

# **Mitochondriji**

## **12. tēma**

# Mitochondriji

- [Forma un novietojums šūnā](#)
- [Uzbūve](#)
- [Dalīšanās](#)
- [Mitochondriju DNS](#)
- [Mitochondriju DNS replikācija](#)
- [Mitochondriju genoma ekspresija](#)
- [Mitochondriju membrānas](#)
- [Olbaltumvielu imports mitohondrijos](#)
- [Oksidācija](#)
- [Elektronu pārnese ķēde](#)
- [Fosforilācija](#)

# Mitohondriju atklāšana

Mitohondriji ir pazīstami jau 140 gadus, kopš 1850.g. Kellikers tos atklāja muskuļaudos un nosauca par “sarkosomām”. Šo terminu lieto vēl šodien, lai apzīmētu muskuļaudu mitohondrijus. 1890. gadā Altmans izstrādāja specifisku krāsošanas metodi, izmantojot fuksīnu, lai šīs šūnas sastāvdaļas varētu iekrāsot. Viņš arī izvirzīja hipotēzi par šo daļiņu pašreproducēšanos. 1898. gadā Benda nosauca tos par mitohondrijiem.

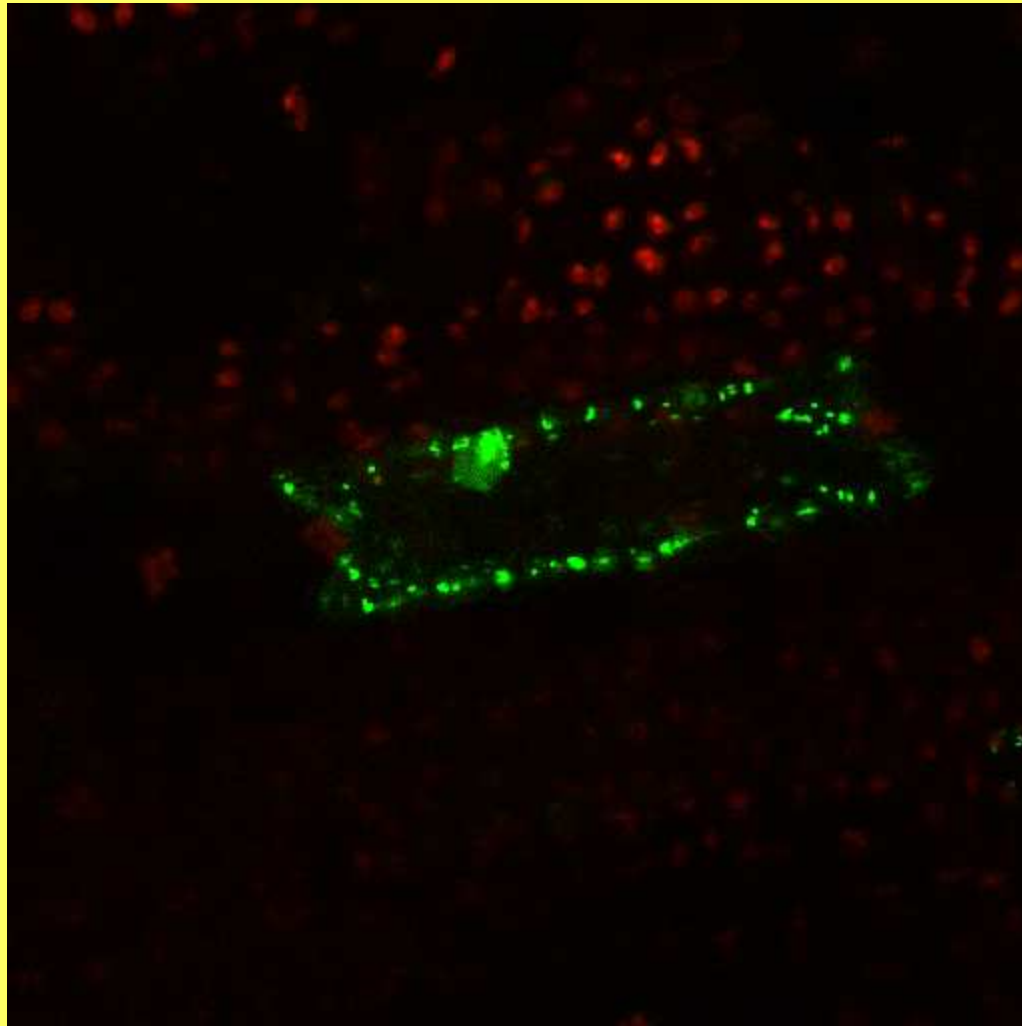
Mitohondriji nav konstatēti prokariotiskajās šūnās (baktērijās un zilaļģēs). Tie ir sastopami visās eikariotu šūnās izņemot divas amēbu sugas - parazitisko *Entamoeba hysolytica* un anaerobajos apstākļos dzīvojošo *Pelomyxa palustris*.

# Mitochondriju forma un novietojums šūnā

Mitochondriju izmēri un forma ir ļoti mainīga. To izmēri svārstās no 1 - 10  $\mu\text{m}$ . Pēc formas tie var būt *pavedienveida, nūjiņveida, elipsveida, lodveida un hantelveida*. Šādas formas atšķirības ir ieraugāmas pat vienā šūnā. Turklāt mitochondriju struktūra ir ļoti dinamiska - tie var *augt garumā, saīsināties, savīties, dalīties* laika periodā, kas ir īsāks par vienu minūti.

Mitochondriju formu un novietojumu regulē šūnas citoskelets.

# Mitochondriju novietojums šūnā



<http://www.biotech.unl.edu/microscopy>

*AX3 Dictyostelium* cells  
containing  
GFP-labeled mitochondria  
and microtubules

Margaret Clarke, PhD  
Oklahoma Medical Research  
Foundation

**1.filma**

*cluA- Dictyostelium* cells  
containing  
GFP-labeled mitochondria  
and microtubules

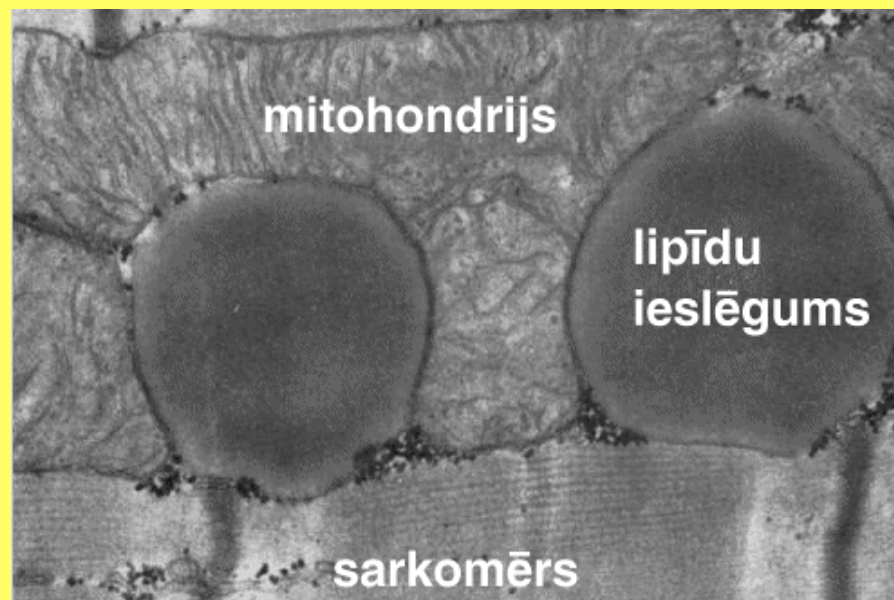
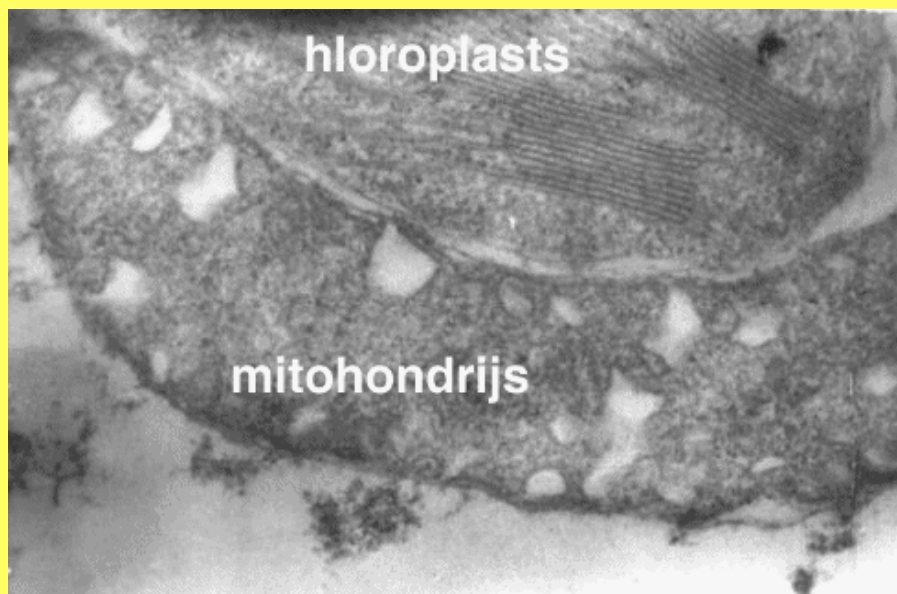
Margaret Clarke, PhD  
Oklahoma Medical Research  
Foundation

**2.filma**

- Filmā demonstrēta proteīna CluA ietekme uz mitohondriju novietojumu. 1. filma rāda proteīna darbību normālos apstākļos. Mitohondriji pārvietojās no MCOC uz šūnas perifēriju. 2. filma rāda mutantu. Šajā gadījumā mitohondriji ir savstarpēji saistīti un ir traucēta to pārvietošana. Dr. John Heuser laboratorija.

[http://mcbi.ouhsc.edu/clarkelab/clarke\\_mov2.html](http://mcbi.ouhsc.edu/clarkelab/clarke_mov2.html)

**Mitohondriji ir lokalizēti tajās šūnu vietās, kur ir vai nu sakoncentrēts substrāts oksidācijai (lipīdu ieslēgumi, hloroplasti u.c.), vai arī enerģiju patērojošās šūnas vietās, piemēram, muskuļaudos gar miofibrillām. Nieru kamoliņu epitēlijā mitohondriji ir lokalizēti bazālās membrānas izaugumos nodrošinot jonu aktīvo transportu pret koncentrācijas gradientu. Nervu šūnās mitohondriji sakoncentrējas sinapšu rajonā, bet fotoreceptorajās šūnās netālu no mīodes. Šāds mitohondriju novietojums novērš enerģijas zudumus ATF transporta laikā.**

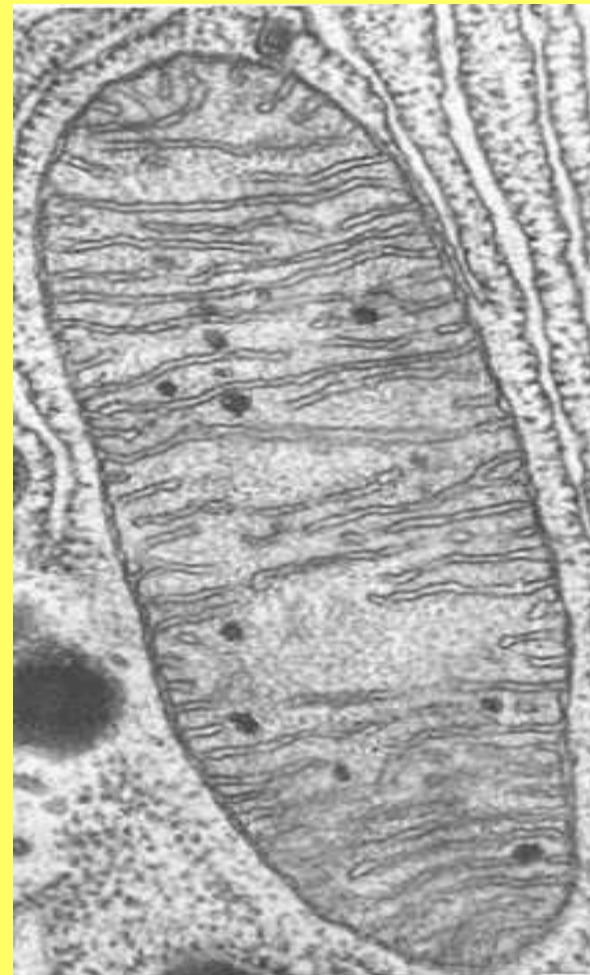
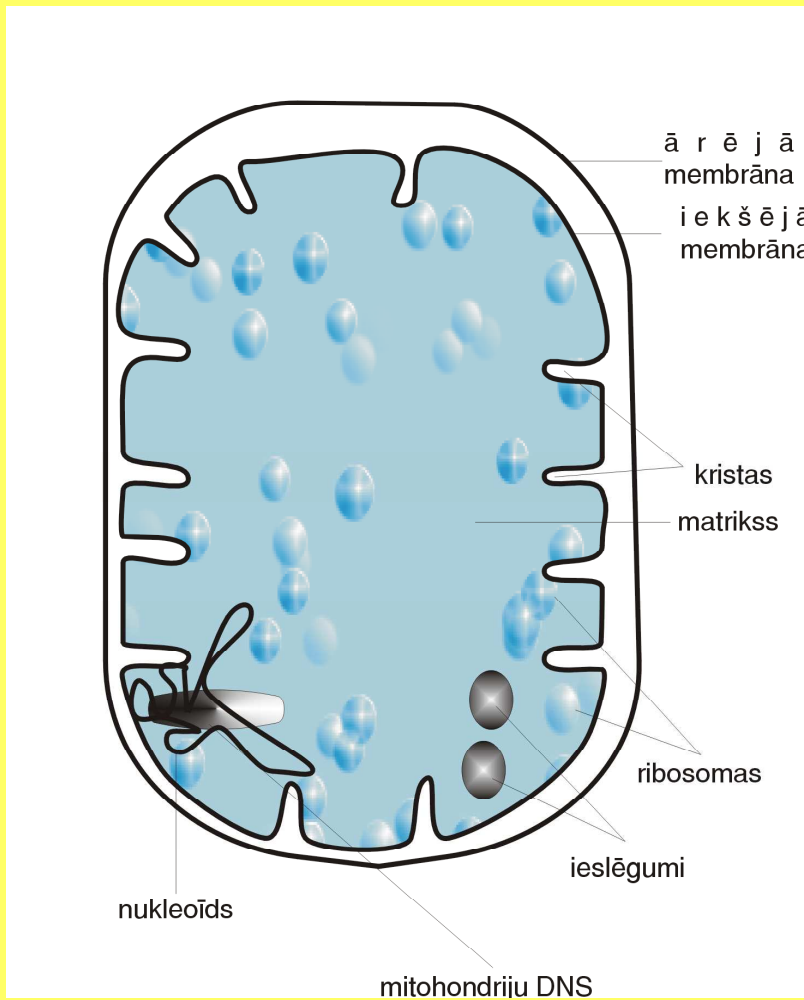


**Mitochondrijos izšķir divu veidu pamatstāvokļus - kondensētais stāvoklis un ortodoksālais stāvoklis. Kondensētā stāvoklī samazinās kristu skaits mitohondrijā, bet palielinās katras kristas tilpums. Līdz ar to kondensētā stāvoklī samazinās mitohondrija iekšējās membrānas virsmas laukums, kas nodrošina aktīvu oksidatīvo fosforilāciju. Mitohondriji ir ortodoksālā stāvoklī, kad šūnā ir zema asimilātu koncentrācija, bet pāriet kondensētā stāvoklī, kad asimilātu koncentrācija ir paaugstinājusies.**



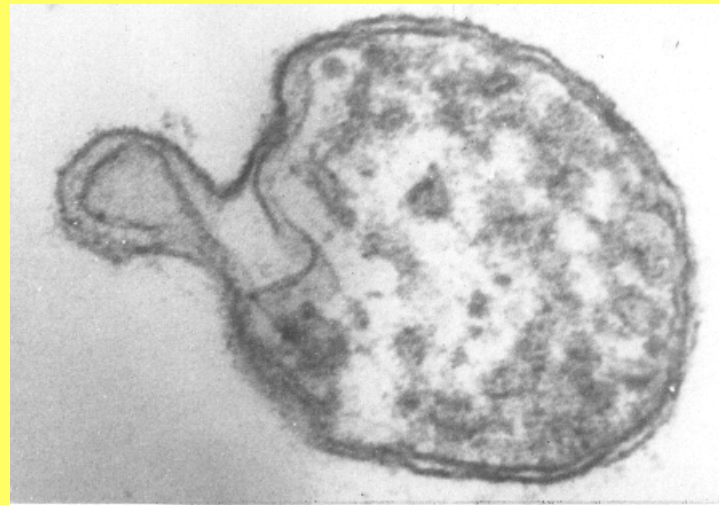
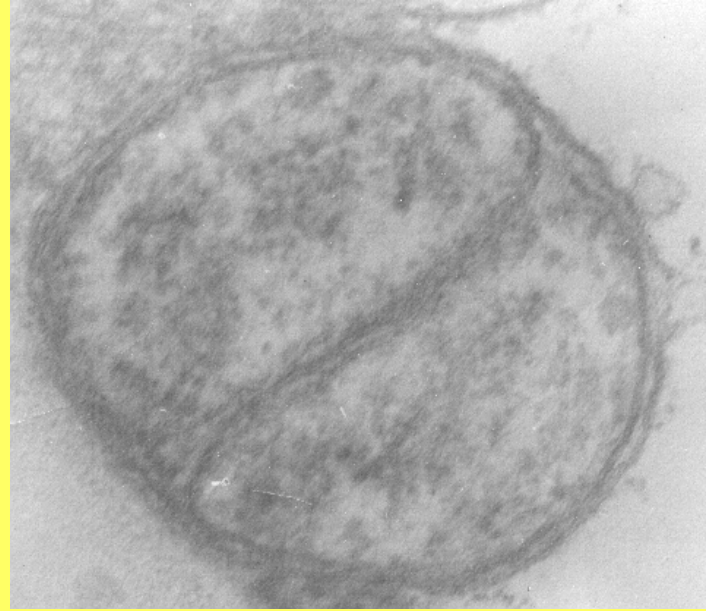
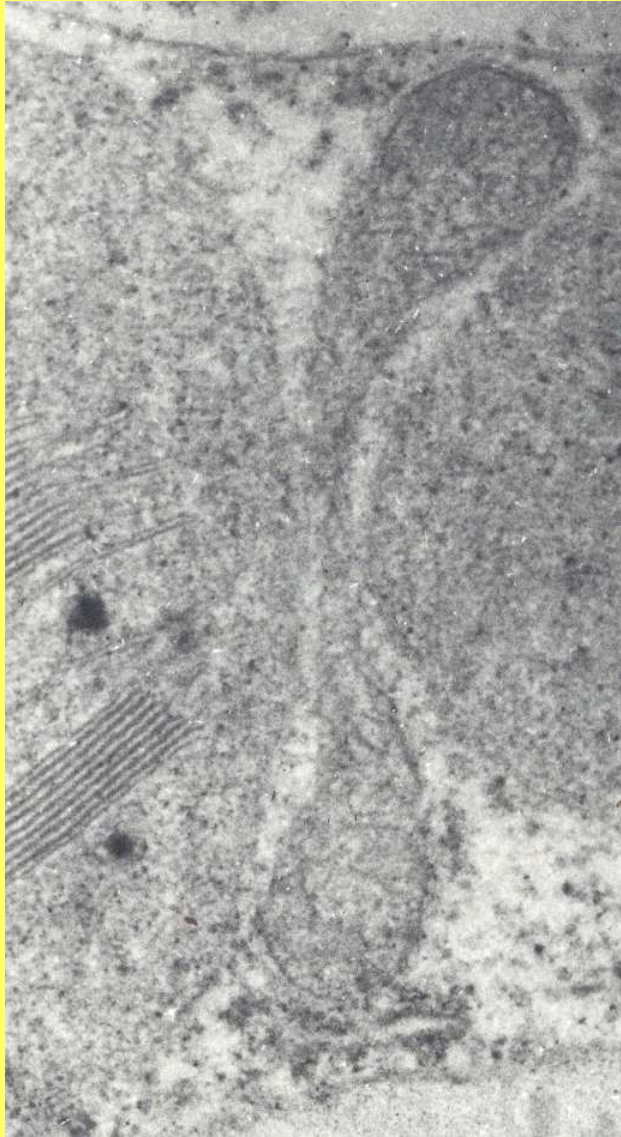
# Mitohondriju uzbūve

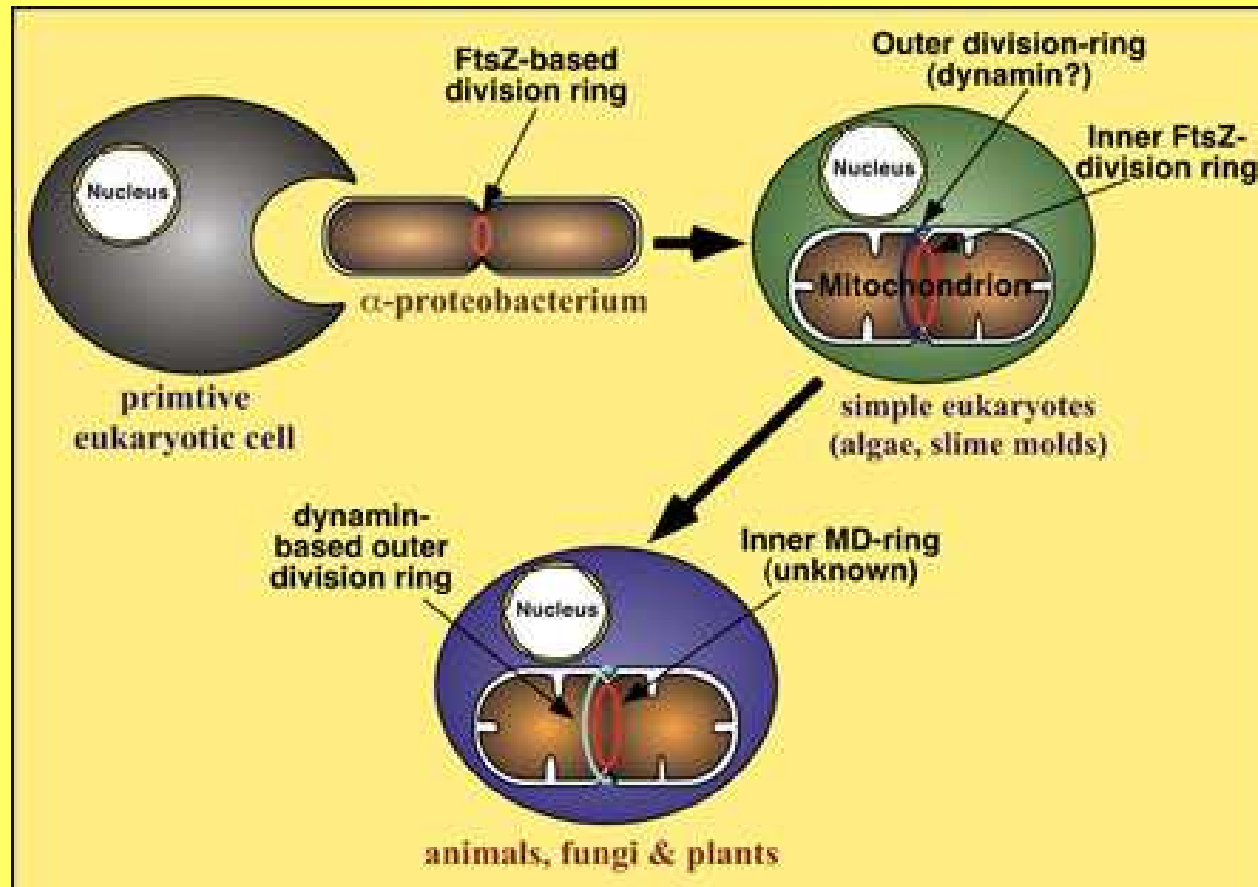
- Ārējā un iekšējā apvalka membrāna.
- Iekšējās membrānas ieliekumus sauc par kristām.
- Matrikss.
- Ribosomas.
- DNS, transkripcijas un translācijas mašīnērija.
- Ieslēgumi.



# Mitochondriju dalīšanās

- Mitochondriju dalīšanās nav atkarīga no kodola cikla stadijas.
- Dalās:
  - 1) ar iežmaugu;
  - 2) pumpurojoties;
  - 3) ar šķērssienu.





[http://agrippina.bcs.deakin.edu.au/beech/Mt\\_div.html](http://agrippina.bcs.deakin.edu.au/beech/Mt_div.html)

# Mitochondriju DNS

- Dzīvnieku mitohondriālo genomu veido apmēram 5  $\mu\text{m}$  garas gredzenveida molekulas, kas atrodas superspiralizētā stāvoklī. Dažos gadījumos konstatē arī nelielas gredzenveida molekulas, kuras kopā ar lielajām var izveidot asociātus.
- Katrs organisms parasti satur vienas izcelsmes mitohondriālo DNS, ko manto pa mātes līniju.
- Vairumā dzīvnieku šūnu ir 1100 - 8800 mitohondriālās DNS molekulas. Tas ir apmēram 1 - 8 molekulas uz katru mitohondriju.
- Mitohondriju DNS kodē apmēram 10% no mitohondriju olbaltumiem.

DNS molekulu skaits ontogēnēzes laikā var arī mainīties. Mitohondriju DNS ir saistīta ar mitohondriju iekšējo membrānu. Mijiedarbība ar membrānas olbaltumiem notiek piecos DNS molekulas iecirkņos, kas ir bagāti ar AT nukleotīdu secībām.

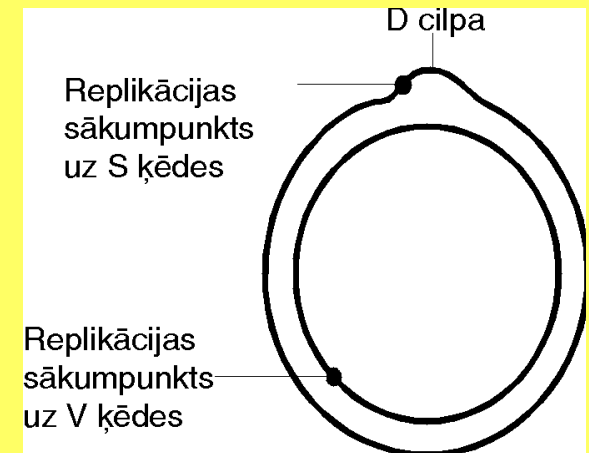
- **Ir izdalītas olbaltumvielas, kas piesaistās pie mitohondriālās DNS. Tām ir neliela molekulārā masa 10 - 16 kD.**
- **Viena no šīm olbaltumvielām nomāc DNS polimerāzes aktivitāti. No mitohondrijiem ir izdalītas ne tikai nelielas DNS ķēdītes - transkripcionāli aktīvi kompleksi, bet arī hromosomveidīgas struktūras.**



- **No vārdes *Xenopus laevis* oocītiem izdalīta superspiralizēta molekula, kuru pārklāj globulāras 48 daļiņas.**
- **Triponosomu un citu vicaiņu gigantiskajos mitohondrijos genomu veido lielas (20 000- 40 000 bp) un mazas (800 - 3000 bp) gredzenveida DNS molekulas. Īsās molekulas veido 90 - 95% no genoma.**

**Cilvēku un citu mugurkaulnieku mitohondriālās DNS organizācija ir stipri līdzīga. To īpatnība ir ļoti blīvs gēnu novietojums. Daudzi gēni ir novietoti viens aiz otra, bet, ja to starpā ir starpgēnu iecirkņi, to garums nepārsniedz dažus nukleotīdus. Tāda novietojuma īpatnība nekur citur dabā nav sastopama.**

- Mitohondrijos abas DNS ķēdes nav identiskas. Lielāko sauc par H ķēdi (smago ķēdi), mazāko par L ķēdi (vieglo ķēdi).
- Ļoti labi ir izpētītas H ķēdes kodējošās iespējas. Tajā esošie gēni kodē rRNS, tRNS un mRNS. Nekodējoša vienīgi ir D cilpa, kas piesaistās pie mitohondriju iekšējās membrānas.



**Mitochondriem rRNS gēnos nav intronu un ribosomālos gēnus pārstāv tikai viena kopija. Analizējot lielās subvienības (16S) rRNS konstatēts, ka tās 3' gals ir homologisks baktēriju 5S rRNS. Konstatēts, ka dažādiem mugurkaulniekiem ir homologiski apmēram 70% no 16S rRNS gēniem. Savukārt, apskatot konservatīvo mazās subvienības rRNS kodējošo gēnu diverģenci, redzams, ka lielāka līdzība ir starp mitochondriju un baktēriju gēniem, nekā kodola un mitochondrija gēniem.**

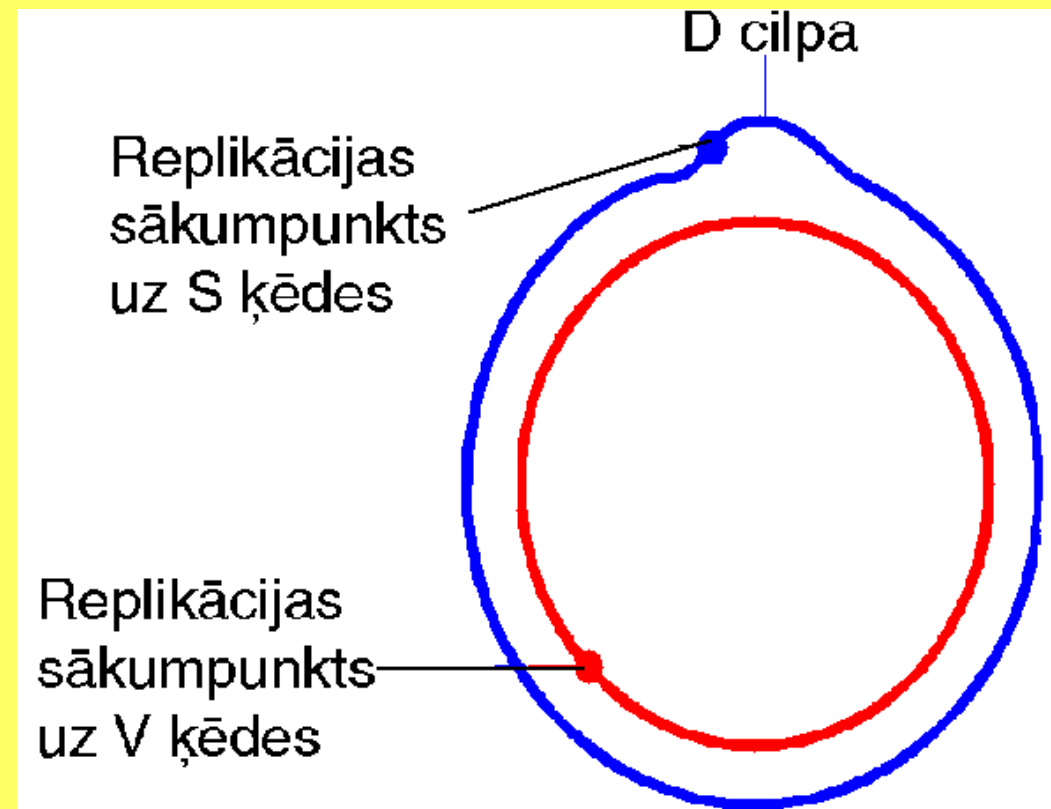
# Mitochondriju DNS replikācija

**Mitochondriālā DNS replikācija norisinās organelas iekšienē ar  $\gamma$ DNS polimerāzes un citu regulatorolbaltumvielu palīdzību.**

**Mitochondrijos DNS sintēze notiek neatkarīgi no kodolu DNS sintēzes. Tā notiek gan miera stāvoklī esošās somatiskajās šūnās, gan šūnās, kas aktīvi dalās. To nosaka īsais mitochondriju dzīves laiks un nepieciešamība daudzkārtīgi dalīties šūnas dzīves laikā. Mitochondrija dzīves laiks ir 8 - 12 diennaktis.**

- **Mitohondriālās DNS polimerāzes sastāvdaļas tiek sintezētas citoplazmas ribosomās. Replikācijā piedalās arī ferments - topoizomerāze, kas nodrošina DNS ķēžu atvīšanu. Topoizomerāze I relaksē pozitīvos vijumus, bet topoizomerāze II katalizē superspiralizāciju un relaksāciju, kā arī veic atgriezeniskus DNS molekulas pārrāvumus. Topoizomerāzes aktivitāti regulē  $Mg^{2+}$  un  $K^{+}$  joni, un ATF koncentrācija.**

**Dažādu tipu DNS molekulām ir atšķirīgi DNS replikācijas iniciācijas mehānismi. Mugurkaulniekiem tā notiek uz H ķēdes D cilpas rajonā. Tas ir tuvumā vietai kur DNS ir piesaistīta pie iekšējās membrānas.**



- **Zīdītājiem DNS replikācija ir vienvirziena un asinhrona. To nosaka abu ķēžu atšķirīgais sākumpunktu novietojums. No sākuma tiek iniciēta H ķēdes replikācija. L ķēdes replikācija sākas pēc tam, kad ir replicēti apmēram 67% no H ķēdes, t.i. kad ir sasniegta zona pretim L ķēdes replikācijas sākumpunktam. Bezmugurkaulniekiem L ķēde replicējās citos punktos. Mitohondrijiem nav konstatēta tik labi attīstīta DNS reparācijas sistēma kā kodolā.**



# **Dzīvnieku mitochondriālā genoma ekspresija**

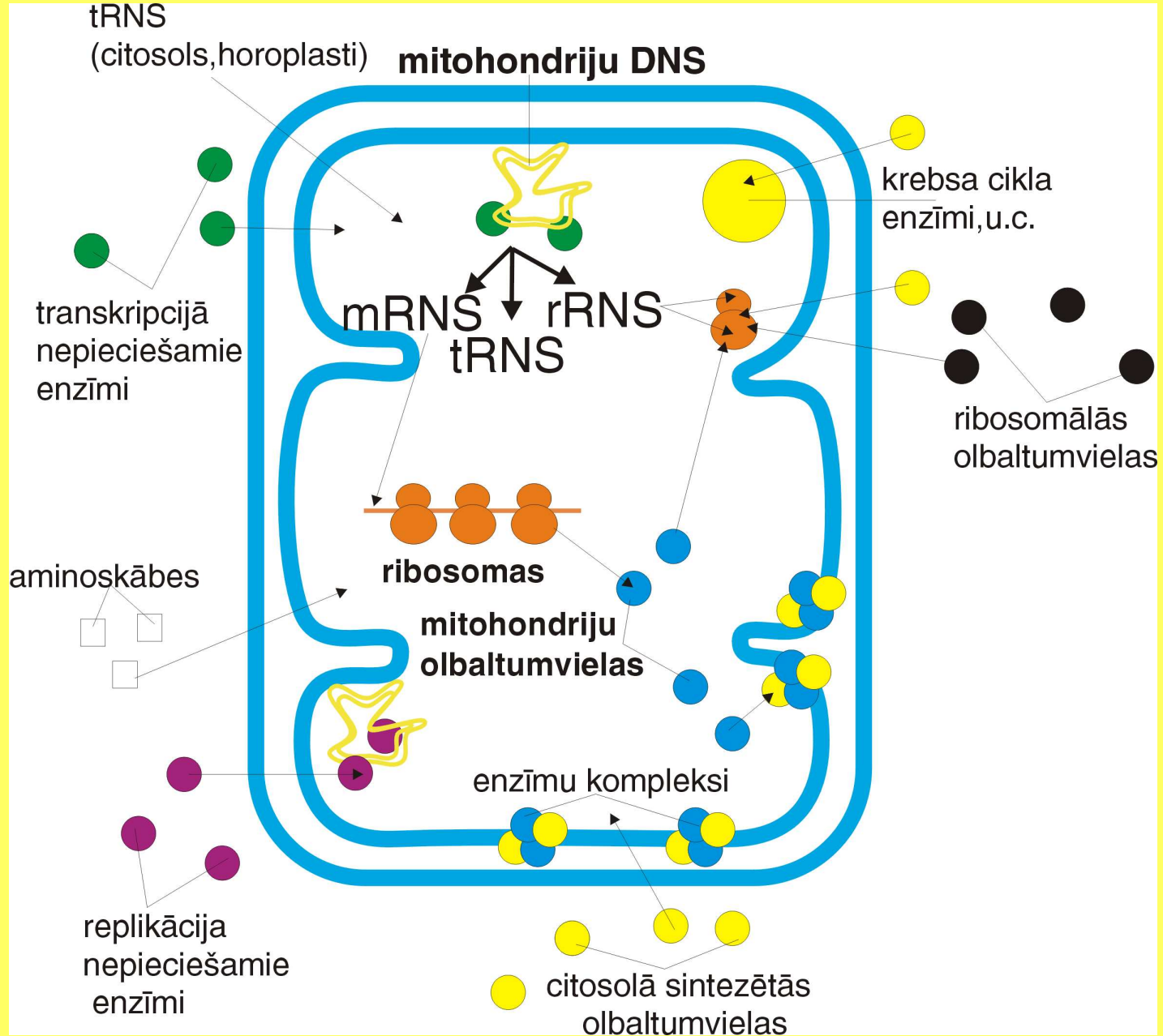
**Vislabāk izpētīta ir zīdītāju, it īpaši cilvēku, mitochondriālās DNS transkripcija.**

- Mitohondrijos sintezē apmēram 10% no to uzbūvē izmantotajām olbaltumvielām.**
- Mitohondrijos DNS transkribējas pilnībā un simetriski.**
- Mitohondrijos transkribējas tikai molekulas, kas spēj superspiralizēties.**

- **Superspiralizācijas pakāpi nosaka topoizomerāzes, kuras līdz ar to var regulēt transkripciju.**
- **Topoizomerāžu klātbūtne ir nepieciešama transkripcijas iniciācijai līdzīgi, kā tas notiek prokariotu un eikariotu šūnās.**
- **Mitohondrijos ir atrodama vismazākā pazīstamā RNS polimerāze. To veido tikai viens polipeptīds ar molekulāro masu 64 kD.**

- Pie transkripcijas mitohondrijos piedalās divas RNS polimerāzes.
- Pirmā nodrošina praktiski visas DNS molekulas transkripciju, bet otra transkribē DNS rajonu D cilpas tuvumā.
- Izveidotie transkripti var piedalīties arī replikācijas iniciācijā. Mitohondrijos RNS polimerāzes ir līdzīgas raugu RNS polimerāzēm, bet ļoti atšķiras no bakteriālajām un eikariotu kodolu RNS polimerāzēm. To darbība prasa arī 15 - 20 reizes virāk ATF enerģijas.
- Transkripcijas procesā piedalās arī mitohondriālais transkripcijas faktors, kas nodrošina RNS sintēzes iniciācijas specifiskumu. Tas saistās ar DNS promotorajām nukleotīdu secībām 12 - 35 bp pirms transkripcijas iniciācijas sākumpunkta.

- **Notiek pilnīgi visas DNS ķēdes transkripcija.**
- **Transkripcijas gaitā notiek ātrs sākotnējās RNS “procesings”.**
- **Praktiski visus mRNS un rRNS gēnus atdala tRNS gēni. Tie ņem dalību sākotnējā transkripta “procesingā”.**
- **Procesingā piedalās specifiska endonukleāze, kuras uzbūvi kodē kodola genoms.**
- **Mitohondrijos var konstatēt arī kodolos un hloroplastos kodētas tRNS molekulas.**



Mitochondrijos identificētie gēnu produkti

Mitochondriākie gēni un to produkti	augi	raugi un sēnes	dzīvnieki
Citohromoksidāze c:			
subvienība I	+	+	+
subvienība II	+	+	+
subvienība III	+	+	+
Ubihinol citohrom c reductāze:			
Apocitohroms B	+	+	+
F <sub>0</sub> ATFāzes komplekss:			
subvienība 6	+	+	+
subvienība 8	+	+	+
subvienība 9	+	+/-	-
F <sub>1</sub> ATFāzes komplekss:			
a-subvienība	+	-	-
NADH dehidrogenāzes komplekss:			
subvienība 1	+	+/-	+
subvienība 3	+	+/-	+
subvienība 5	+	+/-	+
Ribosomālās olbaltumvielas:			
rpS13	+	+	-
rpS12	+	nav inf.	nav inf.
Ribosomālā RNS:			
lielā subvienība	26S	21	16
mazā subvienība	18S	15	12
5S	+	-	-
Transporta RNS veidu skaits	30	24 - 26	22

# Mitochondriju ģenētiskais kods

**Mitochondriju tRNS spēj nolasīt pa 4 kodoniem no katras grupas.**

**Tādas tRNS vienmēr pirmajā antikodona stāvoklī satur uridīnu.**

**Gadījumā, ja vienas grupas 4 kodoni kodē divas aminoskābes, tad divi kodoni beidzas ar purīna bāzēm un tiek dekodēti ar vienu tRNS, bet otri divi beidzas ar piramidīna bāzēm un tos pazīst otra tRNS, kura pirmajā pozīcijā satur guanīnu.**

Augu, sēņu un dzīvnieku mitohondrijos konstatētās novirzes no universālā ģenētiskā koda.

Kodoni	UGA	AUA	CUN	AGA	CGG
Universālais ienāciskais kods	ter.	<i>ile</i>	<i>leu</i>	<i>arg</i>	<i>arg</i>
Mitohondriālais kods					
pele	<i>trp</i>	<i>met</i>	<i>leu</i>	ter.	<i>arg</i>
drozofila	<i>trp</i>	<i>met</i>	<i>leu</i>	<i>ser</i>	<i>arg</i>
raugi( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	<i>trp</i>	<i>met</i>	<i>thr</i>	<i>arg</i>	-
<i>Neurospora crassa</i>	<i>trp</i>	<i>ile</i>	<i>leu</i>	<i>arg</i>	-
augstākie augi; kukurūza ( <i>Zea mays</i> )	ter.	<i>ile</i>	<i>leu</i>	<i>arg</i>	<i>trp</i>

**Cilvēku un dzīvnieku mitohondriju ģenētiskā sistēma atšķiras no universālā ģenētiskā koda. Līdz ar to translācijas iniciācija var sākties ar kodoniem AUG un AUA, un retos gadījumos ar AUU, kurš parasti kodē izoleicīnu. Terminējošais kodons ir UAA, bet atsevišķos gadījumos arī AGA un AGG, kuri citoplazmā kodē arginīnu. Mitohondrijos UGA kodē triptofānu, bet izoleicīna kodons AUA mitohondrijos kodē metionīnu.**



# **Cilvēku un dzīvnieku mitohondriālā genoma regulācijas mehānismi**

- **Mitohondriji funkcionē vienotā šūnas sistēmā un ir pakļauti šūnās eksistējošiem regulācijas mehānismiem.**
- **Mitohondriju funkcionālo aktivitāti regulē kodola genoms, kurš kodē apmēram 90% no mitohondrija olbaltumvielām, ieskaitot visas olbaltumvielas, kas ņem daļību mitohondriālās DNS replikācijā, transkripcijā un translācijā.**
- **Kodols var ietekmēt mitohondriju funkcionēšanu:**
  - **izmainot mRNS daudzumu, ko eksportē no kodola,**
  - **izmainot translāciju,**
  - **posttranslacionāli modificējot mitohondriju olbaltumvielas.**

- **Būtiski ir tas, ka kodola un mitohondriju genomi ir savstarpēji cieši saistīti. Līdz ar to ne tikai kodols ietekmē mitohondriju funkcijas un biogēnēzi, bet arī mitohondriji var ietekmēt kodola funkcijas.**
- **Olbaltumvielu sintēzes inhibēšana mitohondrijos noved pie RNS sintēzes samazināšanās kodolos un olbaltumvielu sintēzes samazināšanās citoplazmā.**

**Mainoties šūnas funkcionālajam stāvoklim, mainās arī mitohondriju gēnu ekspresija. Šīs izmaiņas var notikt dažādos līmeņos: DNS kopiju skaita palielināšanās, transkripcijas pastiprināšanās vai pavājināšanās, un mitohondriālās mRNS translācijas pastiprināšanās vai pavājināšanās.**

**Mitohondriju darbību regulē arī organisma iekšējās regulācijas sistēmas. Endokrīnā sistēma cilvēkiem un dzīvniekiem regulē ne tikai kodola, bet arī mitohondriju gēnu darbību.**

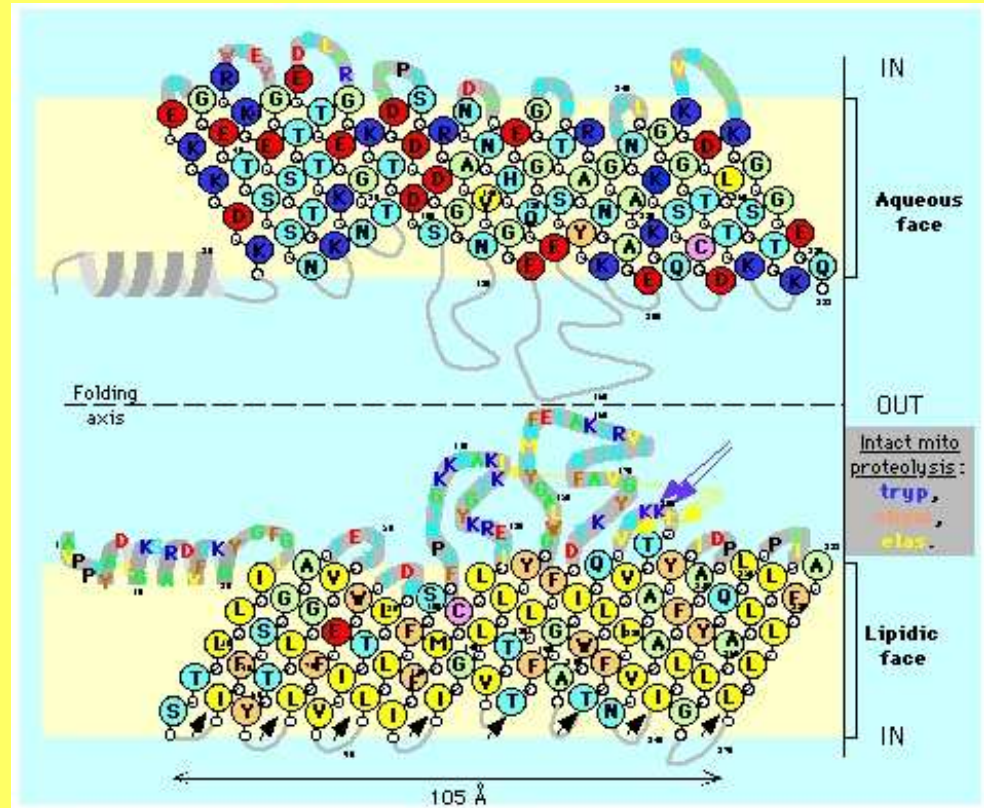
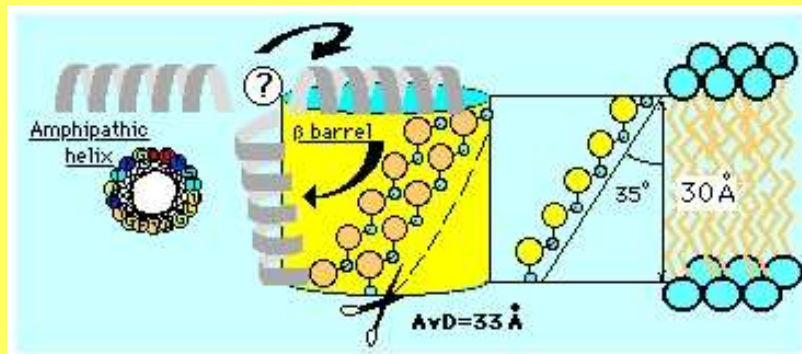
**Tireoīdie un glikokortikoīdie hormoni, kā arī insulīns u.c hormoni stimulē mitohondriālās RNS sintēzi. Tireoīdo hormonu aktivējošā loma mitohondriju RNS sintēzē ir saistīta ar mitohondriālās RNS polimerāzes aktivitātes paaugstināšanos. Taču tireoīdo hormonu ietekme parādās arī translācijas līmenī. Glikokortikoīdie hormoni paaugstina mitohondriālās RNS sintēzes aktivitāti un paaugstina arī RNS stabilitāti. Glikokortikoīdi ietekmē arī olbaltumvielu translāciju mitohondrijos. Stimulējoša loma RNS sintēzē un translācijā ir arī insulīnam un citiem peptīdu hormoniem.**

# Mitochondriju membrānas

Mitochondriju ārējā un iekšējā membrāna ir atšķirīgas. Tās atšķiras gan pēc sastāva, gan pēc fizikālajām īpašībām. Paaugstinot vai pazeminot osmotisko spiedienu, iekšējā membrāna atbilstoši savelkas vai izstiepjas. Savukārt ārējā membrāna spēj vienīgi neatgriezeniski izstiepties, kas reizēm beidzas ar membrānas pārraušanu. Ārējai membrānai ir raksturīga nespecifiska caurlaidība, bet iekšējai membrānai tā ir ļoti specifiska. Ārējā membrāna satur poras, bet iekšējā satur specifiskas vielu aktīvā transporta sistēmas. Šīs atšķirības nosaka membrānu atšķirīgais sastāvs. Ārējā membrāna satur apmēram 80% lipīdu, bet iekšējā tikai 30%. Iekšējā membrānā dažos rajonos neveidojas lipīdu dubultslānis. Iekšējā membrāna satur kardiolipīnu. Šis lipīdu veids samazina jonu caurlaidību. Mitochondriju iekšējā membrāna pēc savas uzbūves vairāk atgādina hloroplastu tilakoīdu membrānas nekā jebkuru citu šūnas membrānu.

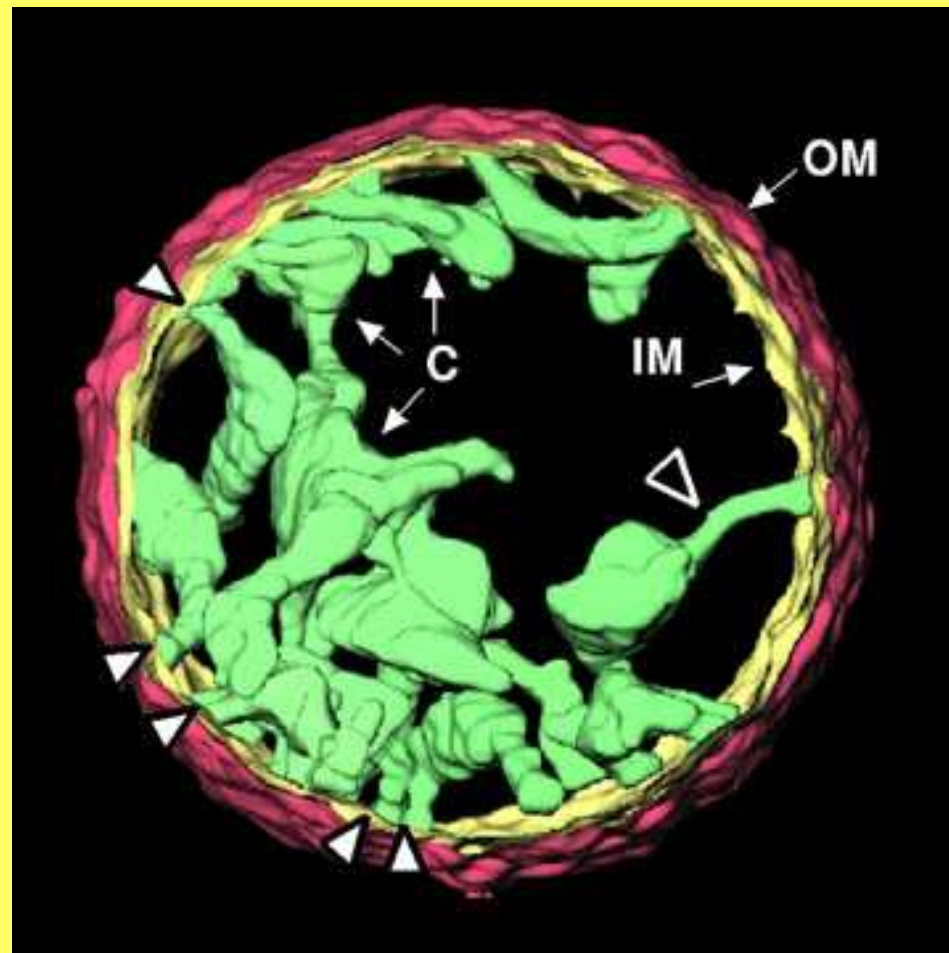
# Mitochondriju porīni

- Mitochondrijiem ir porīnus veido  $\beta$  plāksnītes, līdzīgi kā baktērijām. Porīnam ir amfifātiska N-terminālā daļa.
- Pret ārpusi porīniem ir hidrofilas aminoskābju cilpas (pelēkas). Membrānā atrodas galvenokārt hidrofobas (dzeltenas) un aromātiskas (oranžas) daļas.



**Iekšējā membrāna veido izaugumus - kristas. Kristām var būt ļoti atšķirīga forma un zemākajiem dzīvniekiem kristas formu lieto kā sugu specifisku pazīmi. Visbiežāk sastopama ir plāksņveida, cauruļveida vai maisveidīga kristu forma. Kristas var būt izvietotas paralēli mitohondrija garenasij, piemēram, nervu šūnās, vai arī perpendikulāri garenasij aknu, nieru u.c. šūnu tipos. Kristas ir ļoti nepastāvīgi veidojumi. Tās var viegli pāriet no viena stāvokļa otrā, izzust un parādīties no jauna. Piemēram, raugiem, attīstoties anaerobos apstākļos, mitohondriju kristas praktiski izzūd. Taču, ja raugus pārnes aerobos apstākļos, kristas atkal parādās.**

# Mitochondriju kristas





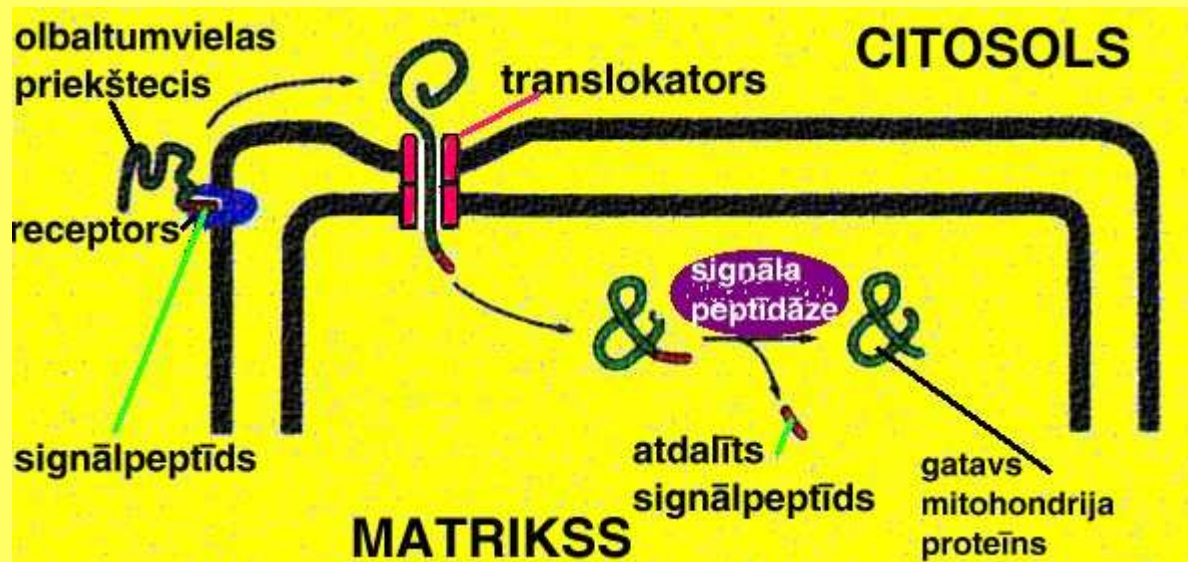
**Mitochondriju ārējā membrāna pēc daudziem rādītājiem ir līdzīga endoplazmatiskā tīkla membrānām. Tajā ir maz oksidatīvo fermentu. Savukārt tajā ir sakoncentrētas daudzas un dažādas pārnēsējmolekulas. Toties mitochondriju iekšējā membrāna un matrikss ir piesātināts ar oksidatīvajiem fermentiem. Mitochondriju matriksā ir sakoncentrēti Krebsa cikla un taukskābju oksidācijas fermenti. Iekšējā membrānā atrodas elektronu pārnēses ķēdes, fosforilējošie fermenti un daudzas olbaltumvielas, kas nodrošina vielu aktīvo transportu.**

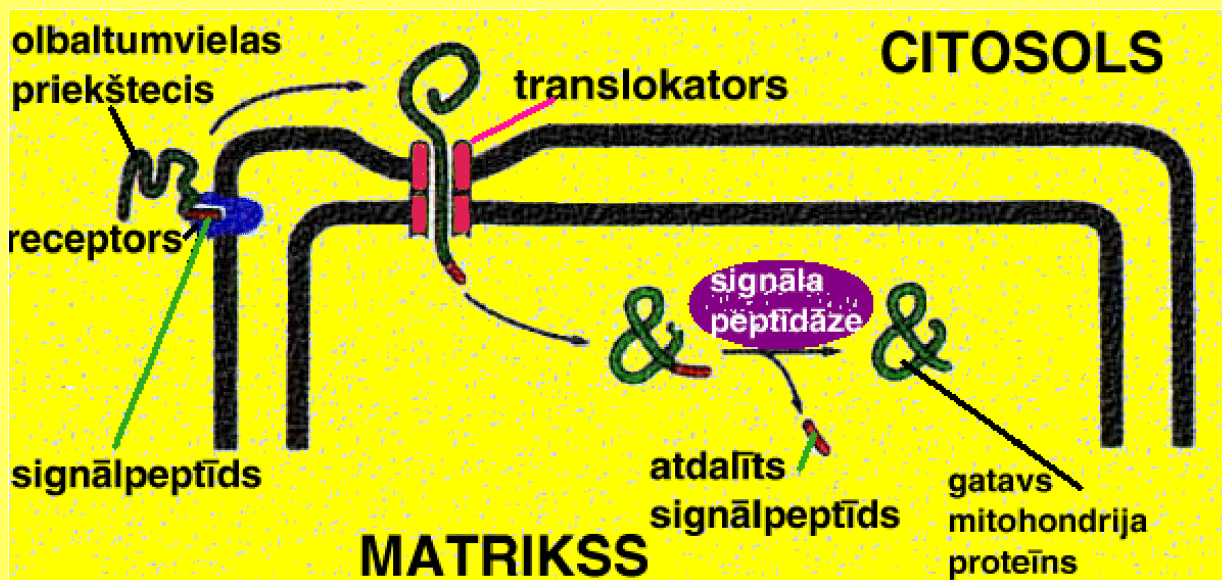
# **Olbaltumvielu imports mitohondrijos**

**Lielāko daļu no mitohondriju olbaltumvielām sintezē citoplazmā. Šīm olbaltumvielām jānokļūst vai nu mitohondriju matriksā vai starpmembrānu telpā. Vairumā gadījumu citoplazmā tiek sintezēti mitohondriālo olbaltumvielu priekšteči, kuri tiek modificēti mitohondriju matriksā. Olbaltumvielas, kas tiek transportētas mitohondriju matriksā, tur nokļūst apmēram divās minūtēs pēc to atbrīvošanās no ribosomām. Šīs olbaltumvielas satur 20 - 80 aminoskābes garu signālpeptīdu.**

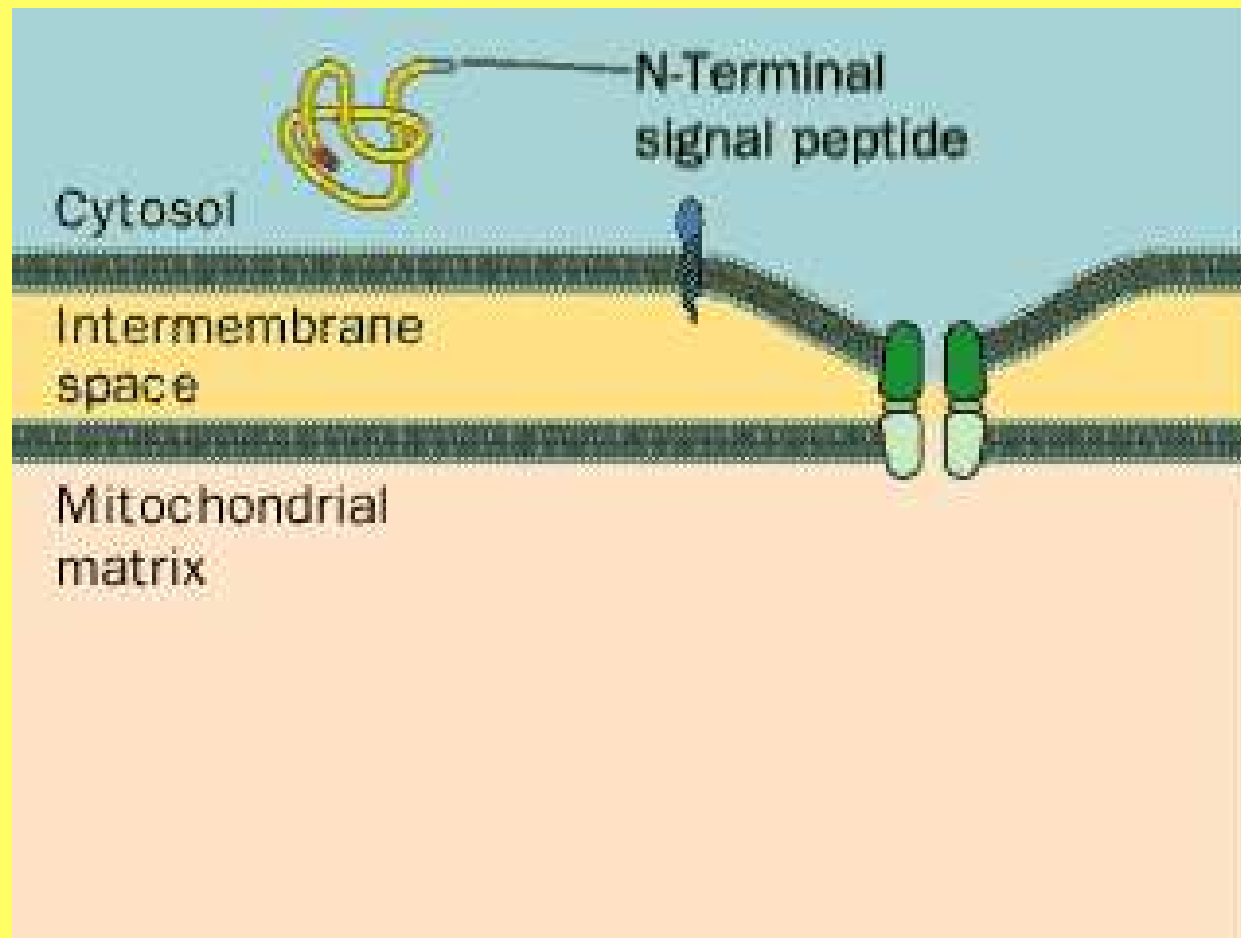
**Citohromoksidāzes subvienības 4 polipetīdam pirmās 18 aminoskābes kalpo kā signālsekvence. Kad tā ir izveidojusi  $\alpha$  spirāli, var redzēt, ka vienā līnijā novietojas pozitīvi lādētās aminoskābes (*Lys/Arg*). Signālpeptīdu, pēc importēšanas mitohondrijā, atdala specifiska proteāze (signāla peptidāze). Signālpeptīds ir nepieciešams, lai olbaltumvielu pazītu mitohondriju virsmas receptori, kas atrodas uz ārējās membrānas. Mitohondriālo olbaltumvielu priekšteču importu mitohondrijos nodrošina aktīvā vielu transporta mehānismi. Lai varētu notikt aktīvais vielu transports, ir nepieciešama ATF hidrolīze un elektroķīmiskais gradients starp mitohondriju matriksu un starpmembrānu telpu.**

**Olbaltumvielu importa laikā var izdalīt vairākus etapus: Pirmajā etapā mitohondriālās olbaltumvielas priekštecis piesaistās pie mitohondrija ārejas membrānas receptora. Nākamais etaps ir pati olbaltumvielas translokācija. Tā notiek vietās, kur ir satuvinājušās abas mitohondrija apvalka membrānas, jo signālpeptīds tiek vienlaicīgi ievilkts caur abām apvalka membrānām.**





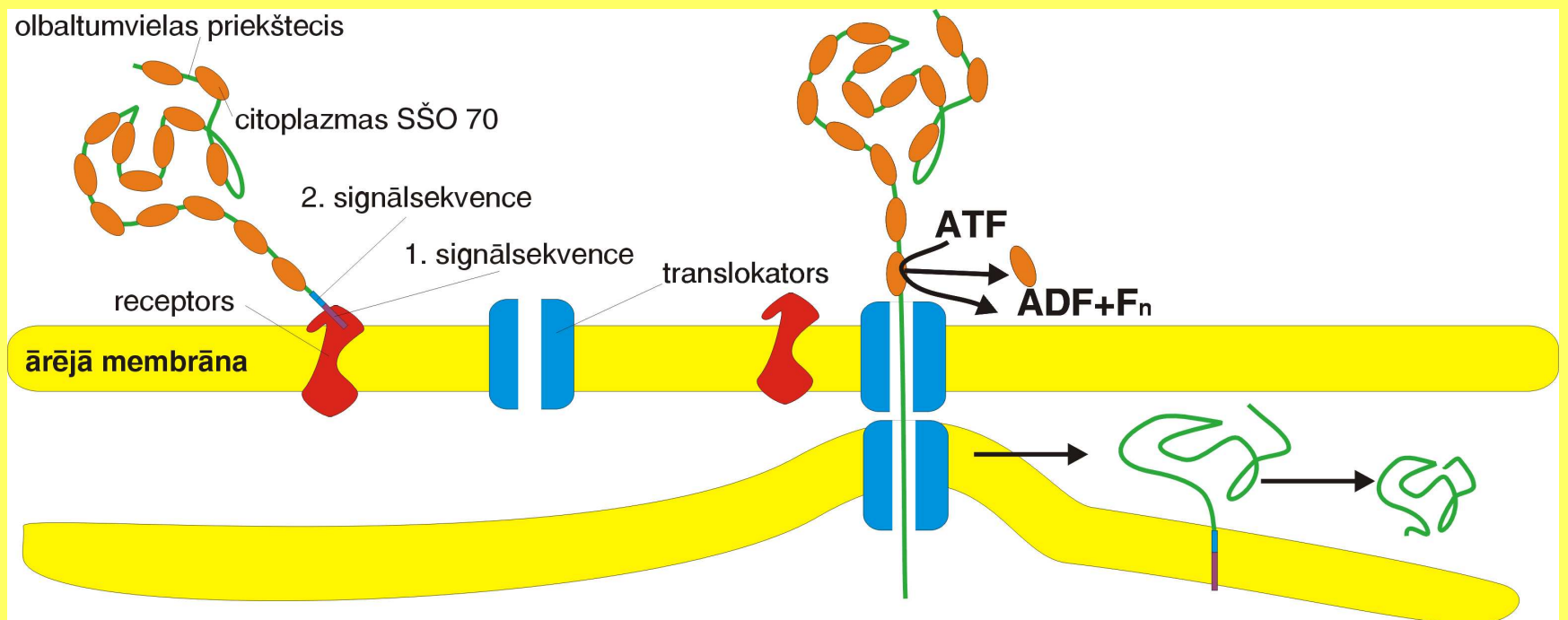
**Katrā apvalka membrānā šajā zonā atrodas specifisks olbaltumvielu translokators. Lai varētu notikt signālpeptīda ievilkšana mitohondrijā ir nepieciešams tikai elektroķīmiskais gradients. Nākamajā procesā, izmantojot ATF enerģiju, mitohondrijas matriksā tiek ievilkta pārējā olbaltumvielas daļa. Kad olbaltumvielas priekštecis pilnībā ir mitohondrija matriksā, signāla peptidāze no tās atdala signālpeptīdu un tiek iegūta nobriedusi mitohondriālā olbaltumviela.**



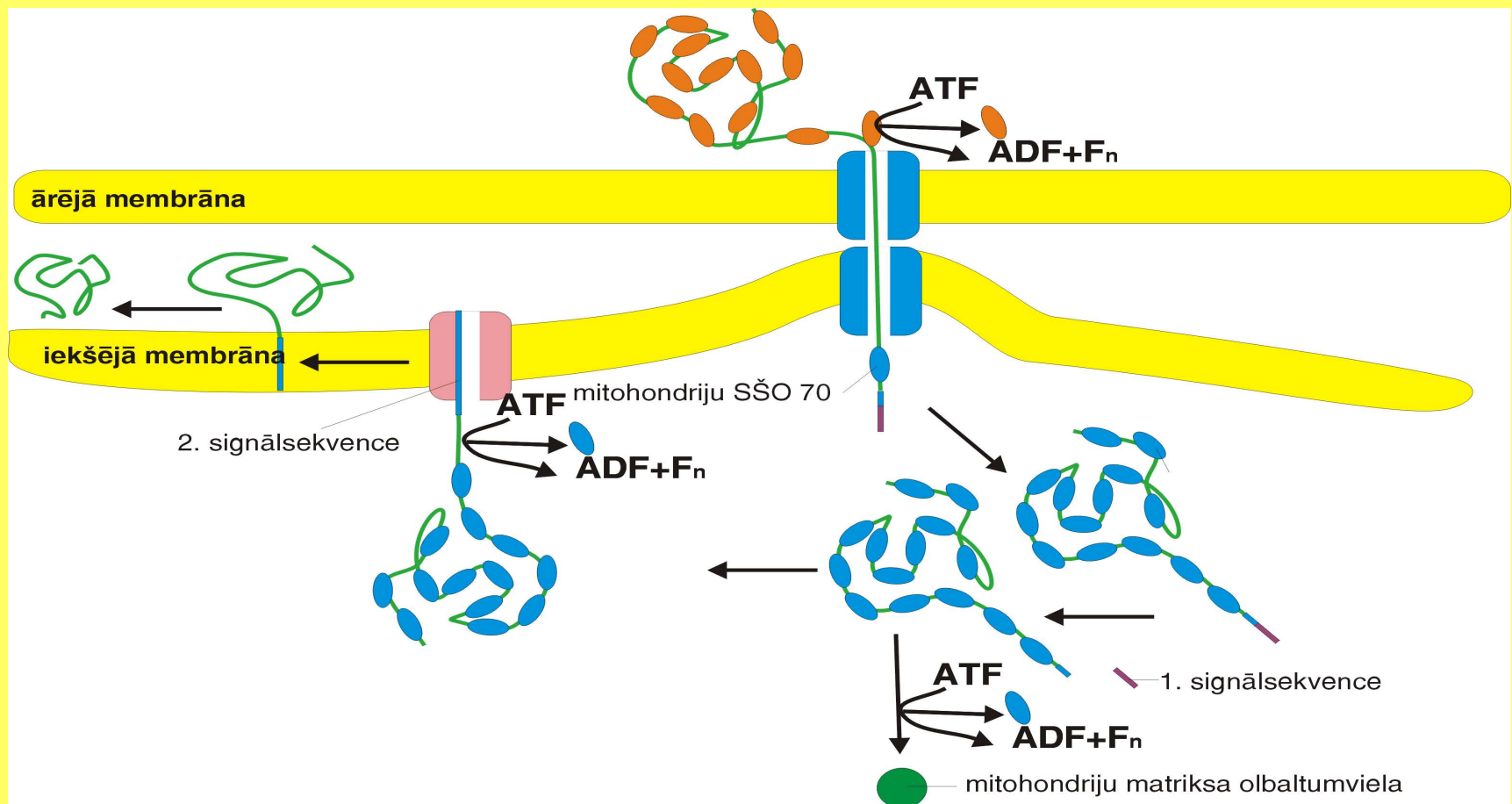
- <http://intranet.siu.edu/~mbmb/MBMB%20531%20Schmir%2001.html>

**Olbaltumvielu var tikai daļēji ievilkt mitohondriju matriksā. Tad no tās tiek atdalīts pirmais signālpeptīds, bet otrs paliek mitohondrija iekšējā membrānā.**

**Pēc tam atlikusī olbaltumvielas daļa tiek ievilkta starpmembrānu telpā caur ārējās membrānas translokatoru un iemontēta mitohondrija iekšējā membrānā.**

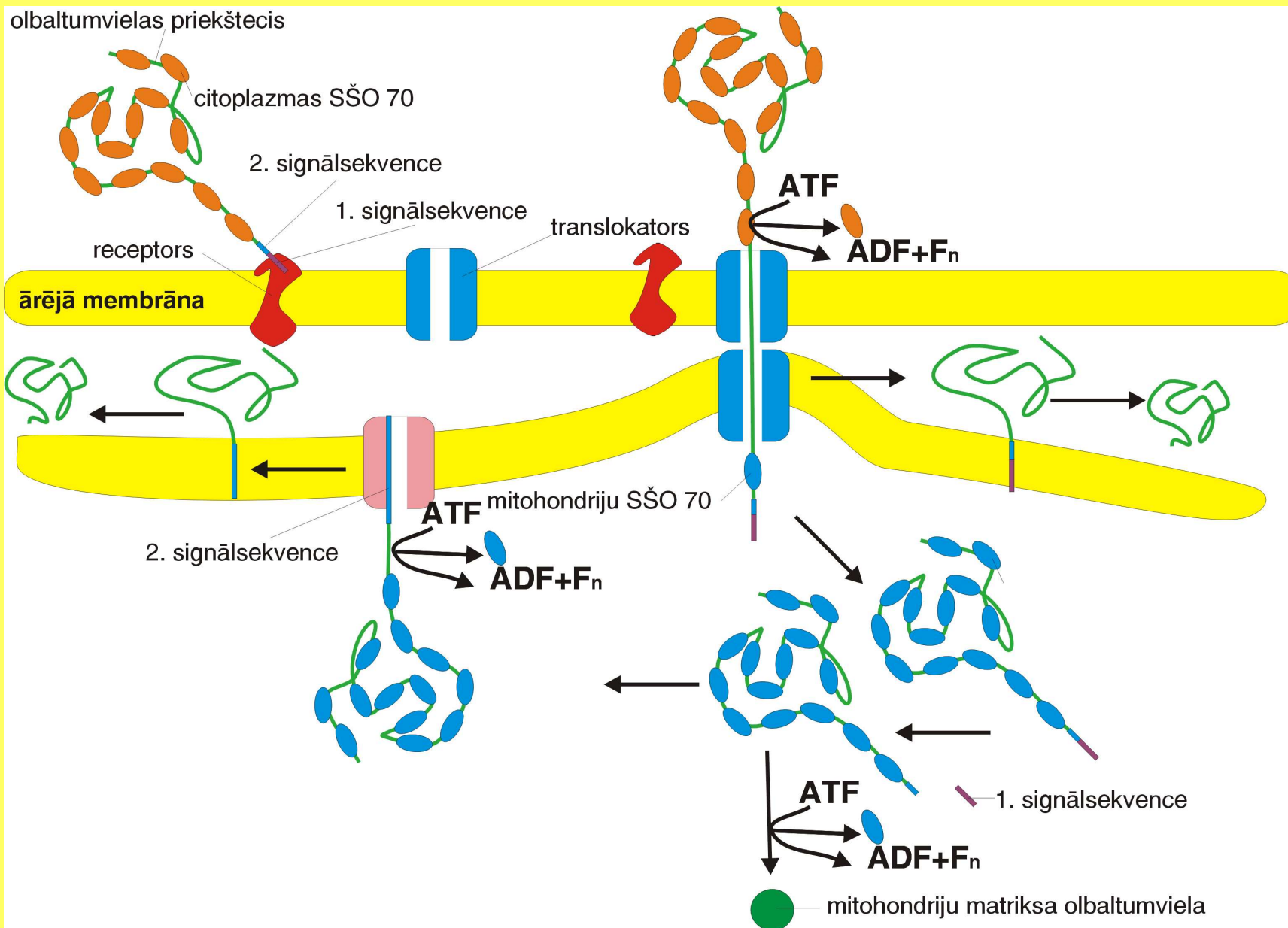


Daudzos gadījumos pēc tam, kad no olbaltumvielas mitohondriju matriksā tiek atdalīts signālpeptīds, izrādās, ka tam seko nākamais signālpeptīds. Tas ir paredzēts, lai olbaltumvielu integrētu mitohondrija iekšējā membrānā. Šis signālpeptīds ir līdzīgs tiem, kuri tiek pievienoti mitohondrijā sintezētajām iekšējās membrānas olbaltumvielām.





**Starpmembrānu telpas olbaltumvielas var nokļūt mitohondriju matriksā, kā aprakstīts iepriekš. Pēc tam to otrais signālpeptīds tiek iekļauts iekšējā membrānā. Tam seko otreizēja olbaltumvielas translokācija caur iekšējo membrānu, un lielākā daļa no olbaltumvielas atrodas starpmembrānu telpā. Tad no olbaltumvielas proteāze atdala signālpeptīdu, kas piesaista olbaltumvielu pie iekšējās membrānas, un atlikusī olbaltumviela var brīvi pārvietoties starpmembrānu telpā.**



**Mitohondriju olbaltumvielu priekštečus no citoplazmas iedarbības pasargā citoplazmas siltuma šoka olbaltumvielas (čaperoni). Tās pievienojas polipeptīdam, paralēli tā sintēzei ribosomās. No mitohondriju olbaltumvielu priekštečiem jāatdala šīs olbaltumvielas, lai tās varētu ievilkt caur olbaltumvielu translokatoriem. Tas patērē ATF enerģiju.**

**Pie ievilktajiem mitohondriju olbaltumvielu priekštečiem vienmēr piesaistās mitohondriju siltuma šoka olbaltumvielas.**

**SŠO pasargā olbaltumvielas struktūru no matriksa iedarbības. Matriksa olbaltumvielām pēc tam pakāpeniski atdala mitohondriju siltuma šoka olbaltumvielas un veido olbaltumvielas ceturtējo struktūru. Ja mitohondriju olbaltumvielas transportē uz mitohondriju starpmembrānu telpu, tad SŠO atdala, pirms olbaltumvielas priekšteci ieviek starpmembrānu telpā. Līdz ar ievilkšanu, pakāpeniski veidojas olbaltumvielas ceturtējā struktūra.**

# Mitochondriju vielu apmaiņas mehānismi

Cauri abām apvalka membrānām mitohondrijos abos virzienos tiek transportētas gāzes, ūdens un lielāki organiskie savienojumi. Mitohondriju ārējā membrānā ir poras, kas nodrošina mazmolekulāru savienojumu apmaiņu starp citoplazmu un starpmembrānu telpu. Savukārt iekšējā membrāna ir praktiski necaurlaidīga, pateicoties savam unikālajam lipīdu un olbaltumvielu sastāvam. Transportu caur šo membrānu nodrošina pārnēsējoļbaltumvielas.

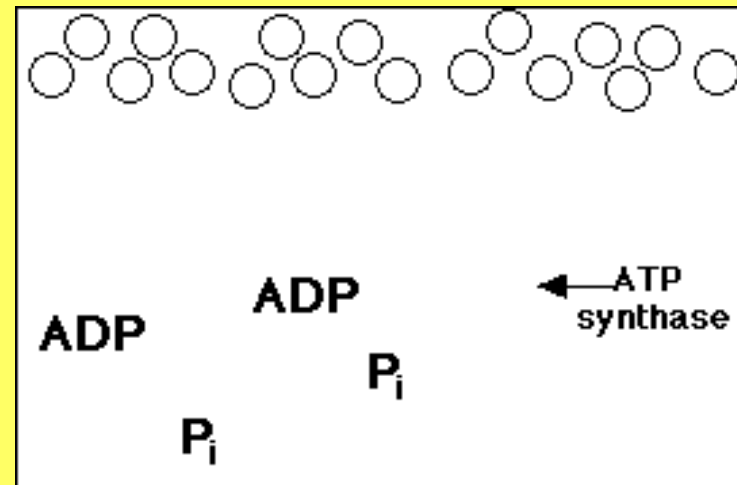
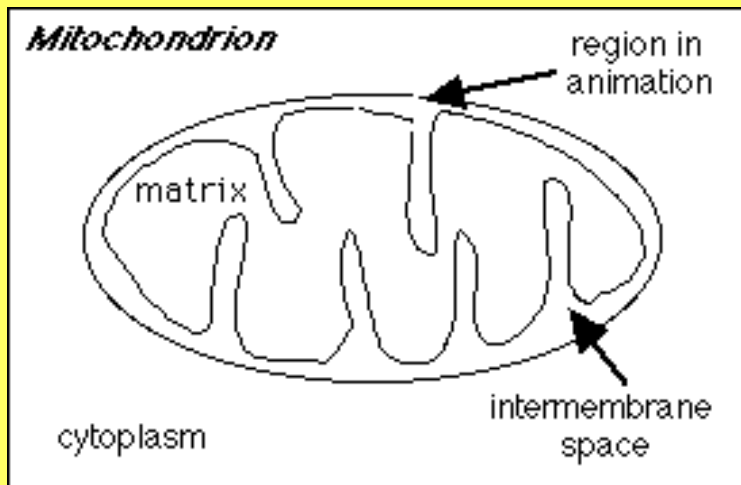
**Mitohondriji importē: piruvātu, taukskābes, fosforu, ADF, O<sub>2</sub>.**

**Mitohondriji eksportē: ATF, OH<sup>-</sup>, CO<sub>2</sub>.**

# Oksidācija un fosforilācija

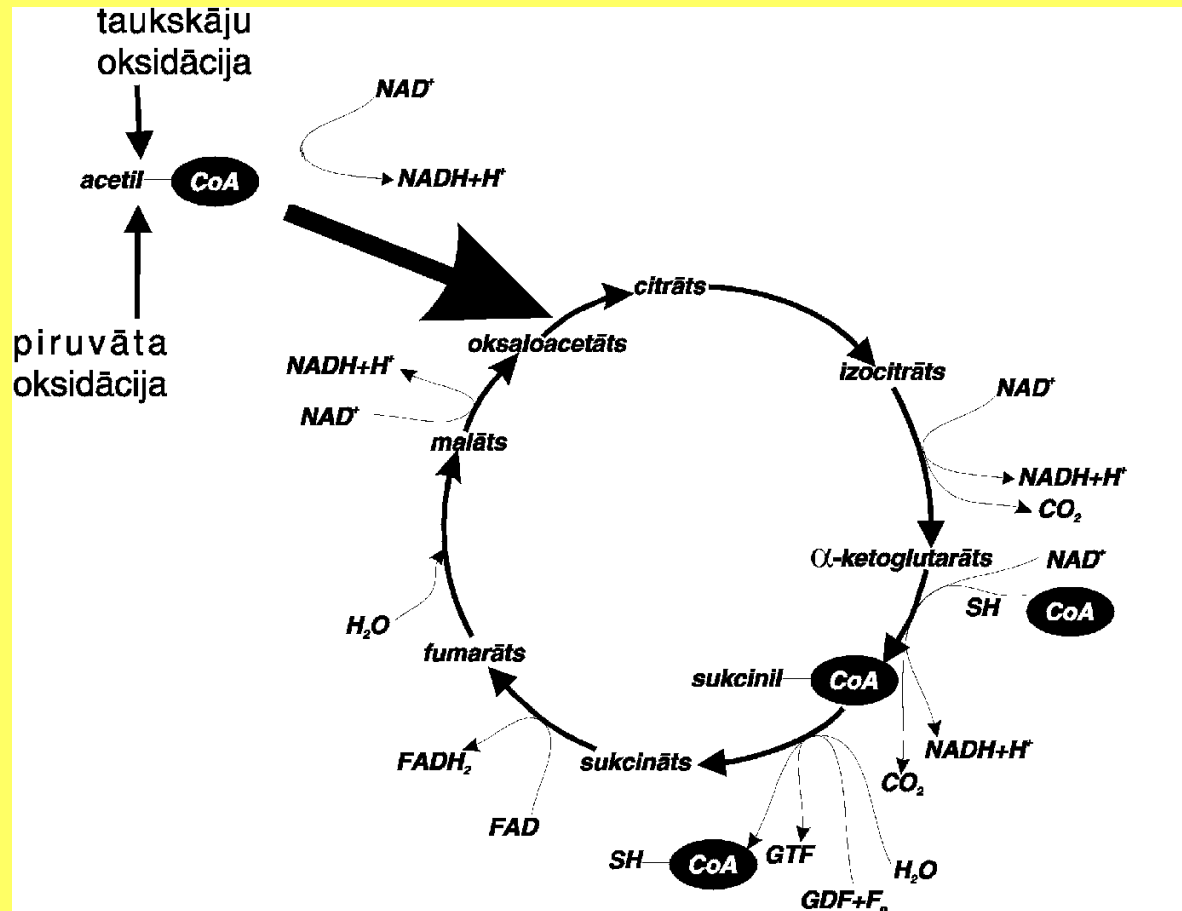
**Izdala trīs etapus:**

- **taukskābju un piruvāta oksidācija;**
- **Krebsa cikla reakcijas;**
- **oksidatīvā fosforilācija.**



- [atp](#)
- [prot](#)
- <http://www.sp.uconn.edu/~terry/images/anim/ATPmito.html>

# Oksidācija





**Piruvāts reaģē ar koenzīmu A un veido  $\text{CO}_2$  un acil koenzīmu A. Šīs reakcijas gaitā paralēli oksidējas mitohondriju matriksā esošās  $\text{NAD}^+$  molekulas.**

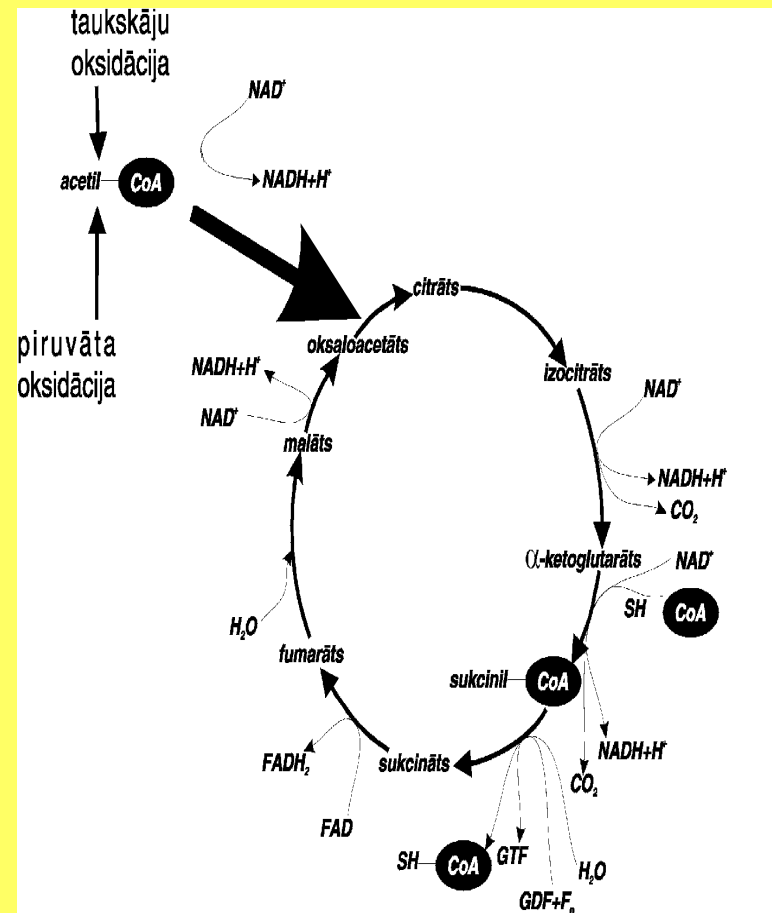
**Taukskābes, tūlīt pēc nonākšanas mitohondriju matriksā, hidrolizējot ATF līdz AMF, arī reaģē ar koenzīmu A. Izveidojas taukskābes un acil koenzīma A komplekss un 2 neorganiskie fosfāti.**

**Dehidrogenāze pārnes ūdeņradi no šī kompleksa uz  $\text{FAD}^+$  molekulu. Izveidojas  $\text{FADH}_2$  un enoil koferments A. Šim savienojumam tiek pievienota ūdens molekula un rodas hidroksiacil koferments A. No tā tiek atdalīts ūdeņradis, ko pievieno  $\text{NAD}^+$  molekulai, un izveidojas 3-ketoacil koferments A. Ar to saistās koferments A un atrauj acil grupu. Izveidojas acil koferments A un taukskābes un acil koenzīma A komplekss, kas ir īsāks par 2 oglekļa atomiem. Tas var turpināt piedalīšanos taukskābju oksidācijas ciklā.**

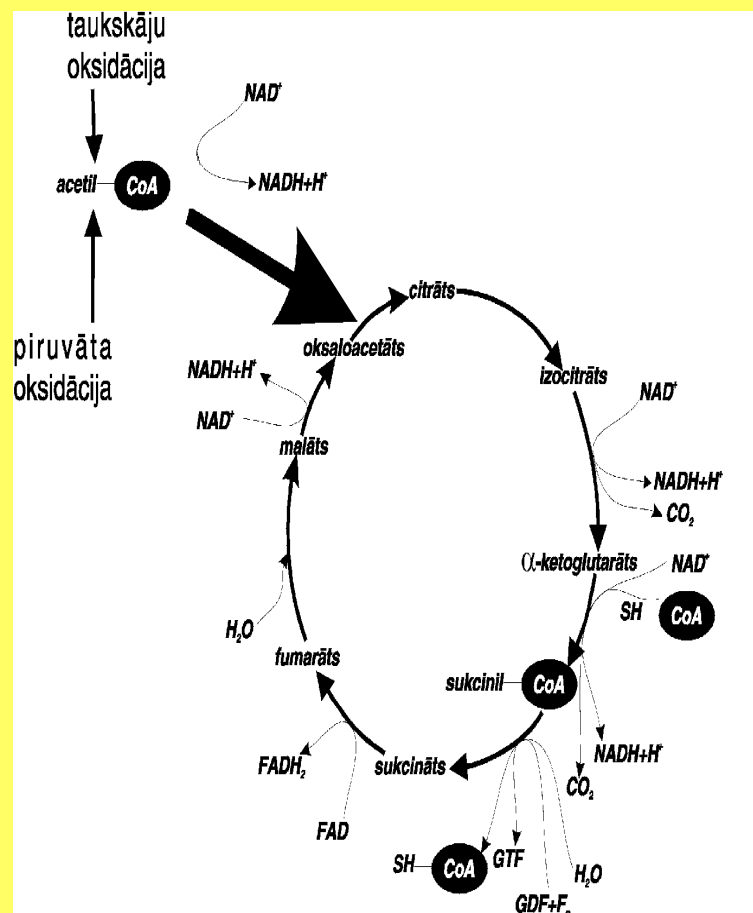
**Katri 2 no taukskābes atdalītie C atomi dod ūdeņradi  $1\text{NADH}+\text{H}$  un  $1\text{FADH}_2$  molekulas izveidošanai.**

**Acil koenzīms A, kas radies piruvāta vai taukskābju oksidācijas rezultātā, tiek sadalīts ciklisku reakciju ķēdē. To sauc par *Krebsa* jeb *citronskābes* ciklu.**

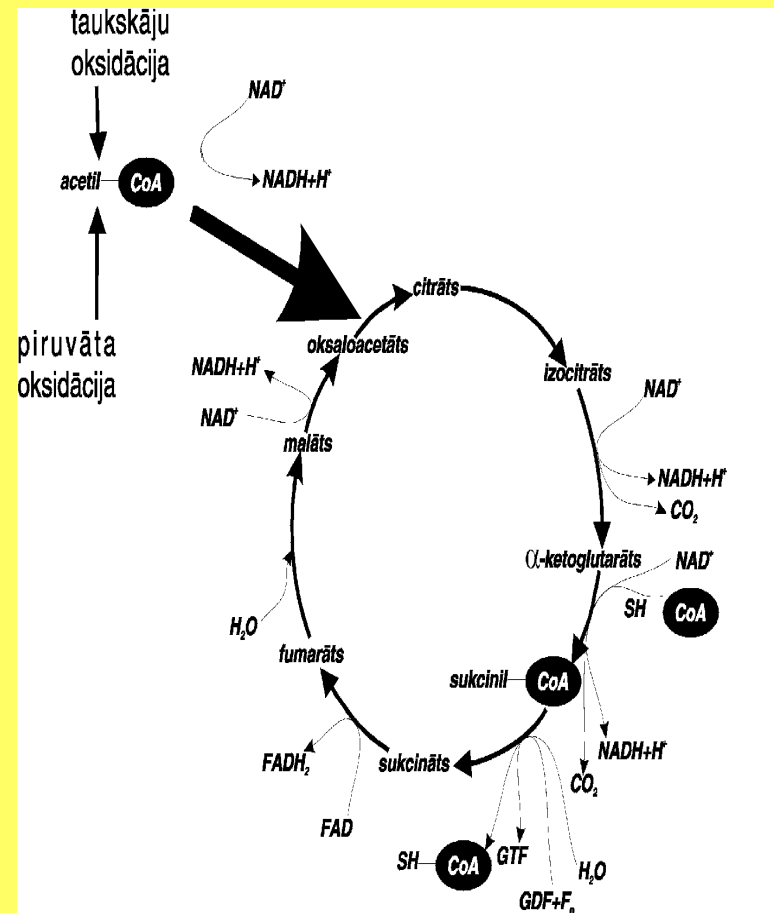
**Krebsa ciklā acetil koenzīms A pievieno 4C atomus saturošo oksaloacetātu. Reakcijas gaitā koenzīma A acetilgrupa pievienojas oksaloacetātam un izveidojas, 6C atomus saturoša, citronskābes (citrāta) molekula un koferments A. Citrāta molekulā hidroksil grupa izmaina novietojumu un izveidojas izocitrāts. Izocitrāts tiek dekarboksilēts un izveidojas  $\text{CO}_2$ .**



**Dekarboksilācijas gaitā izveidojas 5C atomus saturoša  $\alpha$ -ketoglutarāta molekula, un no  $\text{NAD}^+$  izveido  $\text{NADH}+\text{H}$ . Tam seko kofermenta A pievienošanās  $\alpha$ -ketoglutarāta molekulai un sekojoša dekarboksilācija un dehidrogenizācija. Rezultātā izveidojas  $\text{NADH}+\text{H}$  un sukcinil koferments A. Savienojums ir nestabils un no tā atšķēlas koferments A un  $\text{H}_2\text{O}$  molekula, izveidojot sukcinātu, bet atšķēlētā fosfāta grupa tiek izmantota, lai izveidotu GTF.**



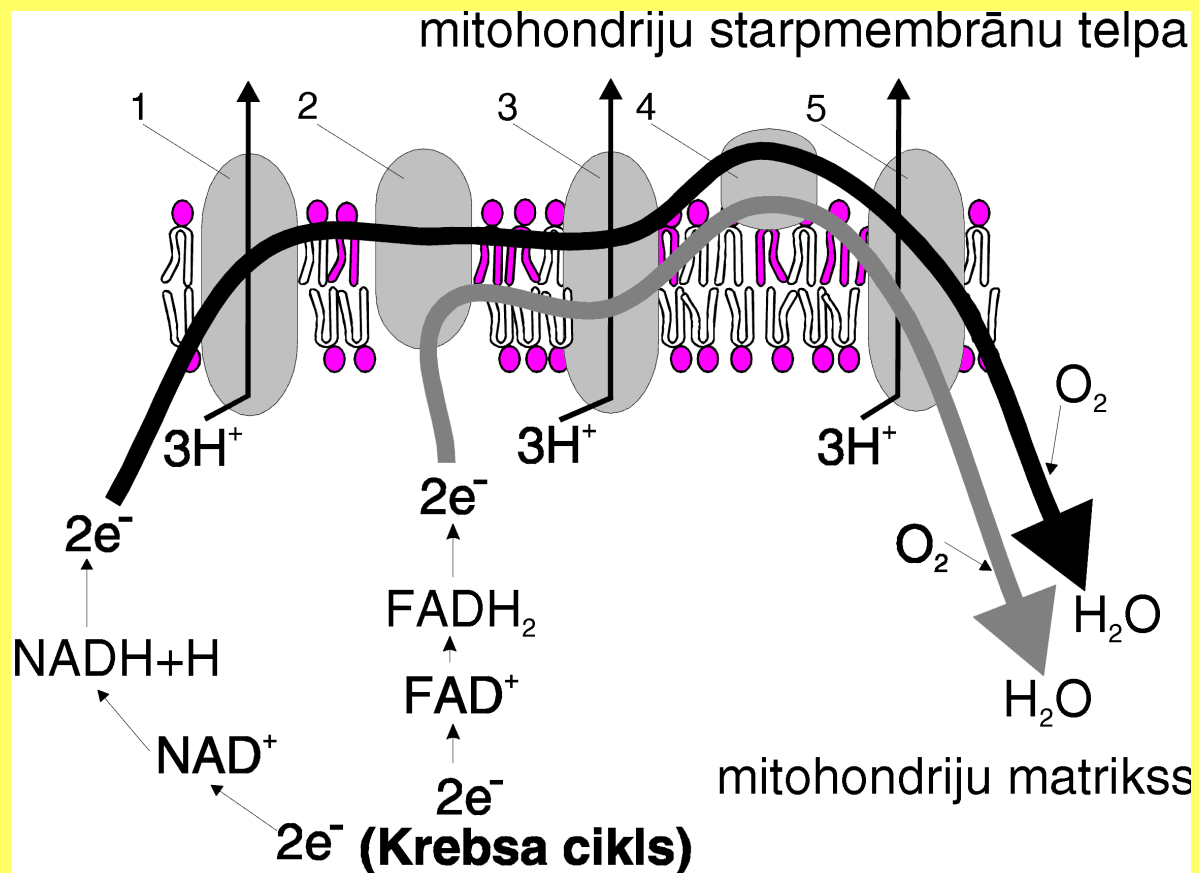
Sukcinātu pārveido par fumarātu, atdalot  $2H^+$ , kas tiek pievienots  $FAD^+$  molekulai. Fumarātam pievieno ūdens molekulu un rodas malāts. No malāta atšķeļ  $2H^+$  un pievieno pie  $NAD^+$ , atjaunojot oksaloacetātu, kas var atkal iesaistīties Krebsa ciklā.



# Elektronu pārnese ķēde

**Veido pieci olbaltumvielu kompleksi:**

- **NADH dehidrogenāze;**
- **koenzīms Q (ubikvīnons);**
- **citohroma reduktāze;**
- **citohroms c;**
- **citohroma oksidāze.**



**Elektronu pārnēses ķēde mitohondriju iekšējā membrānā. 1 - NADH dehidrogenāze; 2 - ubikvinons; 3 - citohroma c reduktāze; 4 - citohroms c; 5 - citohroma c oksidāze.**

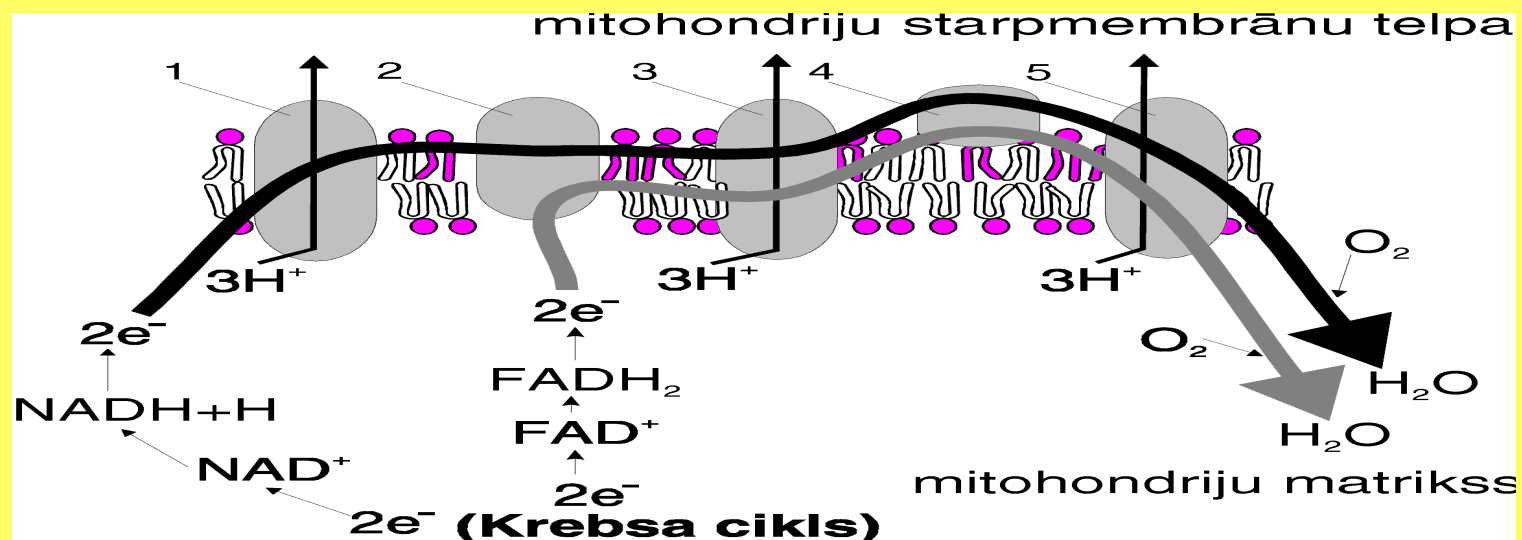
- **NADH+H piesaistās NADH dehidrogenāzes kompleksam.**
- **NADH atdod kompleksam 2 elektronus un 2 H<sup>+</sup>.**
- **Tālāk tie pāriet uz ubikvitīnu. Daļa no elektronu enerģijas tiek izmantota, lai no mitohondriju matriksa caur NADH dehidrogenāzes kompleksu transportētu 3 H<sup>+</sup>.**
- **No ubikvitīna elektroni pāriet uz citohroma reduktāzi. Arī tur elektronu enerģija tiek izmantota H<sup>+</sup> transportam no matriksa uz starpmembrānu telpu.**

- **Tad elektroni tiek pārnesti uz citohroma oksidāzes kompleksu. Daļa enerģijas tiek izmantota  $H^+$  pārnesei uz starpembrānu telpu. Visbeidzot ar  $H^+$  pārnestie elektroni sasniedz pēdējo elektronu akceptoru - skābekļa molekulu. Skābekļa molekula piesaista abus  $H^+$  un izveidojas  $H_2O$  molekula. Tādējādi elektronu pāra enerģija, kas tiek transportēts no NADH caur elektronu pārnese ķēdi, nodrošina vidēji 9  $H^+$  pārvešanu uz starpmembrānu telpu.**
- *1 NADH molekula dod apmēram 2,5 molekulas ATF*



Viens no Krebsa cikla etapiem - sukcināta pārvēršana par fumarātu - ir saistīts ar enzīmu, kas mijiedarbojas ar ubikvinonu. Tādējādi šajā zonā pāriet elektronu pāris no  $\text{FADH}_2$  molekulas uz elektronu transporta ķēdi. Šo elektronu pārnesšana līdz skābeklim nodrošina tikai 6  $\text{H}^+$  transportu uz mitohondriju starpmembrānu telpu. Tas ir tādēļ, ka šim elektronu pārim ir zemāks enerģijas līmenis un tas šķērso tikai divus  $\text{H}^+$  pārnesošos olbaltumvielu kompleksus.

*1  $\text{FADH}_2$  molekula dod 1,5 molekulas ATF*



# Oksidatīvo procesu rezultāts

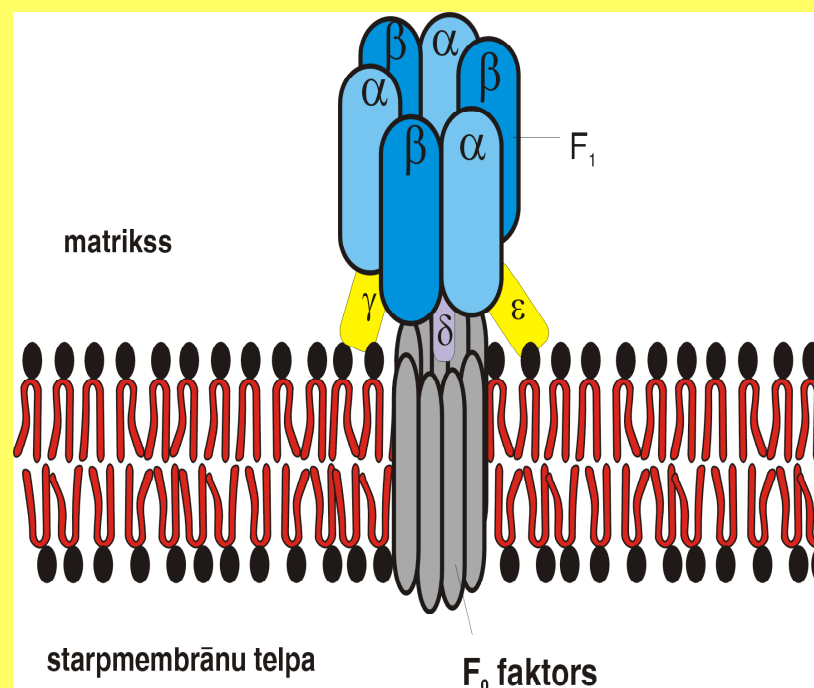
Rezultātā, oksidējot skābekli ar elektroniem, kas radušies divu piruvāta molekulu sadalīšanas rezultātā, mitohondriju starpmembrānu telpā nokļūst vidēji 102  $H^+$ , kurus var izmantot tālākajam ATF sintēzes procesam.

Ķīmiskās reakcijas ir sajūgtas ar elektronu plūsmu cauri membrānas olbaltumvielām. Elektronu plūsma nodrošina  $H^+$  aktīvu transportu no mitohondriju matriksa starpmembrānu telpā. Rezultātā oksidatīvā enerģija ir izmantota, lai izveidotu  $H^+$  koncentrācijas gradientu starp mitohondriju matriksu un starpmembrānu telpu.

# Fosforilācija

Fosforilāciju jeb ATF sintēzi izskaidro hemiosmozes teorija. Tā ir balstīta uz  $H^+$  transporta sajūgtību ar enzimatisku ATF sintēzi. Šo enzīmu sauc par ATF sintāzi. Tā kā starpmembrānu telpā ir augstāka  $H^+$  jonu koncentrācija, tie mēģina difundēt atpakaļ matriksā. Atsevišķās vietās membrānu šķērso transmembrānas olbaltumvielas ATF sintāzes. Tie ir sēņveida ķermenīši, kas sastāv no divām subsistēmām. To membrānu šķērsojošo daļu veido kanāls cauri kuram pārvietojas  $H^+$ . Šo daļu sauc par ATF sintāzes  $F_0$  faktoru. Mitohondriju matriksā ir novietota otra ATF sintāzes daļa, kas  $H^+$  pārvietošanos izmanto, lai ADF molekulām pievienotu fosfāta grupu. To sauc par  $F_1$  faktoru.

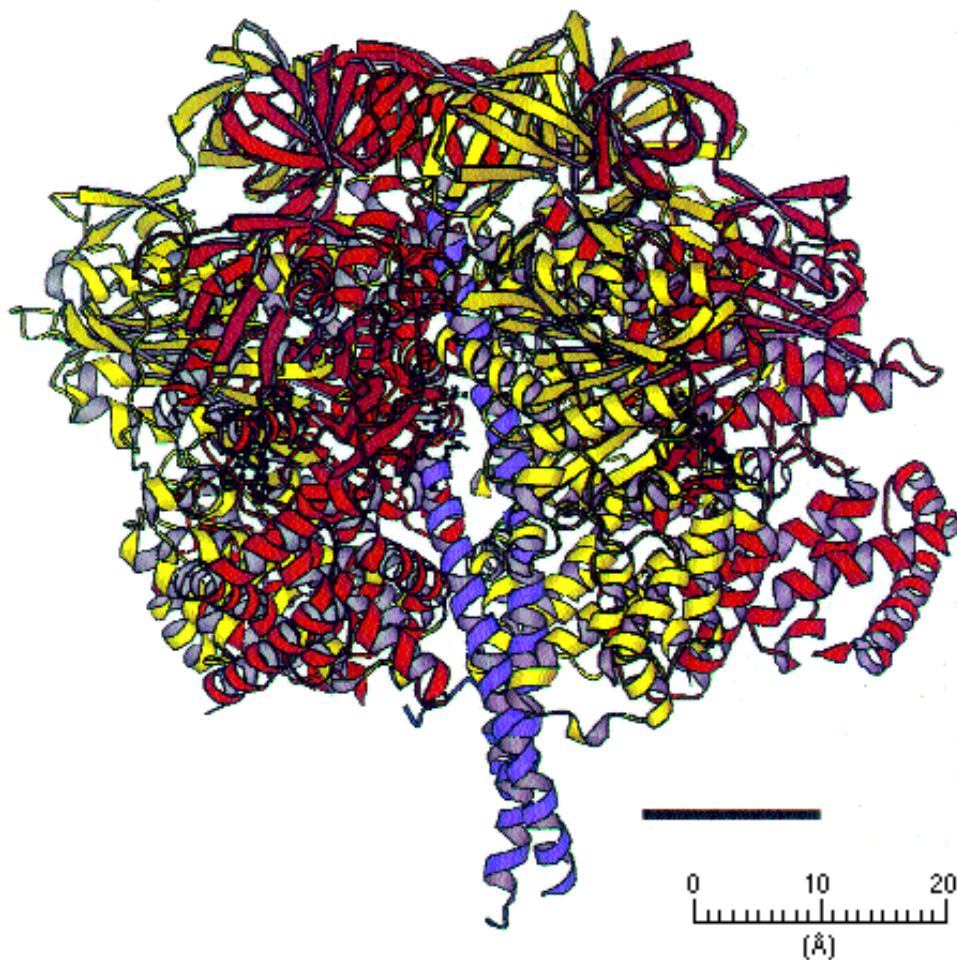
**F<sub>1</sub> faktoram ir ATF sintāzes aktivitāte, bet tas nespēj viens pats veikt ATF sintēzi. Šāda spēja parādās tikai tad, ja tas veido kompleksu ar F<sub>0</sub> faktoru, kas nodrošina protonu transportu cauri mitohondrija iekšējai membrānai. Eksperimentos, kur F<sub>1</sub> faktors ir atdalīts no membrānas, protoni var pasīvi pārvietoties cauri membrānai, un tas izlīdzina protonu gradientu.**



# ATF sintāzes uzbūves salīdzinājums

E. coli un mitohondriju  $F_0F_1$  ATF sintāžu subvienības

<b>E. coli <math>F_0F_1</math> ATF sintāze</b>	<b>mitohondriju <math>F_0F_1</math> ATF sintāze</b>
<b><math>F_1</math> faktors</b>	<b><math>F_1</math> faktors</b>
$\alpha$	$\alpha$
$\beta$	$\beta$
$\gamma$	$\gamma$
$\delta$	<b>OSCP</b>
$\epsilon$	$\delta$
<b><math>F_0</math> faktors</b>	<b><math>F_0</math> faktors</b>
<b>a</b>	<b>a (subv 6)</b>
<b>b</b>	<b>b (subv 4)</b>
<b>c</b>	<b>c (subv 9)</b>



ATF sintāzes  $F_1$  faktora  
shēma:

$\alpha$  subvienības - sarkanas;  
 $\beta$  subvienības - dzeltenas;  
 $\gamma$  subvienība - zila.

# ATF sintāze

E. coli  $F_0F_1$  ATFāžu subvienību funkcijas

Polipeptīds vai subvienība	Aminoskābju skaits	Molekulmasa	Funkcijas
$F_1$ faktors	3517	381,759	
$\alpha$	513	55,259	ATF/ADF pievienošana
$\beta$	459	50,117	Katalizē ATF sintēzi, regulē $H^+$ plūsmu caur $F_0$
$\gamma$	286	31,414	Stabilizē $F_0F_1$ kompleksu
$\delta$	177	19303	veido $F_0F_1$ kompleksu
$\epsilon$	138	14,914	veido $F_0F_1$ kompleksu, inhibē ATF sintēzi
$F_0$ faktors	13,73	147,223	
a	271	30,275	Stabilizē $H^+$ kanālu
b	156	17,244	Stabilizē $H^+$ kanālu, piesaista subvienību
c	79	8,246	Veido $H^+$ kanālu

# Oksidācijas un fosfarilācijas rezultāts

**Glikozes oksidācijas summārais vienādojums ir sekojošs.**



**Glikolīzes procesā, oksidējot 1 glikozes molekulu, tiek hidrolizētas 2 ATF molekulas, bet iegūst 4 ATF molekulas un 2 NADH+H, (3 vai 5 molekulas ATF).**

**Mitochondrijos, oksidējot 2 piruvāta molekulas, iegūst 2 NADH+H, (5 molekulas ATF).**

**Krebsa ciklā iegūst 2 ATF, 6 NADH+H (15 ATF molekulas) un 2 FADH<sub>2</sub>, (3 ATF molekulas).**



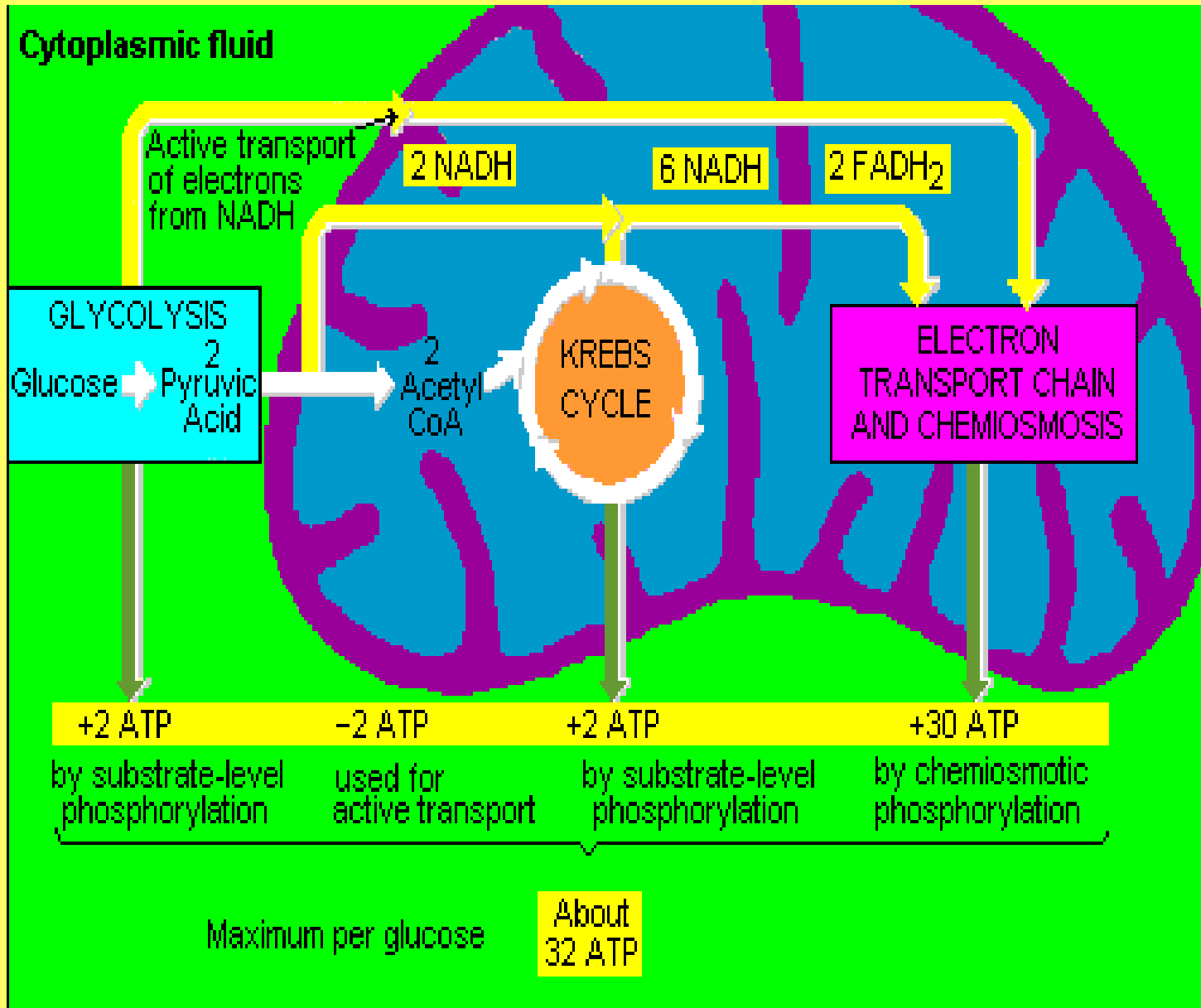
**Mitochondrijos izveidotā NADH+H un FADH<sub>2</sub> molekulu reducēšana dod 28 ATF molekulas. Mitochondrijos iespējams reducēt arī to NADH, kas veidojies citosolā, glikolīzes procesā. Taču mitochondrijos šo savienojumu nevar importēt tieši. Šūnās tas notiek, izmantojot glicerola 3 fosfāta jeb malāta/asparāta pārnēsējolbaltumvielas.**

**Pirmajā gadījumā NADH+H atdos elektronus dihidroksiaceto fosfātam. Tas pārvērtīsies par glicerola 3-fosfātu. Tas tiek importēts caur pārnēsējolbaltumvielu mitochondriju matriksā. Tur notiek pretējā reakcija un mitochondriālais FAD+ saņem elektronus. To reducējot, mitochondrijos izveidosies vēl 4 ATF molekulas.**

**Otrā gadījumā citosolā elektroni no NADH pāries uz oksaloacetātu un izveidosies malāts. Mitochondriji importē malātu. Malātu var reoksidēt mitochondriju matriksā, un izveidosies oksaloacetāts un NADH. Oksaloacetātu pārveido par asparātu un var transportēt atpakaļ uz citoplazmu. Šajā gadījumā mitochondrijos var izveidoties 6 ATF molekulas.**

**Glikozes oksidēšana var dot 32ATF molekulas. Taču parasti iegūst mazāk ATF. Tas var notikt tādēļ, ka:**

- NADH var izmantot citosolā notiekošajās reakcijās;**
- Krebsa cikla laikā iegūtos starpproduktus var izmantot aminoskābju un organisko skābju sintēzei;**
- Mitohondrijos citosola NADH enerģiju iegūst, importējot glicerola 3-fosfātu.**



• <http://www.people.virginia.edu/~rjh9u/atpyield.html>