



## A mitokondrium és a kloroplaszt modellezésének összehasonlító elemzése és tanulságai

Varga M.

Kaposvári Egyetem, Informatika Tanszék, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

### ÖSSZEFOGLALÁS

*Munkámban egyszerűsített folyamat modell segítségével tanulmányoztam a kloroplaszt és a mitokondrium működésének hasonló illetve eltérő strukturális és funkcionális jellegzetességeit, különös tekintettel a mitokondriális membránhoz, illetve a tylakoid membránhoz kapcsolódó proton és elektron transzporttal kísért folyamatokra, valamint a két kompartment környezeti kapcsolataira. A mitokondriális membrán energiatermelő folyamatának lényege az, hogy a szerves anyag  $CO_2$  képződéssel járó lebontása során  $NADH+H^+$  illetve  $FADH_2$  formában elvont protonokat és elektronokat  $O_2$  felhasználásával vízzé oxidálja, egyúttal protonáramlással működteti az ADP-ből ATP-t előállító fehérje gépezetet. A tylakoid membrán energiahasznosító folyamatának lényege az, hogy fényenergia felhasználásával a vizet  $O_2$ -re, valamint protonokra és elektronokra bontja és  $NADPH+H^+$  formájában hidrogént szolgáltat a  $CO_2$  beépítésével járó szerves anyag szintézishez, egyúttal protonáramlással működteti az ADP-ből ATP-t előállító fehérje gépezetet. A kloroplaszt strómája egyetlen reakcióval kapcsolódik a Calvin ciklushoz, és a környezeti kapcsolatok az NADP,  $NADPH+H^+$ , ATP és ADP tároláson keresztül realizálódnak. A mitokondrium belső tere viszont lényegében magában foglalja a teljes Szent-Györgyi ciklust. A mitokondrium és a kloroplaszt membránfolyamatainak lényegét kiemelő, strukturális modelljeit összehasonlítva megállapítottam, hogy a két membránfolyamat legfontosabb fluxusait meghatározó hálózat egyetlen gráfél kivételével csak a gráfélek ellentétes irányításában különbözik egymástól. A többlet gráfél a kloroplasztban egy további elektronkör kialakulását biztosítja. A két ellentett hálózatban az ATP előállító fehérjéjé is „fordítva van bekötve”, ezért mindkét esetben ATP-t termel.*

(Kulcsszavak: folyamatmodellezés, sejtfolyamatok, mitokondrium, kloroplaszt, hálózat és háló elemzés)

### ABSTRACT

#### Structural Model Based Comparative Analysis of Mitochondrion and Chloroplast

M. Varga

University of Kaposvar, Department of Information Technology, University of Kaposvár, H-7400 Kaposvár, Guba S. u. 40

*Simplified network models of the essential processes in mitochondrion and in chloroplast have been derived to study the similar and different structural and functional characteristics. Based on the preliminary results the detailed analysis focused on the proton and electron transfer-related fluxes of the mitochondrial and tylakoid membrane. The model analysis extended also to the environmental connections of the two compartments. The energy production of the mitochondrial membrane results from the*

*decomposition of organic compounds, accompanied with CO<sub>2</sub> production, while the hydrogen forms NADH+H<sup>+</sup> and FADH<sub>2</sub>, and the membrane processes transfer the protons and the electrons to the terminal oxidation. An associated, increased proton recycle operates the protein machine, producing ATP from ADP. The energy harnessing of the tylakoid membrane results from the photon induced decomposition of water to O<sub>2</sub>, as well as to protons and electrons. The membrane transferred protons and electrons produce hydrogen in the form of NADPH+H<sup>+</sup> for the CO<sub>2</sub> fixation based synthesis of the organic compounds. Here also a proton recycle operates the ATP pump. In the stroma of the chloroplast only a single reaction of the Calvin cycle takes place, while the environmental connections are organized by the storage of NADP, NADPH+H<sup>+</sup>, ATP and ADP. In contrary, the mitochondrial matrix involves the complete TCA (Szent-Györgyi) cycle. Having compared the structural models developed for the essential membrane processes of mitochondrion and chloroplast, it has been concluded, that the two networks determining the most important fluxes, differ from each other only the fully inversed direction of the edges. A single surplus edge in the chloroplast makes possible the formation of an additional electron cycle. In the two inverse networks the position of the ATP pump is also opposite, that makes possible the ATP production in both case.*

(Keywords: process modeling, cell-processes, mitochondrion, chloroplast, net and network analysis)

## BEVEZETÉS

A munkát egyfelől az elsősorban humán sejtekben vizsgált, nagyobb méretű metabolikus hálózat modellek identifikálása inspirálta (NIH pályázat, 2006; Wikswo *et al.*, 2006; Varga, 2006), ahol felmerült a mitokondriumban lejátszódó terminális oxidációval integrált szimulációs modellek használatának szükségessége. Másfelől a Tanszéken dolgozó kutató diákok biológiai alapú hidrogén energiahordozó előállítására irányuló munkája a kloroplaszt fényhasznosító folyamatainak elemzéséhez vezetett (Varga és Klojbert, 2007).

A két kompartment részletes felépítése az 1. ábrán hasonlítható össze. Lényeges különbség, hogy a mitokondrium alapvető membránfolyamatai a kompartmentet körülhatároló kettős membrán belső részében játszódnak le, és ezen belül helyezkedik el a citrátkör komponenseit is tartalmazó mátrix. Ezzel szemben az ugyancsak kettős membránnal körülvett kloroplaszt alapvető membrán folyamatai a további belső kompartmentet alkotó tylakoid membránban játszódnak le. A Calvin körhöz kapcsolódó komponenseket tartalmazó stróma a belső membrán és a tylakoid membrán közötti térben található.

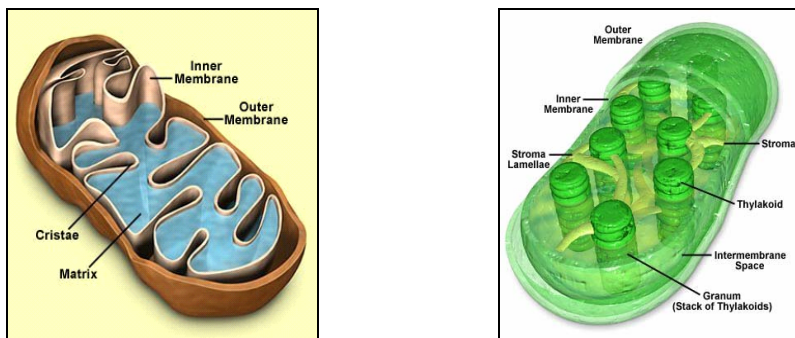
A mitokondrium biológiai atlaszokban látható nagyobb felbontású képét a 2. ábrán mutatjuk be.

Látható, hogy a  $\text{NADH}+\text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+$ , illetve  $\text{FADH}_2 \rightarrow \text{FAD}$  átalakulásokból származó protonok és elektronok a belső membránban elhelyezkedő I., II., III. és IV. számmal jelölt, összetett fehérje komplexek segítségével jutnak el a terminális oxidációig, ahol a kívülről érkező oxigén felhasználásával vizet állítanak elő.

Az I. komplex katalizálja a  $\text{NADH}+\text{H}^+$  oxidációját, miközben protonok pumpálódnak az intermembrán térbe. Az oxidációból származó elektronokat egy ubikinon molekula szállítja a III. fehérjekomplexre. A  $\text{FADH}_2$  az I. komplex kikerülésével kapcsolódik az ubikinonhoz, az oxidoredukció során nem történik proton áram a külső térbe.

1. ábra

A mitokondrium és a kloroplaszt szerkezete

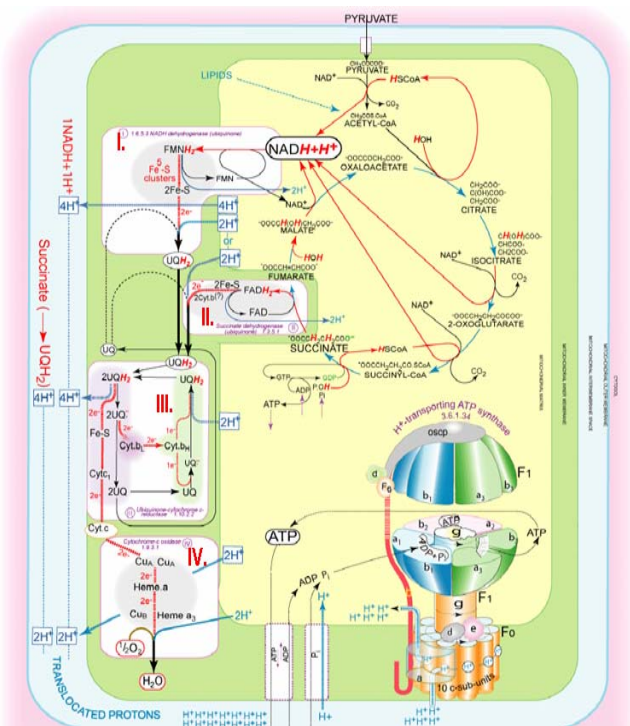


Forrás (Source): <http://sps.k12.ar.us/massengale/images/chloroplast.jpg>, 2007. május 16.

Figure 1: Structure of Mitochondrion and Chloroplast

2. ábra

A mitokondriumban lejátszódó folyamatok



Forrás (Source): Nicholson, D.E.(2007): [http://www.sigmaaldrich.com/img/assets/4202/MetabolicPathways\\_6\\_17\\_04\\_.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/img/assets/4202/MetabolicPathways_6_17_04_.pdf), 2007. május 16.

Figure 2: Processes of mitochondrion

A komplex III.-ban a QH<sub>2</sub> oxidációja során 2 elektron közül egy a citokró-m-c-re kerül, míg a második egy Q-t szemikinonná redukál. Ezek után egy második QH<sub>2</sub> oxidációjával egy elektron ismét a citokró-m-c-re kerül, míg a másik elektron az előbbi szemikinont QH<sub>2</sub>-vé redukálja.

A IV. komplex a protonok és elektronok segítségével az oxigént vízzé redukálja, miközben további protonokat pumpál a mátrixból az intermembrán térbe.

A légzési lánc szükség esetén az oxidatív foszforiláció szétkapcsolásával nem ATP-t termel, hanem az energia hőtermelésre fordítódik.

A citoszolból alapvetően piruvát formájában lép be az a szerves anyag, amely a TCA (Szent-Györgyi) körben szereplő prekursor metabolitokon keresztül biztosítja a katabolikus folyamatok CO<sub>2</sub> képződése mellett az NAD<sup>+</sup> → NADH+H<sup>+</sup>, valamint a FAD → FADH<sub>2</sub> reakciók proton ellátását.

A 3. ábrán látható egy példa arra, hogy a mátrixbeli prekursor metabolitok számtalan módon kapcsolódnak a különféle metabolitokat (pl. aminosavakat) építő és bontó (az ábrán ez az eset látható) folyamatokhoz. Ezt figyelembe véve, a mitokondriumot gyakran az élet „hub”-jának is nevezik.

### 3. ábra

#### A mitokondrium külső kapcsolatai

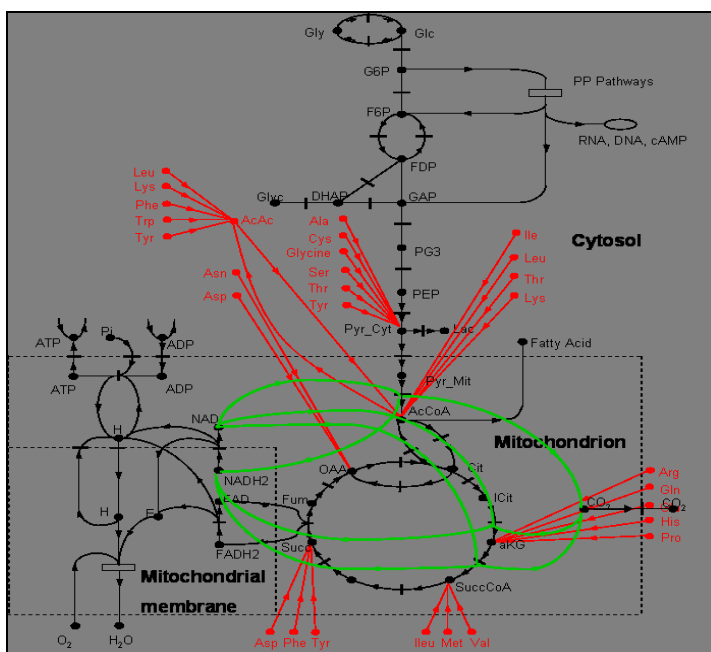


Figure 3: Connections of mitochondrial processes

A kloroplaszt hasonló felbontású képe a 4. ábrán látható. A víz fényenergia hatására bekövetkező, oxigénképződéssel járó bomlása során előállított protonokat és elektronokat a tylakoid membránban elhelyezkedő három összetett fehérjestruktúra (PSII., PSI, és citokró-m b<sub>6</sub>f rendszer) közvetíti az NADP → NADPH+H<sup>+</sup> átalakuláshoz. A strómába jutó protonokat egy második ponton bekövetkező fényenergia hasznosítása

által gerjesztett elektron áram – elektroneutrális körülmények között – juttatja vissza a tylakoid membrán lumenén keresztül az ATP pumpához. Így áttételesen a fényenergia biztosítja az ebben az esetben fordított (membrán → stróma) proton árammal meghajtott ATP pumpa energiaszükségletét is.

A folyamat részletesebben a következőkben határozható meg. A folyamat kezdeti szakaszában a második fotokémiai rendszer (PS II.) végzi a víz fényindukált bontását protonokká, elektronokká és molekuláris oxigénné, majd elektronokat a tylakoid membrán lipid fázisában lévő plasztokinonhoz juttatja. Az elnyelt fényenergia hasznosítása először itt történik, az elektronok egy kevésbé negatív redoxpotenciálra juttatásával, vagyis a fényenergia szabadentalpia növekedést eredményez.

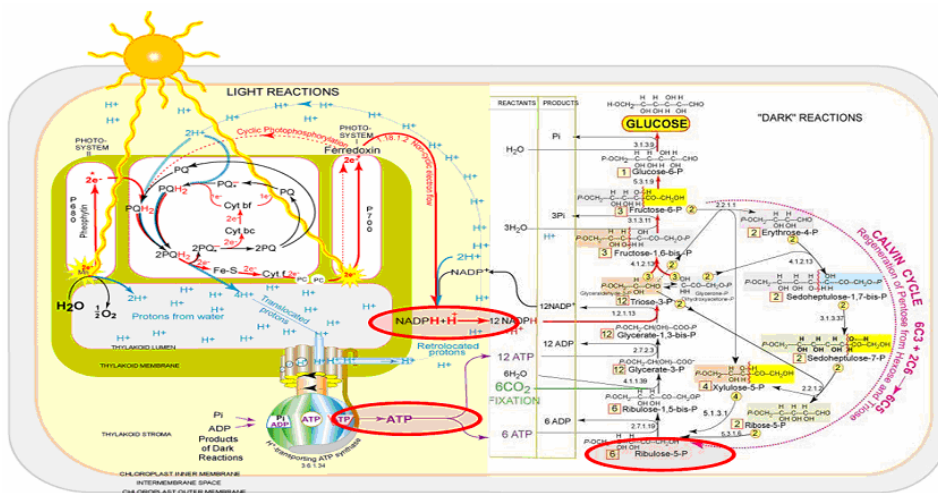
A citokróm  $b_6/f$  komplex végzi a PS II. által redukált plasztokinon molekulák oxidációját, és továbbítja az általuk hordozott elektronokat a plasztocianinhoz, mely során protonok pumpálódnak a strómából a lumenbe, ami az ATP szintézist hajtó proton gradiens kialakulásának egyik forrása. A plasztocianin által szállított elektronok fényindukció hatására a PS I. rendszerbe kerülnek, ahol egy részük redoxprotein közvetítésével  $NADP^+$  redukciójában vesz részt, másik részük pedig visszakerül a citokróm  $b_6/f$  komplexre, így létrehozva a ciklikus elektrontranszportot.

A strómába kerülő ribulóz-5-P az előállított ATP egy részének felhasználásával fixálja a környezetből felvett szén-dioxidot.

Amennyiben kevés a környezetből felvett  $CO_2$  és a  $NADPH+H^+$  nem tudja a Calvin-ciklusnak átadni a hidrogéneket, úgy az ún. ciklikus foszforiláció játszódik le. Ilyenkor a PSI. által kidobott elektron nem a  $NADP^+$  felé terelődik az elektronszállító rendszer révén, hanem a saját pigmentrendszerébe tér vissza, így az ATP-szintézis nem szünetel.

#### 4. ábra

### A kloroplasztban lejátszódó folyamatok



Forrás (Source): Lásd 2. ábra; See Figure 2

Figure 4: Processes of chloroplast

A fotoszintézis Calvin ciklusának alapvető része a strómában játszódik le. A fotoszintézis világos és sötét folyamatainak kapcsolása a tárolt NADP, NADPH+H<sup>+</sup>, ADP és ATP segítségével történik. Az ábrán körrel jelölt komponensek tárolják a nappal „termelt” energiát, megteremtve ezzel a kapcsolatot a nappal ill. éjszaka játszódó folyamatok között.

## ANYAG ÉS MÓDSZER

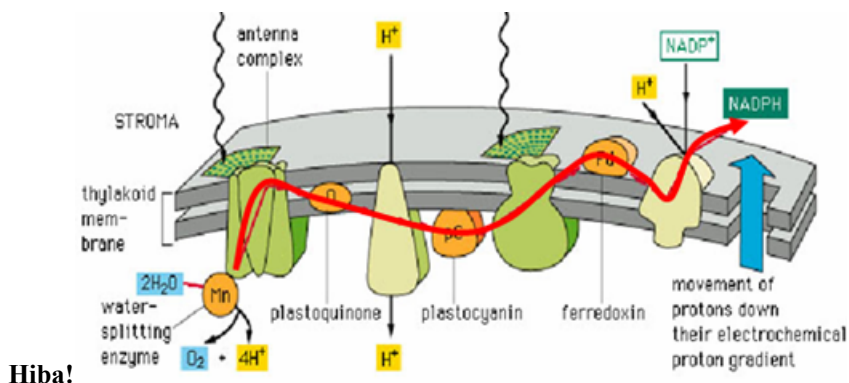
A mitokondrium és a kloroplaszt folyamatainak modellezésre kétféle módszer alkalmazása szükséges attól függően, hogy a vizsgált folyamatok a membránban vagy az azzal határolt belső térben játszódnak-e le.

A mitokondrium mátrixában és a kloroplaszt strómájában végbemenő folyamatok esetében kinetikai és egyensúlyi állandókon alapuló mérlegmodellt írhatunk fel, e térrészekben ugyanis a komponensekre koncentráció állapítható meg, és a különféle anyagok felhalmozódhatnak, illetve elfogyhatnak.

Ezzel szemben, a membránfolyamatok esetében az 5. ábrán is jól látható módon a komponensek nem jellemezhetők koncentrációval, hiszen az elektronok és protonok nem dúsulhatnak fel, illetve fogyhatnak el. Az 5. ábrán a tylakoid membránban végighaladó, két különböző helyen hasznosított fotonok energiája által gerjesztett elektronáramot kísérelhetjük figyelemmel. A folyamat leginkább egymás után haladó komponensek áramaként jellemezhető, melyre fluxusmodellt írhatunk fel.

### 5. ábra

#### Egy membránfolyamatokra jellemző elektronáram



Forrás (Source): <http://www.cas.vanderbilt.edu/bsci111a/photosynthesis/thylakoid-membrane.gif>, 2007. május 16.

Figure 5: Electron flow in membran, as a typical membran process

A kloroplaszt és a mitokondrium membránfolyamatainak elemzésére egyszerűsítő, és lényegkiemelő hálózat struktúrákat készítettünk a következő jelölések bevezetésével: a kör alakú gráfpontok az elemi komponenseket, a vonalka alakú gráfpontok az átalakulásokat, illetve transzportokat, míg a nyilakkal irányított gráfélek a folyamatok lejátszódásának irányát jelzik.

## EREDMÉNYEK

A 6. ábrán látható a mitokondrium membránjának folyamatait leíró egyszerű struktúra, melyen a vastagított vonalak jelzik a folyamatokat kísérő elektron és proton fluxusokat.

A különféle fluxusok jelölései, valamint az azok közti összefüggések a következők.  $V_{FADH_2}$  és  $V_{NADH+H^+}$ -val jelöltük a  $FADH_2$  illetve  $NADH+H^+$  bomlásából származó, és a folyamat végén  $H_2O$  formájában távozó elektronok és protonok áramait;  $V_H$ -val az ATP képződés energiáját biztosító belső többlet protonáramot,  $V_E$ -vel a többlet protonáram „meghajtására” szolgáló belső elektronkört; végül  $V_{ATP}$ -vel és  $V_{H_2O}$ -val az ATP ill. víz képződésének sebességét. A „belső elektronkör” kifejezés azon elektronok energiáját jelöli, melyek a komplexekre történő „továbbadásakor” protont löknek az intermembrán térbe. A felsorolt hat változó között a következő három összefüggést írhatjuk fel.

$$V_{ATP} = (2V_{NADH+H^+} + 2V_{FADH_2} + V_H) / M, \quad (1)$$

ahol  $m$  az egységnyi ATP képződéséhez szükséges protonok számát jelöli.

$$V_E = V_H - 2V_{H_2O} \quad (2)$$

A belső elektronkör árama a proton- és elektronáram (kétszeres) különbözeteként írható fel.

$$V_{H_2O} = V_{NADH+H^+} + V_{FADH_2} \quad (3)$$

A vízképződés sebességét a  $NADH+H^+$  és  $FADH_2$  átalakulásából származó proton és elektron képződési sebessége határozza meg.

## 6. ábra

## A mitokondrium folyamatainak struktúrája

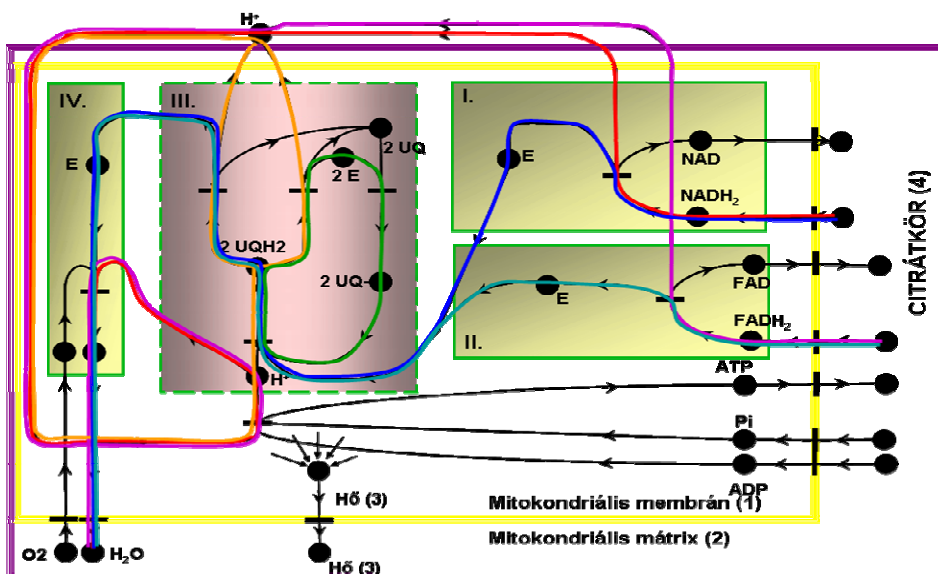


Figure 6: Structure of processes in mitochondrion

Mitochondrial membran(1), Mitochondrial matrix(2), Heat(3), TCA cycle(4)

A kloroplaszt folyamatait tartalmazó, az előzőekkel sok tekintetben analóg, egyszerűsített struktúrát a 7. ábrán mutatjuk be. Az elektron és protonáramokat itt is a vastagított vonalak jelölik, melyek a következők.

A  $\text{NADP} \rightarrow \text{NADPH} + \text{H}^+$  átalakítás határozza meg a vízbontásból származó protonok és elektronok „felhasználásának” sebességét, ezért ezeket a proton és elektronfluxusokat  $V_{\text{NADP}}$ -vel jelöltük. Az ATP képződést biztosító belső többlet protonáramot  $V_{\text{H}}$  szimbolizálja, a többlet protonkör meghajtását jelen esetben két belső elektronkör segíti, melyeket  $V_{\text{E1}}$  és  $V_{\text{E2}}$ -vel jelöltünk. Az ATP képződésének sebességét  $V_{\text{ATP}}$  jelzi. A változók közt az alábbi összefüggések írhatók fel.

$$V_{\text{H}} = V_{\text{E1}} + V_{\text{E2}} \quad (4)$$

A többlet proton recirkulációjának sebességét a két belső elektronkör sebessége határozza meg.

$$V_{\text{ATP}} = (V_{\text{H}} + 2V_{\text{NADP}}) / n \quad (4)$$

ahol  $n$  az ATP keletkezéséhez szükséges protonok száma.

### 7. ábra

A kloroplaszt folyamatainak struktúrája

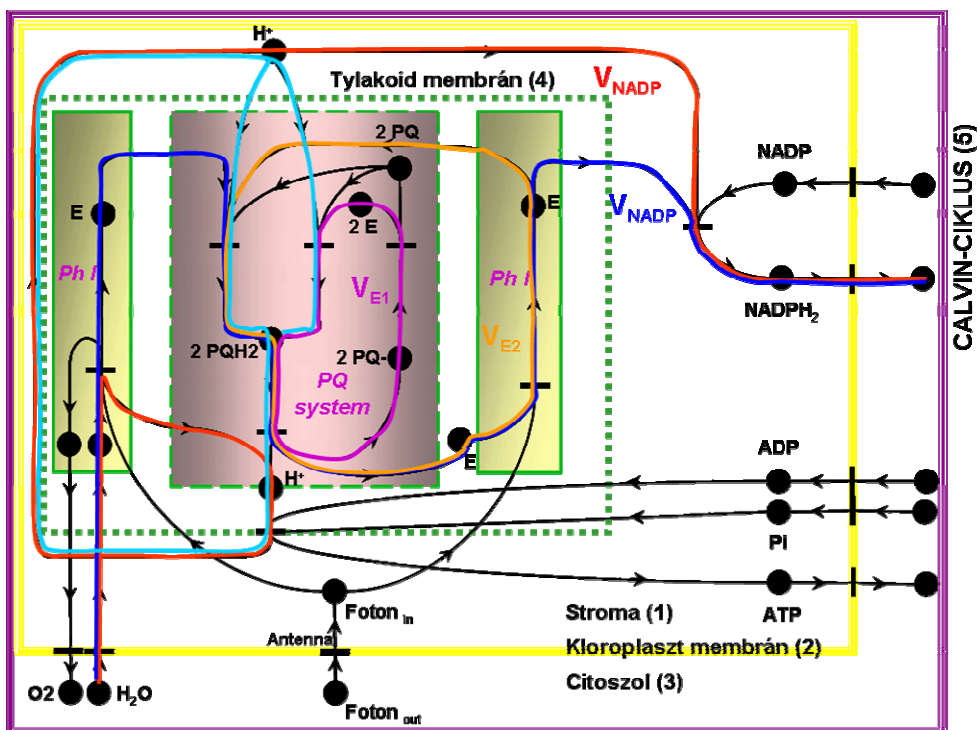


Figure 7: Structure of processes in chloroplast

Stroma(1), Chloroplast membran(2), Cytosol(3), Tylakoid membrán(4), Calvin cycle(5)



## KÖVETKEZTETÉSEK

A két kompartmentben lejátszódó folyamatok hálózata – néhány később felsorolt kivételtől eltekintve – struktúrájában azonos, a gráfélek irányítása pedig éppen ellentett. Az ellentett hálózat struktúra eltérő funkcionalitásban nyilvánul meg. A 8. ábrán a két hálózat eltérő és azonos jellemzői láthatók.

8. ábra

## A mitokondrium és a kloroplaszt hálózatának összehasonlítása

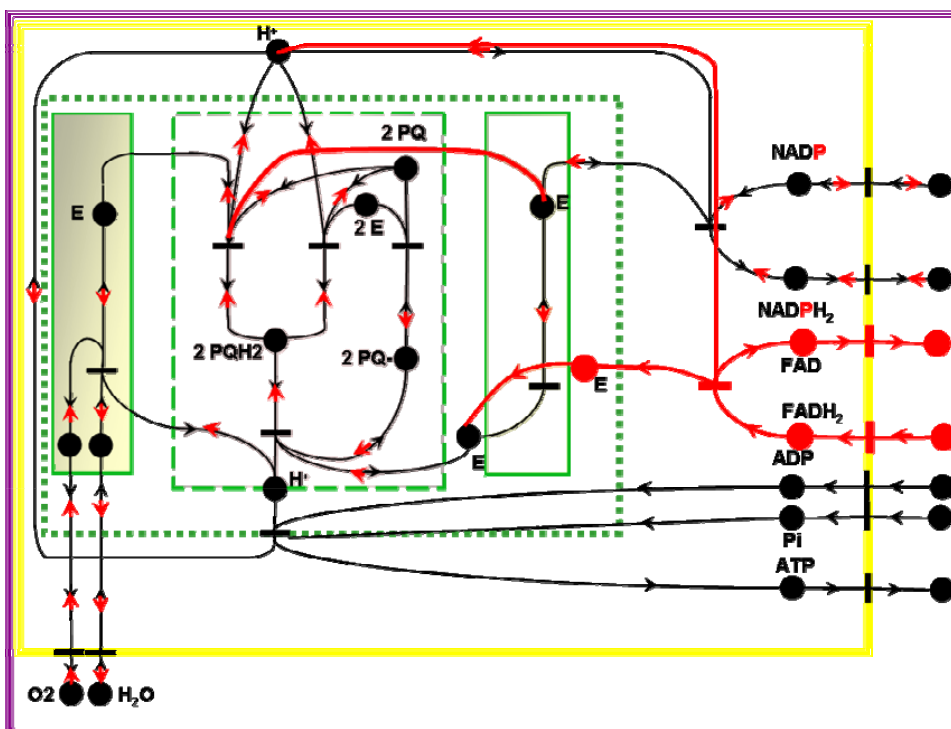


Figure 8: Comparison of investigated networks

A strukturális modell különbözőségei a következőkben foglalhatók össze:

- A mitokondrium esetében a citrátkörben képződő  $\text{NADH}+\text{H}^+$  és  $\text{FADH}_2$  által leadott hidrogének elektronjai és protonjai a folyamat végén a kívülről érkező oxigénnel reagálva  $\text{H}_2\text{O}$ -t képeznek. A kloroplaszt esetében éppen fordított a helyzet, a felvett víz bontása történik fényenergia segítségével protonra, elektronra és oxigénre. Az így keletkező protonok és elektronok egy része  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  termelésre fordítódik.
- A mitokondriumban a folyamatok során hő termelődhet, a kloroplaszt pedig külső energiát (fényenergia  $\rightarrow$  kémiai energia) hasznosít a reakciók során.
- A biológiai ATP gép szerkezete és működése azonos, de membránbeli elhelyezkedése ellentétes. Az ellentett struktúrában természetes módon így valósul meg az ATP termelés funkcionális azonossága.

- Kloroplaszt esetében a membránban egy többlet elektronkör működik a mitokondriumhoz képest.

Összességében megállapíthatjuk, hogy az elsődlegesen energiatermelő mitokondrium és az elsődlegesen külső energiát hasznosító kloroplaszt membránfolyamatainak lényegét kiemelő strukturális modelljeit összehasonlítva:

- a membránfolyamatok hálózatában a gráfélek ellentétes irányításúak,
- a biológiai „ATP gép” fordított elhelyezkedésű,
- és a kloroplasztban egy második elektronkör működik.

Ennek következtében az irányítás nélkül közel izomorf, de ellentett irányítású struktúrák pontosan ellentétes irányú funkciókat valósítanak meg. Kivételt képez az ATP-t előállító fehérje gépezet, amely maga is fordítva van bekötve az ellentett irányítású hálózatba, így a belülről termelt, illetve kívülről érkező energia utánpótlás esetén egyaránt ATP-t termel.

A két vizsgált sejtalkotó kompartment lényegkiemelő modelljét felépítő ellentétes irányítású struktúrák által megvalósított ellenkező irányú folyamatok érdekes példát mutatnak a biológiai rendszerek működése szempontjából fontos struktúra-funkció relációra.

## IRODALOM

- Wikswó, J.P., Prokop, A., Baudenbacher, F., Cliffler, D., Csukas, B., Velkovsky M. (2006): The Engineering Challenges of BioNEMS: The Integration of Microfluidics, and Micro- and Nanodevices, Models, and External Control for System Biology. IEE Proc. Nanobiotechnology. 153. 4. 81-101.
- NIH pályázat (2006): Tools for Metabolomics: Experiments, Models and Analysis. A Vanderbilt University és a Kaposvári Egyetem együttműködésében készített NIH pályázat kézirat
- Varga M. (2006): Egy nagyobb méretű metabolikus modell kifejlesztése. Modell leírás és előzetes eredmények. Acta Agraria Kaposváriensis. 10. 3. 153-161.
- Varga N., Klobbert R.(2007): Lépések a mesterséges kloroplaszt alapú hidrogén termelés megvalósítása felé egy új számítógépi szimulációs módszer alkalmazásával. 16. Ifjúsági Tudományos és Innovációs Tehetségkutató Verseny

Levelezési cím (*Corresponding author*):

**Varga Mónika**  
Kaposvári Egyetem,  
7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.  
University of Kaposvar,  
H-7400 Kaposvar, Guba S. u. 40.  
Tel.: 36-70-320-6556  
e-mail: [varga@matinf.gtk.u-kaposvar.hu](mailto:varga@matinf.gtk.u-kaposvar.hu)