

A MITOKONDRIUMOK SZEREPE A SEJT MŰKÖDÉSÉBEN

Somogyi János -- Vér Ágota

Első rész

Már több mint 200 éve ismert, hogy szöveteink és sejtjeink zöme oxigént fogyaszt. Hosszú ideig azt hitték azonban, hogy az oxigénfelvétel egyenletes az egész sejtben. Bár a múlt század végére kiderült, hogy a mikroszkópos vizsgálattal a legtöbb sejtben bab alakú testecskéket lehet kimutatni -- amelyekről feltételezték, hogy alapvető szerepet játszanak a sejtek oxidációs folyamataiban -- mégis további közel ötven évig teljesen bizonytalanok és érthetetlenek voltak e sejttestecskék igazi funkciói. Nagy előrelépést jelentett ezért, amikor az 1940-es évek második felében szövetekből készült homogenizátumból aránylag tiszta formában sikerült izolálni ezeket a sejtpartikulumokat, majd feltárták tulajdonságaikat és funkcióikat is.

A közben elterjedt elektronmikroszkópos vizsgálatok segítségével kiderült, hogy a mitokondriumok 3-4 μm hosszúságú és 0,5-1 μm átmérőjű, általában ellipszoid alakú testecskék, bár a formájuk a különböző szövetekben eltérő lehet. Egy májsejt legalább 800 mitokondriumot tartalmaz, ez a szám más szövetek esetében változó. A vese egyes tubulusában például csak 300, ugyanakkor a szívizomsejtekben több ezer, sőt a tengeri sün petesejtjében akár 14 000 is lehet belőlük. Nagyon jellemző és fontos megfigyelés, hogy a rendszeres izommunka (tréning) fokozza a harántcsíkolt -- izomsejtek mitokondriumainak a számát. Mivel e sejtszervecskék legfontosabb feladata a sejtek energiaigényének a kielégítése, nem meglepő, hogy egy adott sejtfeleségben a mitokondriumok száma és az energiaigény között összefüggés mutatható ki. A sejtek energiaszükségletének több,

mint 90%-át a mitokondriumokban termelt energiahordozó, az adenozintrifoszfát (ATP) biztosítja.

A mitokondriumok felépítése

Míg a sejteket és a sejtek egyéb sejtorganelleumait egyetlen membrán veszi körül, addig a mitokondriumokat kettős membrán határolja (1. **ábra**). A két „hártya” mind felépítésében, mind funkcióiban alapvetően eltér egymástól. A külső membrán főleg foszfolipidekből épül fel, de jelentékeny mennyiségű koleszterint is tartalmaz és aránylag kevés fehérje található benne. A fehérjék között igen fontos a porin, amely csatornákat képez a külső membránban, és ezáltal lehetővé teszi 10 000 dalton molekulatömegűnél kisebb molekulák szabad diffúzióját. A porinon kívül a külső membránban különféle enzimeket is találunk, amelyek többek között a zsírsav, illetve a foszfolipid szintézisben vesznek részt, továbbá bizonyos oxidációs reakciókért felelősek.

A mitokondriumok belső membránja kesztyűujjszerűen betüremkedik a mitokondriumok belsejébe (az ún. mátrix állományba), ahol krisztákat (lécszerű kiemelkedéseket) képez, ezáltal jelentősen megnö a membrán felülete. Számítások szerint az 1g májszövetben található mitokondriumok belső membránjának a felülete mintegy 3 m². Felépítésében a fehérjék vannak túlsúlyban (a fehérje -- lipid arány 4:1). Ellentétben a külső membránnal, a belső kettős lipidrétege nem járható át a töltéssel rendelkező anyagok számára. A belső „hártya” fehérjéinek szervezettsége nagyfokú. Itt található többek között a biológiai oxidáció majdnem teljes enzimrendszere, amelyet másképpen terminális oxidációs vagy elektrontranszportláncnak hívunk. Ez a lánc szoros kapcsolatban áll a foszforilációs mechanizmussal, amely a sejt által felhasznált kémiai energia döntő részét termeli.

A külső és a belső membrán között helyezkedik el a membránközi tér, amelyben néhány enzim található, amelyek elsősorban a nukleotid anyagcserében vesznek részt.

A mitokondriális mátrixban igen fontos enzimrendszerek mutathatók ki, pl. a zsírsavak lebontásért felelős enzimek, vagy a Szent-Györgyiről és Krebsről elnevezett citromsav-ciklus, amelyben a különböző tápanyagokból keletkezett közös anyagcseretermék, az ún. acetyl-CoA széndioxidra és vízre bomlik, de számos más anyagcserefolyamat is lejátszódik benne.

A belső membrán transzportrendszerei

Az anyagcsere szabályozása szempontjából meghatározó jelentőségű, hogy a mitokondriális belső membrán nem ereszti át a különböző anyagokat, csak a gázok, a víz, az ammónia és néhány kis molekulatömegű szerves sav számára átjárható. Speciális transzportáló rendszereket, ún. karriereket (hordozókat) tartalmaz, amelyek fehérjék és igen nagyfokú specificitással rendelkeznek. Ez az oka annak, hogy legalább 15-20 különböző karrier mutatható ki a mitokondriumok belső membránjában.

Mint már korábban láttuk, a mitokondriumok legfőbb feladata az, hogy felhasználható kémiai energiával, ATP-vel lássák el az egész sejtet. Az ATP szintézishez azonban anorganikus foszfát, adenzin-difoszfát (ADP) és oxidálható szubsztrátok kellenek. Ezeket az anyagokat karrierok juttatják a mitokondriumokba. A belső membrán karrierjei jórészt neutrálisak. Ez azt jelenti, hogy mivel a felvett anyagok döntő többségükben negatív töltésűek, a felvétel vagy egy másik szintén negatív töltésű vegyület egyidejű leadásával jár együtt, vagy egy pozitív töltésű anyag (legtöbbször hidrogénion, H^+) egyidejű

felvételével. (Az előző esetet antiportnak, az utóbbit szimportnak nevezzük.) Kivételek az elektrogén karrierek, ilyen például az ATP/ADP transzlokáz. Érdemes megemlíteni azt az esetet is, amikor egy rendszerint töltés nélküli vegyület egyedül jut át a membránon, ezt a karrierműködést uniportnak hívjuk. A mitokondrium belső membránjában az ATP/ADP hordozó mutatható ki a legnagyobb mennyiségben. Tudjuk, hogy a mitokondriális ADP-koncentráció a legfőbb szabályozója az ATP termelésnek, ugyanakkor az is nyilvánvaló, hogy a mitokondriumokban szintetizált ATP nagy része a mitokondriumokon kívül használandó el. A mitokondriumokban szintetizált ATP a felhasználás során ismét ADP-re és anorganikus foszfátra bomlik, s e termékeknek vissza kell jutniuk a mitokondriumokba, amely az ATP/ADP karrier segítségével történik.

A mitokondriális légzési lánc

A légzési lánc egyes tagjainak a belső membránban az a feladatuk, hogy a redukált állapotban lévő szubsztrátokról származó hidrogénionok szabályozott módon jussanak el az oxigénig. A különböző vegyületek mitokondriális oxidációja során felszabaduló energia nagy része az ATP harmadik foszfátjának nagyenergiájú (makroerg) kötésébe épül be. Minden élő szervezet, a baktériumoktól kezdve a gombákon át egészen az emberig, ATP-t használ energiaforrásként. Az ATP tehát az az általános energiahordozó, amely energiadonorként vesz részt a különböző energiafelhasználással járó folyamatban, pl. az izommunkában, a sejten belüli mozgásokban stb. A keletkezett ATP napi mennyisége igen jelentős. Számítások szerint egy nap alatt a testsúlyunknak megfelelő mennyiségű ATP keletkezik. Egész nap tartó igen intenzív

munkavégzés során (elméletileg) azonban akár egy tonna ATP is szintetizálódhat.

Ha a mitokondriális belső membránt megfelelő eljárással kisebb, de még működő részekre szedjük szét, ún. oxidoreduktáz komplexeket nyerünk, amelyek az oxidoredukcióért felelős enzimfehérjéken kívül a folyamatban szereplő koenzimeket is tartalmazzák. Az oxidoredukciós folyamatokban a donormolekula hidrogént vagy elektront veszít, amely az oxidoreduktáz enzim közreműködésével az akceptormolekulára kerül át. A végső elektronakceptor az oxigén, az így aktiválódott oxigén azután a lehasított hidrogénekből származó protonokkal (hidrogén ionokkal) végül vizet képez. Eddig négy oxidoredukciós komplexet izoláltak a belső membránból. A hidrogénekből származó protonok és elektronok eljuttatása az oxigénig nem öncélú folyamat, hiszen a transzport folyamán megfelelő mennyiségű energia szabadul fel, ennek a felhasználásával képződik az ATP. Nagyon pontos mérések és számolások alapján kiderült, hogy a mitokondriális elektrontranszportláncban három olyan oxidoreduktáz komplex található, ahol az elektronok átadása során annyi energia szabadulhat fel, amely elegendő egy-egy ATP molekula szintéziséhez. Optimális esetben 1mol víz keletkezése során összesen 3mol ATP képződhet. Megfelelően megválasztott oxidálható szubsztrátok és szelektív gátlószerek felhasználásával sikerült is ezt bizonyítani. Az ATP szintézis mechanizmusa azonban sokáig ismeretlen volt (**2. ábra**).

Az ATP szintézise

A mitokondriumok belső membránjából nagyon kíméletes eljárással kisebb, még működőképes struktúrákat lehet izolálni, amelyeket szubmitokondriális partikulumoknak neveztek el. Ezek

membránstruktúrájának vizsgálatakor feltűnt, hogy „nyeles képlet”-eket tartalmaztak, amelyek azonosnak látszottak a belső membrán krisztáin találhatókkal. Ezek a preparátumok képesek voltak az oxidatív foszforilációra. Amikor a „nyélből” és globuláris „fejből” álló képleteket enzimatikus eljárással szétválasztották, a visszamaradt partikulum oxidációs aktivitással ugyan még rendelkezett, de foszforilációs képessége megszűnt. Ezért joggal gondoltak ekkor a kutatók arra, hogy a lehasított kis képlet lehet felelős az ATP szintéziséért. Izolálták a lehasított részecskéket, azok azonban nem szintetizáltak, hanem bontották az ATP-t ADP-re és anorganikus foszfátra. Ezért nevezték el ezt a részecskét (F₀F₁-ATP-áznak) adenozintrifoszfátáznak. Ha viszont ezt a szolubilis F₀F₁-t liposzomákba (gömb alakú két foszfolipid molekuláris rétegből álló membránstruktúrába) építették be, megfelelő körülmények között ki lehetett mutatni az ATP-szintézist (**3. ábra**). Ez a kísérlet azt bizonyítja, hogy az ATP a mitokondriumokban nem a légzési lánc oxidoredukciós komplexeihez kötődve, hanem attól függetlenül termelődik.

H⁺ grádiens szerepe az ATP szintézisében

Mitchell angol biokémikus az 1960-as években teljesen elméleti alapon a mitokondriális ATP-szintézis magyarázatára egy új elméletet, az ún. „kemiozmótikus hipotézis”-t dolgozott ki, amelyet azután később kísérletesen is igazoltak.

Két körülményből indult ki: (1.) Jó húsz éves, igen intenzív kutató munkával sem találták meg a kémiai közbülső termék elméletének elfogadásához nélkülözhetetlen foszforilált intermediert, szerinte azért nem, mert ilyen nem létezik. (2.) Feltételezte (ez később igazolódott is), hogy a mitokondriális belső membrán nem járható át sem H⁺-ra, sem

pedig OH^- -ra. Mitchell ezért felvetette, hogy a mitokondriális oxidáció során töltésszétválás következik be, azaz a lehasadt hidrogénekből a H^+ a membránközi térbe transzportálódik, az elektronok ellenben tovább adódnak az elektrontranszportláncon át az oxigénig. További feltevése az volt, hogy az egyes oxidoreduktázok működésekor legalább három ponton át transzportálódik H^+ a külső oldalra. (Ezeknek a protonoknak a nagy része a víz disszociációjából származik). Következésképpen kívül H^+ halmozódik fel, míg belül a OH^- koncentrációja nő meg. Mitchell szerint az így kialakult protongradiens adja az energiát az $\text{ADP} + \text{anorganikus foszfát} \rightarrow \text{ATP}$ reakcióhoz (**4. ábra**). Az elmélet helyességének bizonyítására egyszerű kísérlet végezhető: működőképes mitokondrium hozzáadott oxidálható szubsztrát nélkül képtelen ATP-t szintetizálni ADP-ből és anorganikus foszfátból, mert nem alakul ki ilyen körülmények között az energiát biztosító protongradiens. Ha ellenben a külső médiumhoz igen kis mennyiségű HCl-t (tehát protont) adunk, a rendszer működni kezd, a mitokondriumban ATP szintetizálódik. (Ne felejtjük, hogy nincs a rendszerben oxidálható szubsztrát!). Az ATP tehát nem az egyes oxidoredukciós komplexekhez szorosan kapcsoltnak szintetizálódik, hanem az F_0F_1 -komplex segítségével.

Az F_0F_1 -ATP-áz (ATP-szintáz) felépítése

Kísérletesen bizonyították, hogy az egyes oxidoredukciós komplexek működése során 2--4 H^+ pumpálódik a membránok közötti térbe. Tisztázták az F_0F_1 -komplex struktúráját és nagyrészt működését is. (Az F_0F_1 -ATP-szintáz működésének leírásáért melyről folyóiratunk 1998. Februári számában olvashatnak Boyer és Walker 1997-ben Nobel-díjat kapott.)

Az F_0F_1 -ATP-szintáz legegyszerűbben egy cylinder struktúraként fogható fel, amelynek két része van. Az F_0 gyakorlatilag egy H^+ -ra

specifikus ioncsatorna, amely három különböző fehérjealegységből (a, b, c) épül fel (**5. ábra**).

Hogyan működik az ATP-t szintetizáló rendszer?

Ha hidrogénionok folynak keresztül a membránon a korong "c" alegységei közreműködésével, a korong forgásra kényszerül. Mivel az F_1 gamma alegysége a koronghoz kötött, az együtt forog vele. A gamma alegységgel azonban az alfa és beta alegységek nem tudnak együtt forogni, hiszen a beta alegység az F_0 "b" alegysége révén rögzített helyzetben van. A gamma alegység forgása (kb. 100 másodpercenként) változásokat hoz létre a beta alegységek szerkezetében, így a beta alegységek vagy nyitott (beta-O), vagy laza (beta-L), vagy feszes (beta-T) szerkezetet vehetnek fel. Mivel a gamma alegység kb. százszor forog körbe másodpercenként, ennyiszor változik az egyes beta-alegységek térszerkezete (konformációja). A „feszes” beta ATP-t köt, a „laza” pedig ADP-t és anorganikus foszfátot, a „nyitott” beta viszont elengedi az ATP-t és nem köt semmit. Ha a gamma alegység tovább fordul, a „feszes” beta, amely ATP-t köt, nyitottá válik, és az ATP szabaddá válik. Ugyanakkor a „laza” beta ADP és anorganikus foszfátot köt. Ez zárttá (feszessé) alakul és ATP szintetizálódik. Ezzel egyidejűleg a „nyitott” beta „lazává” válik. A ciklus pedig kezdődik előről. Annak ellenére, hogy a mechanizmus egyes részei mind a mai napig nem tisztázottak eléggé, a Mitchell féle kemiozmotikus hipotézist ma már általánosan elfogadják.