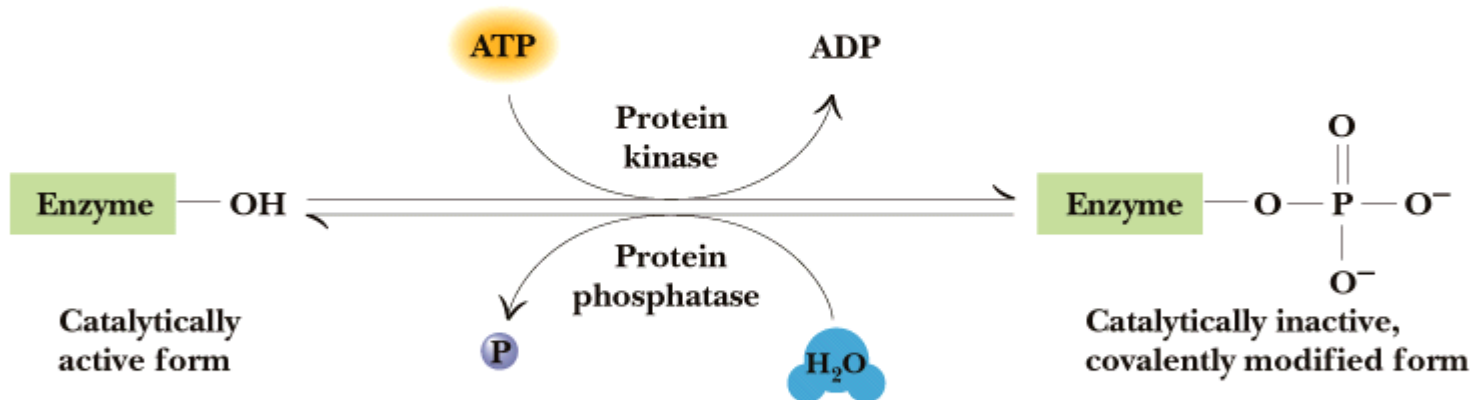
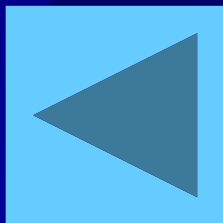
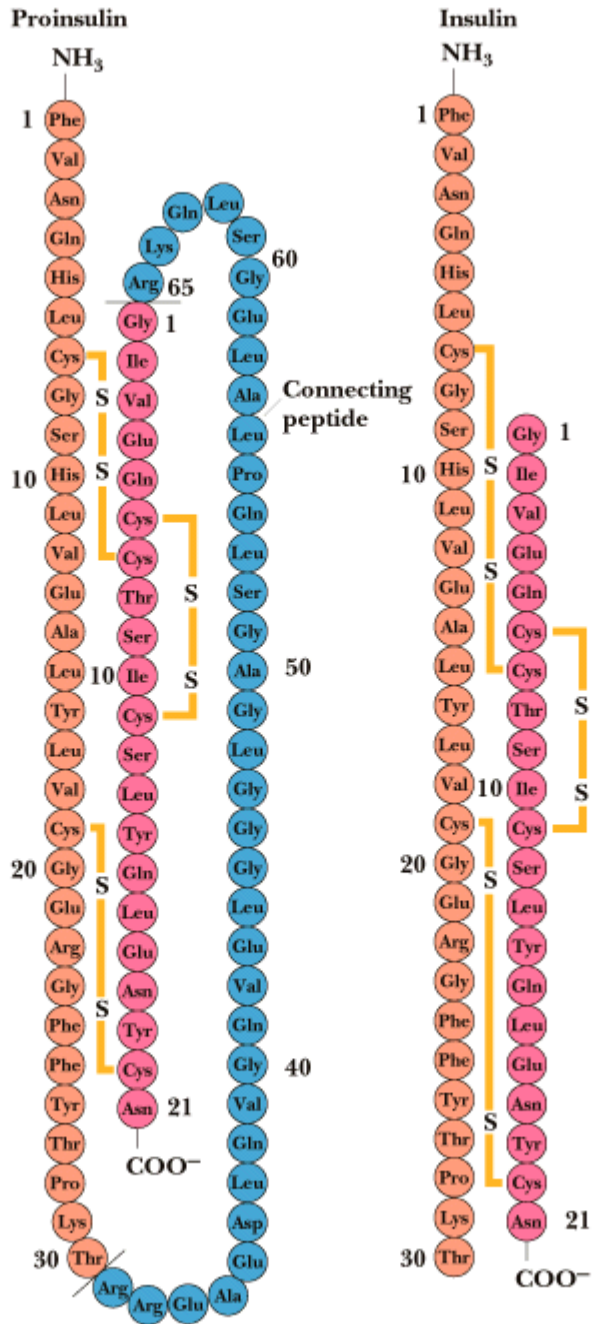


Az Enzimek Aktivitás- Kontrolja

- Sebesség függés a S cc-tól: S-V, S-inhibi...
- A sebesség csökken, amikor a termék cc nő : termék inhibicó
- Genetikai kontrol - indukció , represszó
- ▶ ■ Az enzimek kovalens módosítása
- Zymogének, isozymek és modulátor fehérjék szerepe
- ▶ ■ Allosztérikus effektorok működése

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 15.2





Allosterikus Reguláció

ALLOS= MÁS
STEREOS= SZILÁRD, TÉR

Akció egy „másik helyen”

- Az enzimeket, amelyek a metabolit utak kulcshelyein működnek, allosterikus effektorok **modulálják**.
- Ezek az effektorok rendszerint az anyagcsereút egy másik helyén termelődnek.
- Effektor: **feed-forward aktivátor** vagy
- **feedback inhibitor**
- Kinetika **szigmoid** ("S-alakú")

Fogalmak, definíciók

allosztérikus fehérje: olyan fehérje, amelynek kvaterner szerkezetében minimum 2 vagy több topológiailag elkülönült alegység szerepel.

Azonosak vagy különbözőek
eszerint legalább 2 vagy több ligandum kötő helyük van.

12=
2 katalitikus:
3-3

enzimek

(pl. ASPARTÁT TRANSZKARBAMOILÁZ) és

3 regulátor: 2-2

nem enzimfehérjék
(pl. HEMOGLOBIN)

pirimidinszintézis:
ASP + karbamoil-P → N-karbamoil aspartát

kooperativitás : a fehérje egy kismolekulával való kötődésére vonatkozó disszociációs állandójának módosulása egy előzőleg kötődött kismolekula által.

$K_{s/}$ $K_{m/}$ K_i

negativ koop..

pozitiv koop..

a két kismolekula azonos → homotróp koop.

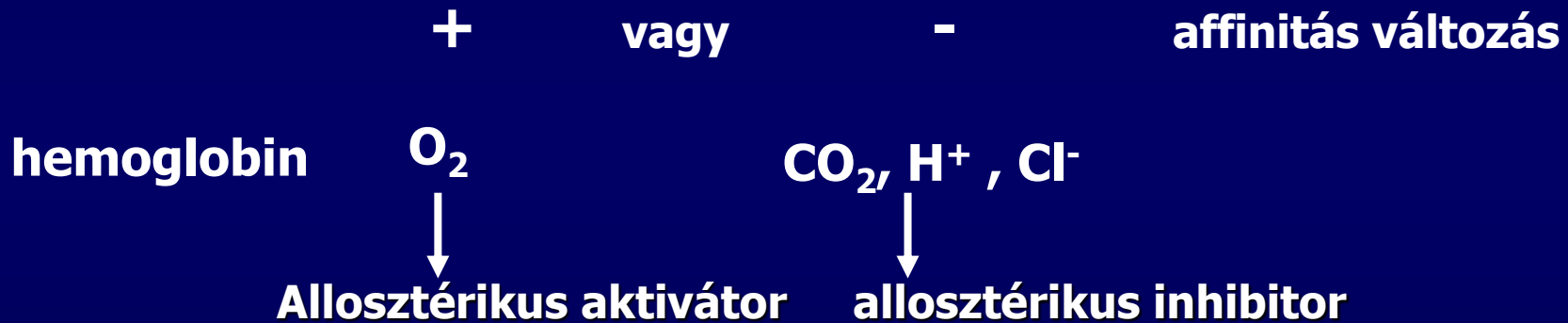
a két kismolekula különböző → heterotróp

Kvaterner szerkezetük van:
ALEGYSÉGEK
PROTOMER= a legkisebb
katalitikusan aktív szerkezet

ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

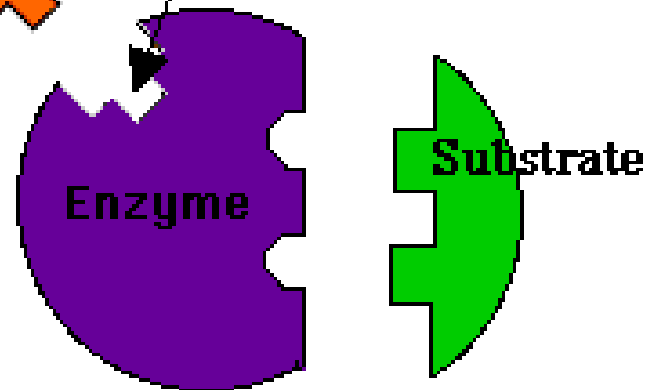
EFFEKTOR, MODULÁTOR

ua. a **LIGAND** → **HOMOTRÓP**
MÁS LIGAND → **HETEROTRÓP**

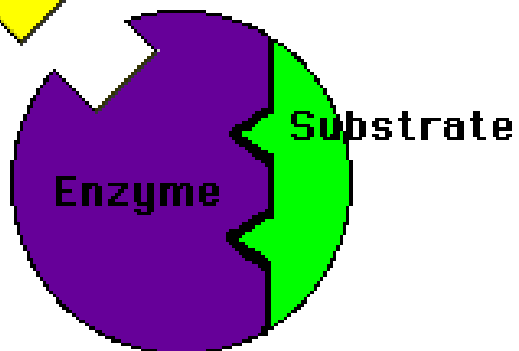


Allosteric
activator

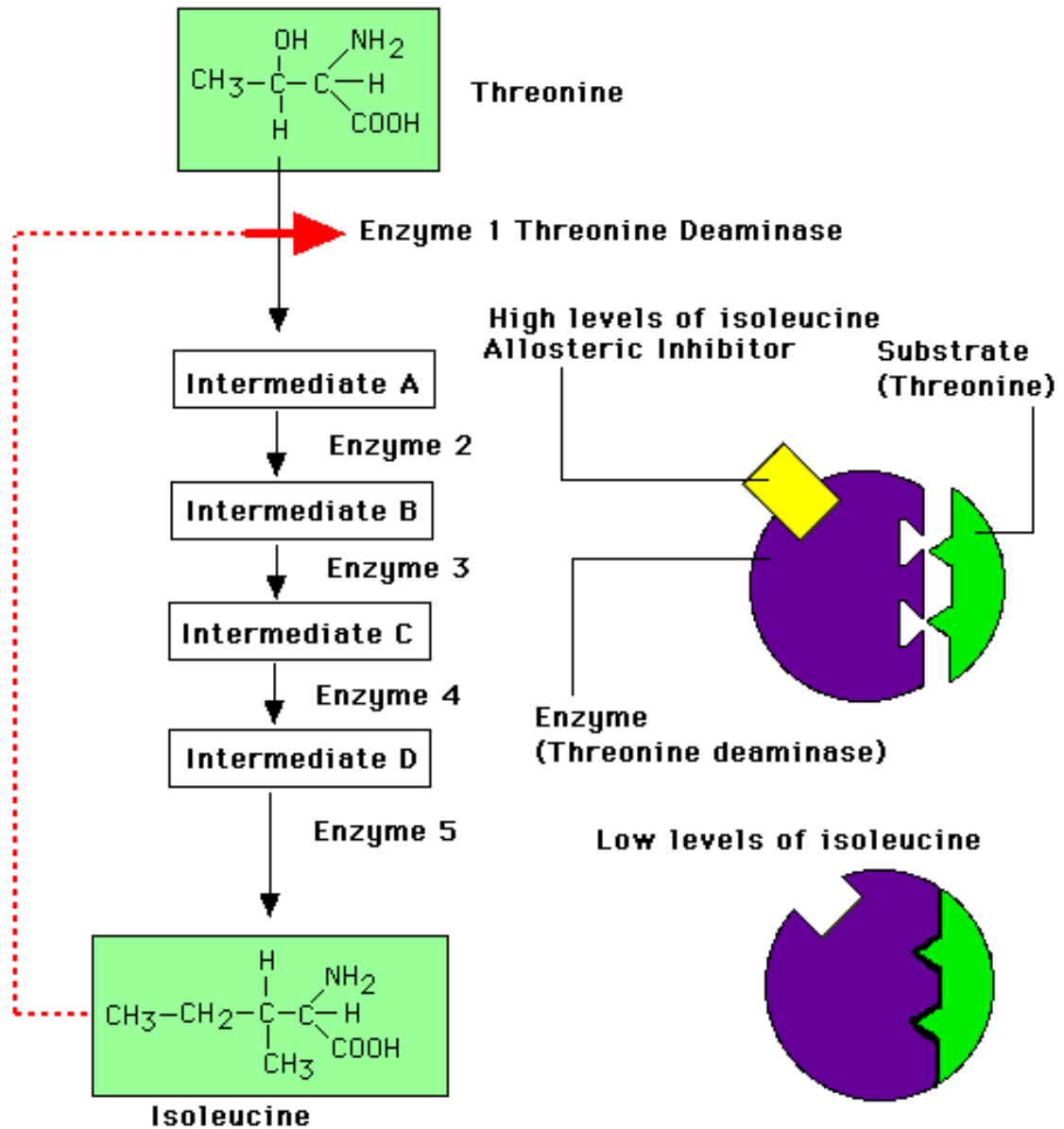
Allosteric
site

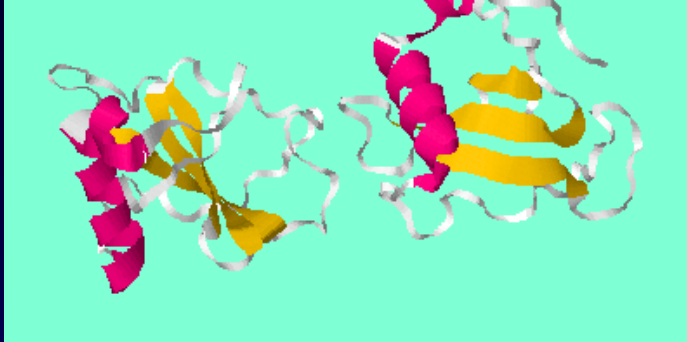


Allosteric
inhibitor



Feedback Inhibition





from a
 example,
 of n was
 leucine
 level of

degradative threonine deaminase from *E. coli* (27).

Effects of different ligands on the stability of the enzyme at low threonine concentrations. At concentrations of threonine between 0.1 and 0.2 M, formation of the product was linear with time to a concentration of at least 4 μ moles of α -ketobuty-

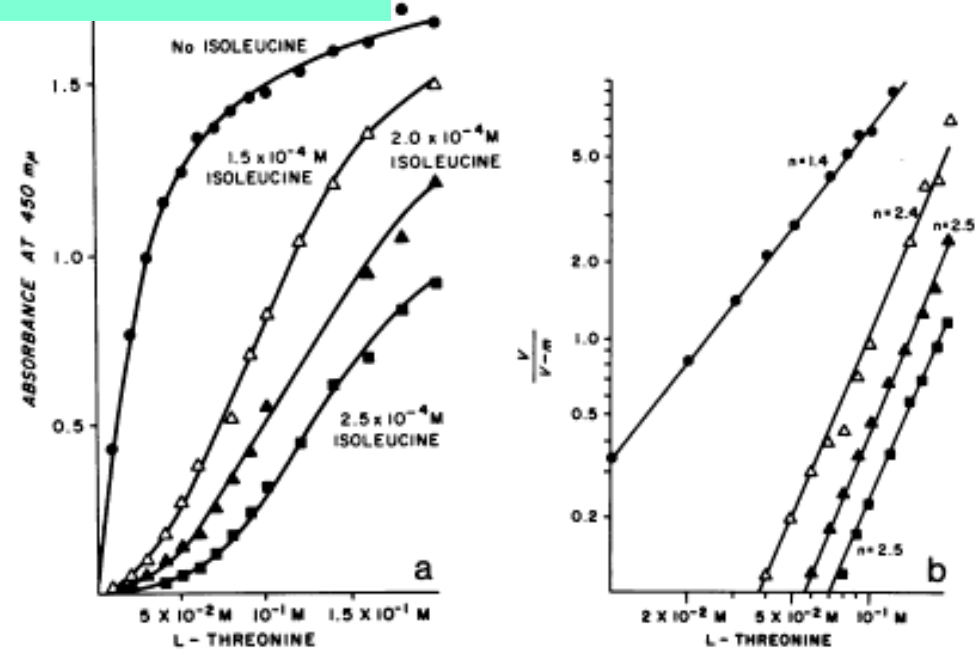
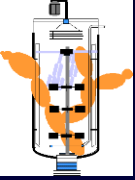


FIG. 3. Activity of *P. multivorans* threonine deaminase as a function of the concentration of L-threonine. Reaction mixtures contained standard concentrations of pyridoxal phosphate and mercaptoethanol, 0.2 M Tris-hydrochloride buffer (pH 8.5), L-threonine at the indicated final concentrations (all at pH 8.5), and 50 μ g of protein from a preparation equivalent to step 3 of Table 1.



TÖBB KÖTŐHELYES ENZIMEK, ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

Sok enzim alegységekből felépülő oligomer,
amely több szubsztrátum átalakító
aktív helyel rendelkezik.

***több kötőhelyes enzimek
allosztérikus enzimek.***



Legegyszerűbb eset:

**DIMER ENZIM,
EGY-EGY AKTÍV CENTRUM
FÜGGETLEN KÖTŐDÉS**



ES=SE
Funkcionálisan

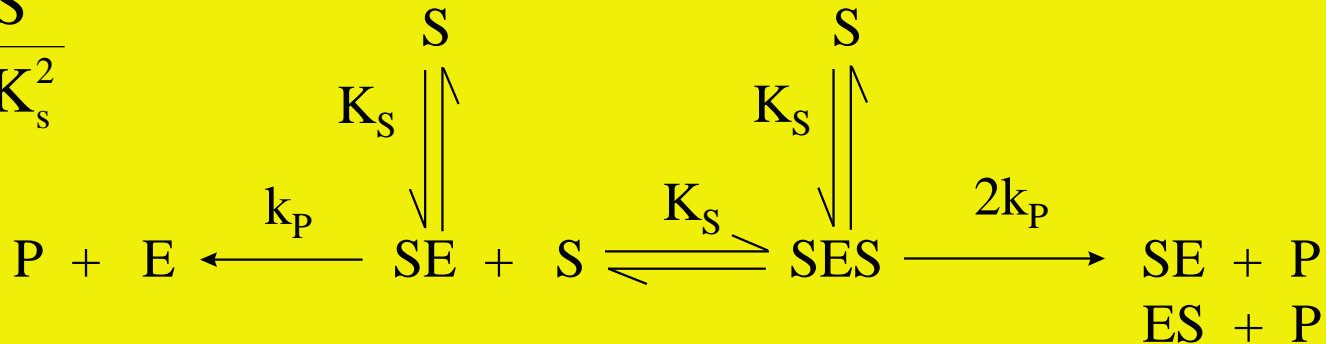
$$v = \frac{S}{K_s} + \frac{S^2}{K_s^2}$$

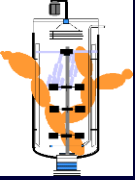
$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{1}{1 + \frac{2S}{K_s} + \frac{S^2}{K_s^2}}$$

E

ES és SE
komplexek
Mindkettő
menyisége

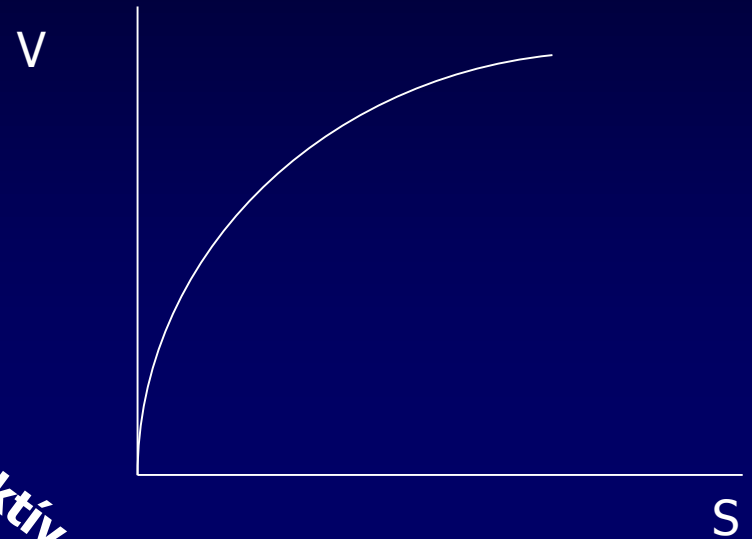
SES
komplex





TÖBB KÖTŐHELYES ENZIMEK

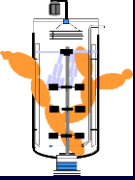
$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s} + \frac{S^2}{K_s^2}}{1 + \frac{2S}{K_s} + \frac{S^2}{K_s^2}}$$



Általánosan: n aktív C, azonosak,
Független kötődés

nem lehet tudni, hogy egy X molnyi és n aktív helyet tartalmazó enzimmel van e dolgunk vagy n-szer annyi enzimünk van (nX), de csak egy aktív hellyel rendelkezik minden molekula.

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s} \left(1 + \frac{S}{K_s}\right)^{n-1}}{\left(1 + \frac{S}{K_s}\right)^n} = \frac{S}{K_s} \left(1 + \frac{S}{K_s}\right)^{-1} = \frac{S}{K_s + S}$$



ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

S kötése hat a másik (harmadik, negyedik, stb) szubsztrát kötésére.

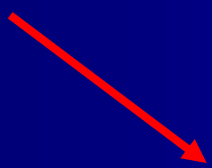
KÖLCSÖNHATÁS = nem független kötőhelyek

KOOPERATIVITÁS

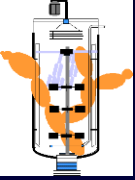


aK_s ahol affinitás változik:
 $a < 1 \Rightarrow$ affin nő = segítik egymást = pozitív koop.
 $a > 1 \Rightarrow$ affin csök. = gátl. negatív koop.

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{\frac{S}{K_s} + \frac{S^2}{aK_s^2}}{1 + \frac{2S}{K_s} + \frac{S^2}{aK_s^2}}$$



Nem redukálható MM-né!



ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

n ekvivalens aktiv hely esetén

a, b, c... kölcsönhatási vagy kooperativitási állandók kicsik

(**E** csak akkor igatán aktív, ha valamennyi kötő helyét elfoglalták a szubsztrát molekulák, n-1, n-2 S - t kötött enzim aktivitása elhanyagolható.):

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S^n}{K' + S^n}$$

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S^n}{K_{0,5}^n + S^n}$$

HILL-egyenlet

$$K' = K_{0,5}^n = K_S^n (a^{n-1} b^{n-2} c^{n-3} \dots z^1)$$

$$S_{1/2} \equiv K_{0,5}$$

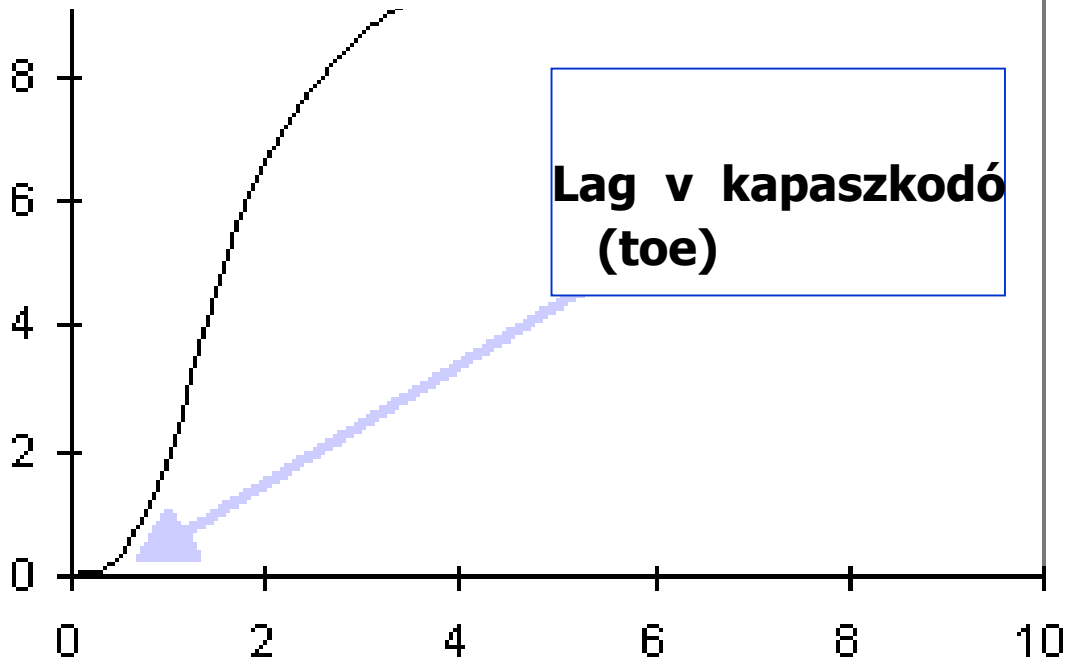
$$S_{1/2} = \sqrt[n]{K'} \quad \text{vagy} \quad n \cdot \lg S_{1/2} = \lg K'$$

pozitív kooperativitás

*Nagyobb $S \rightarrow$ dinamikus
(gyorsuló) V növekedés
növekvő affinitás

*Még nagyobb $S \rightarrow$ telítődés
(hasonlít MM-re)

r. sebesség



*Kis $S \rightarrow$ nagyon kis
 V növekedés
kis affinitás

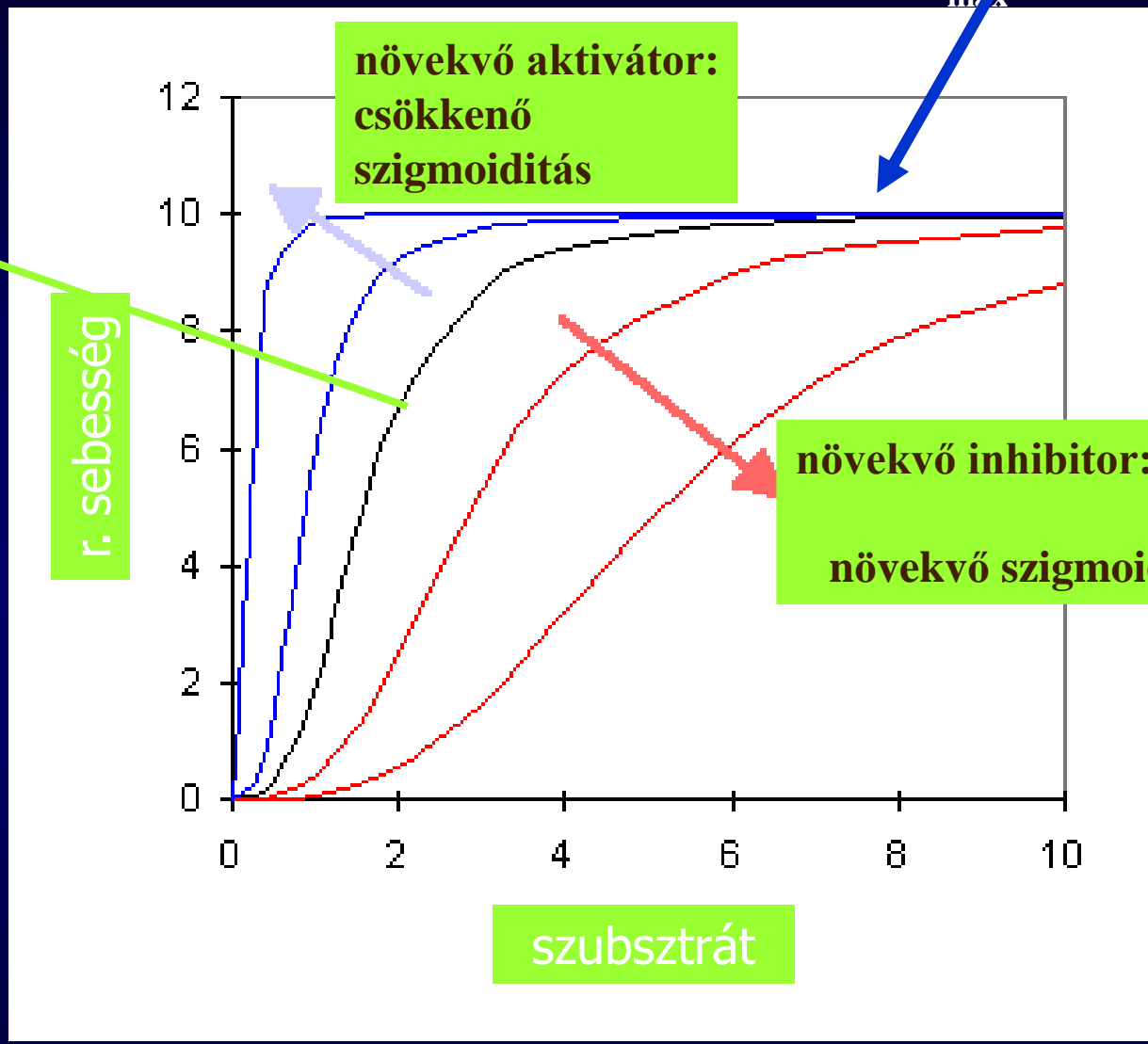
szubsztrát

$U_a V_{max}$ -hoz tartanak!

nincs effektor

Szigmoiditás \sim
 \sim kooperativitás

r. sebesség



növekvő aktivátor:
csökkenő
szigmoiditás

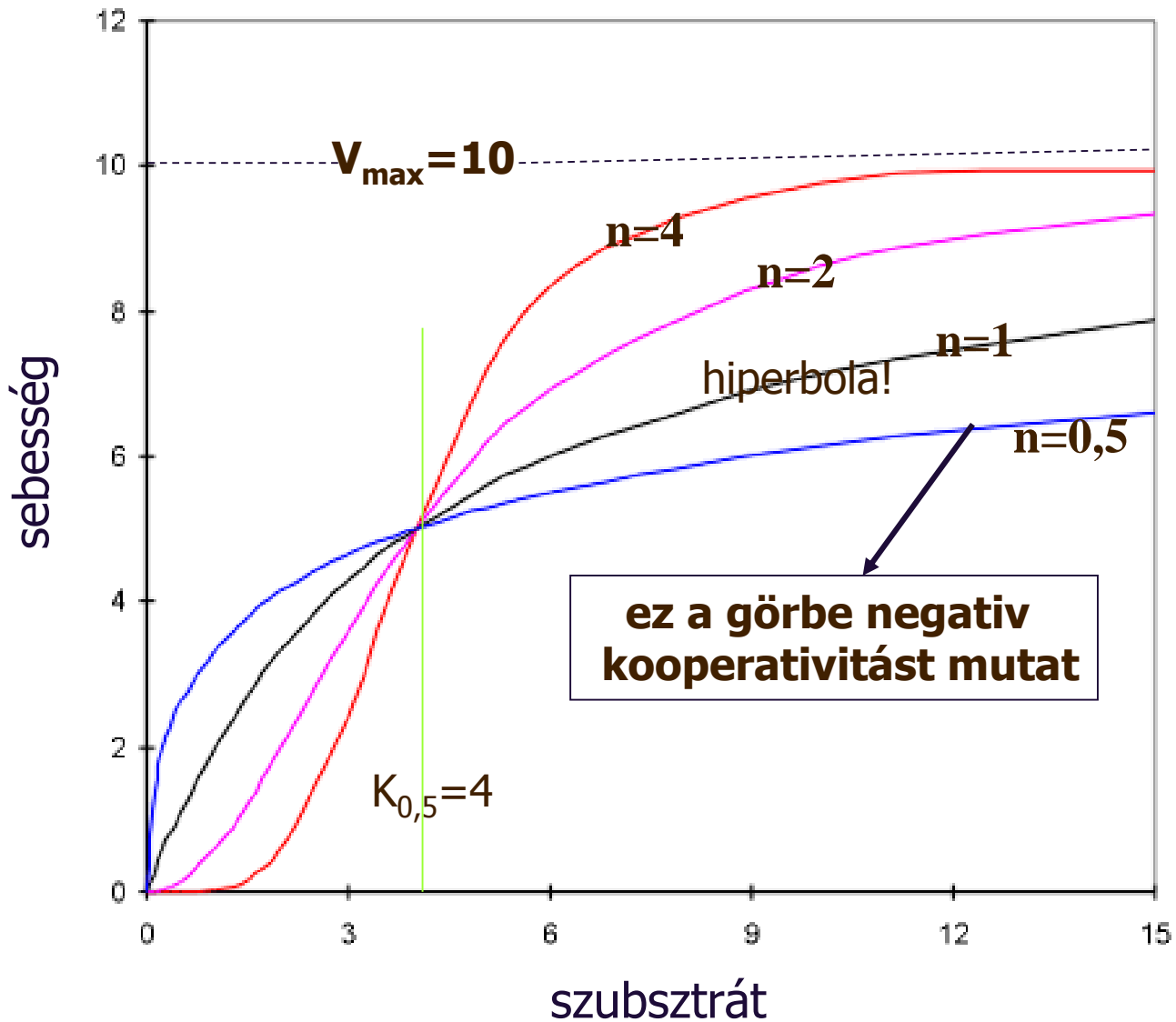
növekvő inhibitor:
növekvő szigmoiditás

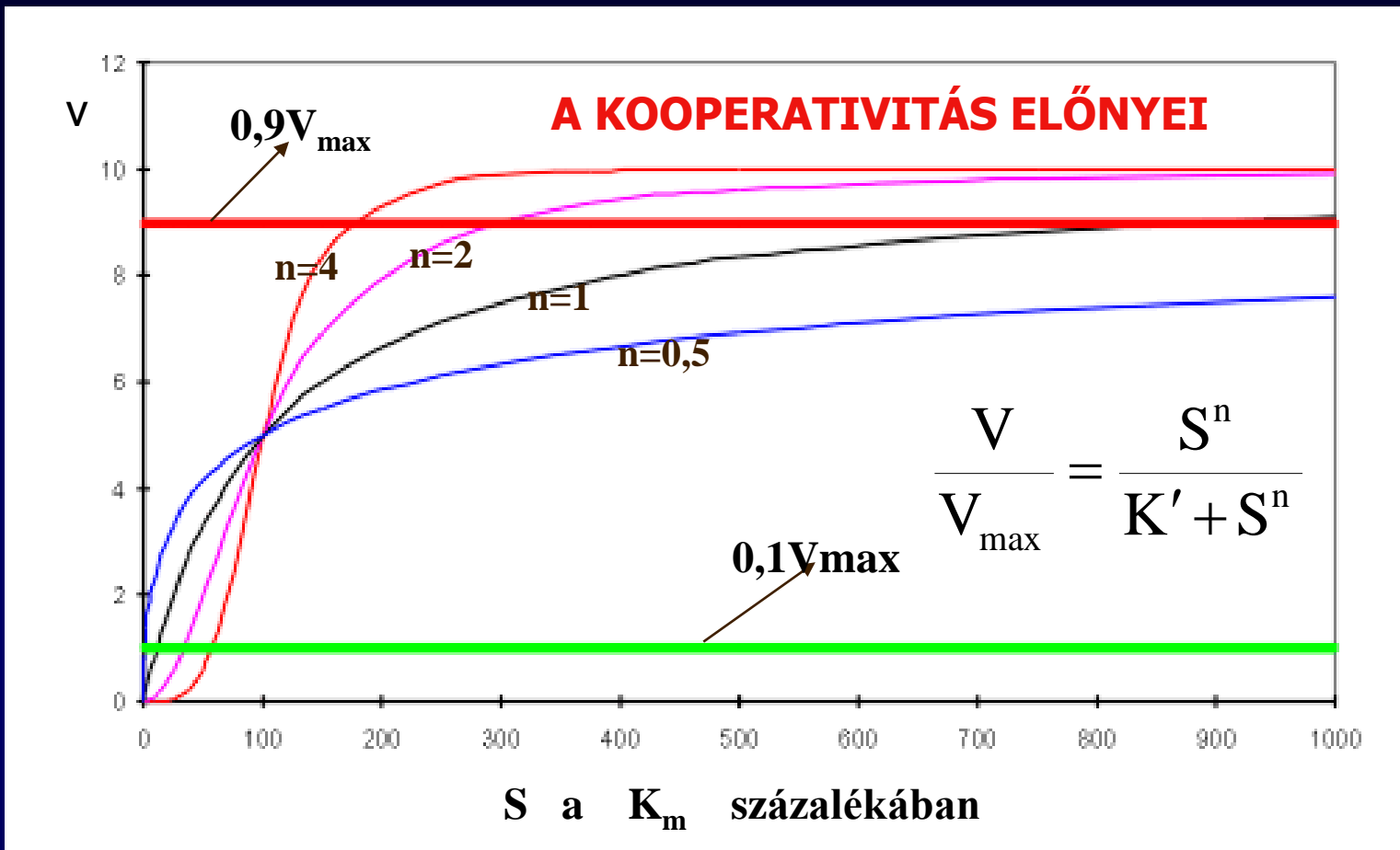
szubsztrát

egy allosztérikus inhibitor növeli egy
aktivátor csökkenti a szubsztrát kooperativitást
(K-system)

növekvő HILL-koefficiens → növekvő S kooperativitás

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{S^n}{K' + S^n}$$





A S –kooperativitás előnyei: n=1 nél 81 szerez K_S -nyi S kell a 10 →90 növekedéshez

n=2 9

n=4 3

+kooperativitásnál az enzim sokkal érzékenyebb a S cc változásaira

- kooperativitásnál az enzim sokkal kevésbé érzékeny a S cc változásaira

n=0,5 6561

hasznos: pl koenzim, nagyjából állandó sebesség

$$V / V_{\max} = 0,9 = \frac{S_{0,9}}{K_S + S_{0,9}} \quad S_{0,9} = 9K_S$$

$$\frac{S_{0,9}}{S_{0,1}} = 81$$

MM

$$V/V_{\max} = 0,1 = \frac{S_{0,1}}{K_S + S_{0,1}} \quad S_{0,1} = K_S / 9$$

$$0,9 = \frac{S_{90}^n}{K' + S_{90}^n} \rightarrow 0,9K' + 0,9S_{90}^n = S_{90}^n \rightarrow 0,9K' = 0,1S_{90}^n$$

$$0,1 = \frac{S_{10}^n}{K' + S_{10}^n} \rightarrow 0,1K' + 0,1S_{10}^n = S_{10}^n \rightarrow 0,1K' = 0,9S_{10}^n$$

$$\frac{S_{0,9}}{S_{0,1}} = \sqrt[n]{81}$$

Allo

Egy szigmoid V-S karakterű enzimnél a 90%-os telítettséget biztosító szubsztrát koncentrációnak és a 10%-os telítettséget biztosító szubsztrát koncentrációnak a hányadosa 7.

Hány aktív helye van az enzimnek?

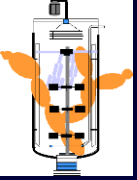
Írjuk fel a sebességi egyenletet a két kitüntetett szubsztrát koncentrációra és fejezzük ki e kifejezésekből a két esetre azonos K értéket:

$$0,9 = \frac{S_{90}^n}{K' + S_{90}^n} \rightarrow 0,9K' + 0,9S_{90}^n = S_{90}^n \rightarrow 0,9K' = 0,1S_{90}^n$$

$$0,1 = \frac{S_{10}^n}{K' + S_{10}^n} \rightarrow 0,1K' + 0,1S_{10}^n = S_{10}^n \rightarrow 0,1K' = 0,9S_{10}^n$$

$$7 = \frac{S_{90}}{S_{10}} = \sqrt[n]{81} \quad \text{ahonnan} \quad n = \frac{\lg 81}{\lg 7} = 2,25$$

Tehát a kölcsönhatási koefficiens 2,25. ((Ha $n > 1 \Rightarrow$ pozitív koop, szigmoid)
Ez azt jelenti, hogy az enzim aktív helyeinek száma minimum 3, illetve az enzim “úgy viselkedik”, mintha pontosan 2,25 aktív helye lenne, amelyek között igen erős a kooperativitás, a valóságban azonban legalább 3 aktív helye kell, hogy legyen, amelyek között sokkal kisebb a valódi kooperativitás.



ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

A sebességi görbe szigmoidicitása:

Kooperativitási index v. Kölcsönhatási index:

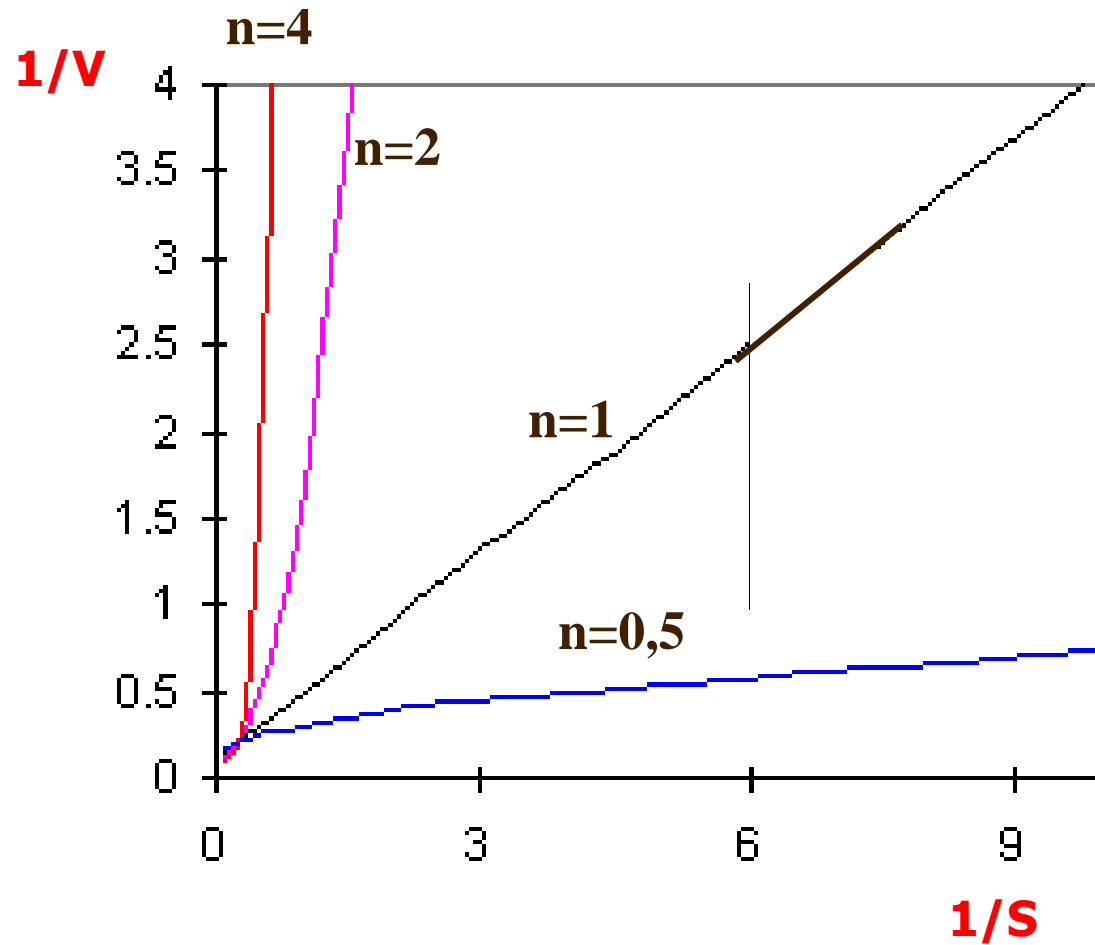
$$K.F = \frac{S_{0,9}}{S_{0,1}}$$

$$0,9 = \frac{S_{0,9}^n}{K' + S_{0,9}^n} \Rightarrow S_{0,9} = \sqrt[n]{9K'}$$

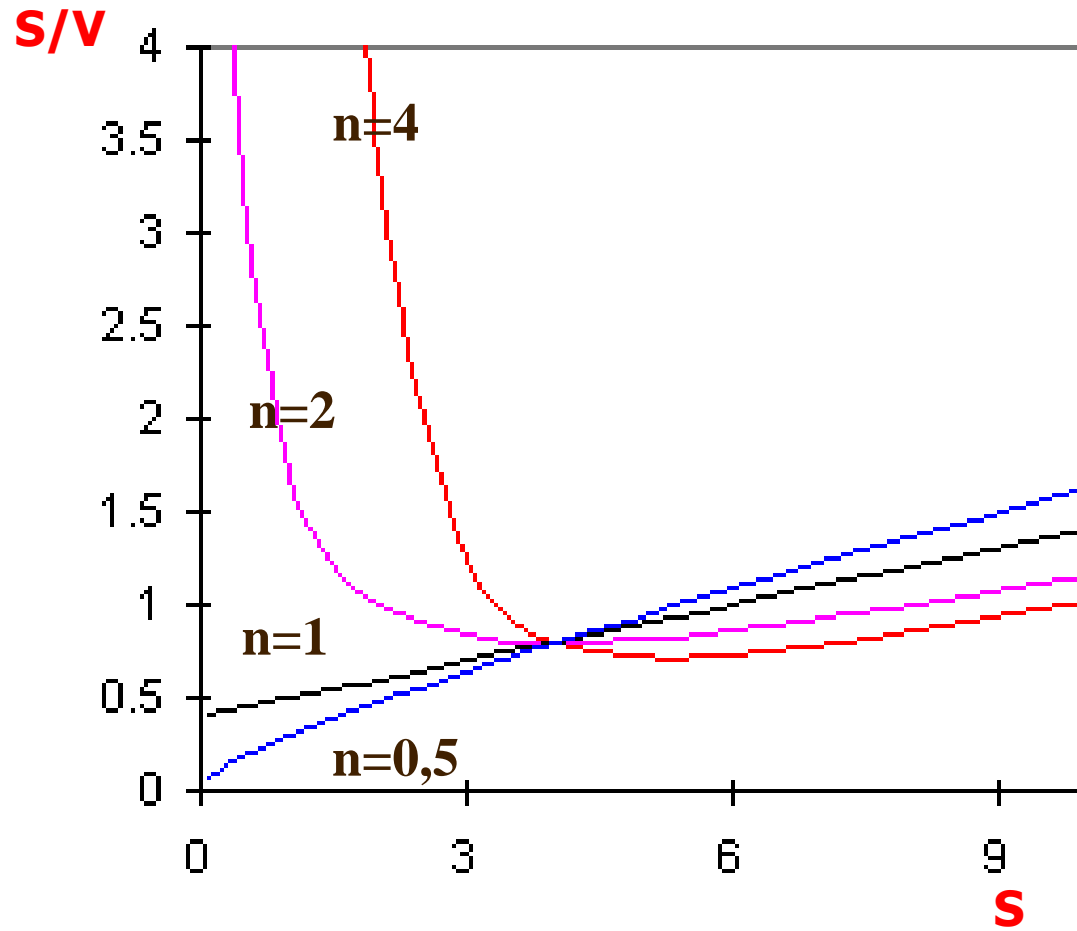
$$0,1 = \frac{S_{0,1}^n}{K' + S_{0,1}^n} \Rightarrow S_{0,1} = \sqrt[n]{\frac{K'}{9}}$$

$$\frac{S_{0,9}}{S_{0,1}} = \frac{\sqrt[n]{9K'}}{\sqrt[n]{\frac{K'}{9}}} = \sqrt[n]{81} \Rightarrow n = \frac{\lg 81}{\lg \frac{S_{0,9}}{S_{0,1}}} = \frac{\lg 81}{\lg K.F}$$

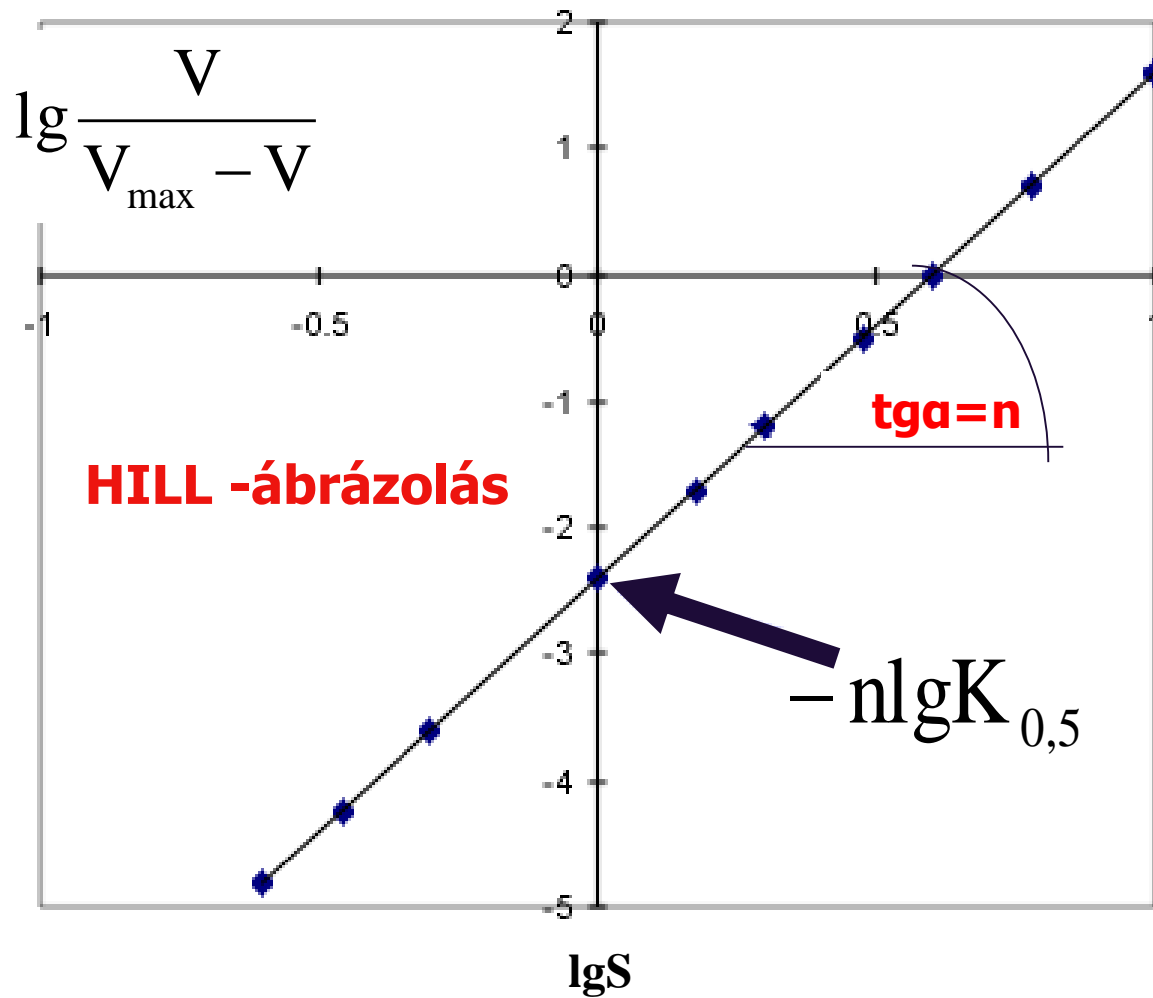
A szubsztrát kooperativitás Lineweaver-Burk ábrázolásban



Kooperativitás Hanes-Langmuir ábrázolásban



$$\lg \frac{V}{V_{\max} - V} = \lg \frac{1}{1 - Y} = n \cdot \lg S - \lg K'$$



Gond: V_{\max} kell a Hill-ábrázoláshoz, de LB, Hanes... nem egyenes!!!

Megoldás:

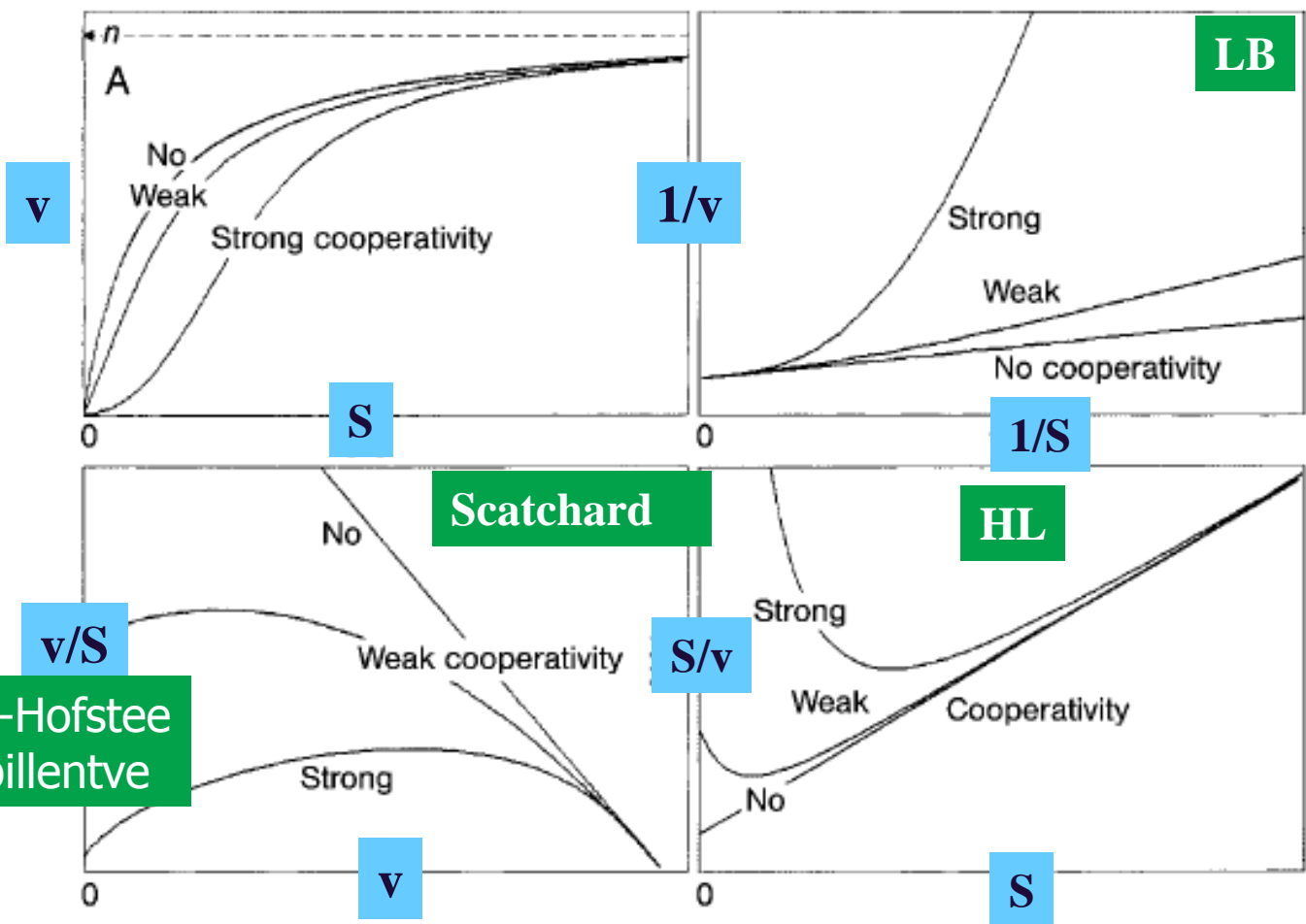
közelítő V_{\max} valamelyik lineáris ábrázolásból,

Hill \longrightarrow n

LB (S^n) \longrightarrow jobb V_{\max}

.....= ITERÁCIÓ

vagy: görbeillesztés komputerrel



Tk:Eadie-Hofstee
Oldalra billentve

Fig. 1.11 Binding curves of cooperative systems according to the symmetry model in different representations. (A) Direct plot, (B) double-reciprocal plot, (C) Scatchard plot, (D) Hanes plot. No cooperativity: $L=c=1$; weak cooperativity: $L=5$, $c=0.1$; strong cooperativity: $L=100$, $c=0.01$.

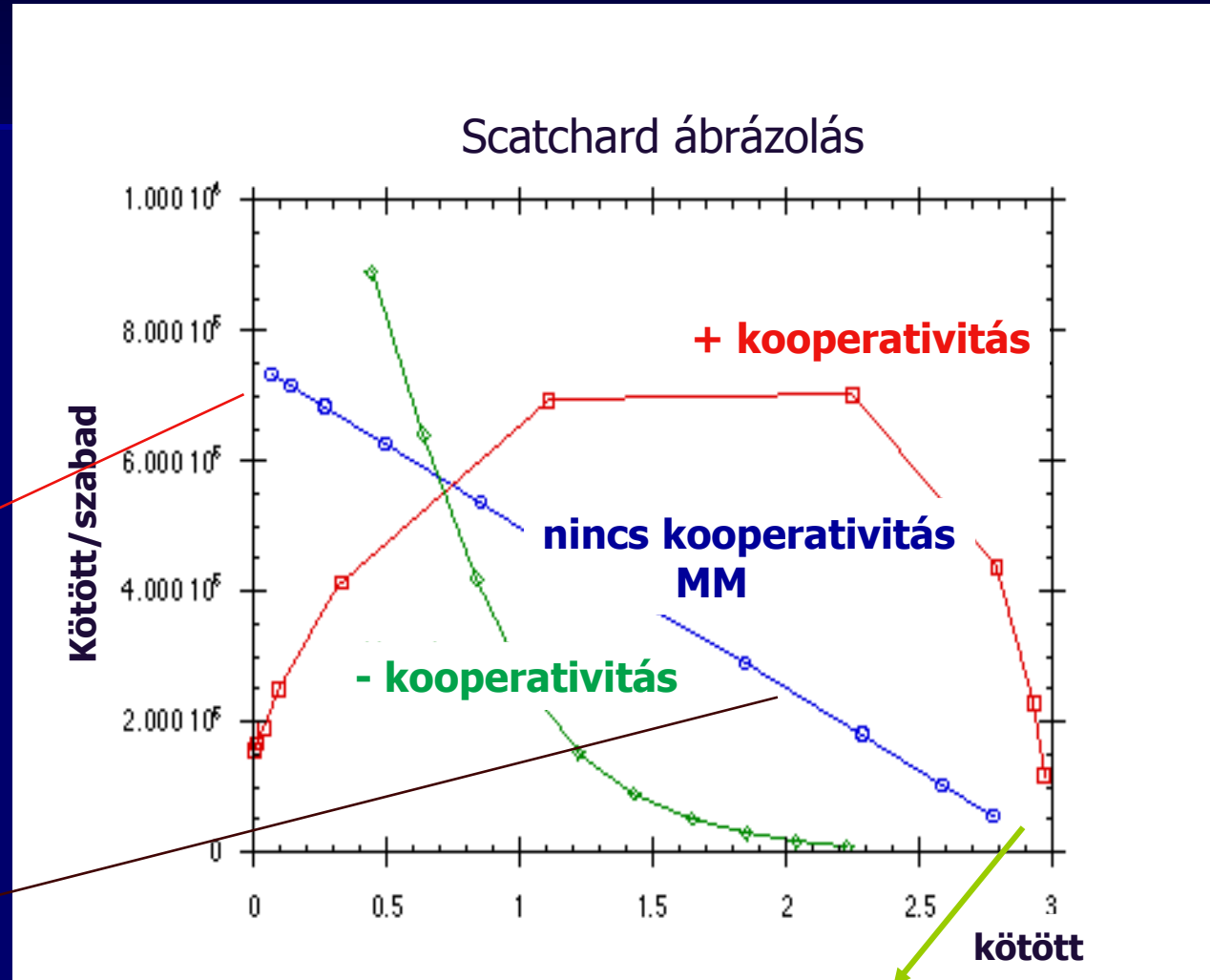
SCATCHARD ábrázolás

$$\frac{L_{\text{kötött}}}{L_{\text{szabad}}} = -\frac{L_{\text{kötött}}}{K_d} + \frac{S_T}{K_d}$$

L: ligand
 S: kötőhely
 K_d =disszociációs
 állandó

$$\frac{S_T}{K_d}$$

$$-\frac{1}{K_d}$$



Allosztérikus fehérjék működési mechanizmus modelljei

Szimmetria modell (v. concerted hipotézis)

1965 Jacques MONOD-Jeffries WYMAN-
Jean-Pierre CHANGEUX
MWC-modell

Szekvenciális hipotézis

KOSHLAND-NÉMETHY-FILMER
KNF-modell

Szimmetria modell (v. concerted hipotézis)
MWC

ALLOSZTÉRIKUS FEHÉRJÉK EGYSÉGEI: AZONOS PROTOMEREK
pl. Hemoglobin 2x2 azonos protomerből áll
EGY PROTOMER EGY AKTÍV HELYET TARTALMAZ

A PROTOMER KÉT KONFORMÁCIÓBAN LÉTEZHET:
T(ight) R(elaxed)

A LIGANDUM MINDKETTŐHÖZ KÖTŐDHET

A KONFORMÁCIÓ VÁLTOZÁS MEGVÁLTOZTATJA AZ
AFFINITÁSÁT A LIGANDUMHOZ

MINDKÉT FORMA MEGŐRZI AZ OLIGOMER MOLEKULÁRIS
SZIMMETRIÁJÁT (=vagy csak R, vagy csak T)

Szimmetria modell (v. concerted hipotézis)

MWC

KONFORMÁCIÓ VÁLTOZÁSON EGYSZERRE MENNEK ÁT

concerted=egyszerre,összehangolva

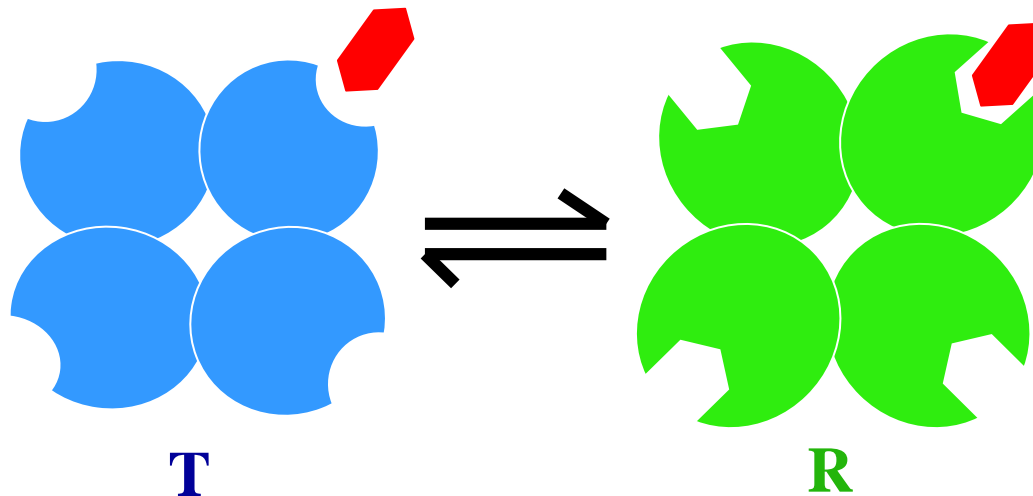
azaz mindegyik T v R konfigurációban van.

Szubsztrát kötés

gyenge

$$K_T > K_R$$

erős



MWC egyensúly az állapotok között

Egyensúlyi állandó

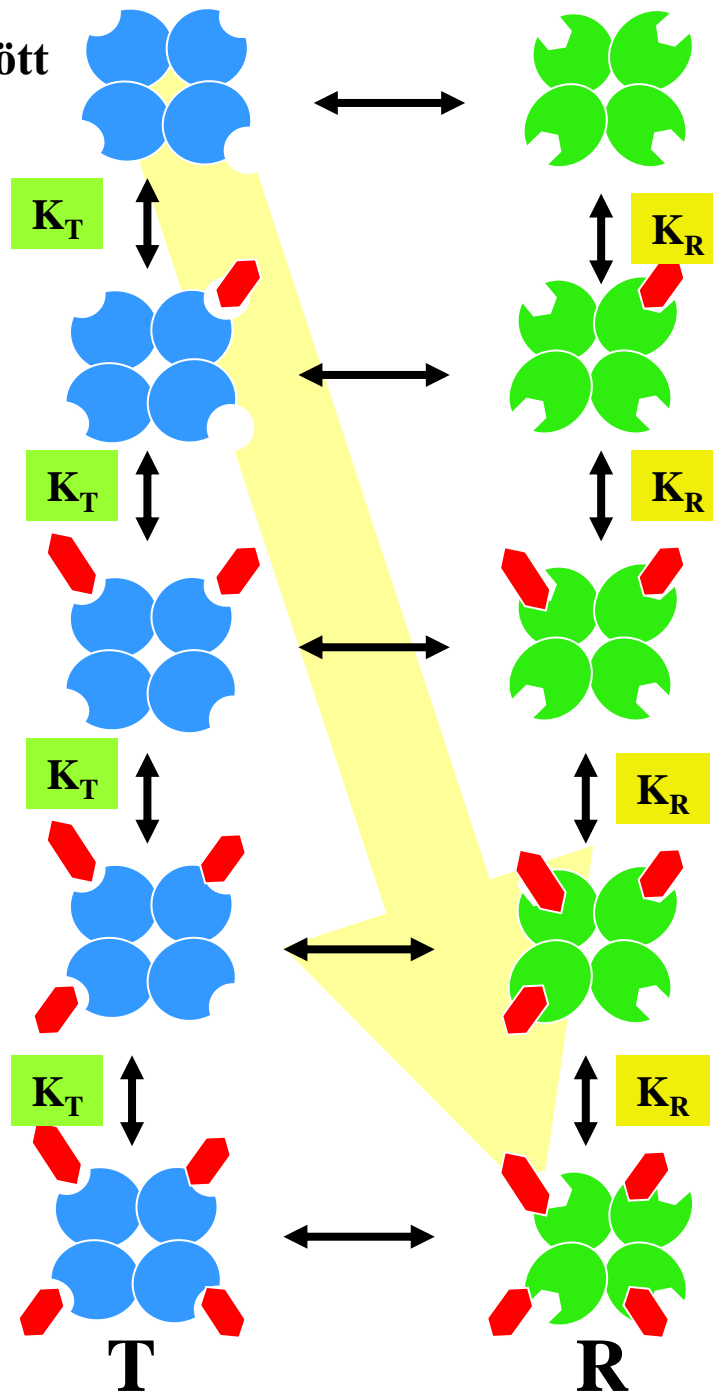
$$L = \frac{T_0}{R_0}$$

Normalizált ligandum cc.

$$\alpha = \frac{S}{K_R}$$

Ligandum kötő
Affinitások aránya

$$c = \frac{K_R}{K_T}$$



0

L mindkettőhöz kötődik
de R-hez nagyobb
affinitással

1

2

3

4

Az egyensúly R irányba
tolódik el

T

R

ADAIR-egyenlet n kötőhelyre

Homotrop kooperativitásnál

$$\frac{\text{protomer cc.liganddal}}{\text{összes protomer cc}} = Y = \frac{\alpha(1 + \alpha)^{n-1} + Lc\alpha(1 + c\alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + L(1 + c\alpha)^n}$$

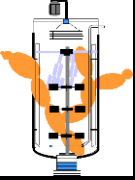
Heterotrop kooperativitásnál

$$\frac{\text{protomer cc.liganddal}}{\text{összes protomer cc}} = Y = \frac{\alpha(1 + \alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + \frac{L(1 + \beta)^n}{(1 + \gamma)^n}}$$

$$L = \frac{T_0}{R_0}$$

$$c = \frac{K_R}{K_T}$$

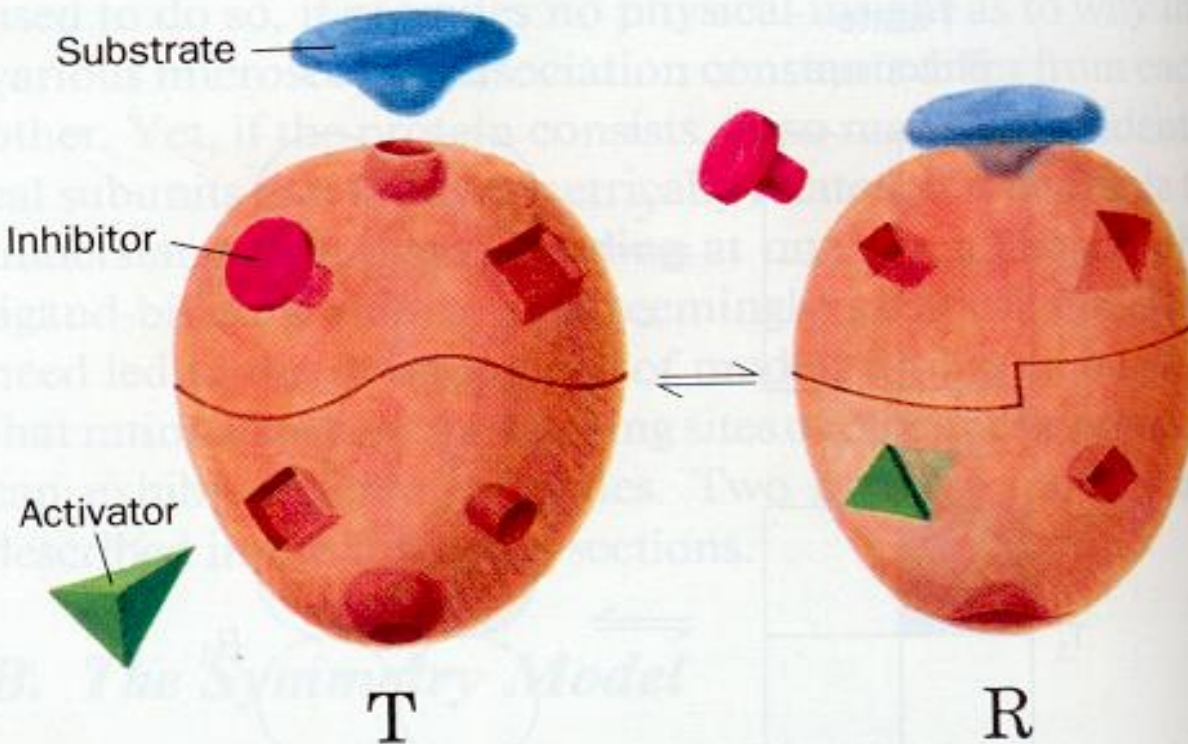
$$\alpha = \frac{S}{K_R} \quad \beta = \frac{I}{K_I} \quad \gamma = \frac{A}{K_A}$$



aktivátor erősebben köt R-hez (mint a S), így elősegíti az egyensúly R irányba tolódását = sok S kötését,

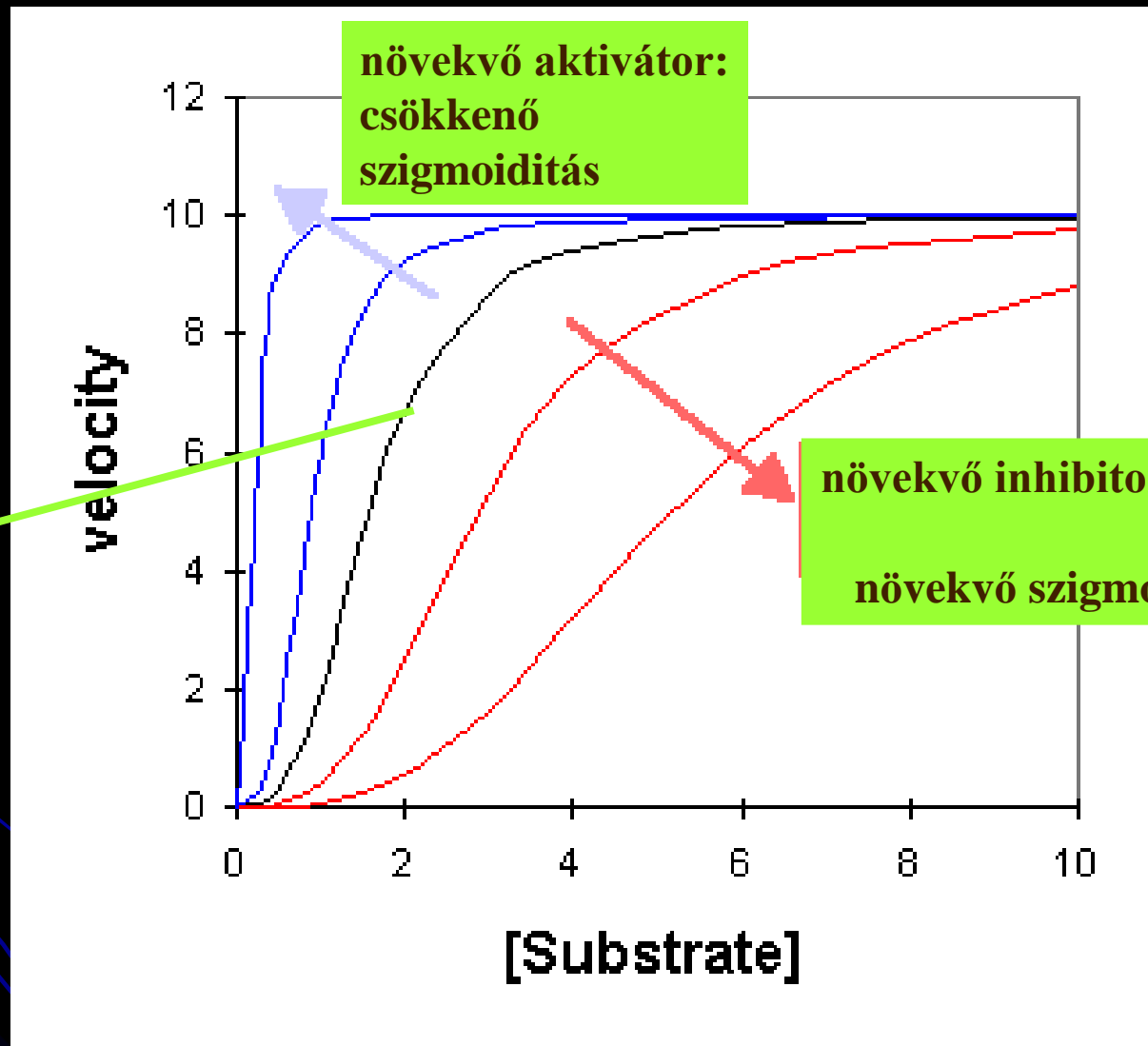
a S kooperativitás csökken (kevésbé szigmoid)

Heterotróp allosztéria: Effektorok



inhibitor erősebben köt T-hez, így elősegíti az egyensúly T irányba tolódását = kevesebb S kötését,
a S kooperativitás nő (szigmoidicitás nő)

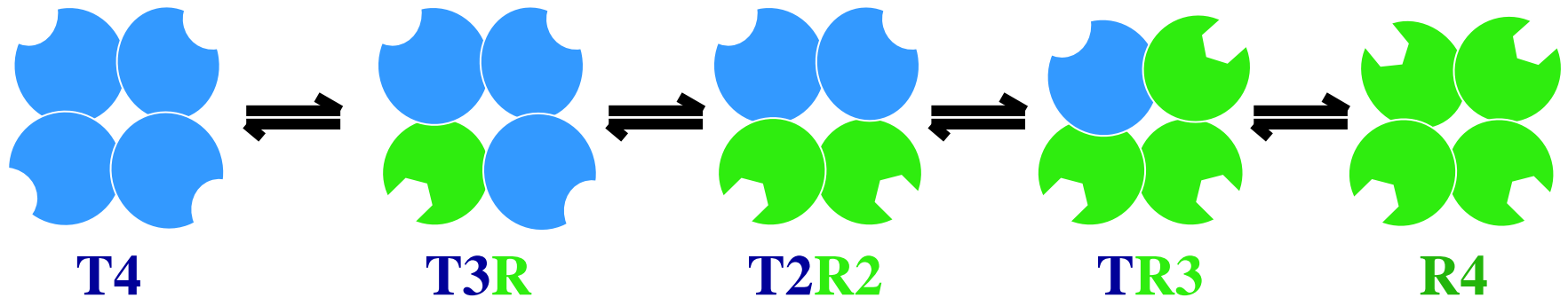
Ua V_{\max} -hoz tartanak!



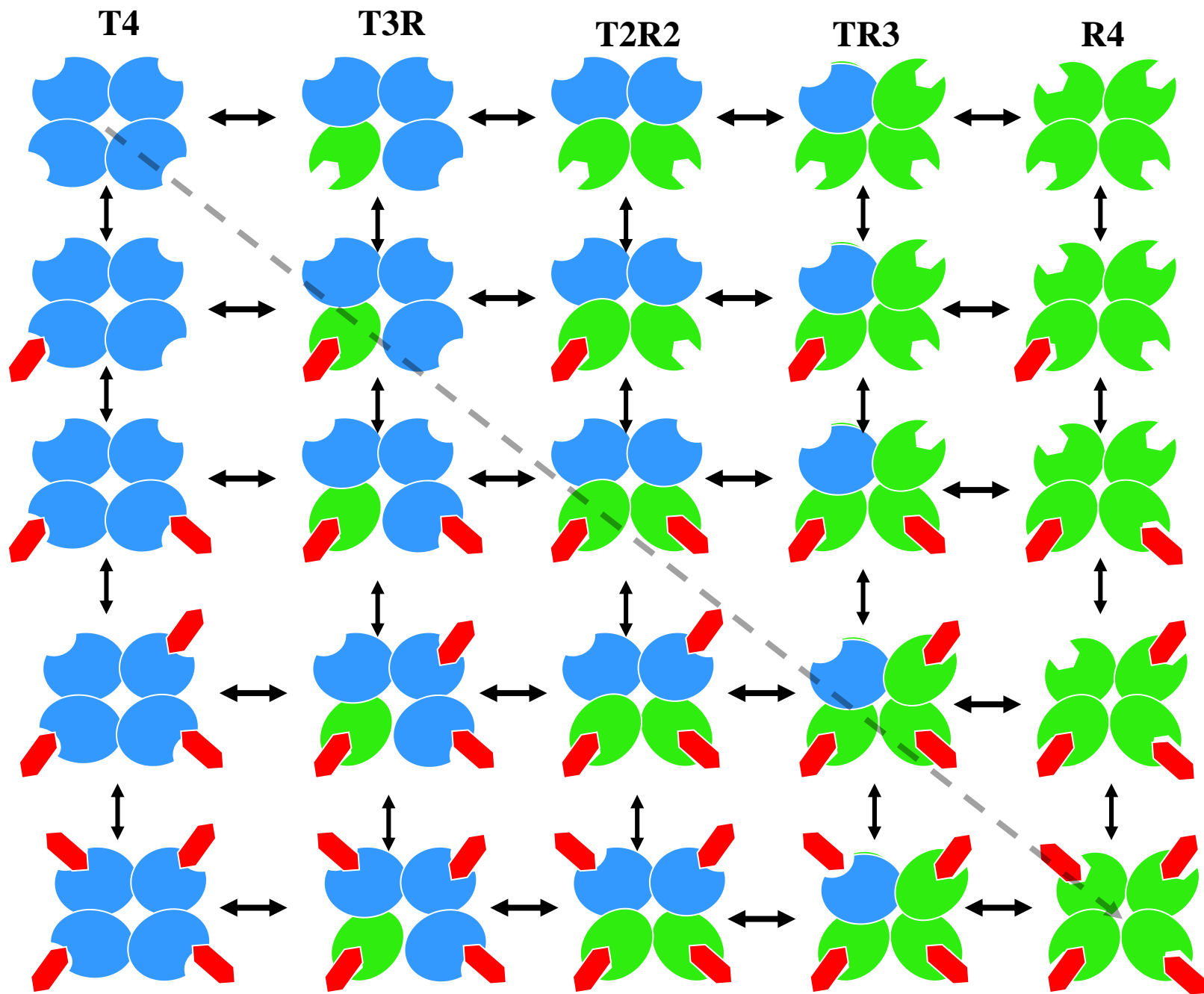
egy allosztérikus inhibitor növeli egy aktivátor csökkenti a szubsztrát kooperativitást (K-system)

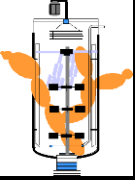
KNF-modell

Mindegyik alegység maga is átmehet a $T \rightarrow R$ átalakulásra (az alegységek egymástól függetlenül válhatnak konf-t.)



effektorok:aktivátor - úgy hat mint a S, de más helyre kötődve
inhibitor - merevebbé teszi az enzimet a $T \rightarrow R$ átmenettel szemben.





ALLOSZTÉRIKUS ENZIMEK

ASPARTÁT TRANSZKARBAMOILÁZ v. -kARBAMOILTRANSZFERÁZ

ATCase

pirimidinszintézis:



12 különböző alegység protein

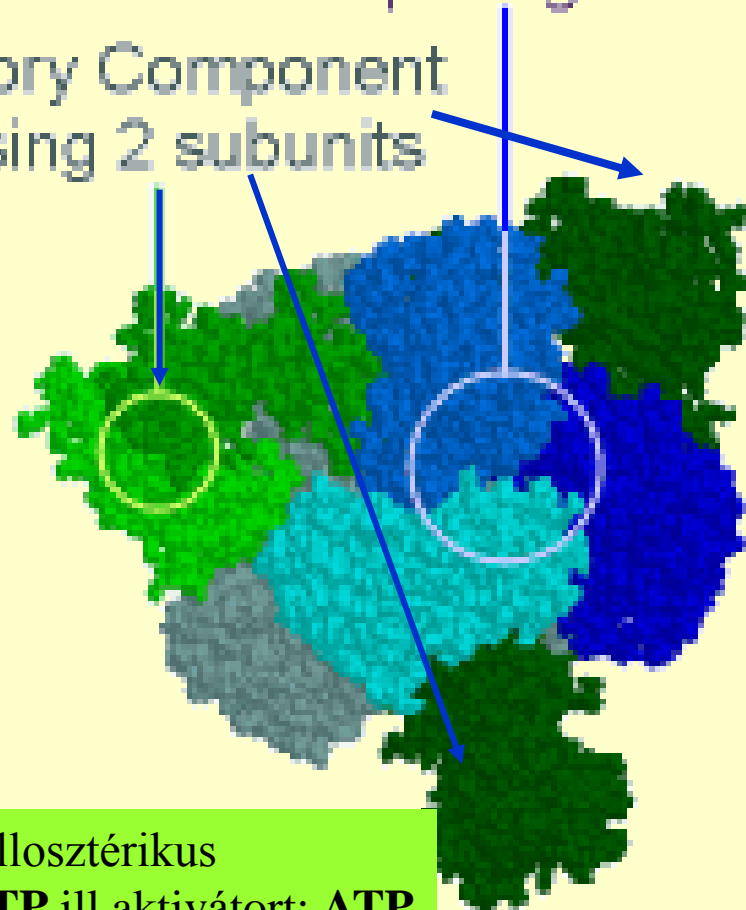
2 katalitikus komponens: 3-3 alegység

3 regulátor komponens – 2-2
alegységből

CHIME

Catalytic component
comprising 3 subunits

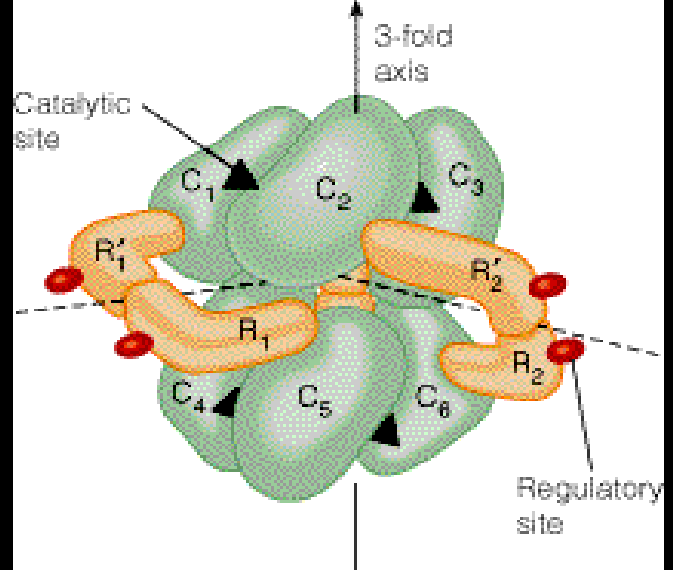
Regulatory Component
comprising 2 subunits



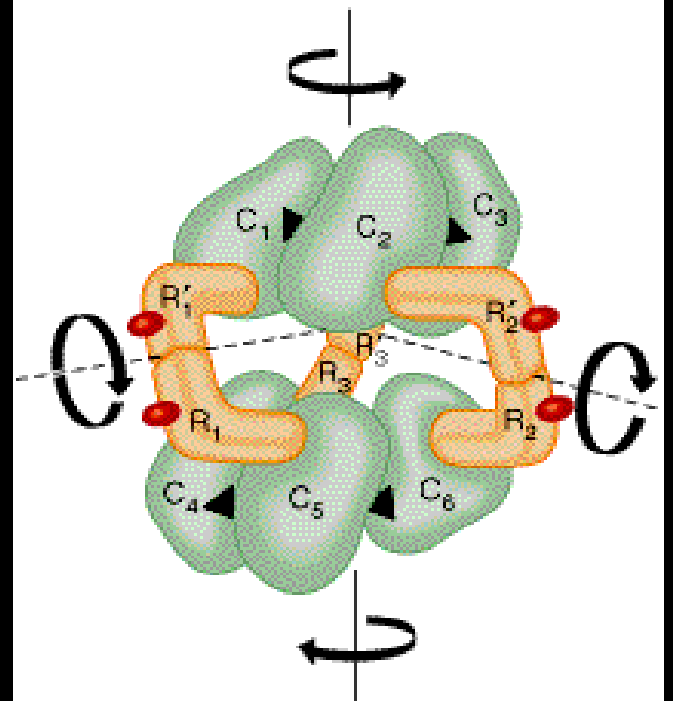
elválaszthatók, a kat. magában is enzim, de nem allosztérikus

a reg. nem katalizál, de köt inhibitor: CTP ill aktivátort: ATP

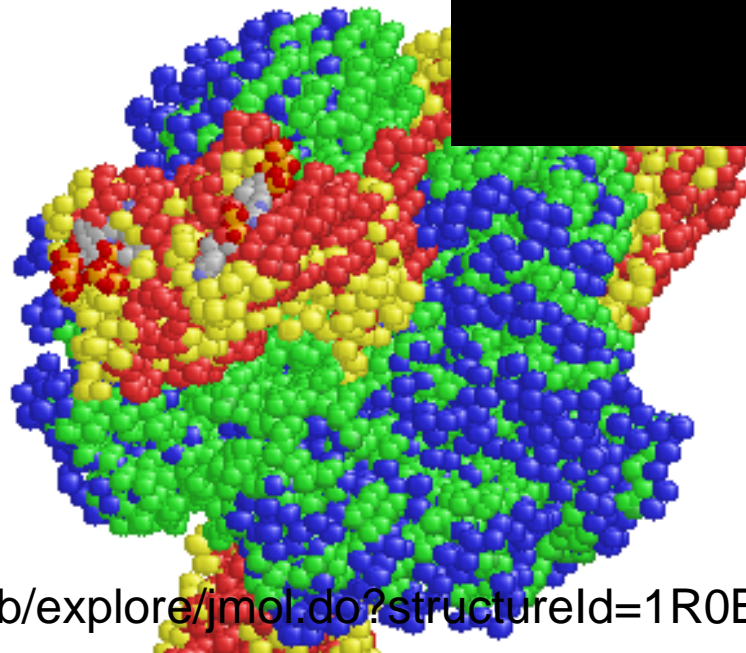
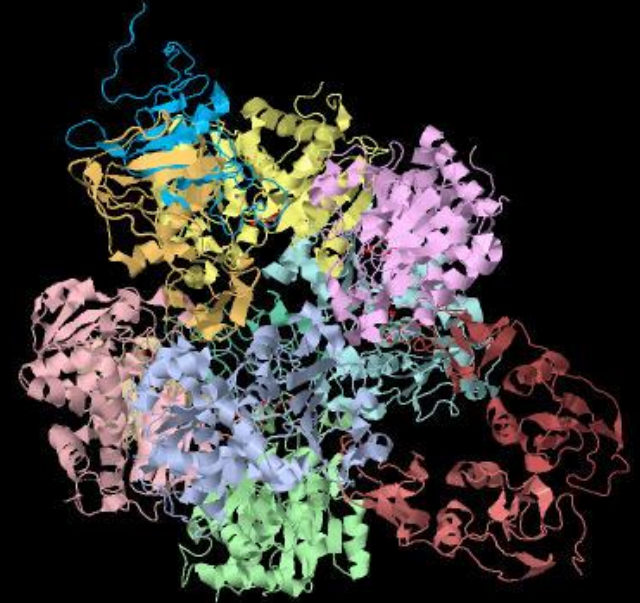
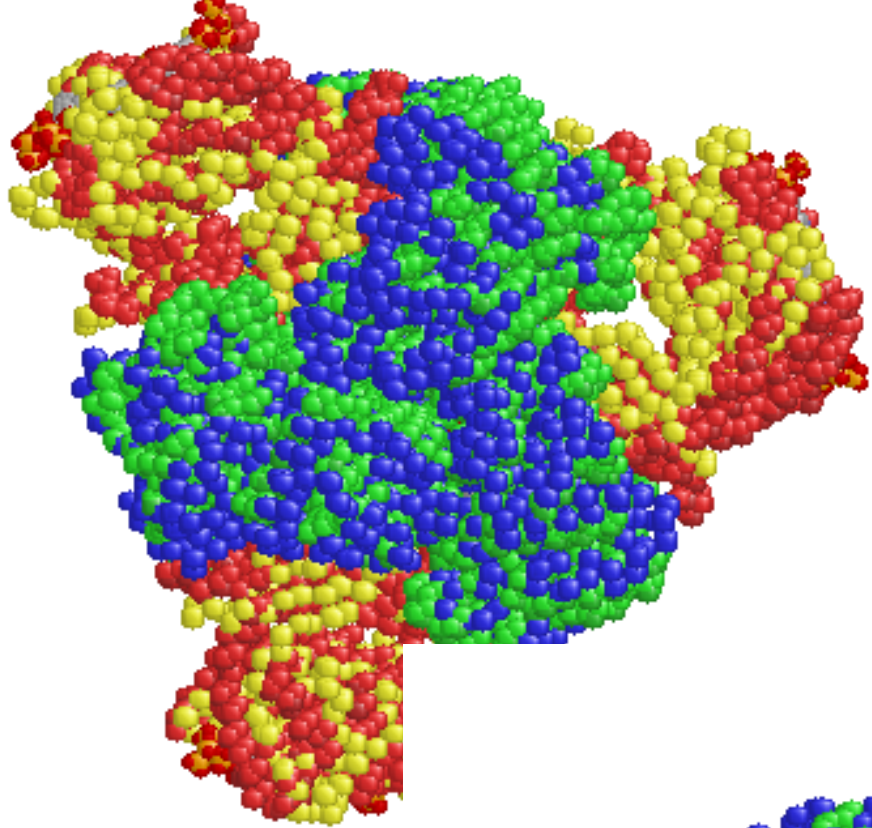
CHIME



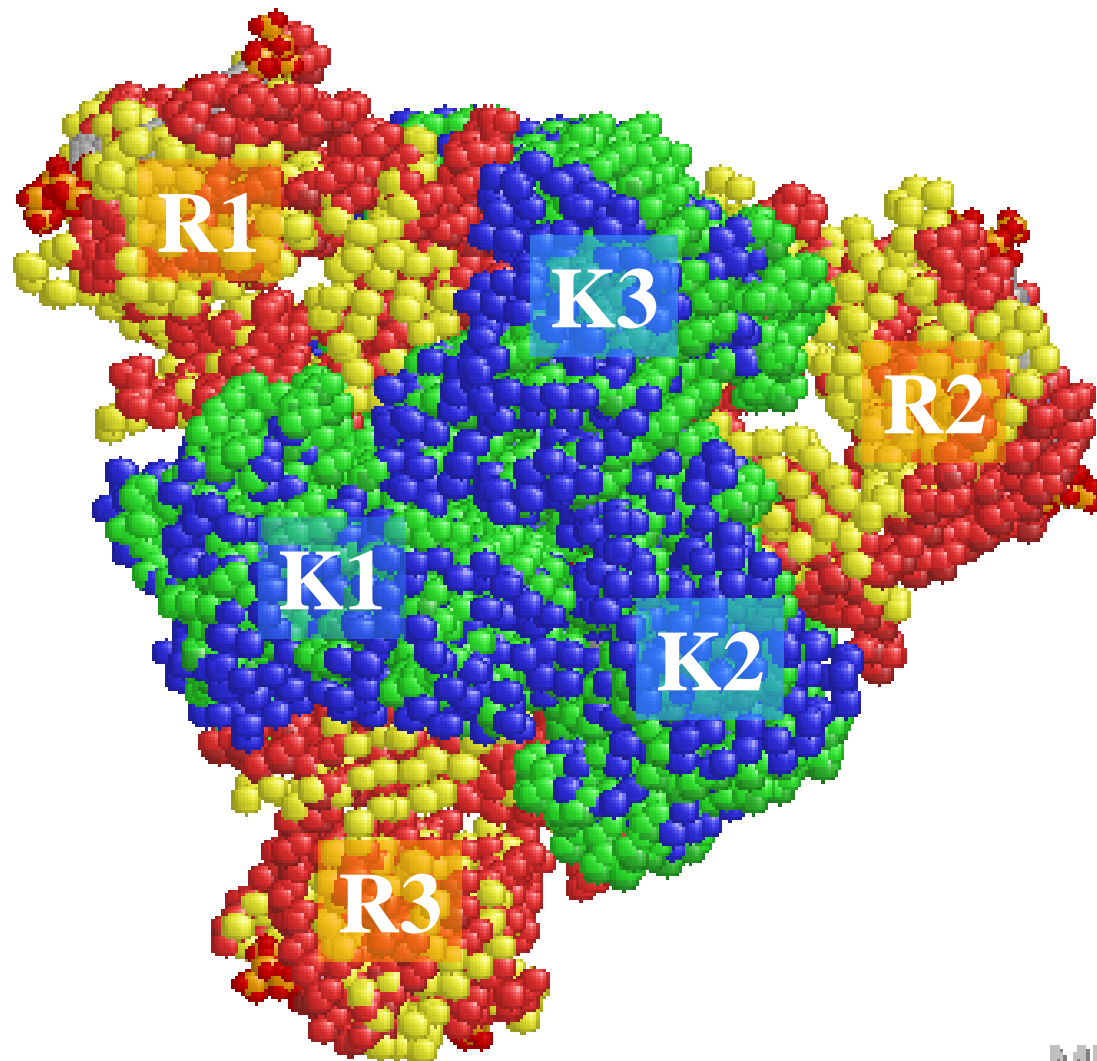
(a) ATCase: T state



(b) ATCase: R state

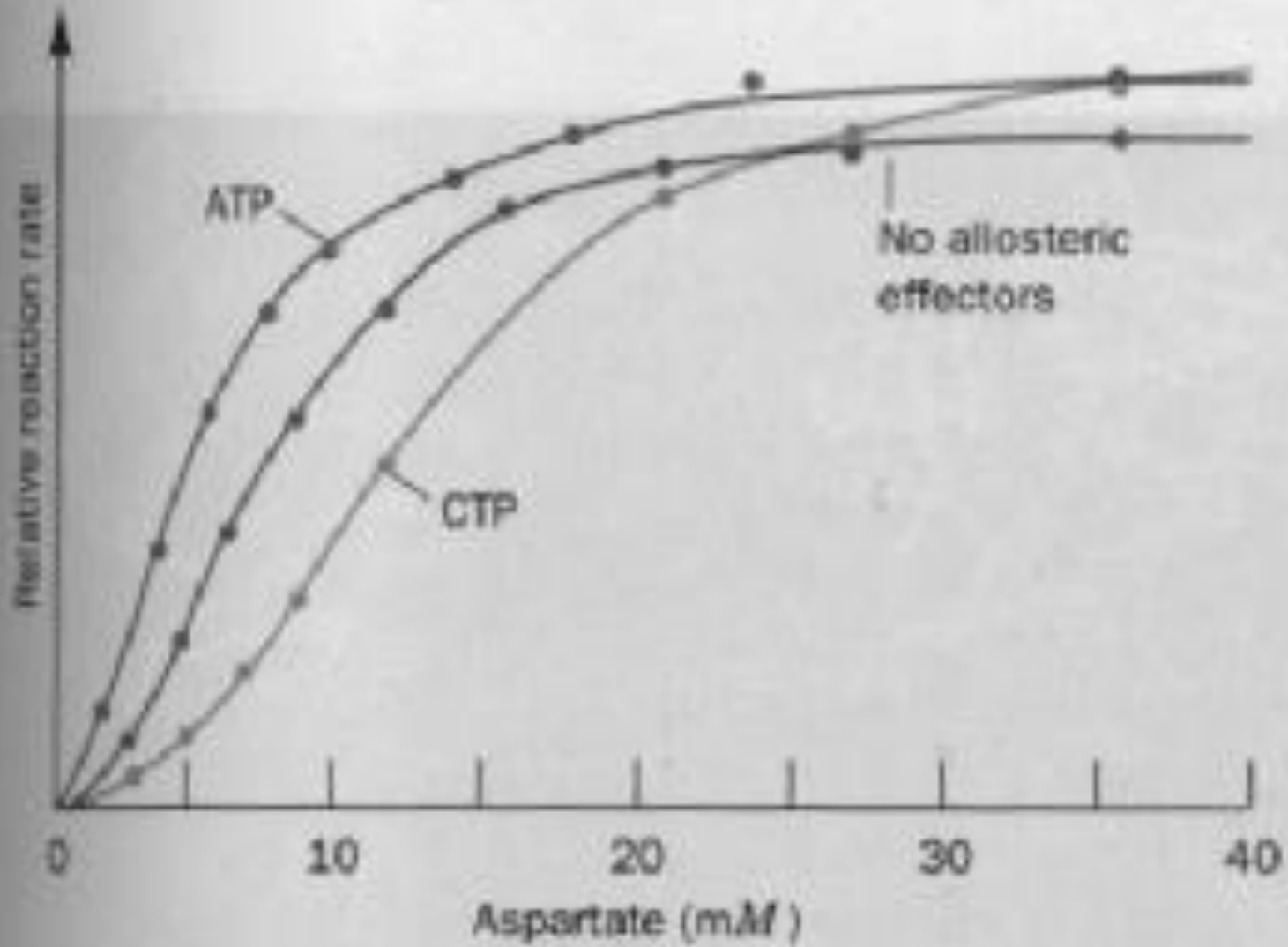


<http://www.pdb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=1R0B&bionumber=1>



MDL

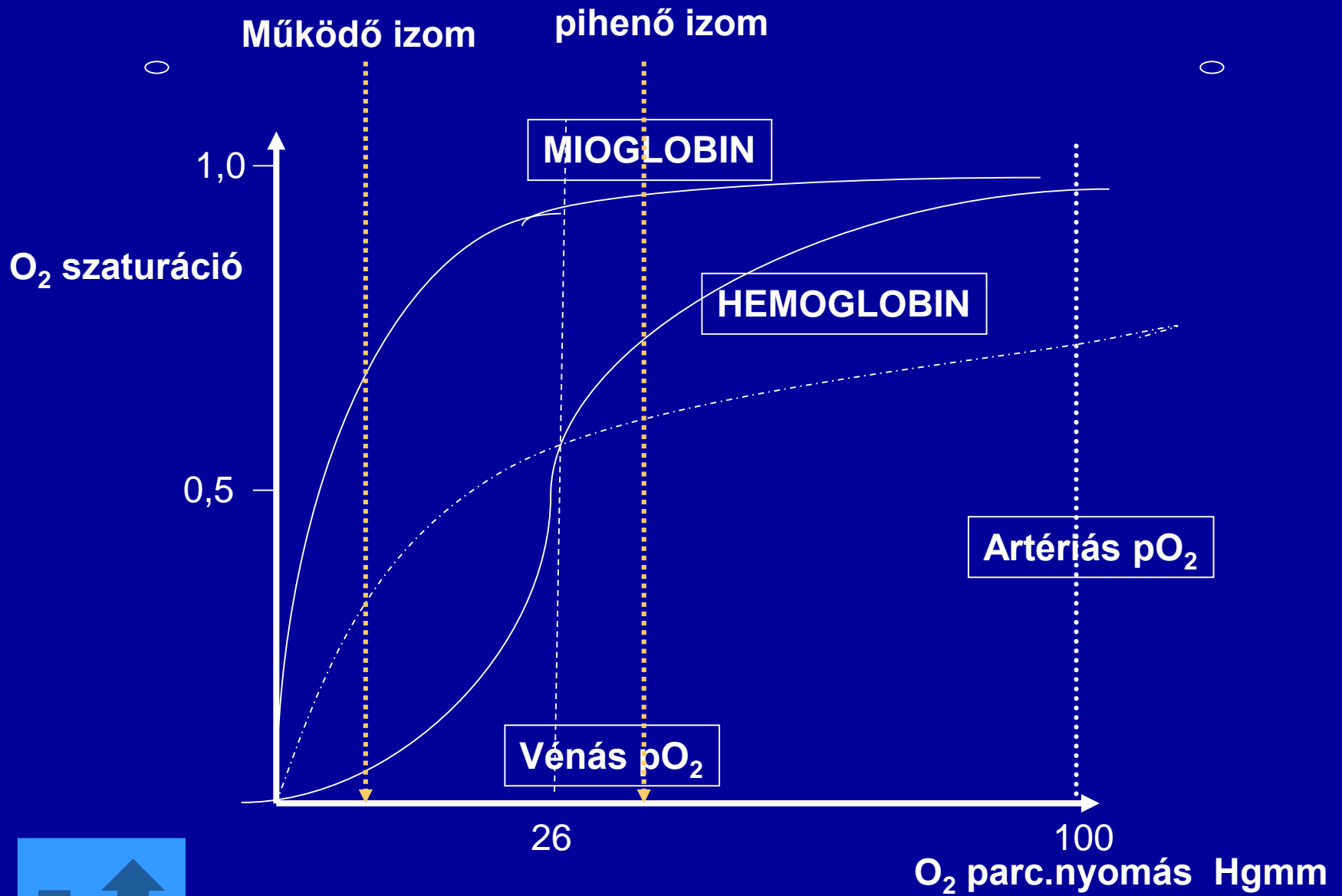
<http://www.pdb.org/pdb/explore/jmol.do?structureId=1R0B&bionumber=1>

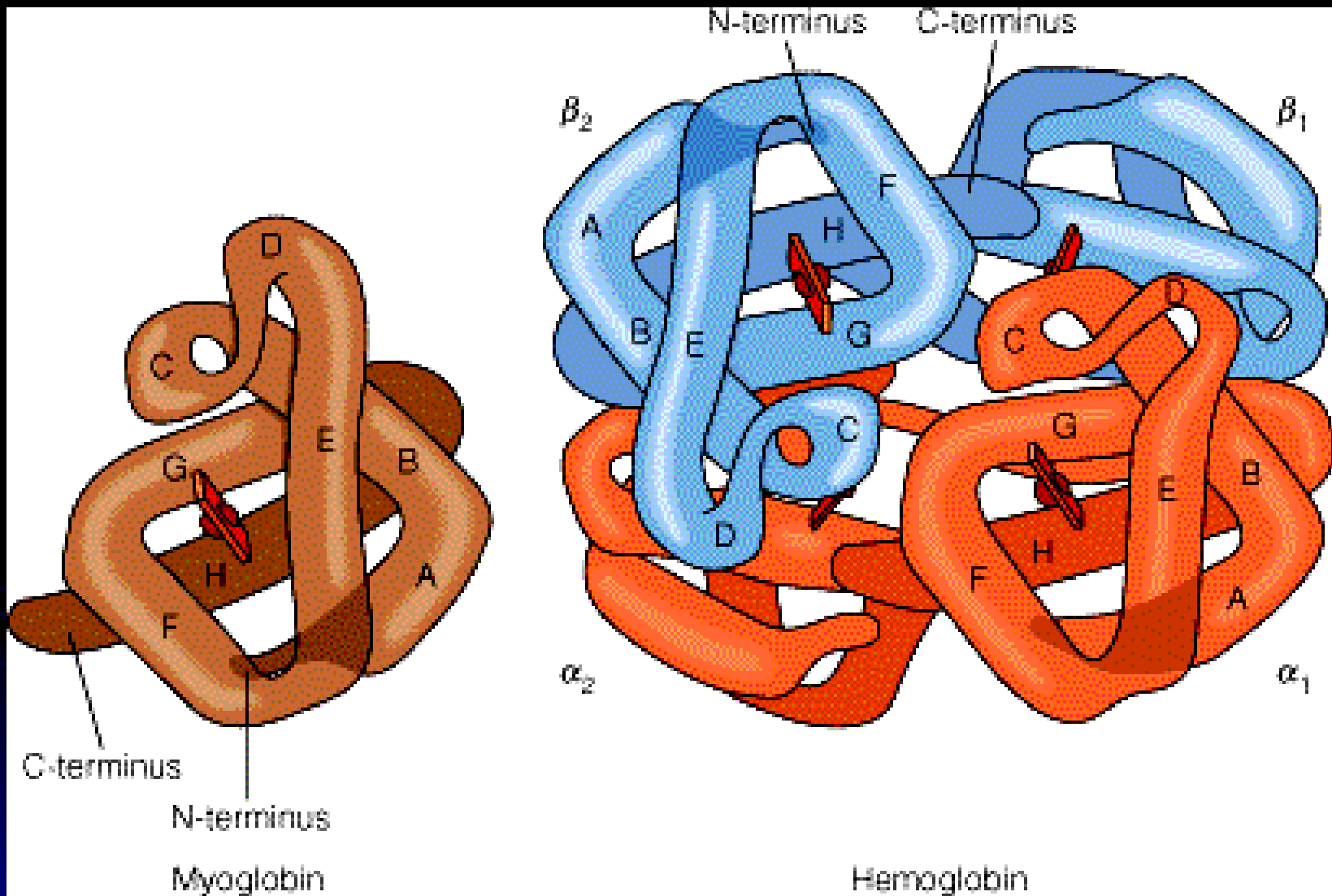


Hemoglobin

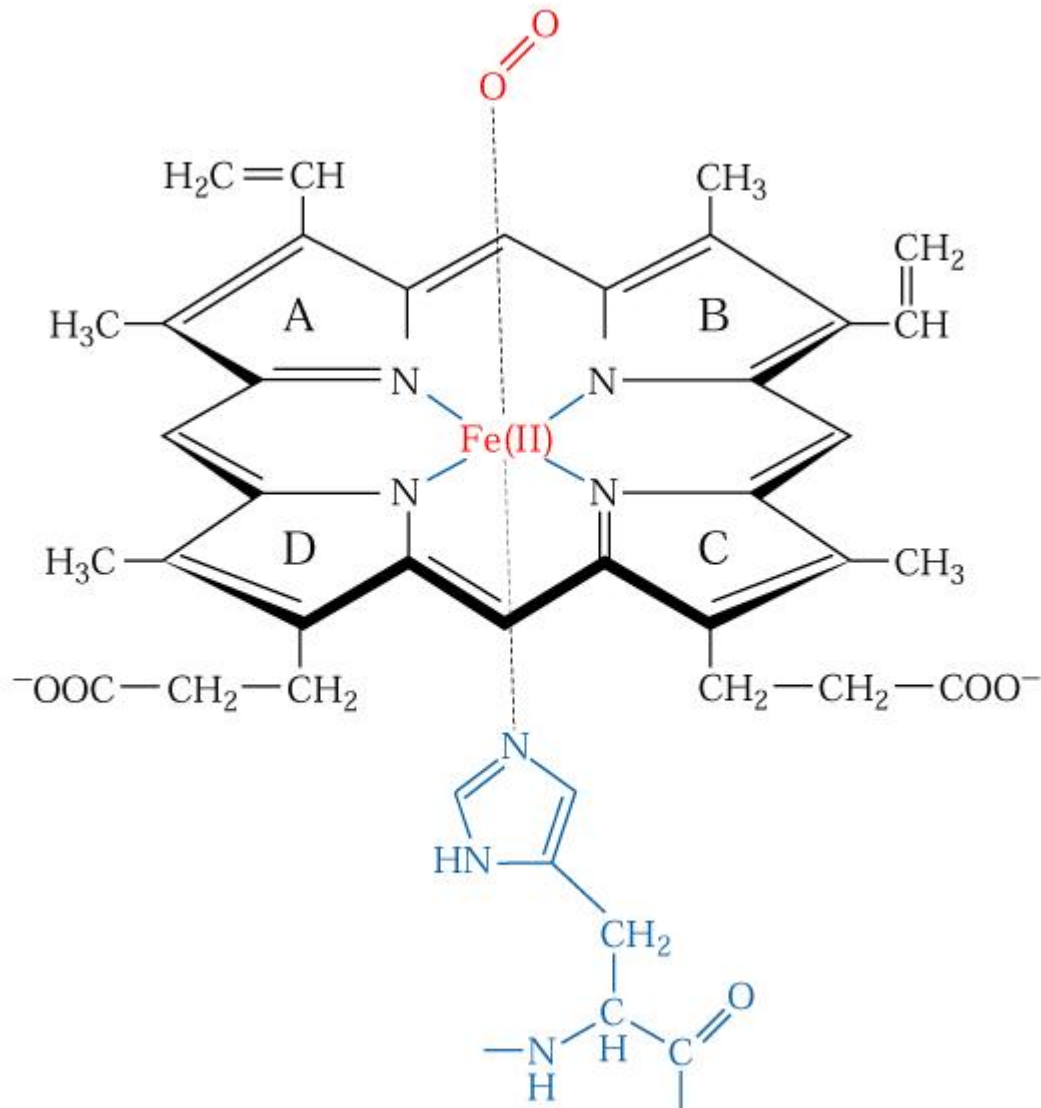
Az allosztéria klasszikus példája

- Hemoglobin és myoglobin : oxigén transzport és tároló proteinek
- Oxigén kötési görbék: hemoglobinra és myoglobinra
- Myoglobin -- **monomer**; 153 aa, 17,200 Ms
- Hemoglobin -- **tetrameric**
2 α 141 AS 2 β 146





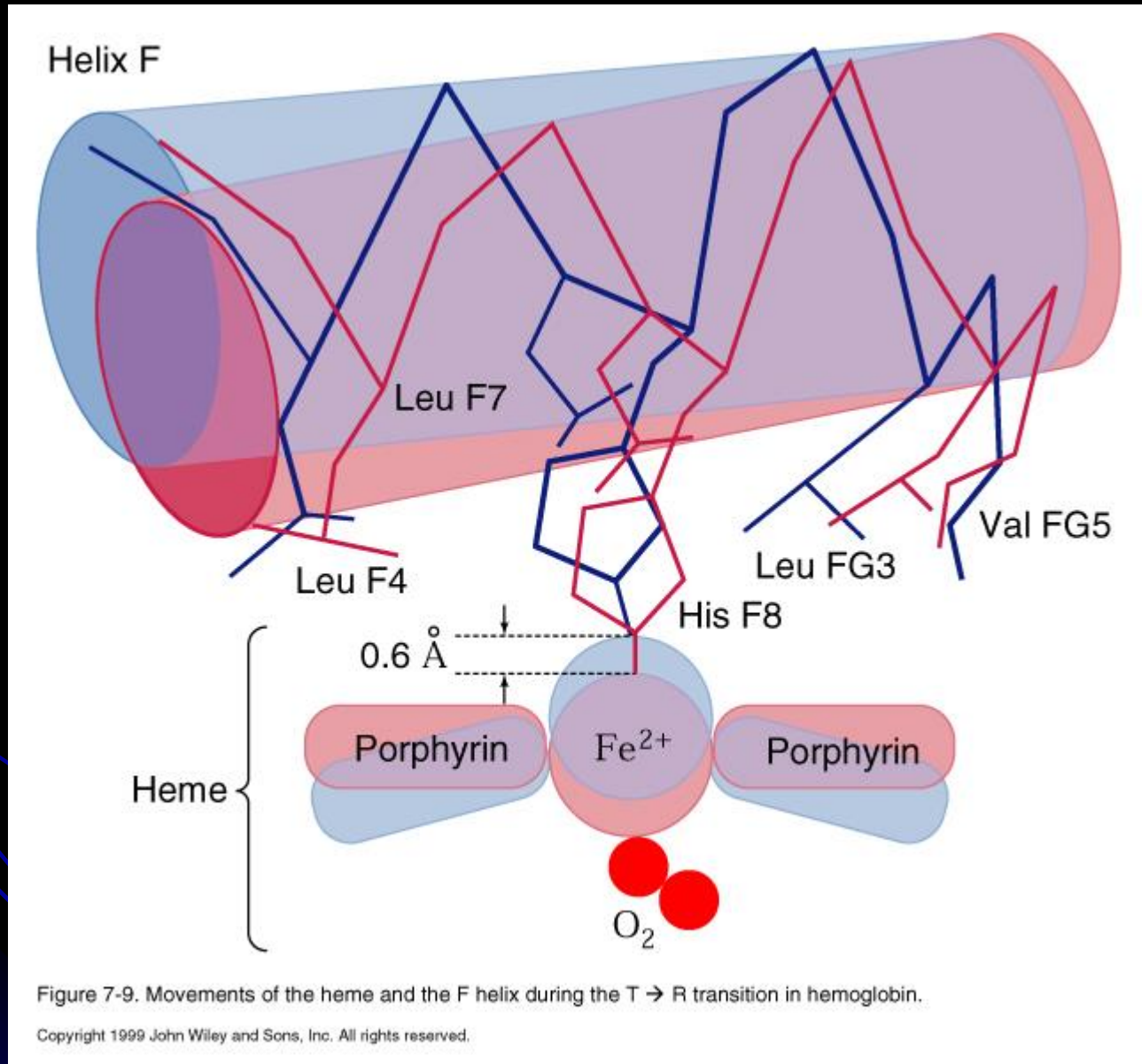
A Hem csoport szerkezete



Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Fig. 7-2 Voet

T és R állapot közötti konformáció változás Hemoglobinnál



Alegységek közötti kötés változás T és R állapot változásná 1

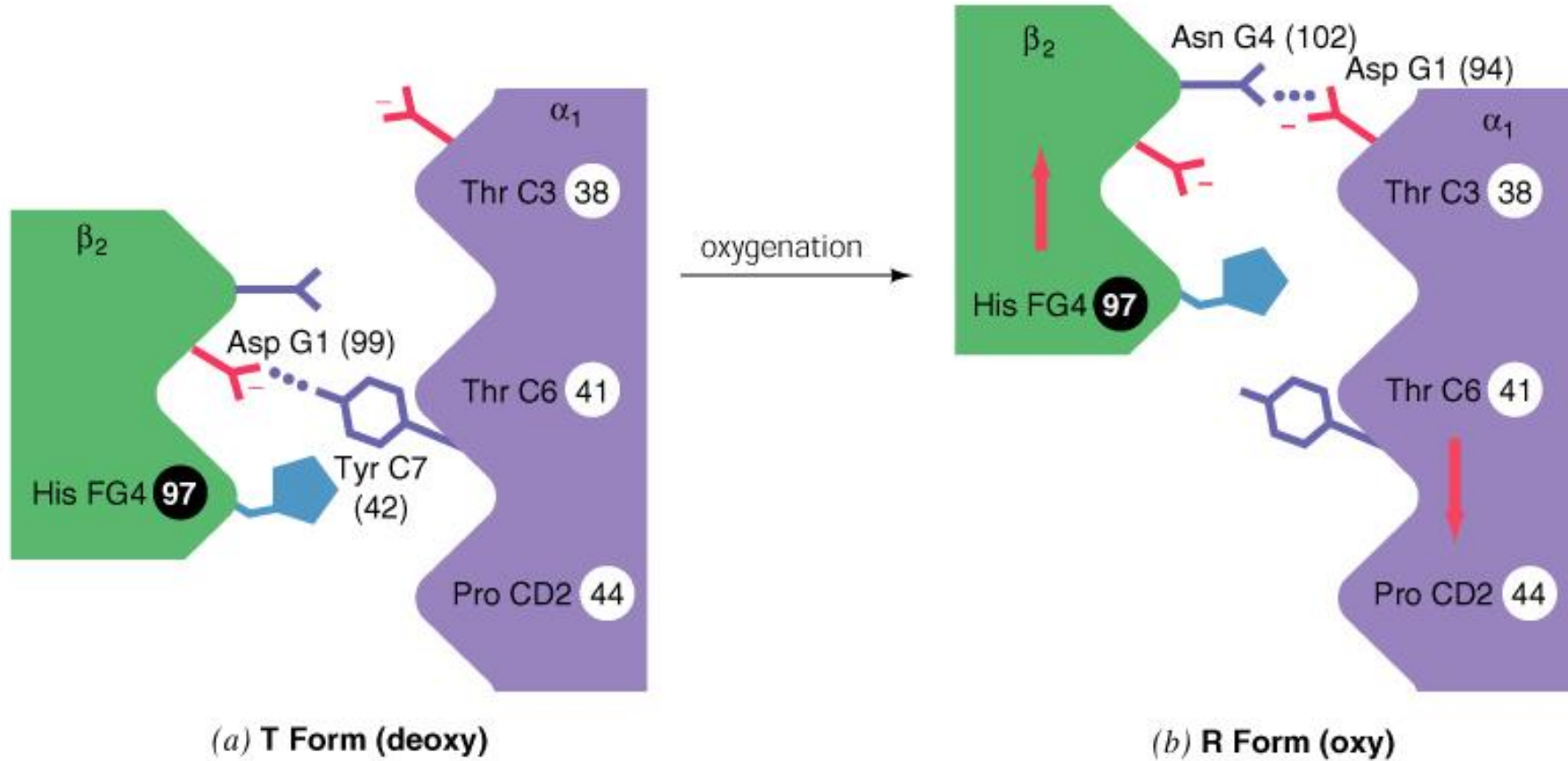
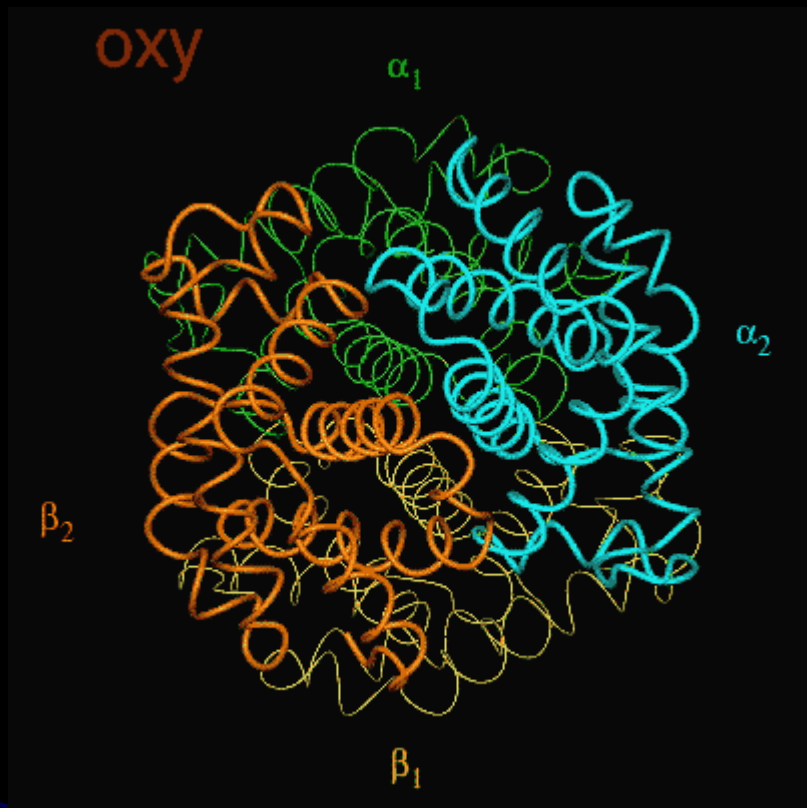
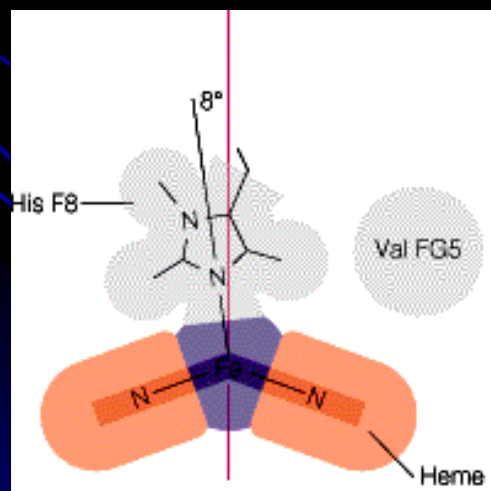
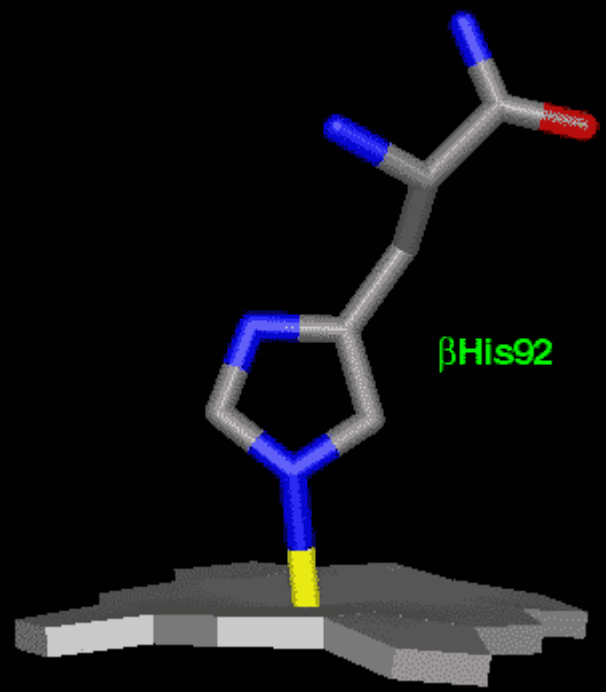


Figure 7-10. Changes at the α_1 - β_2 interface during the T \rightarrow R transition in hemoglobin.

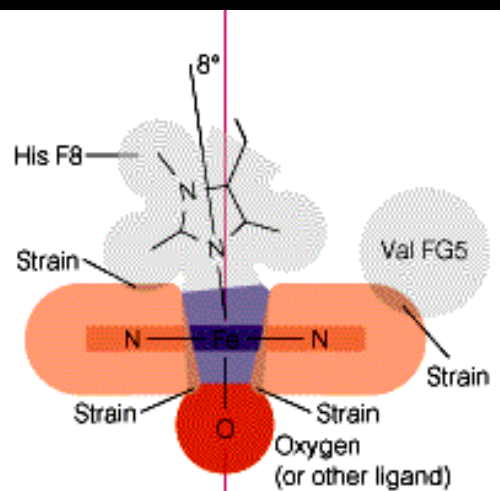
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.



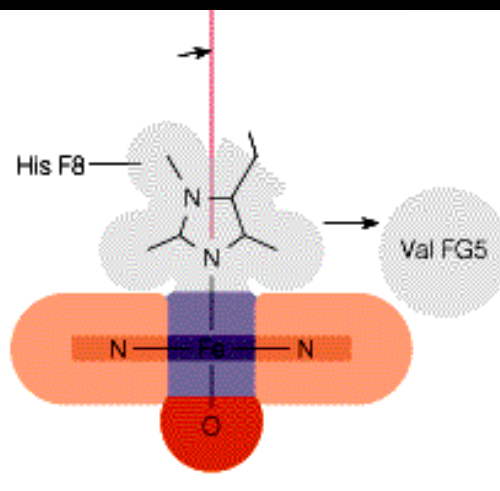
oxy



(a) Deoxyhemoglobin (T state)










(b) Transition



(c) Oxyhemoglobin (R state)

Melyik modell az igazi?

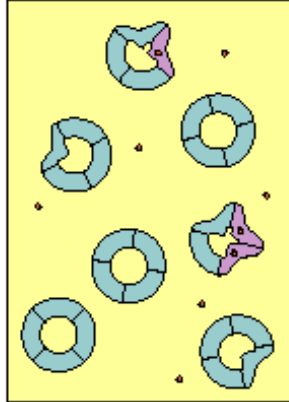
Key:

-  Hb subunits, weak-binding state
-  Hb subunits, strong-binding state
-  Hb tetramer, T state
-  Hb tetramer, R state
-  Oxygen
-  No oxygen bound
-  Oxygen bound

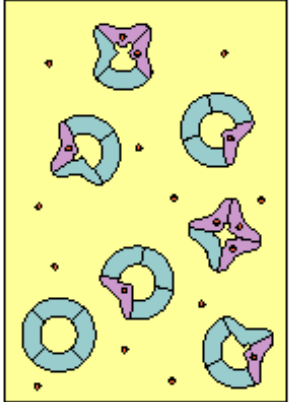


1 No oxygen bound. Almost all subunits in all molecules are in weak-binding state. Only a few happen to be in the strong-binding state.

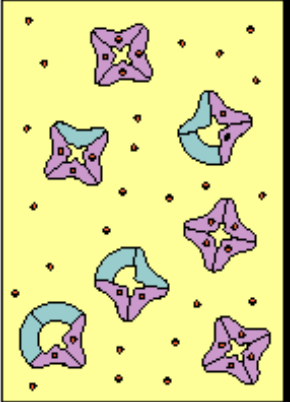
(a) KNF model



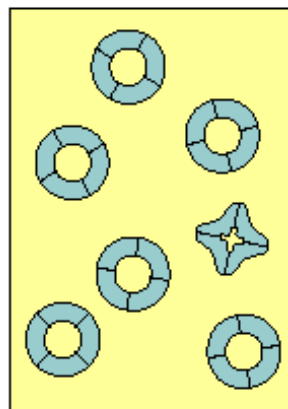
2 Some oxygen bound. Each binding of an oxygen molecule favors the transition of adjacent subunits to the strong-binding state and promotes their binding of oxygen.



3 More oxygen bound. More and more subunits next to oxygen-occupied sites are switching to the strong-binding state.

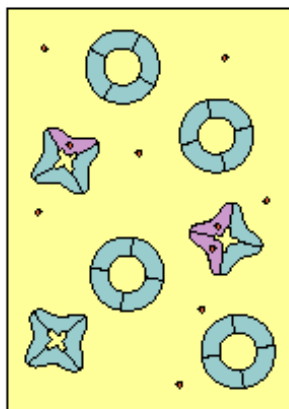


4 Approaching saturation. Almost all sites are filled, and almost all subunits are now in the strong-binding state.

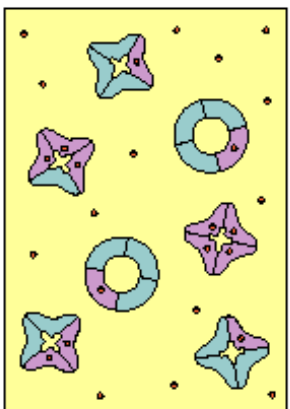


1 No oxygen bound. Most tetramers are in the T state, with only a few in the R state.

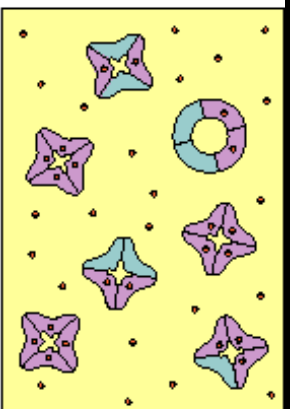
(b) MWC model



2 Some oxygen bound. Preference is for binding to molecules in R state so $T \rightleftharpoons R$ equilibrium is shifted toward R.

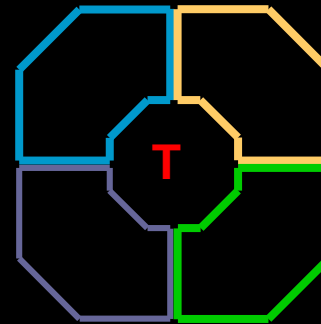
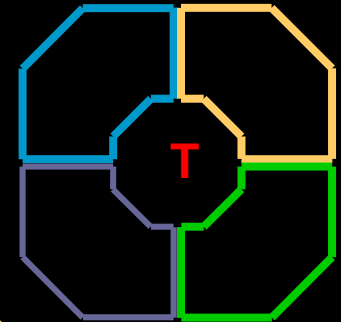
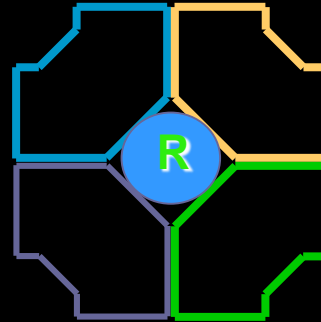
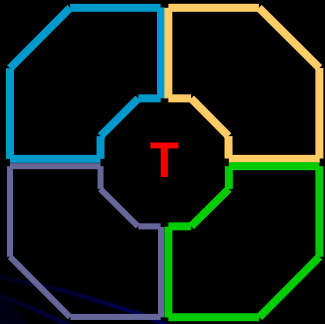
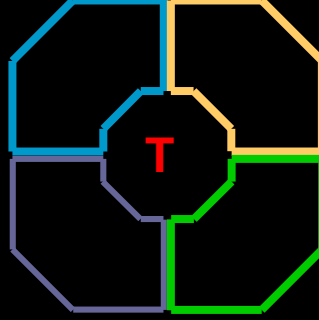
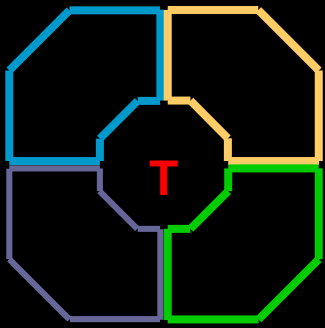


3 More oxygen bound. Now most molecules are in R state. Note that T also binds oxygen, but more weakly.



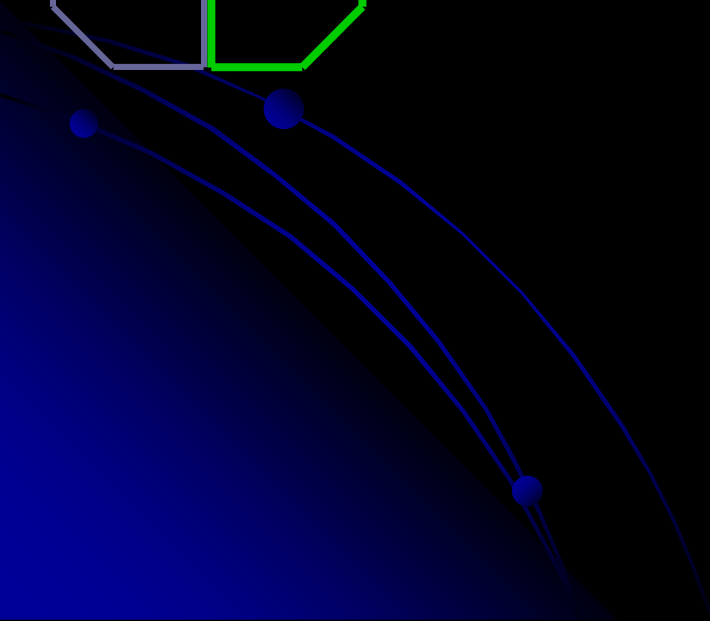
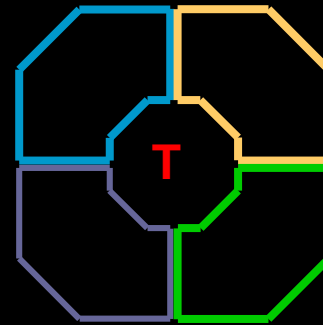
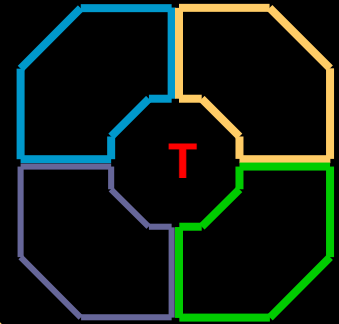
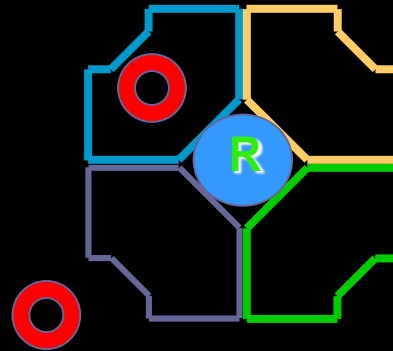
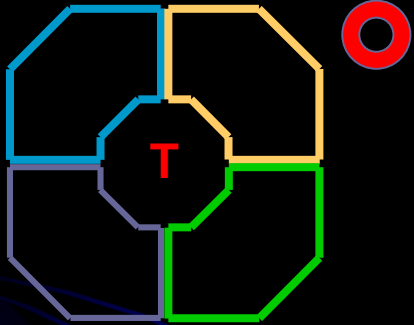
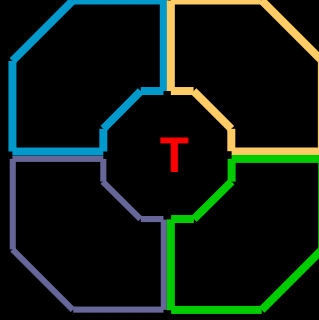
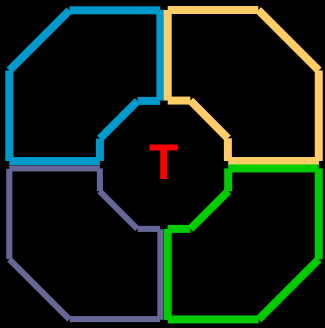
4 Approaching saturation. Almost all sites are filled. Almost all molecules have shifted to R state.

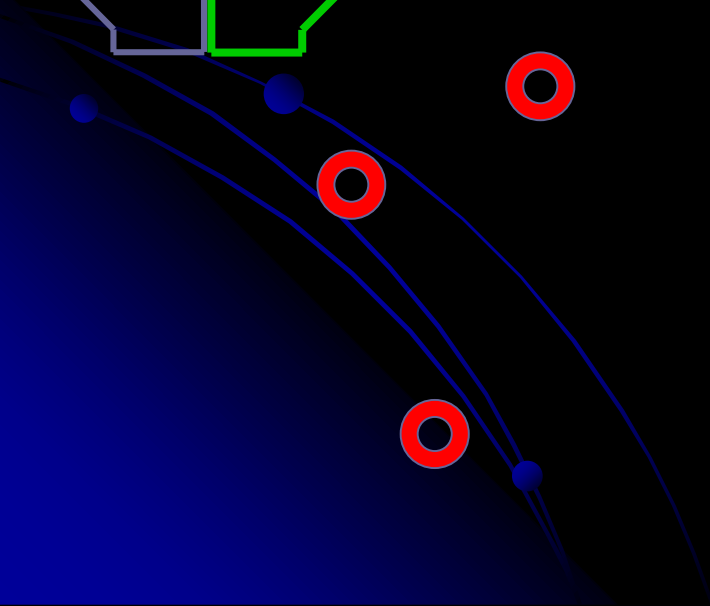
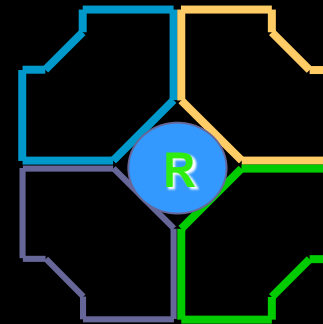
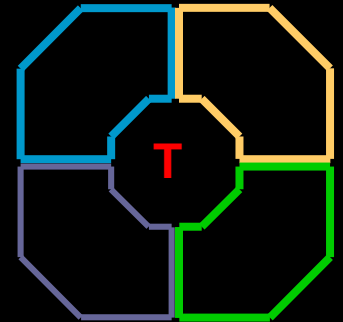
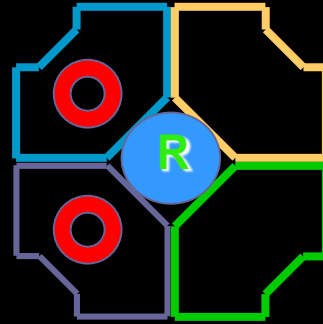
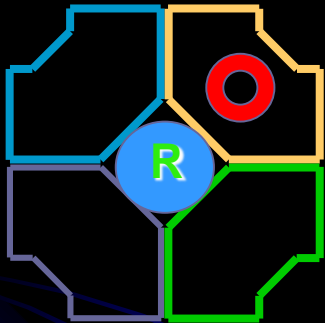
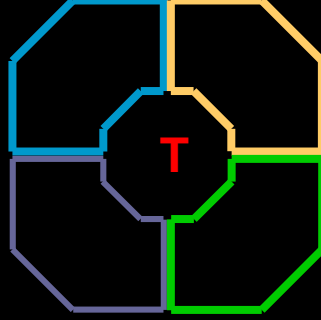
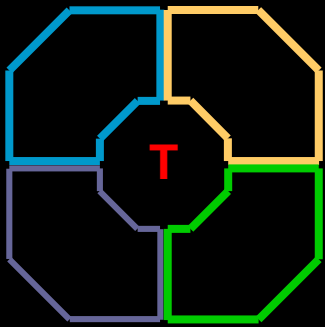
SZIMMETRIA MODELL

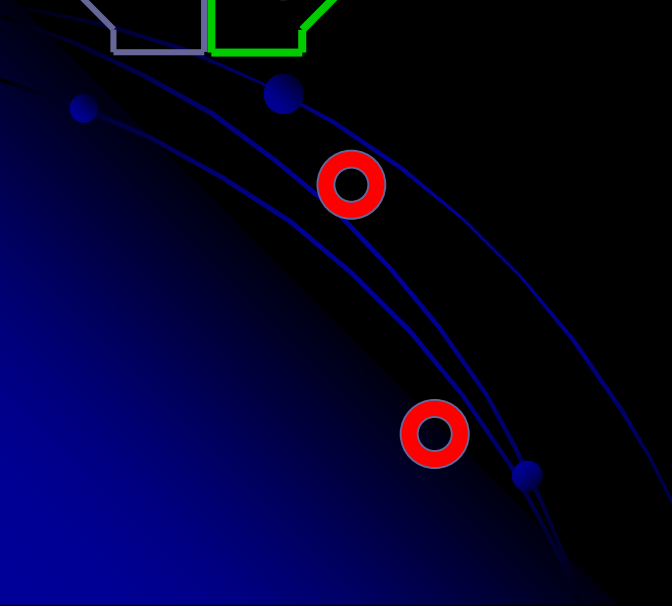
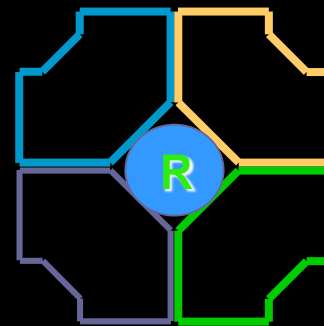
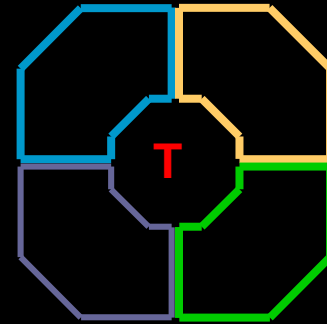
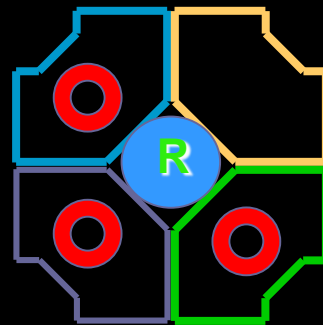
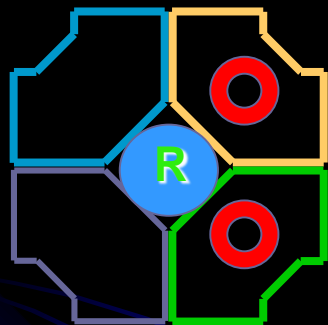
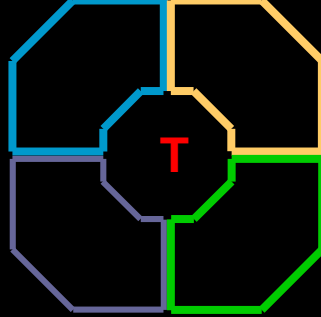
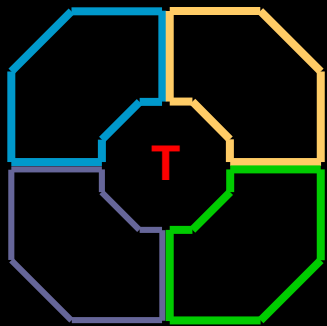


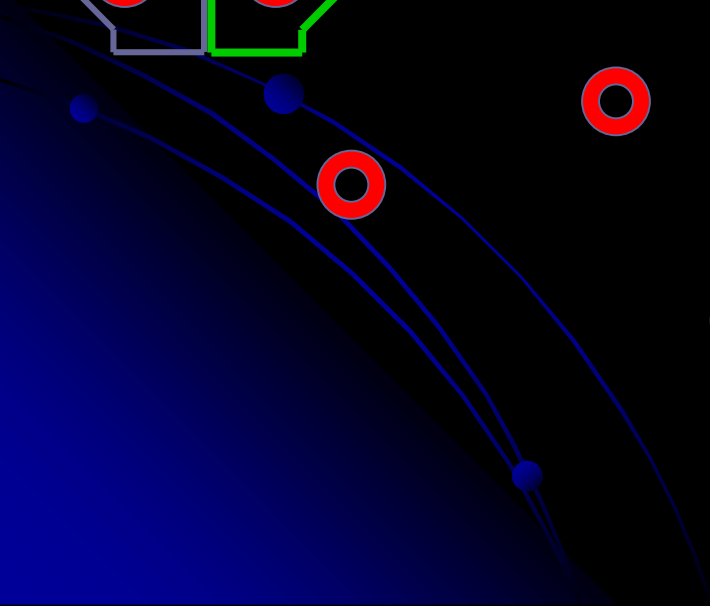
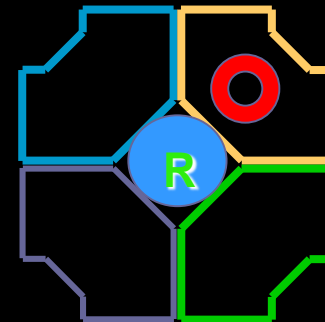
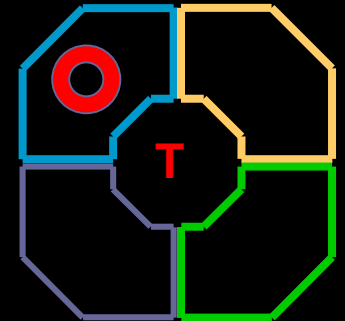
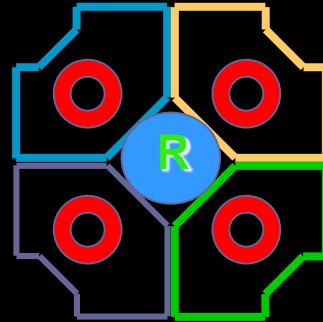
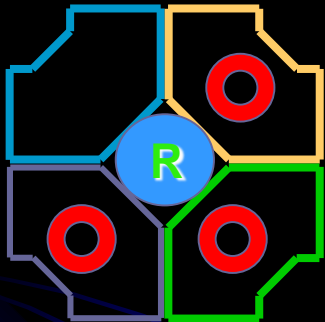
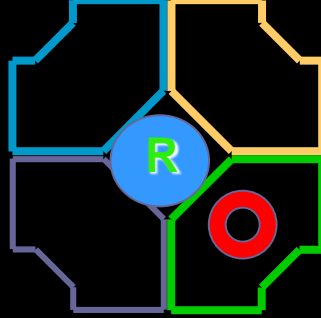
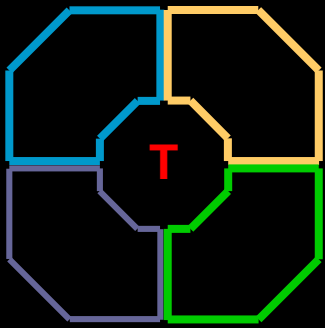
NINCS OXIGÉN
Nő az oxigén tenziója

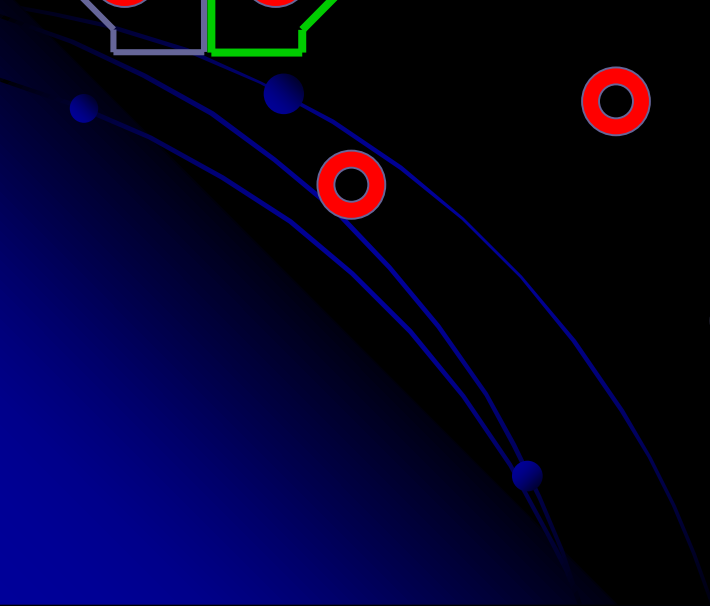
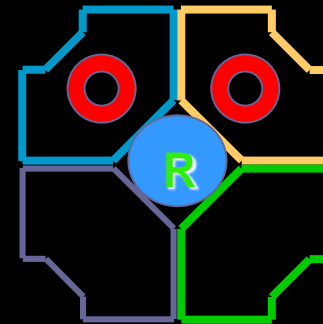
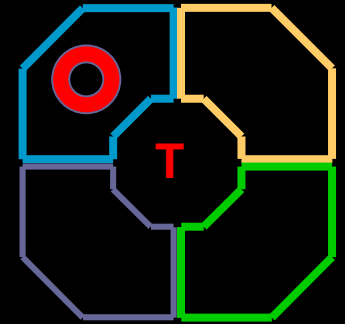
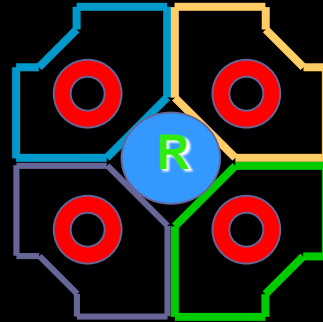
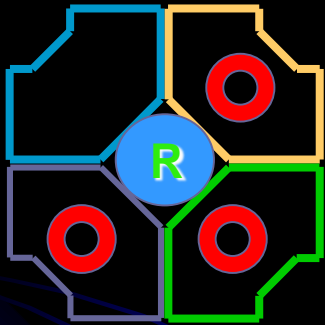
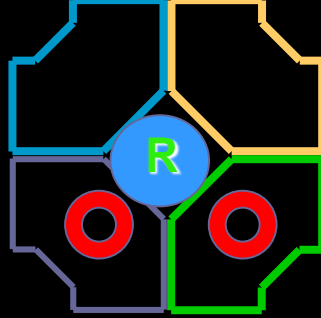
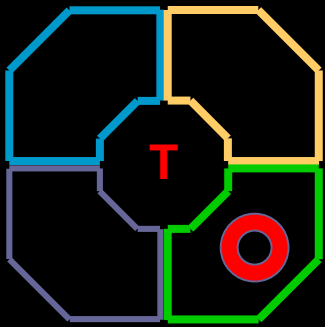
SZIMMETRIA MODELL

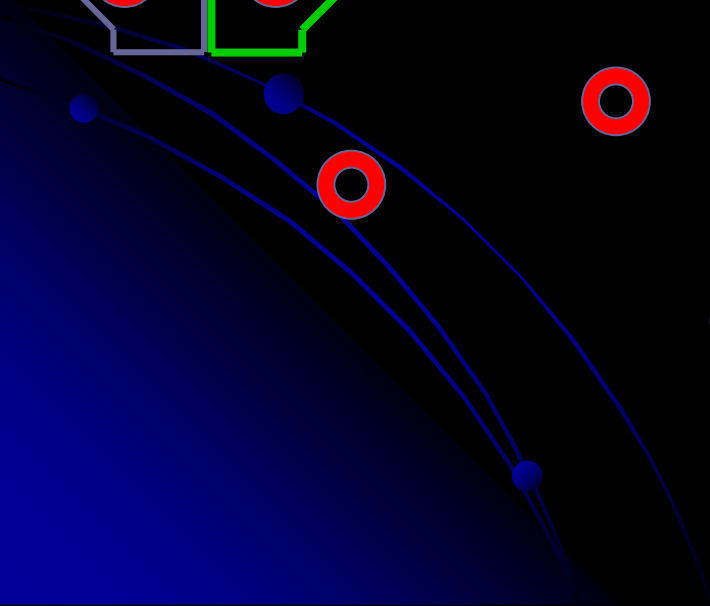
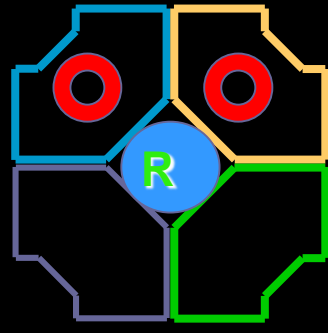
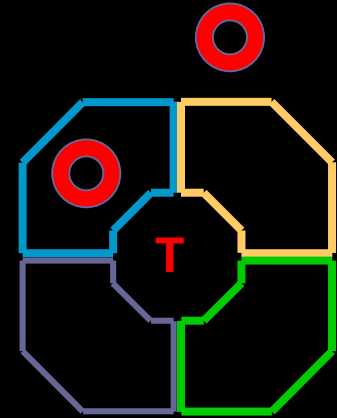
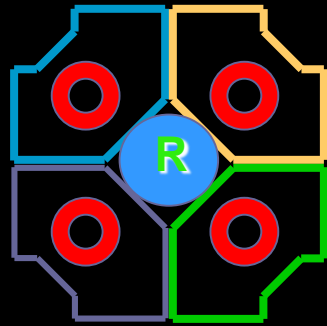
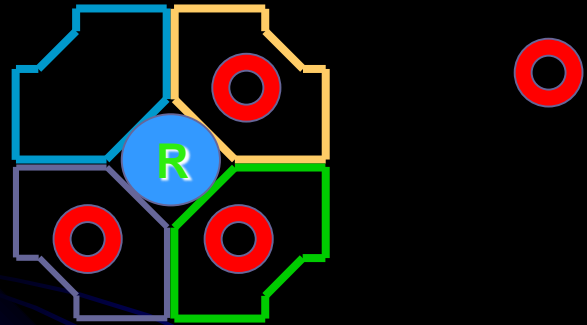
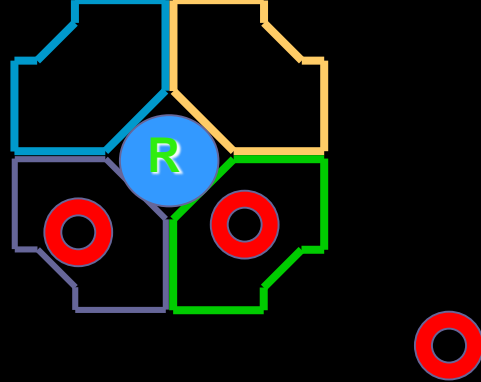
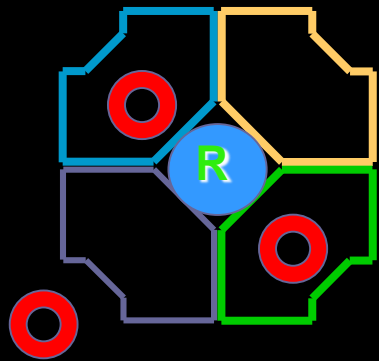


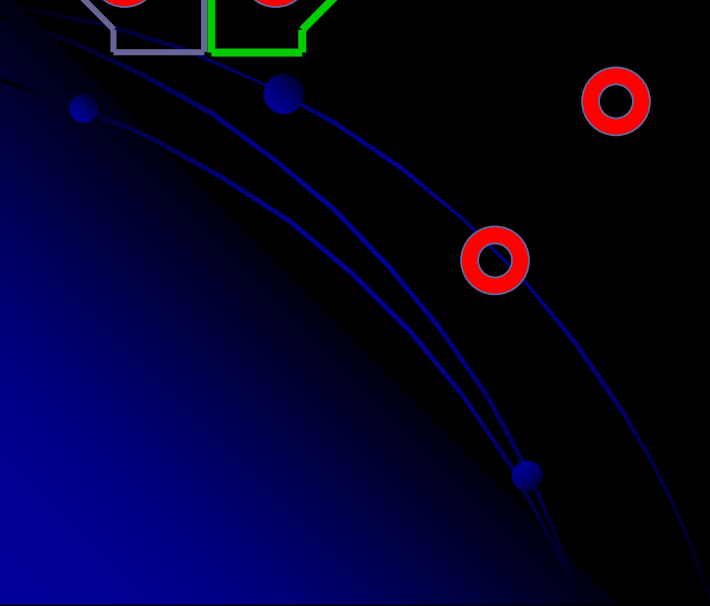
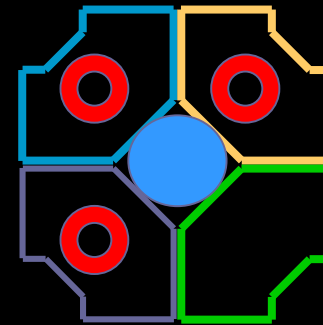
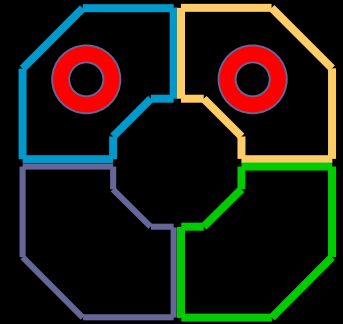
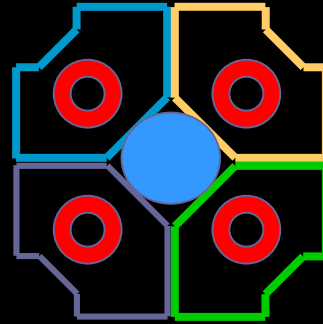
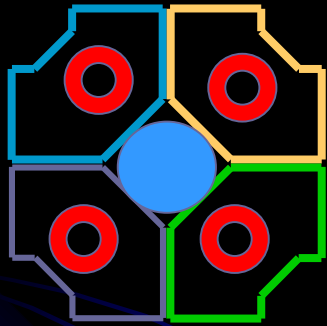
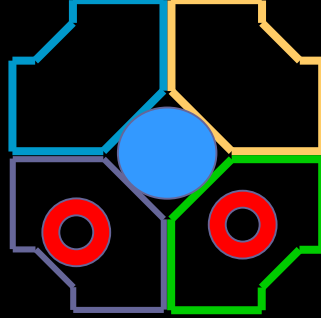
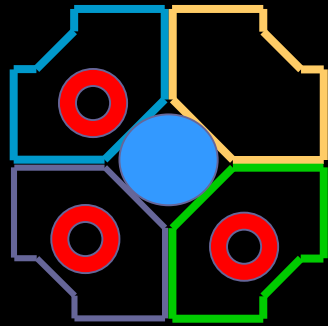


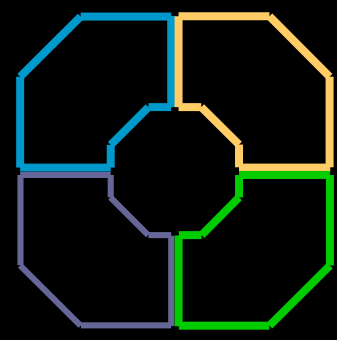
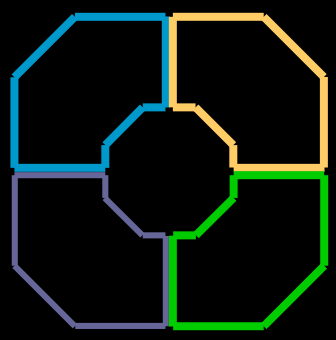
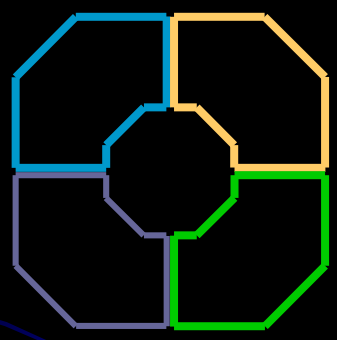
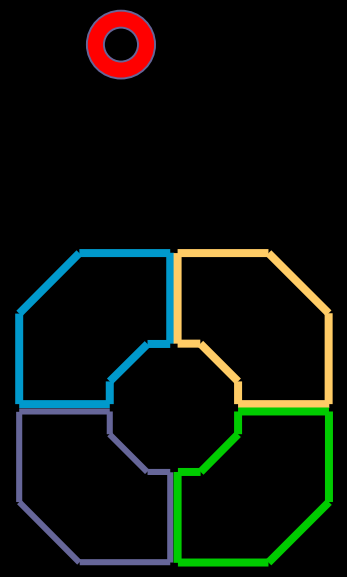
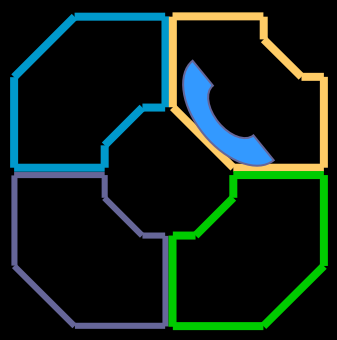
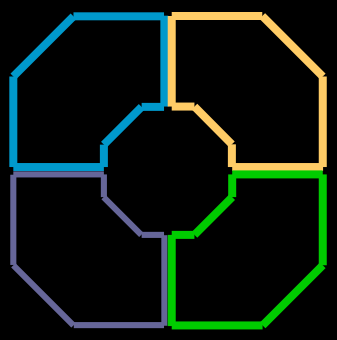




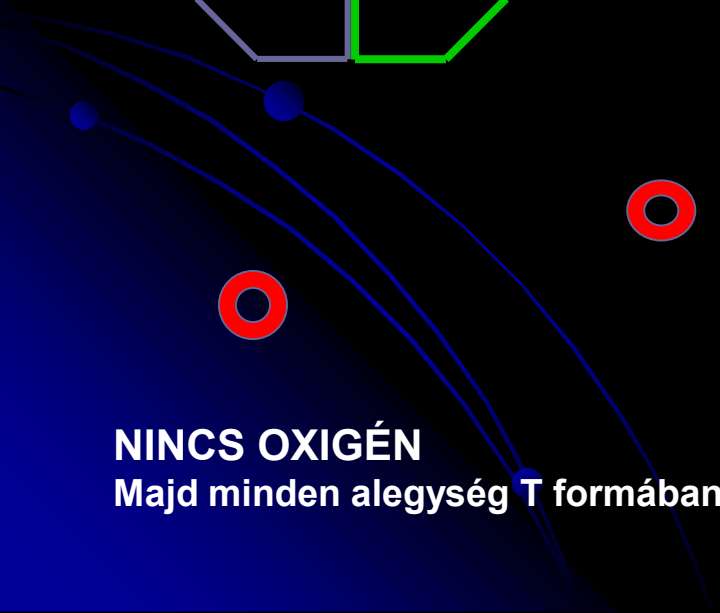


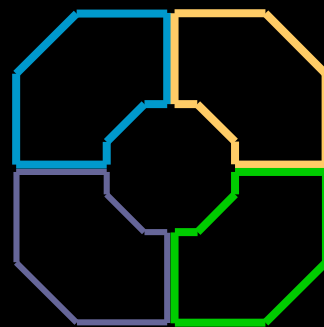
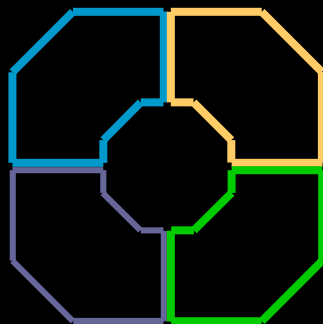
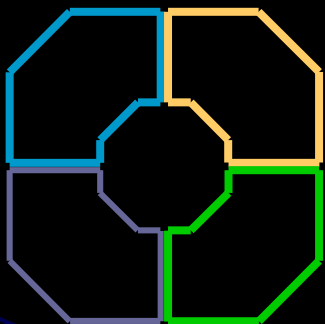
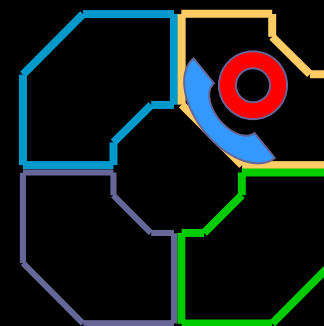
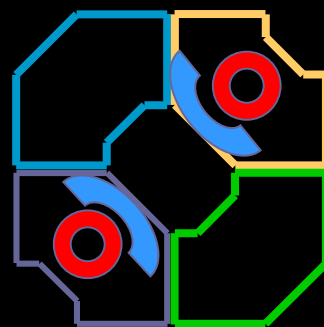
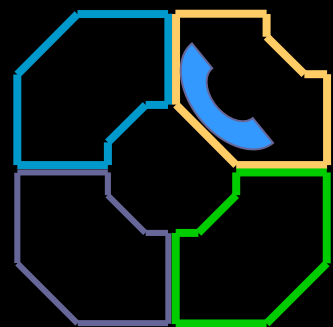




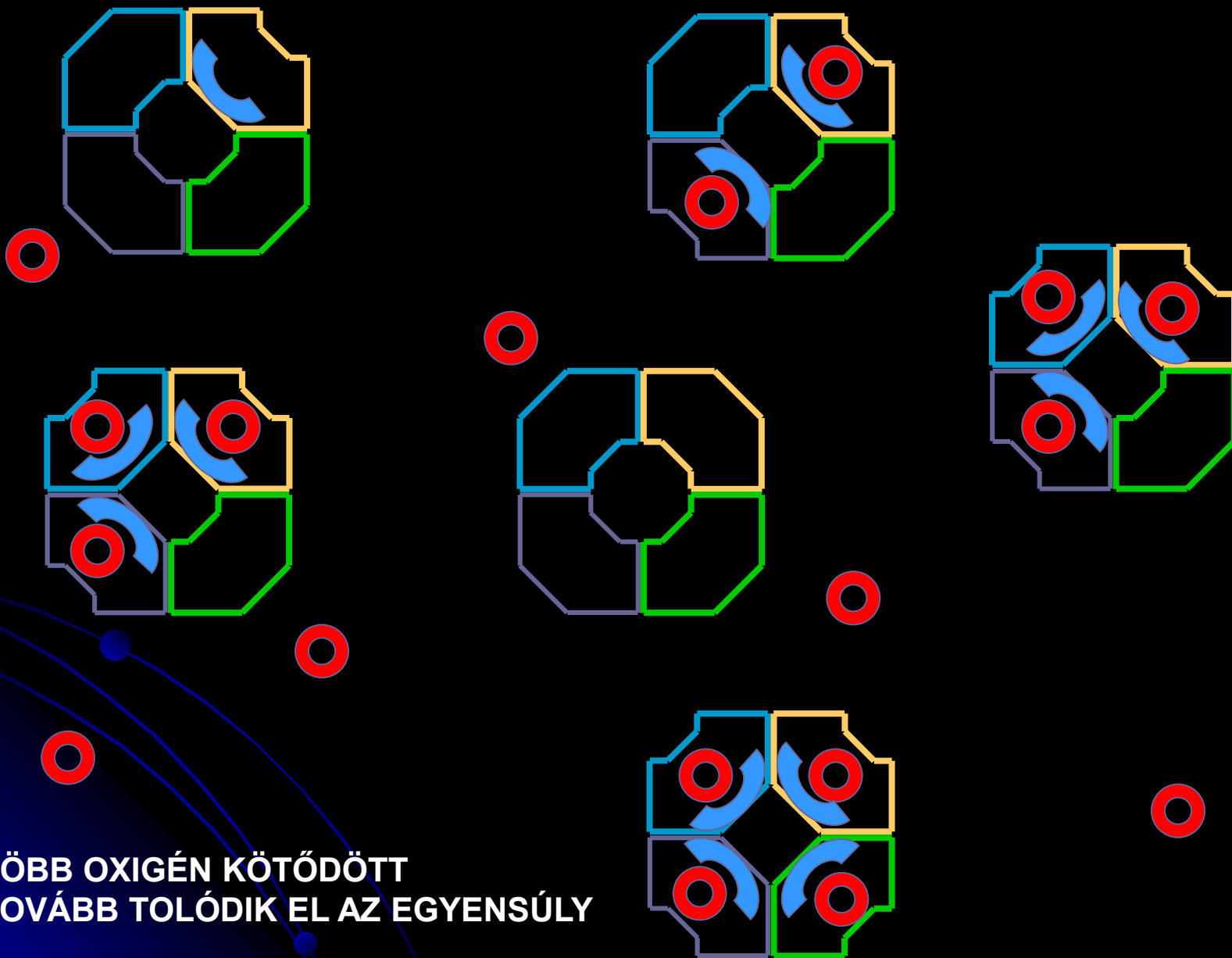


NINCS OXIGÉN
Majd minden alegység T formában van

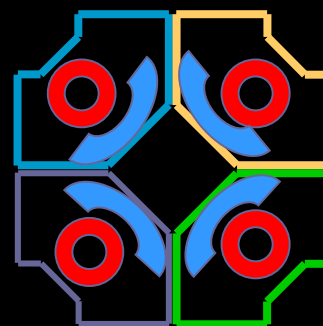
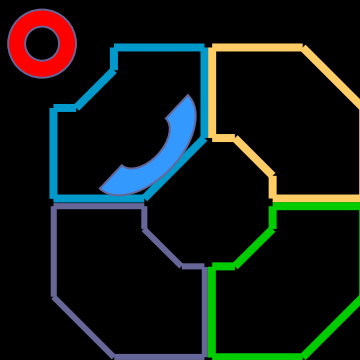
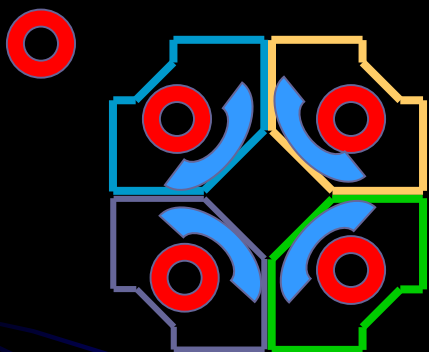
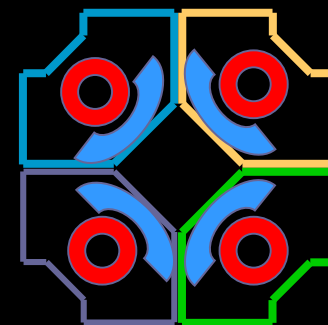
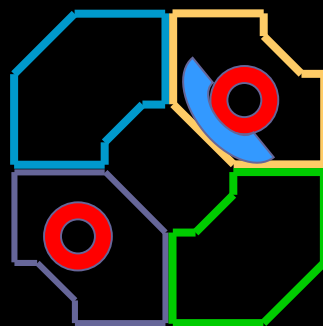
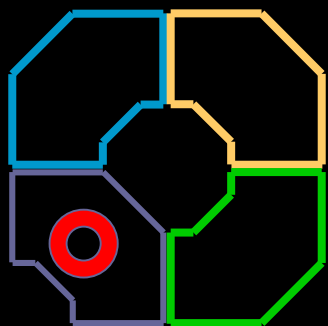




NÉMI OXIGÉN KÖTÖDÖTT
TOLÓDIK EL AZ EGYENSÚLY,

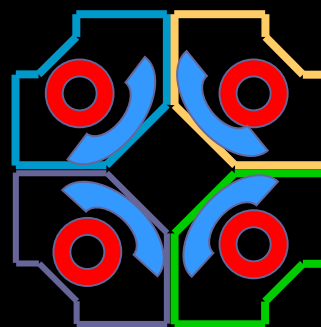
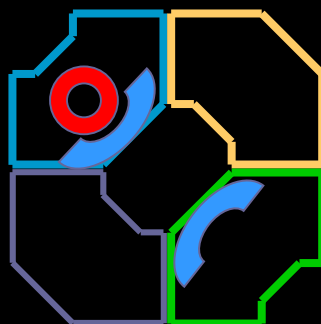
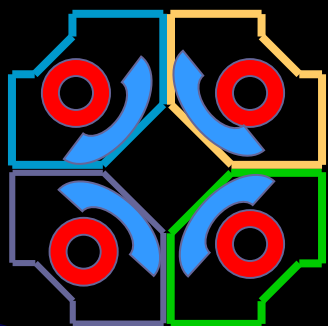
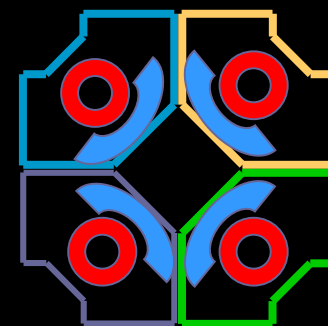
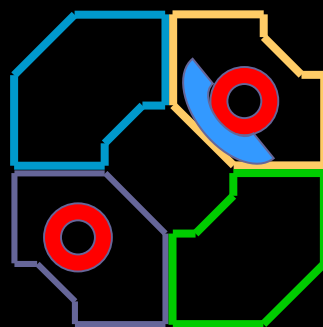
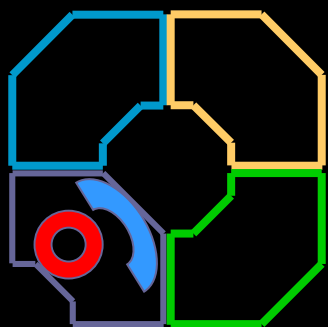


**TÖBB OXIGÉN KÖTÖDÖTT
TOVÁBB TOLÓDIK EL AZ EGYENSÚLY**



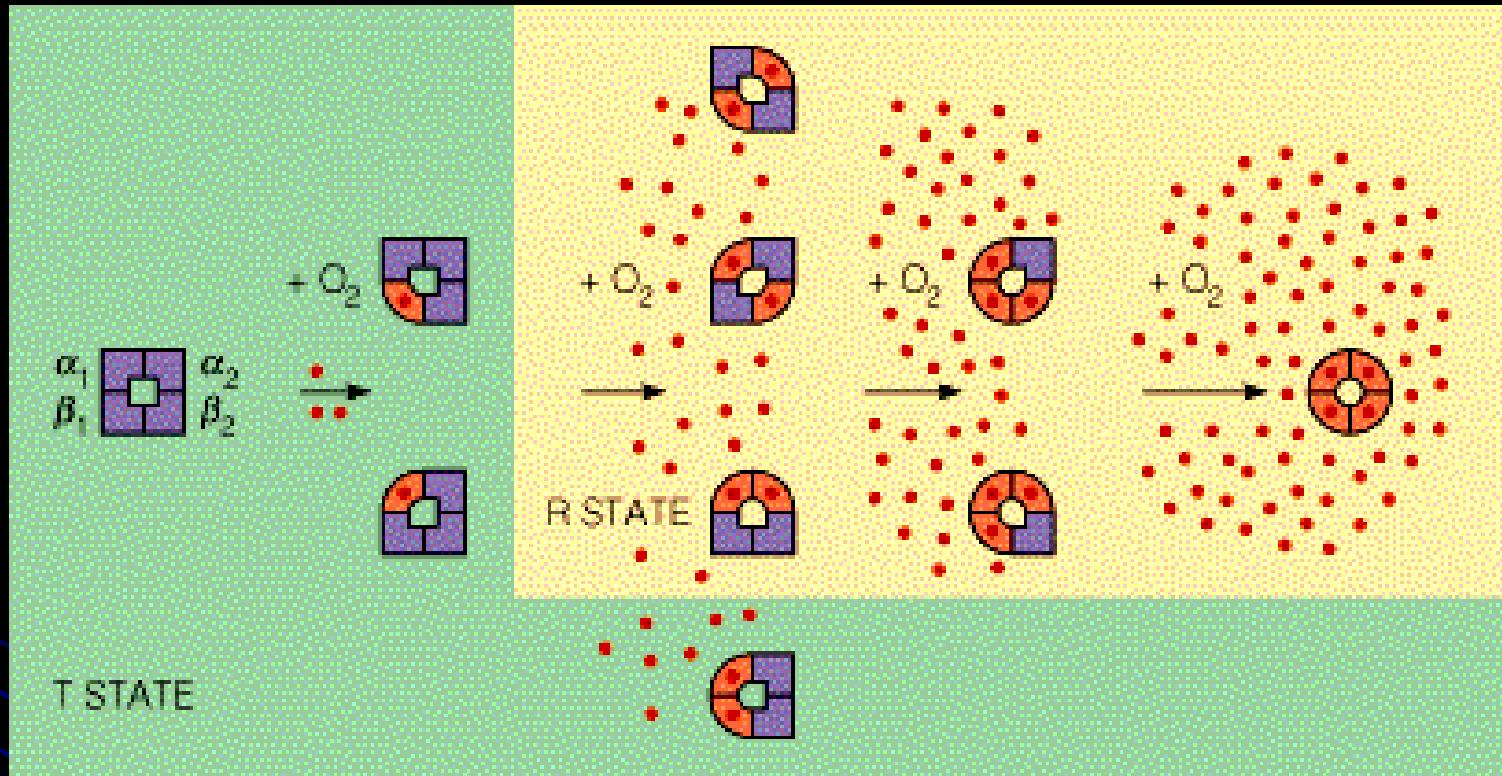
SOK OXIGÉN KÖTŐDÖTT
TOVÁBB TOLÓDIK EL AZ EGYENSÚLY





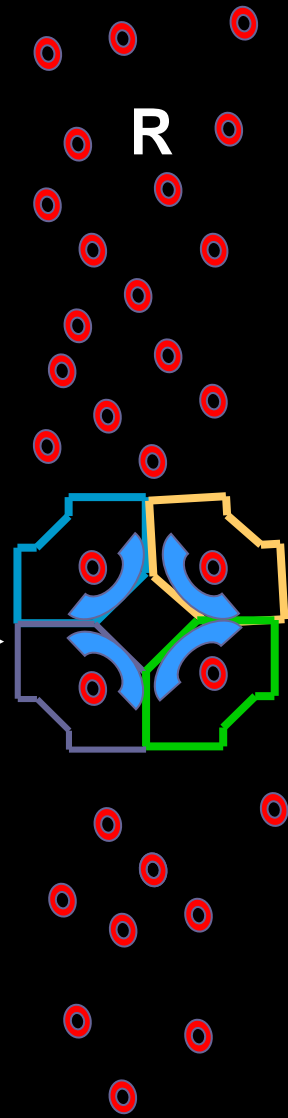
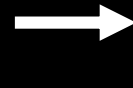
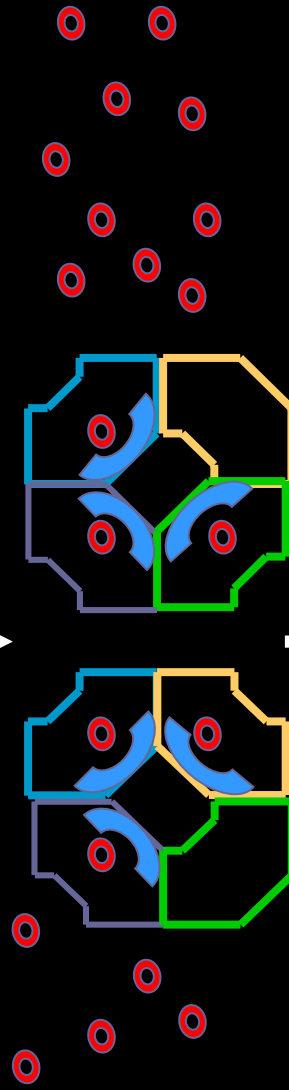
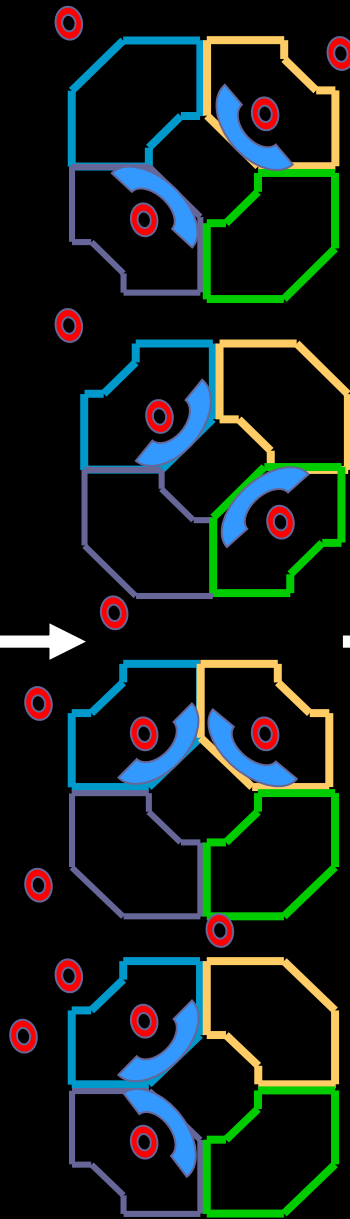
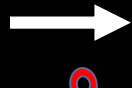
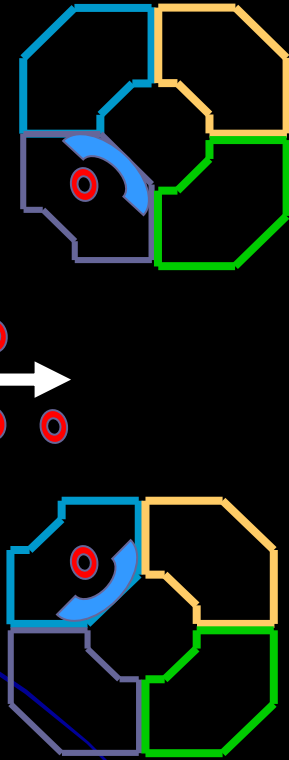
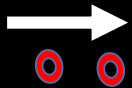
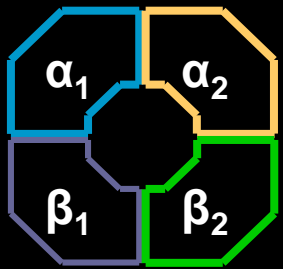
**SOK OXIGÉN KÖTÖDÖTT
TOVÁBB TOLÓDIK EL AZ EGYENSÚLY
Az alegységek többsége R konformációjú**

Hbg keverék modell



nincs döntés

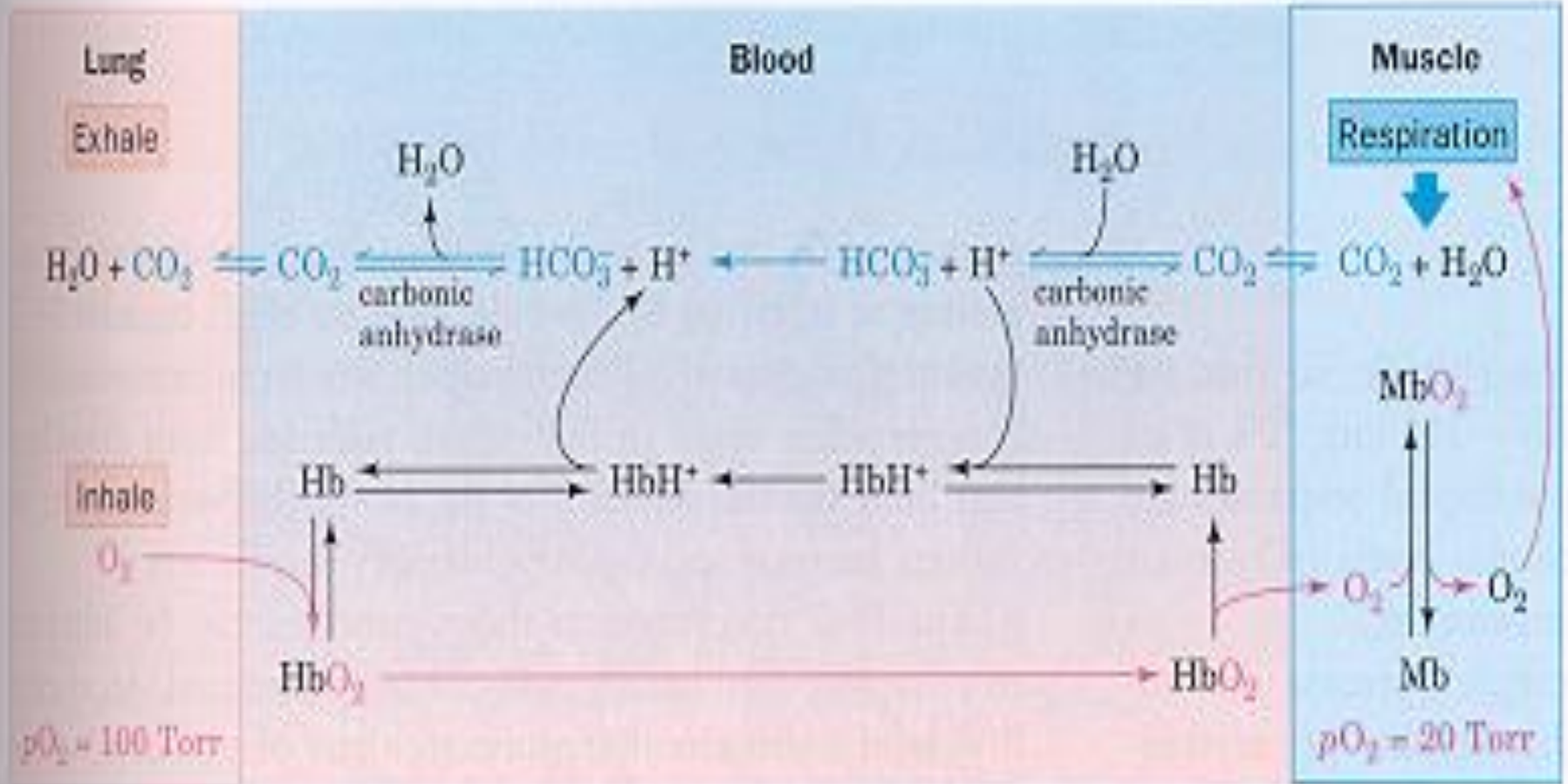
T

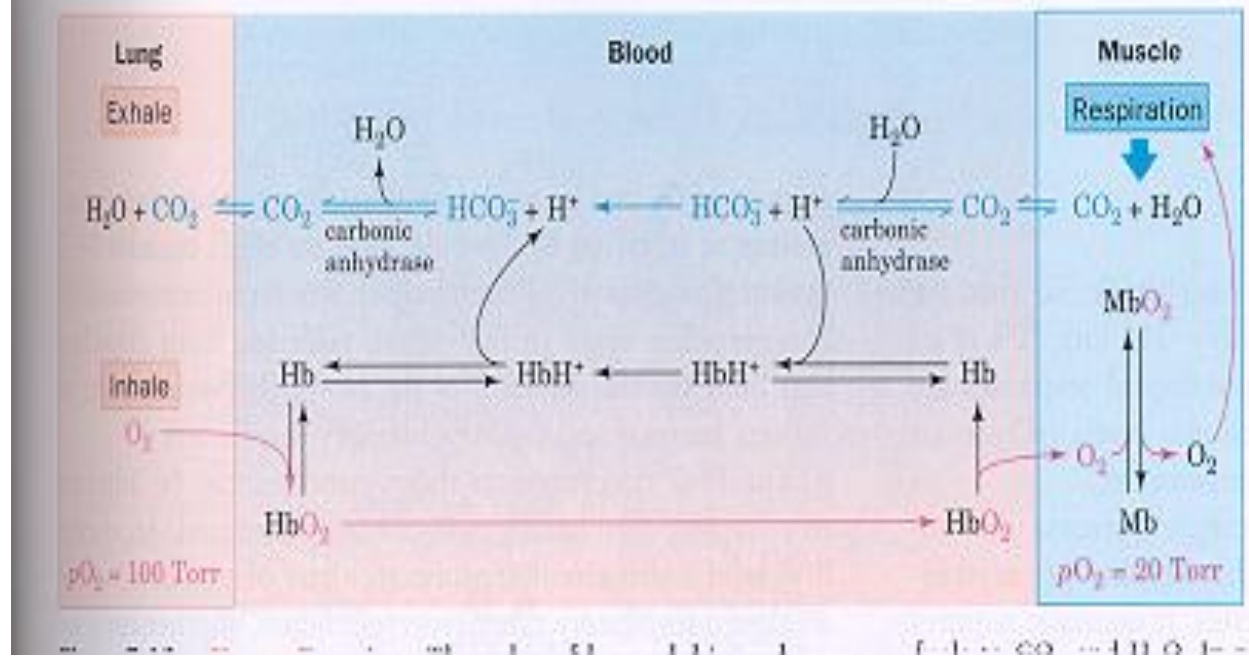


R

oxigén

Oxigén transzport emlősökben





glükóz (6 C-atom)

ATP
ADP

G-6-P

F-6-P

ATP
ADP

F-1,6-diP

Gliceraldehyd-P (3C-atom)

1,3-diP-glicerát

2H

ADP

3-P-glicerát

2-P-glicerát

ADP

ATP

CO₂ Ac-CoA

2H

Oxálacetát

citrát

NAD

Malát

Cis-akonitát

Fumarát

isozitrát

2H

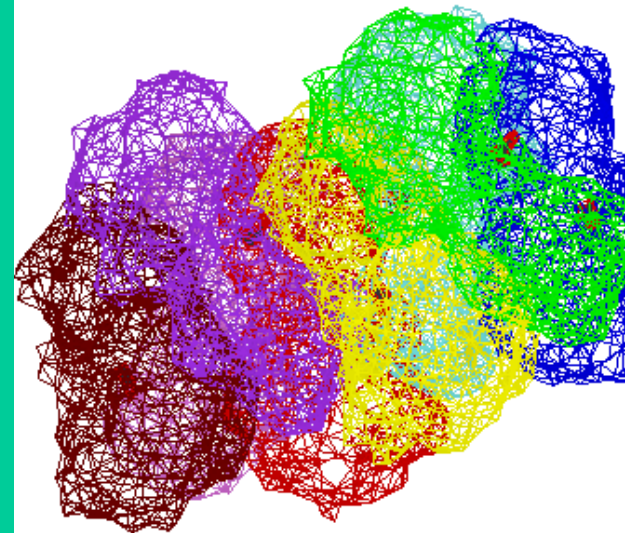
Szukcinát

2H

α-keto-glutarát

2H

FOSZFOFRUKTOKINÁZ



tetramer

AMP

cAMP

P_i

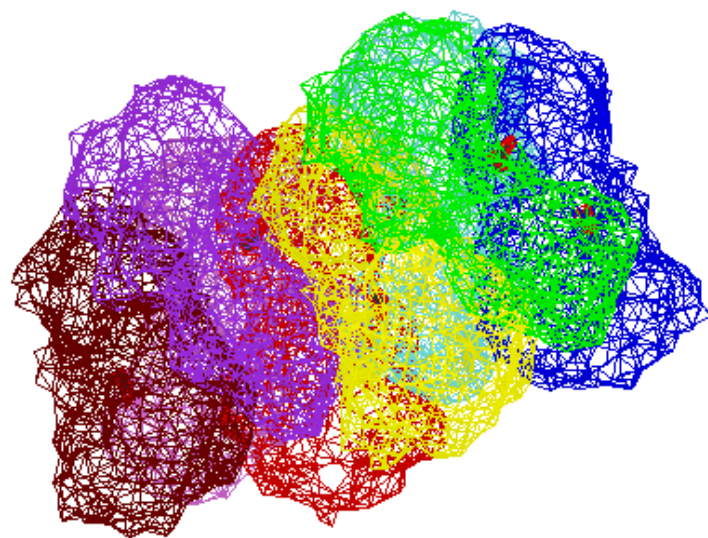
NH₄⁺

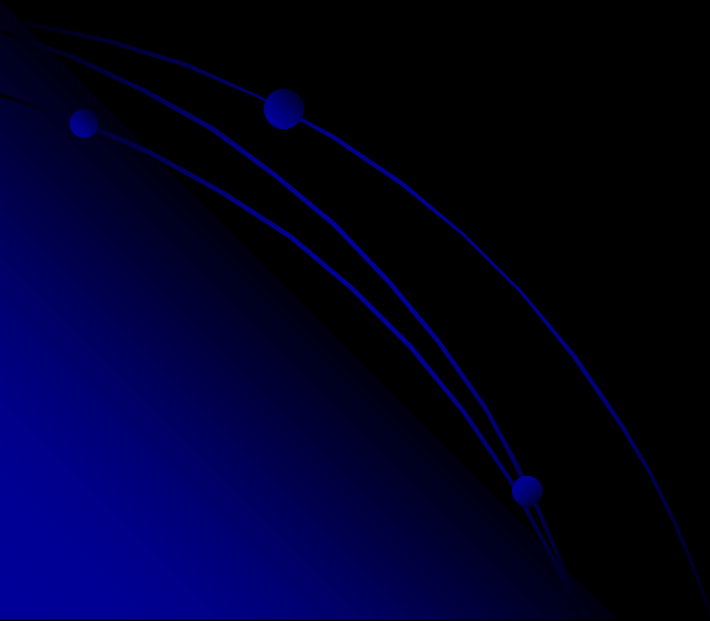
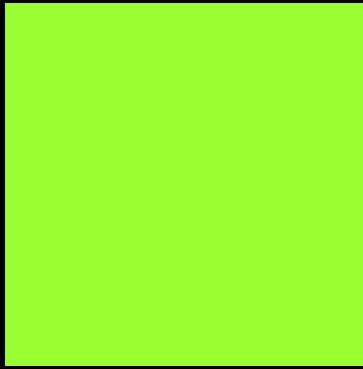
2H

2H

(koenzim Q)

2H + 2e + 2H⁺ → 2H₂



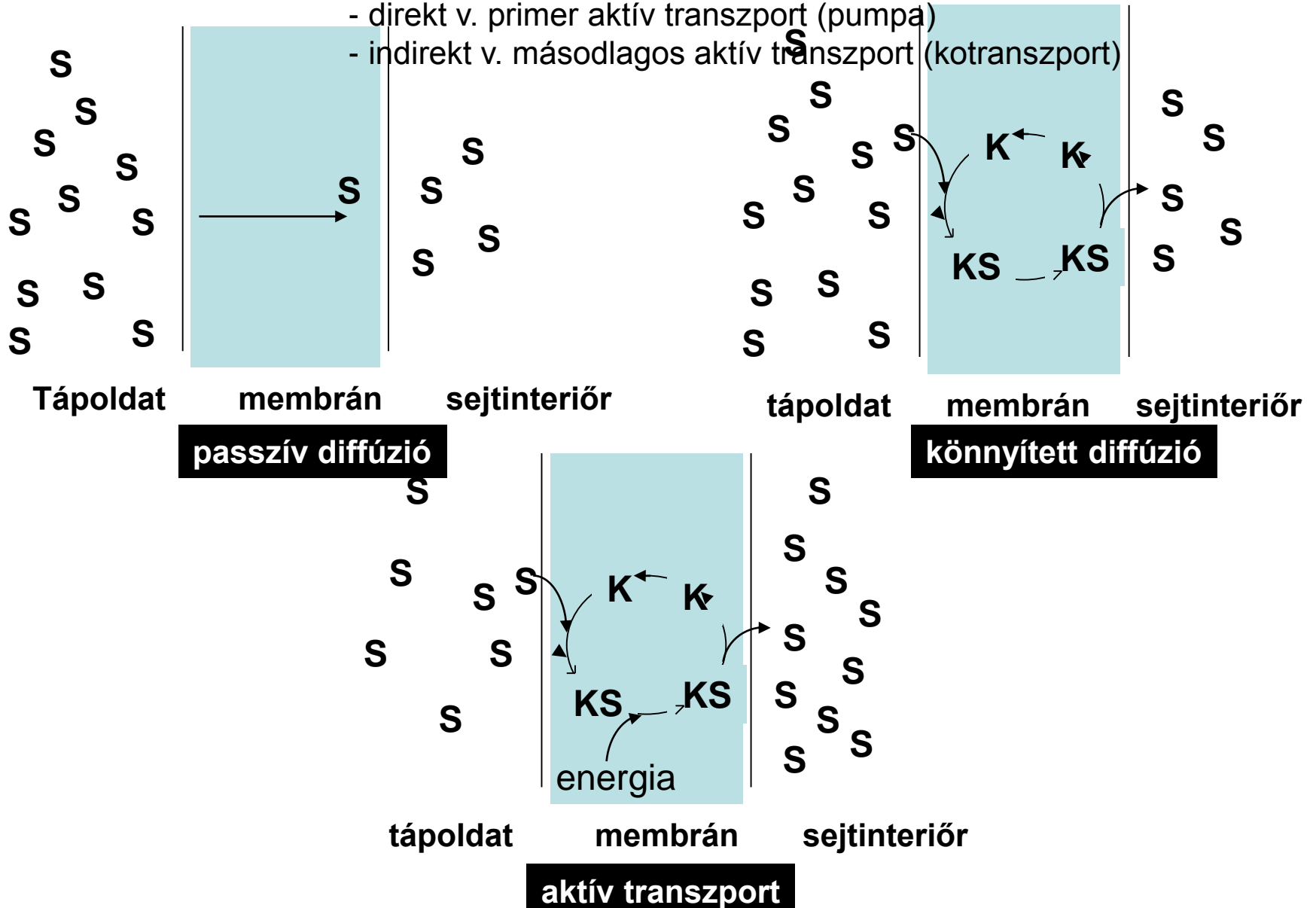


TRANSZPORTFOLYAMATOK

A transzport fajtái:

1. Passzív diffúzió - nem igényel energiát
2. (Passzív) könnyített diffúzió: fehérjekatalizált és nem igényel energiát.
3. Aktív transzport: fehérjekatalizált és energiát igényel

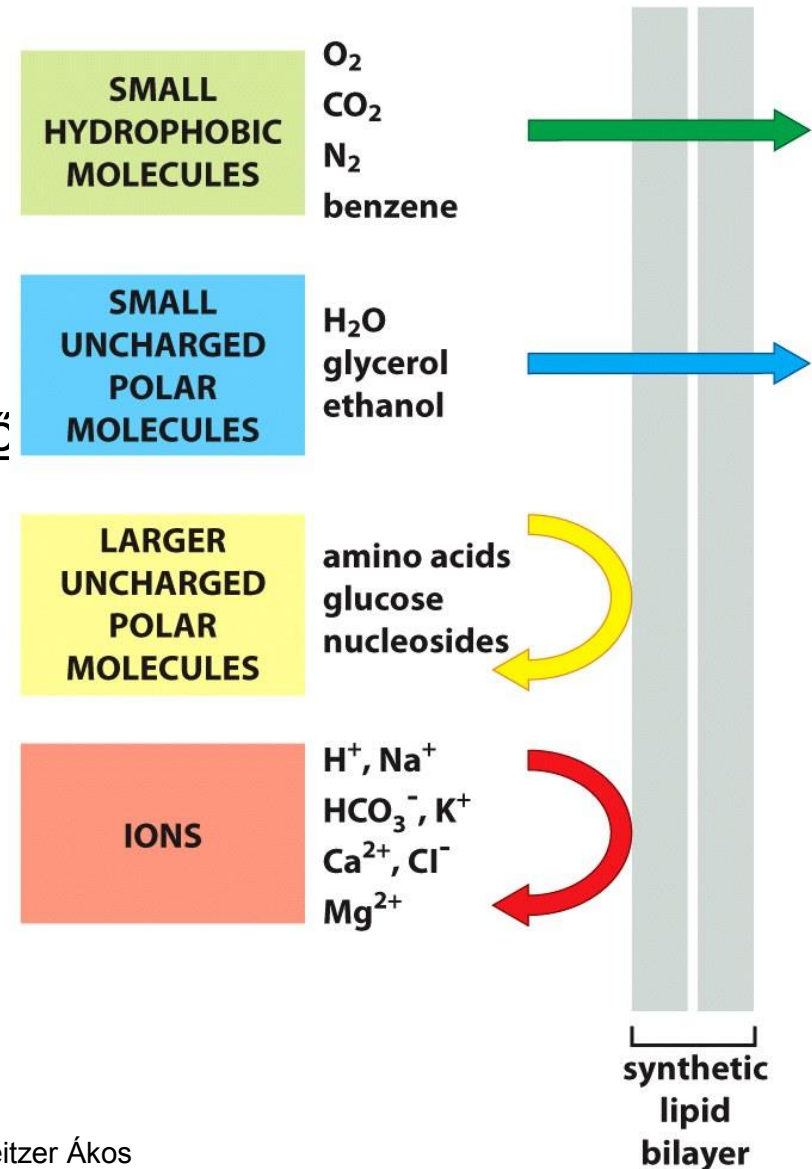
- direkt v. primer aktív transzport (pumpa)
- indirekt v. másodlagos aktív transzport (kotranszport)



A sejteket körülölelő CM és a sejten belüli membránszerkezetek (mitokondrium, endoplazmatikus retikulum, Golgi készülék, vakuolumok) mind megannyi *transzport gátat* jelentenek a különböző molekulák számára, elsősorban lipid-kettősréteg szerkezetük miatt.

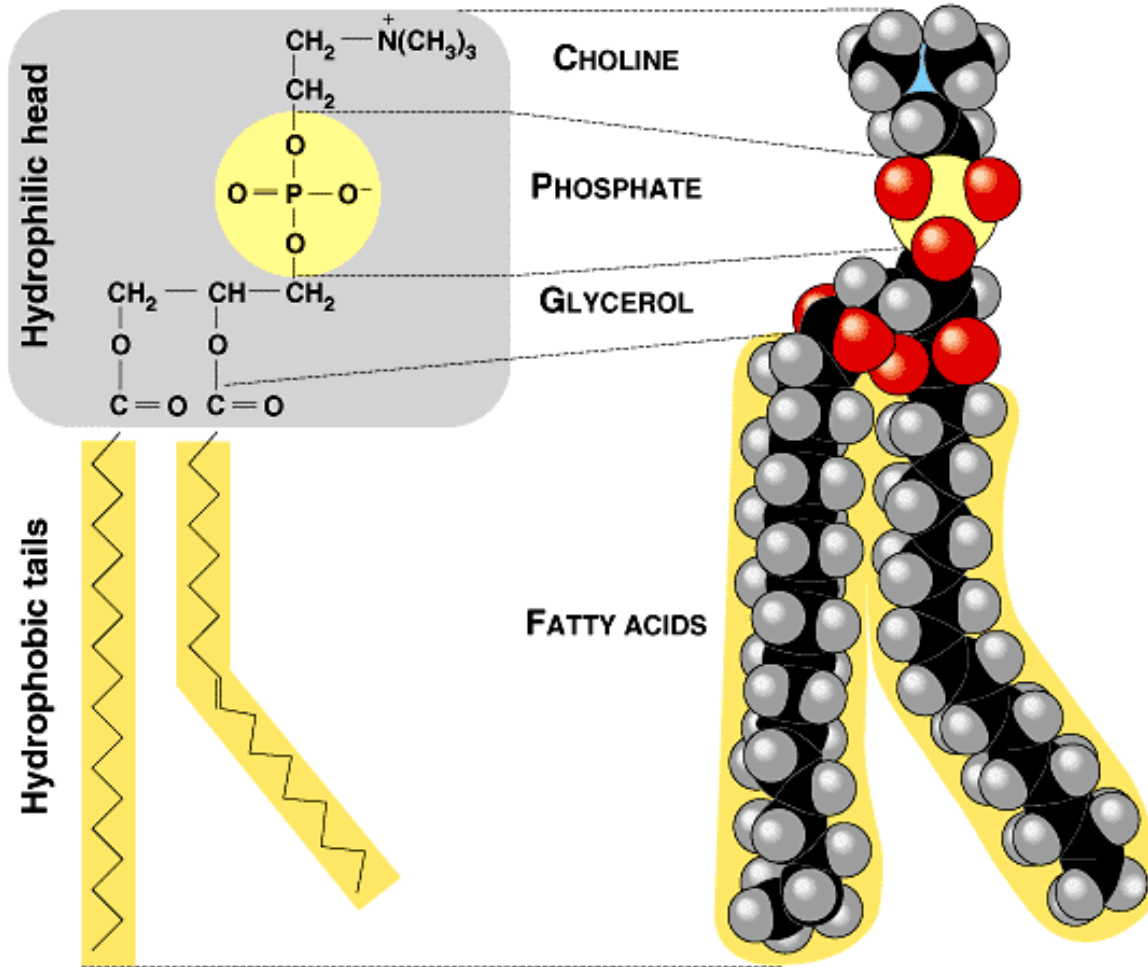
E lipid kettősrétegek viszonylag könnyen átjárhatóak a töltéssel nem rendelkező molekulák számára,

míg az ionok illetve egyéb töltéssel rendelkező molekulák transzportja a lipidmembránon keresztül igen lassú, gyakorlatilag zérus sebességű.



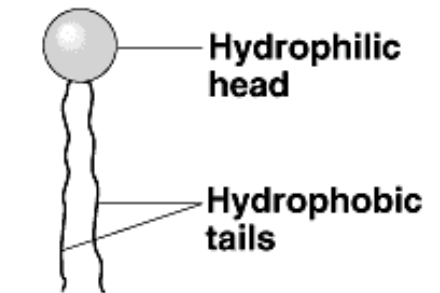
Foszfolipid

PHOSPHATIDYLCHOLINE



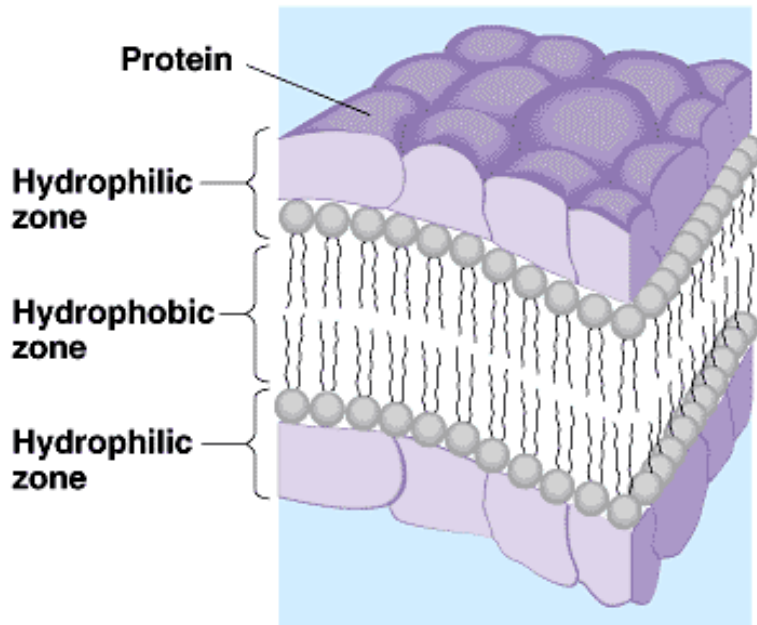
(a) Structural formula

(b) Space-filling model



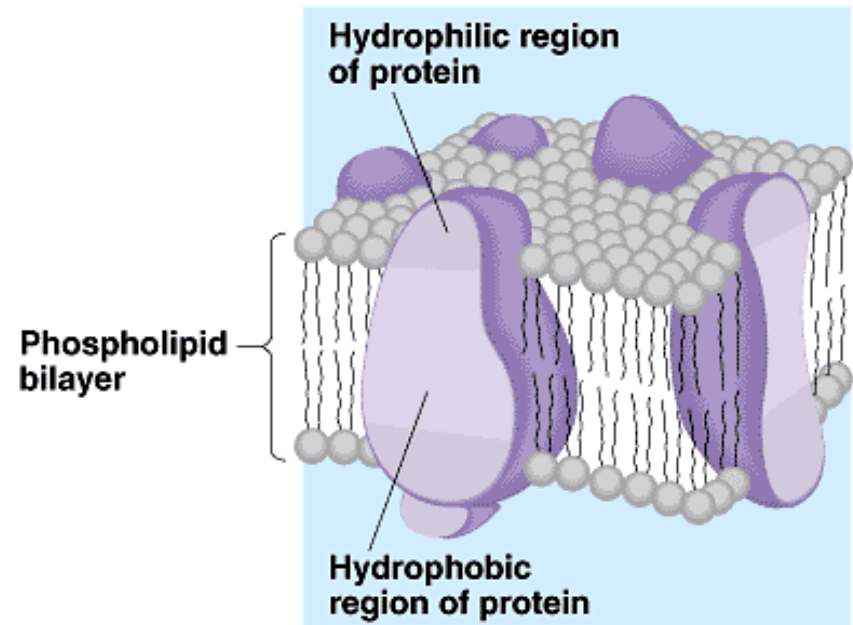
(c) Phospholipid symbol

A membránszerkezet két modelje



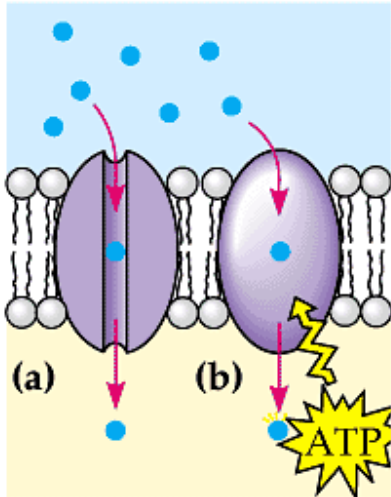
(a) Original Davson-Danielli model

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

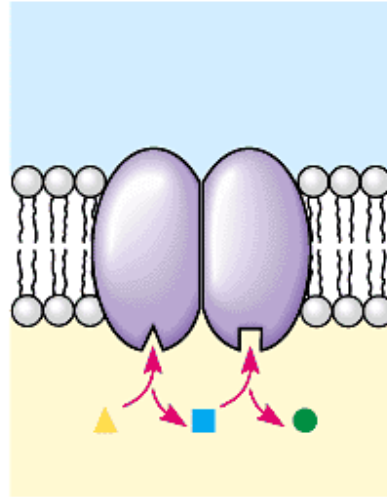


(b) Current fluid mosaic model

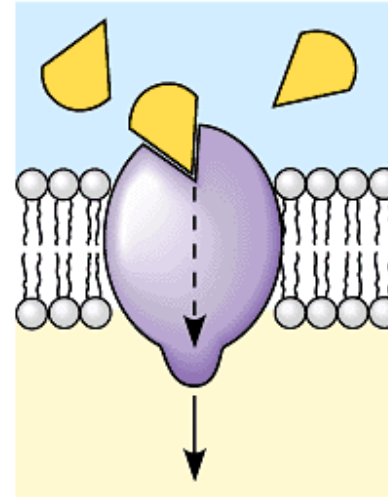
Membrán fehérjék funkciói



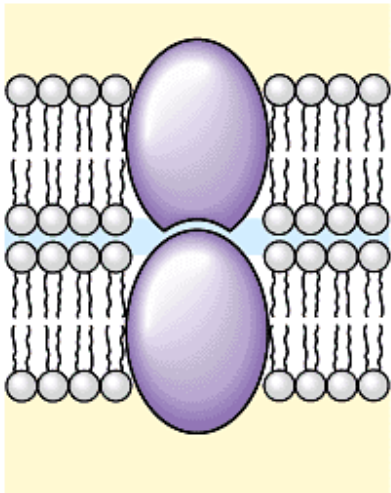
Transport



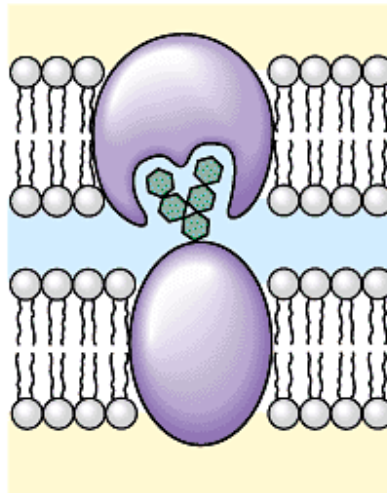
Enzymatic activity



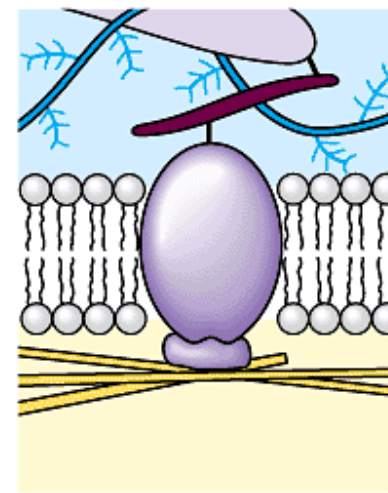
Signal transduction



Intercellular joining

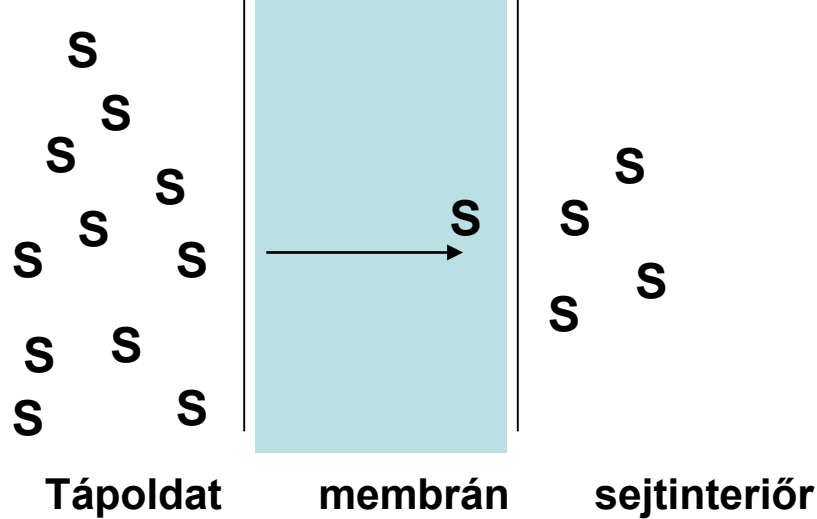


Cell-cell recognition



Attachment to the cytoskeleton and extracellular matrix (ECM)

Passzív diffúzió



Közelítőleg lineáris összefüggés van a különböző molekulák membránon keresztül történő transzportját jellemző *permeabilitási koefficiens* és az adott anyagnak a lipidben és vízben mérhető megoszlási hányadosa illetve oldhatósága között.

A membránra vonatkoztatott megoszlási hányados

$$K^* = \frac{c_m}{c_{\text{víz}}}$$

permeabilitási koefficiens

$$P = \frac{DK^*}{x}$$

ez egy anyagátadási tényező
l pl. k_p , cm/s

D az adott anyag membránban mérhető diffúziós állandója (cm^2/s)
x a membrán vastagsága (cm)

Permeabilitások

Collander (1949)

Chara ceratophylla

növényi sejtjeire

Megoszlási hányadosokat
olivaolajban mérték

vegyület	Permeabilitási koefficiens(P) cm.s ⁻¹	Megoszlási hányados(K*) Olivaolaj/víz elegyre
Szén-dioxid	0,45	
Víz	6,6.10 ⁻⁴	
Karbamid	2,8.10 ⁻⁷	1,5.10 ⁻⁴
Metanol	2,5.10 ⁻⁴	
Etanol	1,4.10 ⁻⁴	
Hangyasav		1,5.10 ⁻²
Ecetsav		3,0.10 ⁻²
Propionsav		1,5.10 ⁻¹
Vajsav		4,4.10 ⁻¹
Butiramid	5,0.10 ⁻⁵	
Glükóz	5,0.10 ⁻⁸	
glicerin	2,0.10 ⁻⁷	7,0.10 ⁻⁵

Közelítő összefüggés:

$$P = 0,028K_{\text{olívaolaj}}^* / \sqrt{M}$$

M – mol tömeg

Diffúzió anyagtranszportot, Fick I. törvény:

$$P = \frac{DK^*}{x}$$

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{AP}{V} (c_e - c_i) = \frac{ADK^*}{Vx} (c_e - c_i)$$

hajtóerő

$$\Delta G = RT \ln \frac{c_i}{c_e}$$

c_i és c_e (interiőr, exteriőr)

A a sejt CM-ral határolt külső felülete (cm^2)

V a sejttérfogat (cm^3),

A/V a sejtek fajlagos felülete (cm^{-1})

P a permeabilitási koefficiens (cm s^{-1})

Megoldás

$$\ln \frac{c_e - c_{i0}}{c_e - c_i} = \frac{AP}{V} t$$

$$c_i = c_e \left(1 - e^{-\frac{AV}{P} t} \right) + c_{i0} e^{-\frac{AV}{P} t}$$

$c_{i0} = 0$ esetén egyszerűsödik

$$c_i = c_e \left(1 - e^{-\frac{AV}{P} t} \right)$$

lásd $C = C^* (1 - e^{-K_L a t})$

A sejt interiőrbe került szubsztrát molekulák enzimes reakciókban tovább alakulnak intermedierekké.

Ha az első ilyen reakciót egy egyszerű *M-M kinetikát* követő enzim katalizálja:

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{AP}{V} (c_e - c_i) - \frac{V_{\max} c_i}{K_s + c_i} = 0 ! \quad \text{Állandósult állapot}$$

Másodfokú egyenlet
megoldása

$$c_i = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

$$a = PA/V \quad b = (PAK_s)/V + V_{\max} - c_e PA/V \quad \text{és} \quad c = -(PAK_s c_e)/V$$

víz

molekuláris oxigén,

szén-dioxid,

szerves savak

alkoholok

zsírolószerekben jól oldódó anyagok

Szerves savak disszociált formájukban gyakorlatilag oldhatatlanok a CM-ban.

c_e és c_i koncentrációjukat ki kell cserélni a nemdisszociált koncentrációra:

$$c_{j\text{nemdisszociált}} = \left(K_A 10^{\text{pH}_j} + 1 \right)^{-1} \cdot c_i \quad j = e \text{ vagy } i$$

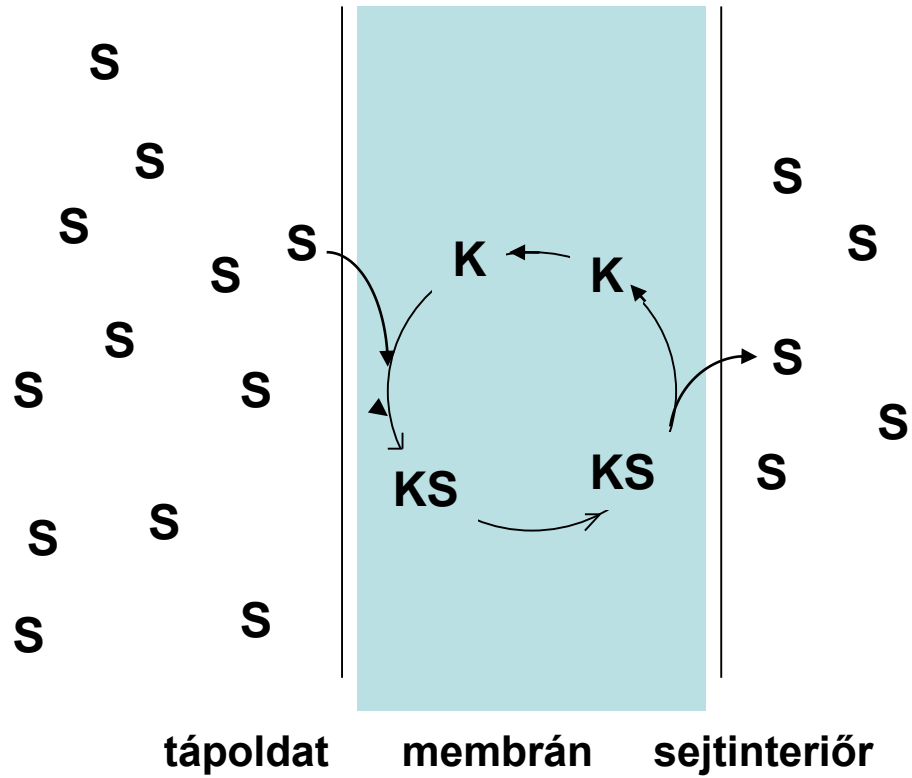
K_A a szerves sav disszociációs állandója
 pH_j a közeg pH-ja.

A pH a sejten kívül és azon belül nem azonos (lehet, hogy sejten belül kevésbé disszociált a sav),

Az is előfordulhat, hogy $c_i = c_e$ esetben is lesz a sejt belsejébe irányuló diffúzió.

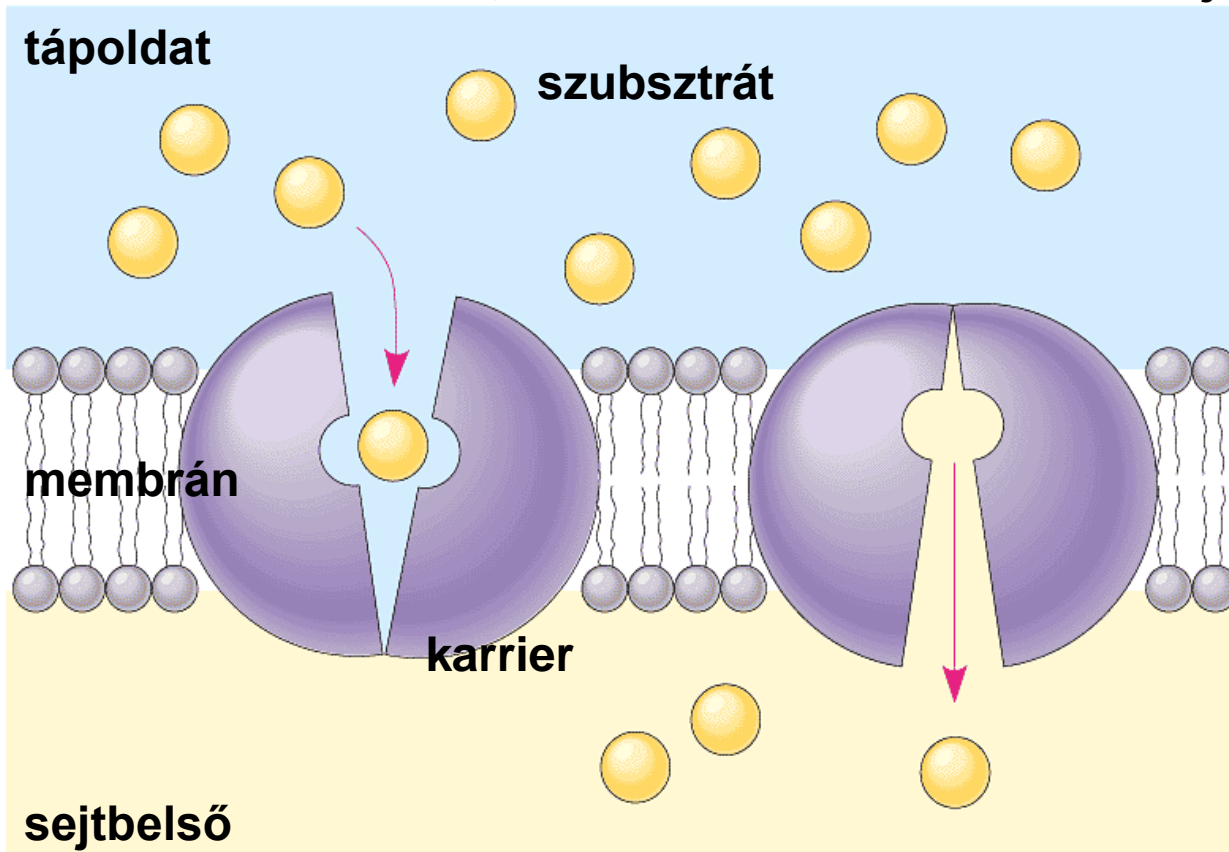
A membránba belépő nemdisszociált forma eltolja a külső disszociációs egyensúlyt, így idővel minden savmolekula átjuthat a membránon (illetve a hajtóerő megszűntéig folytatódhat a transzport).

Könnyített diffúzió (hordozós transzport)



Könnyített diffúzió (hordozós transzport)

Transzmembrán fehérje: (*kARRIER* és *csatorna fehérje*) a membrán külső oldalán felveszi, a membrán belső oldalán leadja az átvendő molekulát



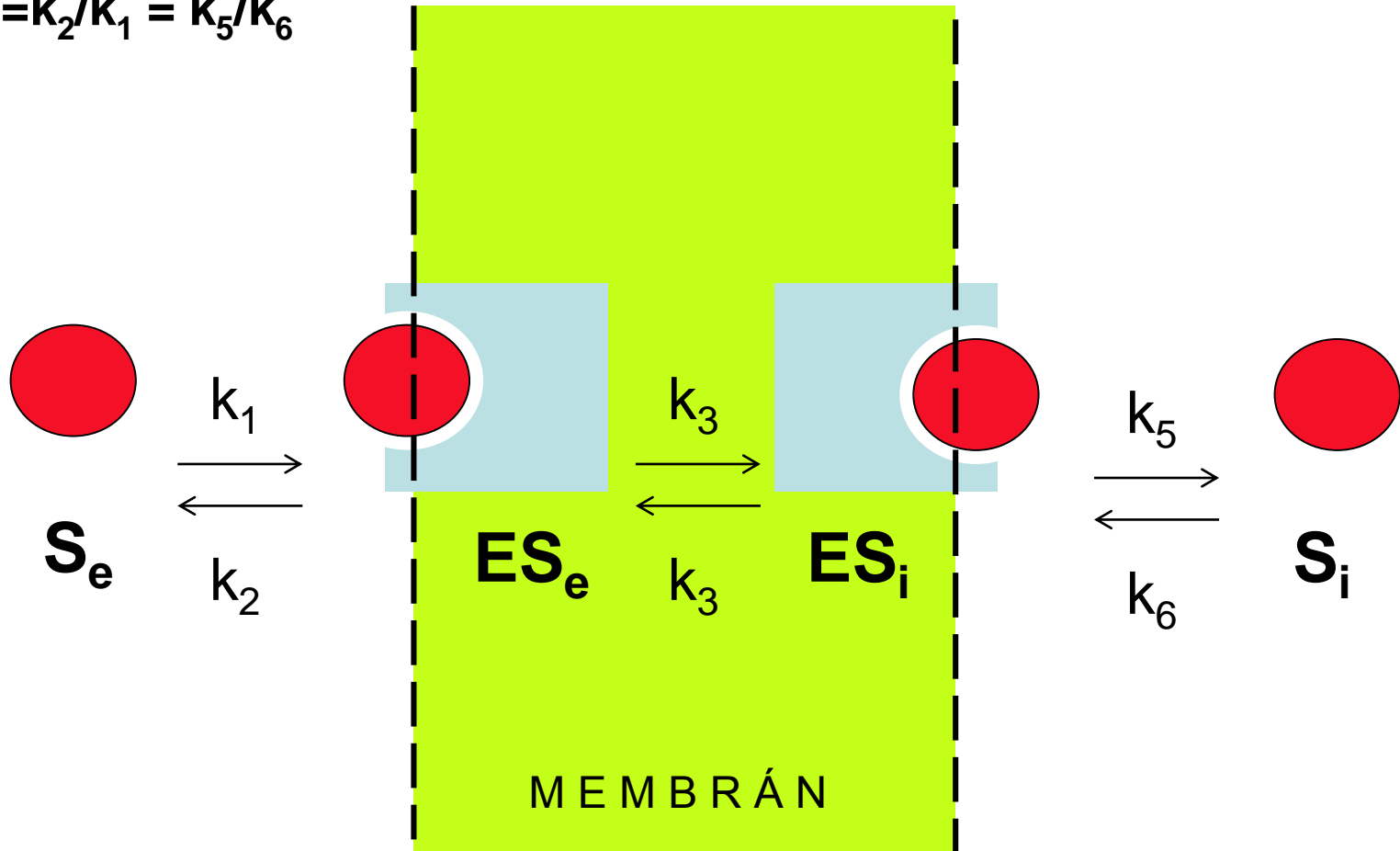
Az enzimnek nem kell helyváltoztatással mozognia a membránban, az anyagfelvételt és leadást a fehérje konformációváltozása váltja ki.

Mind a külső mind a belső membrán-oldalon létezik a kARRIER-célvegyület kapcsolat → folyamat reverzibilis.
Eredő irányát a koncentráció gradiens határozza meg.

Mintha a membrán belsejében diffúzió történne és a diffúziós állandó jelentősen megnövekedne az így átszállított anyagra (=az enzim gyorsítja az átviteli „reakciót”).
Lám, a kARRIER is enzim, csak nem „reakciót” katalizál!

A szubsztrát felvétel és leadás egyensúlyát a komplexek disszociációs állandóival lehet jellemezni:

$$K_s = k_2/k_1 = k_5/k_6$$



Az egyensúlyok $k_1 \cdot S_e \cdot E = k_2 \cdot ES_e$

és

$k_5 \cdot ES_i = k_6 \cdot S_i \cdot E$

$$\text{Fluxus } J = k_3 (ES_e - ES_i)$$

(ebben az egyenletben vettük figyelembe, hogy a karrier- szubsztrát komplexek egymásba is átalakulhatnak, azaz ez a reakció is reverzibilis és ugyanaz a sebességi állandója mindkét irányban!)

Anyagmérlegegyenlet:

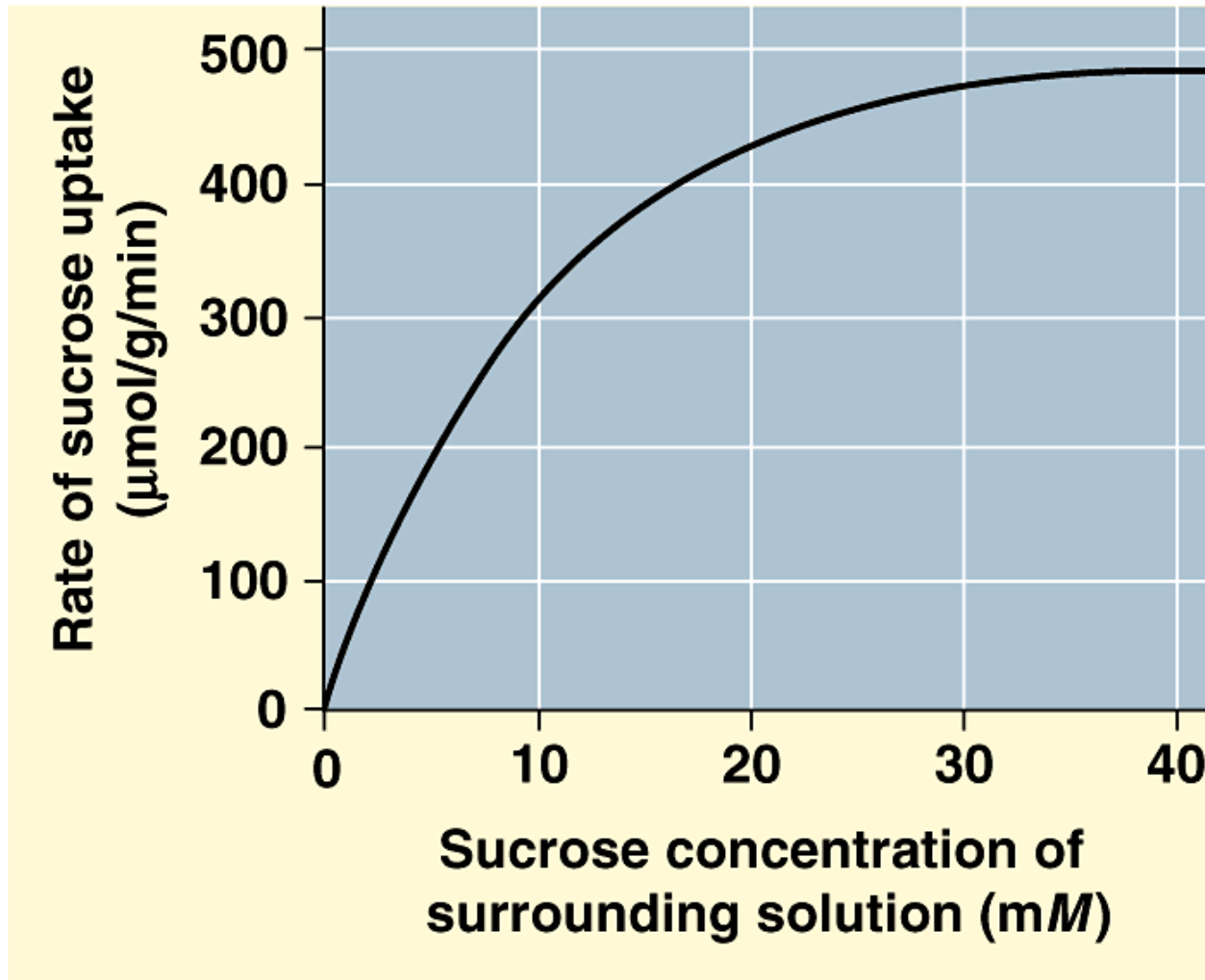
$$E_T = ES_e + ES_i + E = (S_e/K_S + S_i/K_S + 1)E \longrightarrow E = \frac{E_T K_S}{K_S + S_e + S_i}$$

$$J = \frac{k_3 E_T}{K_S + S_e + S_i} (S_e - S_i) = J_{\max} \frac{(S_e - S_i)}{K_S + S_e + S_i}$$

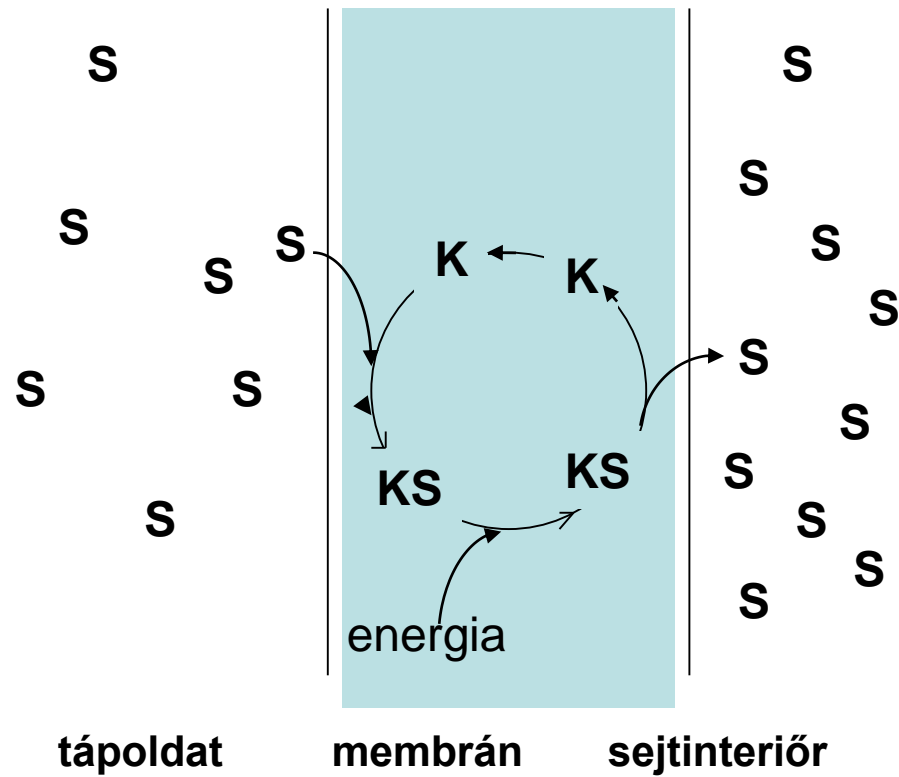
$$k_3 E_T = J_{\max}$$

két MM típusú összefüggés különbsége

A könnyített diffúzió kinetikája



Aktív transzport



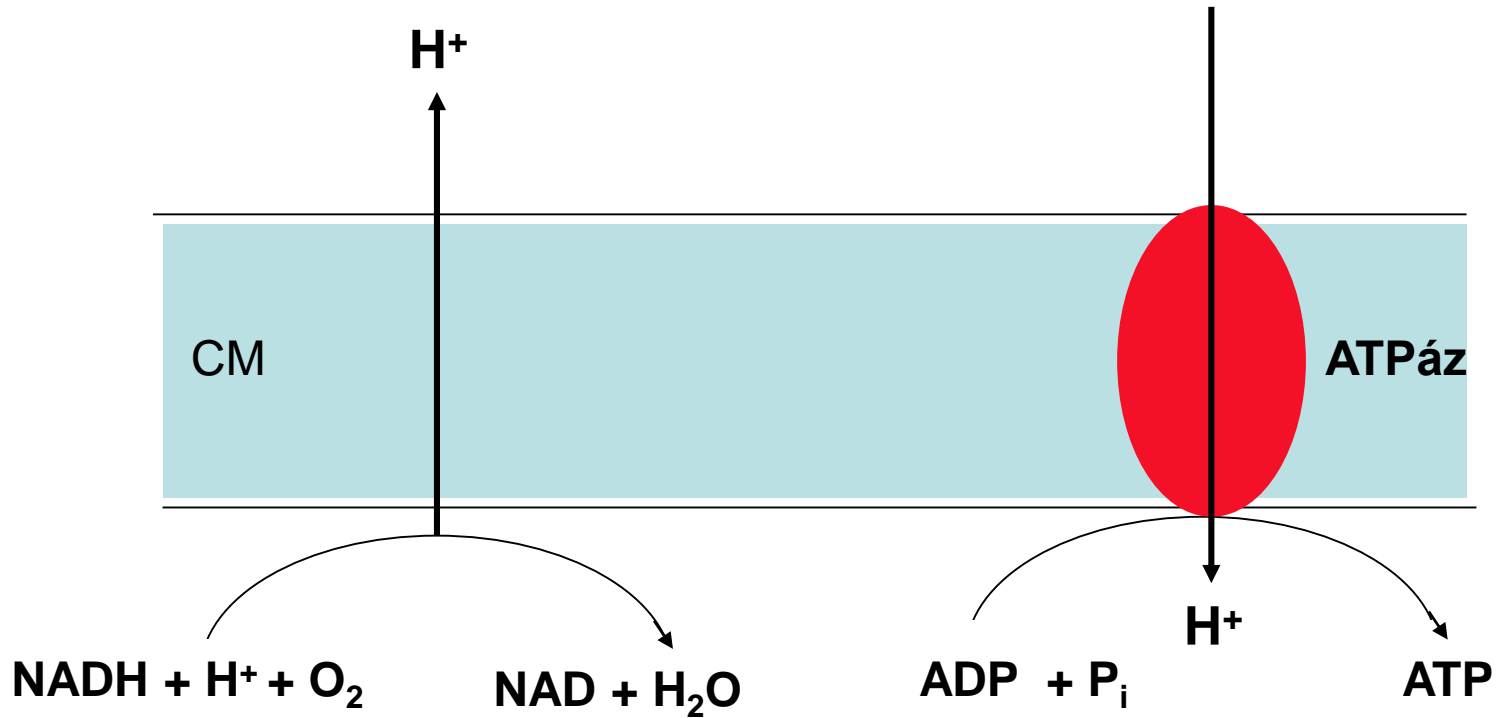
***Primer**

***Szekunder**

***Csoportátvitel**

Primer aktív transzport

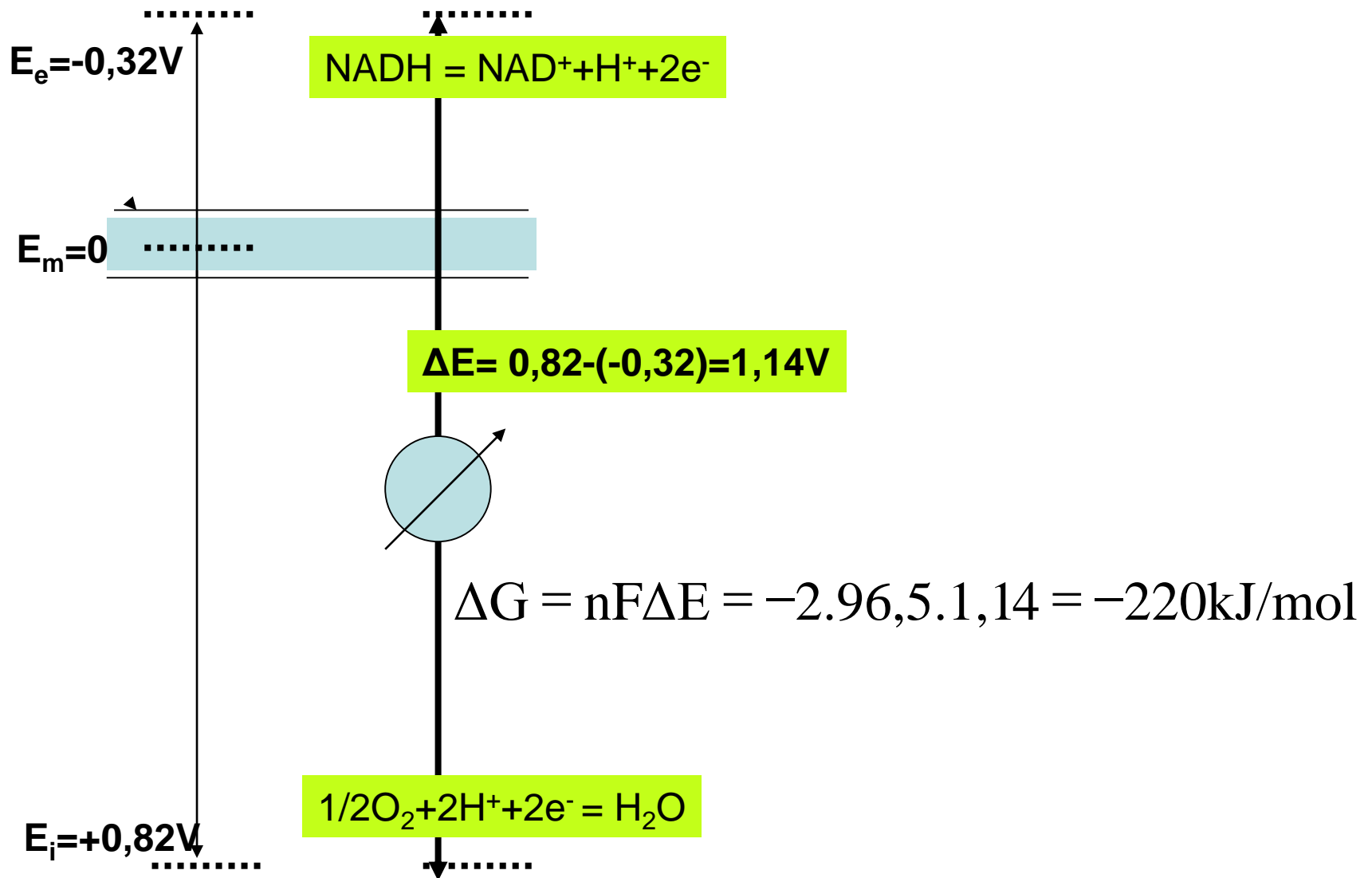
oxidatív forszorilezés során történő protonátvitel



ATP-áz egy F_0F_1 típusú proton ATP-áz vagy ATP szintáz elhelyezkedése a membránban speciális:

F_1 része a citoplazmába nyúlik

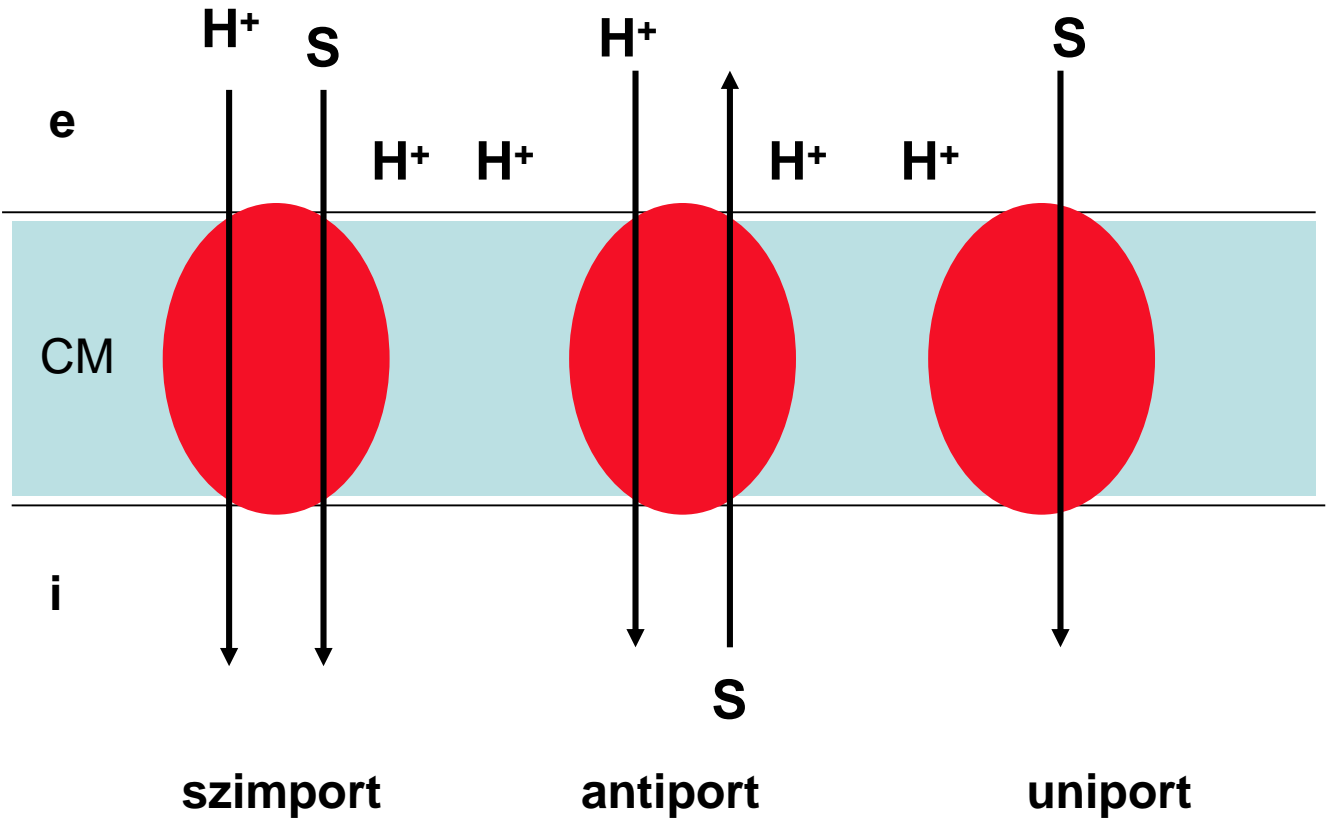
F_0 része a membránhoz rögzült.



A légzési lánc „galváneleme”. Az elektronátmenet ΔG -je a hajtóereje a protonpumpának illetve az együttjáró ATP képződésnek

Másodlagos aktív transzport egy másik anyagnak koncentrációgradiens irányába történő transzportját használja fel hajtóerőként.

- A két anyag azonos irányba halad → **szimport**
- ellenkező irányba halad → **antiport**
- ionok transzportja → **uniport**



Gyakran a szekunder aktív transzport együtt jár a CM-on keresztül kialakuló pH gradiens kialakulásával és hogy a sejten belüli pH (az adott kompartmentben!) állandó maradhasson, az ATP-áz mediált protonpumpának kell működnie. Így végülis energia használódik fel, azaz teljes együttranszport aktív transzport.

A szekunder aktív transzportra példa a mikroorganizmusok cukorfelvétele az un. permeáz enzimekkel

—————→ a cukor proton szimporttal jut a sejtek belsejébe.

**Laktóz diszaharidnak *E. coli*-ba történő transzportja a laktóz permeázzal:
1:1 laktóz: bepumpált proton arány**

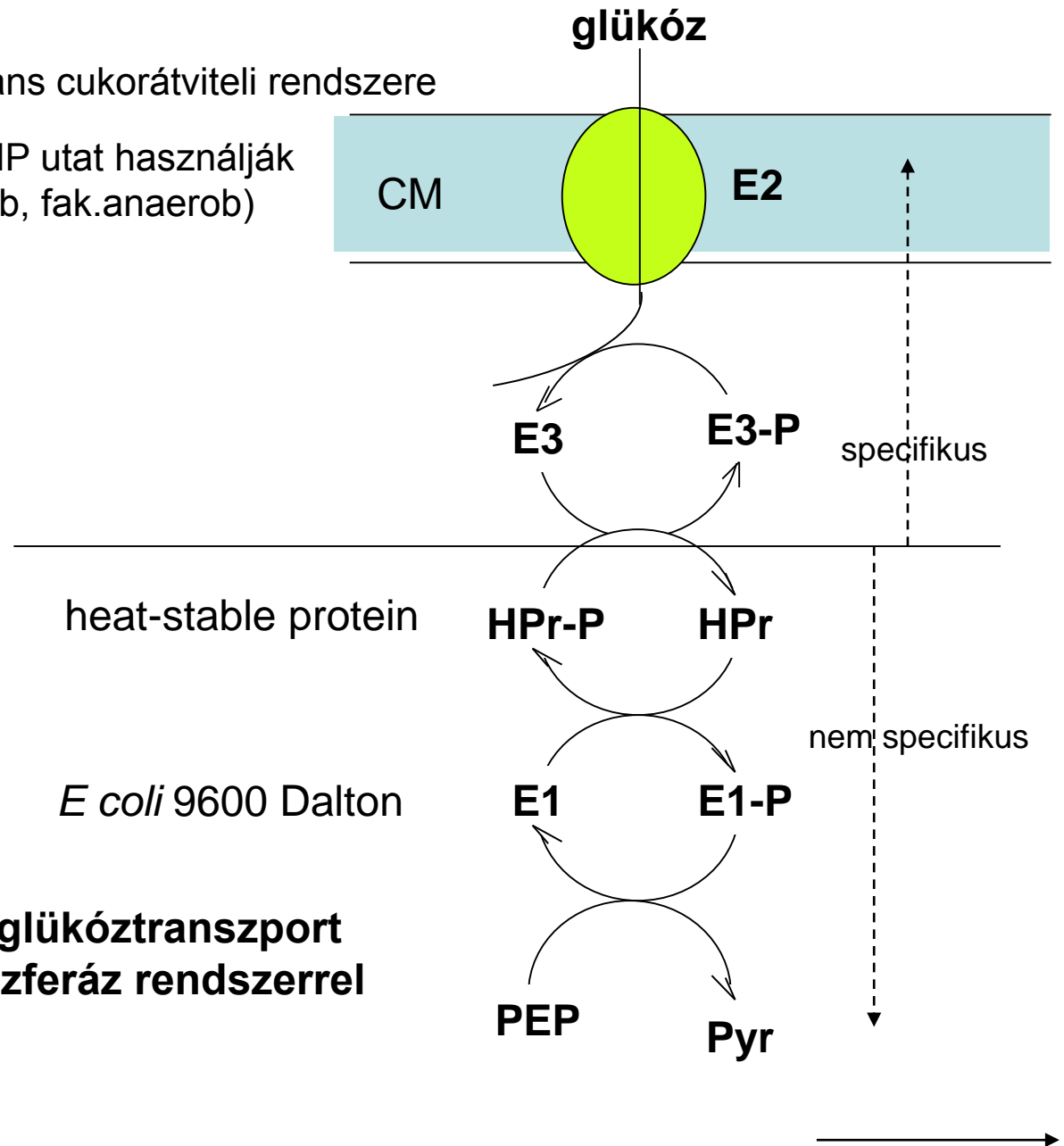
Más cukrok ill. mikrobák esetén a sztöchiometria nem ilyen szigorú.

Csoport transzlokáció

Fermentatív baktériumok domináns cukorátviteli rendszere

Baktériumokban, amelyek az EMP utat használják hexóz katabolizmusukra (anaerob, fak.anaerob)

Specifikus glükóztranszport foszfotranszferáz rendszerrel



vegyület	Baktériumok	Gombák
aminosavak	Aktív transzport(AT)	AT
glükóz	AT (foszfotranszferáz és permeáz)	Könnyített diffúzió és AT
laktóz	AT foszfotranszferáz és permeáz)	Könnyített diffúzió és AT
glicerin	Diffúzió és könnyített diffúzió	Diffúzió és könnyített diffúzió
etanol	diffúzió	Diffúzió
tejsav	AT és diffúzió	Diffúzió
ecetsav	diffúzió	diffúzió
Szén-dioxid	diffúzió	diffúzió
Oxigén	diffúzió	diffúzió
Víz	diffúzió	diffúzió