako ďalší transportér vodíkových atómov slúži ubichinón (UQ) a elektróny prenášajú cytochrómy *c*₁, *c*, *a* a *a*₃. V konečnej fáze sa elektróny z cytochrómu *a*₃ prenesú na molekulový kyslík a ten reaguje s ďalšími dvomi protónmi na vnútornej strane membrány za tvorby vody. I tu je celková bilancia zložitého procesu jednoduché zlučovanie vodíka a kyslíka. Dômyselným usporiadaním prenášačov elektrónov a vodíkových atómov v mitochondriálnej membráne neuvolní sa energia tejto reakcie ako teplo, ale spotrebuje sa na „pumpovanie“ protónov z priestoru na vnútornej strane mitochondriálnej membrány do priestoru na jej vonkajšej strane. Chemická energia sa mení na osmotickú energiu protónov.

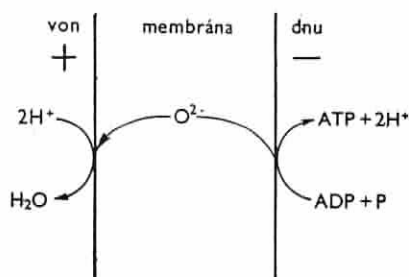
Navyše, keďže protóny majú kladný elektrický náboj a boli prenesené z vnútornej na vonkajšiu stranu, a elektróny so záporným nábojom sú prenášané v opačnom smere, cez mitochondriálnu membránu sa vytvorí rozdiel elektrických potenciálov (tzv. membránový potenciál), s nadbytkom kladných nábojov na vnútornej strane membrány. Okrem osmotického gradientu prispieva aj membránový potenciál k energii, ktorú majú protóny redistribuované v mitochondriách v dôsledku kyslíko-vodíkovej reakcie. Protóny na vonkajšej strane membrány majú schopnosť konať prácu jednak preto, že sú pod tlakom koncentračného gradientu oproti vnútornej strane a jednak preto, že ich „tlačí“ elektrický potenciál, ktorý má s nimi zhodné znamienko.

Ako sa využije osmotická a elektrická energia protónov na syntézu ATP? Povedali sme, že reakcia syntézy ATP má rovnováhu silno posunutú na ľavú stranu. Pre rovnováhu reakcie platí

$$K = \frac{[\text{ADP}][\text{P}]}{[\text{ATP}][\text{H}_2\text{O}]} \approx 5$$

To znamená, že za rovnováhy je vo vodnom prostredí ($[\text{H}_2\text{O}] = 55\text{ M}$) koncentrácia ATP nepatrná.

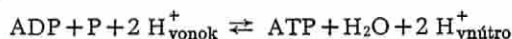
Podľa Mitchellovej predstavy je enzýmový systém, ktorý katalyzuje syntézu ATP, lokalizovaný v mitochondriálnej membráne takým spôsobom, že táto reakcia je



3 Syntéza ATP v mitochondriách podľa chemi-osmotického teórie

nutne spojená s prenosom kyslíkového aniónu cez membránu (obr. 3). Keď dochádza na vnútornej strane mitochondriálnej membrány k syntéze ATP, protóny z vody sa uvoľnia do prostredia, no kyslíkový anión ostáva v membráne, kde môže byť prenesený na vonkajšiu stranu a tam reagovať s protónmi za syntézy vody.

Pri takomto usporiadaní stávajú sa komponentami reakcie syntézy ATP aj protóny na vnútornej a vonkajšej strane mitochondriálnej membrány a reakcia je v skutočnosti



a jej rovnováha je vyjadrená rovnicou

$$K = \frac{\{\text{ADP}\} \{\text{P}\}}{\{\text{ATP}\} \{\text{H}_2\text{O}\}} \cdot \frac{\{\text{H}^+\}_{\text{vonok}}^2}{\{\text{H}^+\}_{\text{vnútro}}^2}$$

Zátvorky {} vyjadrujú elektrochemickú aktivitu komponentov reakcie, ktorá zahŕňa aj vplyv elektrického poľa na príslušné komponenty.

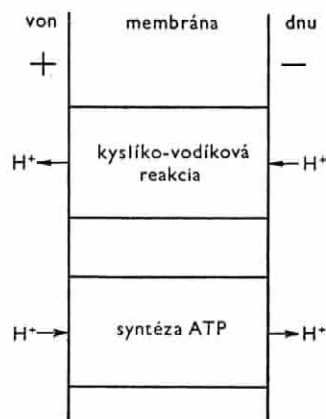
Z poslednej rovnice je zrejme, že za rovnováhy ATP môže v systéme dosiahnuť vysokú koncentráciu, ak je koncentrácia protónov na vonkajšej strane membrány vysoká a na vnútornej strane nízka. A to sú práve koncentračné pomery vytvárané v mitochondriách pri oxidácii substrátov. Z obr. 3 vyplýva, že vysoká koncentrácia protónov na vonkajšej strane membrány bude „ťahat“ kyslíkový anión z vnútornej strany membrány na vonkajšiu a anión bude navyše „tlačný“ záporným elektrickým potenciálom na vnútornej strane; odčerpávanie kyslíkového aniónu bude potom viesť k syntéze ATP. Ako vidieť z obr. 3, formálne sa potom syntéza ATP javí ako ubúdanie protónov na vonkajšej strane a ich pribúdanie na vnútornej strane membrány.

Syntéza ATP sa deje na účet elektrického a osmotického gradientu protónov, vytváraného v mitochondriách kyslíko-vodíkovou reakciou. Medzi oxidačno-redukčnými reakciami a syntézou ATP neexistuje v mitochondriách nijaký „vysokoenergetický intermediát“. Oxidačno-redukčné reakcie v mitochondriách v respiračnom reťazci „pumpujú“ protóny z vnútra mitochondrií na ich vonkajšiu stranu a gradient protónov „poháňa“ syntézu ATP, (obr. 4).

Zelené rastliny: Chloroplasty ako slnečné batérie

Kyslíko-vodíková reakcia je základnou reakciou transformácie energie nielen v mitochondriách, ale aj v chloroplastoch. Zatiaľčo v mitochondriách prebieha však reakcia v smere syntézy vody za uvoľnenia energie, v chloroplastoch má smer opačný, rozklad vody na kyslík a vodík. Na priebeh v opačnom smere spotrebúva reakcia energiu, ktorú majú fotóny slnečného žiarenia, zachytené chlorofylom.

Aj v chloroplastoch dochádza pri transporte elektrónov a vodíkových atómov ku generácii protónového gradientu a membránového potenciálu, ktoré sa potom využívajú na syntézu ATP analogickým mechanizmom ako v mitochondriách.



4 Spojenie syntézy ATP v mitochondriách s kyslíko-vodíkovou reakciou

Ako mitochondrie možno porovnať k palivovému článku, podobajú sa chloroplasty slnečnej batérii, ktorej polovodičový systém zachycuje fotóny a využíva ich na štiepenie vody na vodík a kyslík.

Záver

Chemi-osmotická teória syntézy ATP v mitochondriách a chloroplastoch svojou eleganciou a jednoduchosťou predstavuje východisko zo súčasnej krízy predstáv o transformácii energie v živej bunke. Spočíva na solídnej experimentálnej báze. Dnes vieme práve vďaka tejto teórii, že látky typu dinitrofenolu interferujú s tvorbou ATP v bunke preto, lebo robia mitochondriálnu membránu priepustnou pre protóny a tým rozrušujú protónový osmotický gradient.

Význam tejto teórie nekončí pri výklade mechanizmu oxidatívnej a fotosyntetickej fosforylácie. Jej predstavy o generovaní membránového potenciálu a o vektorovom charaktere chemických reakcií v bunke sú aplikovateľné na iné biologické membrány. Je možné, že intracelulárny transport metabolitov, transferových a možno aj informačných ribonukleových kyselín a snád i bielkovín je založený na chemi-osmotickom princípe. Všeobecné prijatie tejto teórie, ktorá sa zdá byť iba otázkou času, bude znamenať v biológii rovnakú revolúciu akou bolo v minulosti prijatie teórie štruktúry DNA a povahy genetického kódu.

■ E. Jermoljev, J. Pozděna: *Sérologie rostlinných patogenů*, Academia, 1972, 261 str., 64 obr., váz. 36,- Kčs. — Kniha vychází jako další publikace sbírky biologických základů zemědělství. Je monografickou studií první svého druhu nejenom u nás, ale také v zahraničí. V úvodní části jsou uvedeny základní sérologické pojmy a vysvětlena podstata sérologických reakcí. Autoři popsalí nejenom antigenní vlastnosti rostlinných virů, ale také antigenní vlastnosti fytopatogenních bakterií a hub. K závažné kapitole patří zajisté i úsek praktické sérologie, ve kterém jsou uvedeny moderní metody izolace antigenů. Detailně je popsána imunizace zvířat, technika přípravy a konzervace sér. Vyčerpávajícím způsobem jsou rovněž uvedeny všechny doposud známé způsoby zvýšení titerů antisér. Samostatné kapitoly pojednávají o typech sérologických reakcí jak kvalitativních, tak kvantitativních. Dále jsou objasněny příčiny obtíží, které se vyskytují při praktickém provádění sérologických reakcí a možnosti jejich eliminace. Ve speciální části jsou zpracovány přípravy antisér proti virům hospodářsky důležitých plodin. Tuto část doplňuje samostatný úsek přípravy antisér proti některým bakteriím a houbám. Další kapitola pojednává o aplikaci sérologie v praxi zahrnuje organizaci výroby antisér, způsob pěstování rostlin pro účely rostlinné sérologie a zásady chovu laboratorních zvířat. Závěrečná kapitola uvádí praktické návody pro sestavení běžně používaných pufrů a standardních roztoků při přípravě antigenů.

Kniha je cenná zejména tím, že autoři vycházejí z vlastních zkušeností, takže mohli zaujmout kritický postoj k většině uvedených metod. Publikace je přehledná a instruktivní. J. Chod