

Kvantnokemijski izračun međudjelovanja adenozin trifosfata s vodom

Vujević, Lucija

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:716574>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Vujević

ZAVRŠNI RAD

Zagreb, rujan 2016.
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Vujević

**Kvantnokemijski izračun međudjelovanja adenozin
trifosfata s vodom**

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić

Zagreb, rujan 2016.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za fiziku na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.

Sažetak

Svrha ovoga rada je pokazati kako se mogu primjeniti kvantnokemijski izračuni za određivanje međudjelovanja adenzin trifosfata i vode. Ovo međudjelovanje ključno je za opis izmjene energije u biološkim sustavima. Izračuni su izvršeni u programskom paketu "GAUSSIAN 09", uporabom teorije funkcionala gustoće (DFT). Izvršeni izračuni daju dobar opći odnos u energijama reakcija, ali pokazuju znatna odstupanja od eksperimentalnih vrijednosti. Uzrok takvih odstupanja leži u nemogućnosti simulacije stvarnog okruženja u kojem se odvijaju reakcije.

Ključne riječi:

adenzin trifosfat (ATP)

vodikova veza

kvantnokemijski izračun

Abstract

The purpose of this thesis is to show how the quantum chemical calculation can apply for interaction of adenosine triphosphate with water. This interaction is crucial to describe the exchange energy in biological systems. The calculations was performed in software package "GAUSSIAN 09" using the Density functional theory (DFT). Performed calculations give a good general relation in energy reaction, but they are showing significant deviations from the experimental values. Cause of this deviations is in inability of simulation the real environment in which the reactions take place.

Key words :

adenosine triphosphate (ATP)

hydrogen bond

quantum chemical calculation

SADRŽAJ

1. Uvod.....	8.
2. Teorijski uvod.....	10.
2.1. Adenozin-trifosfat (ATP).....	11.
2.2. Uloga ATP-a u metabolizmu.....	12.
2.3. Stvaranje ATP-a u organizmu.....	16.
2.3.1. Glikoliza.....	17.
2.3.2. Ciklus limunske kiseline.....	23.
2.3.3. Oksidativna fosforilacija.....	29.
2.3.4. Fotosintetske reakcije na svjetlu.....	35.
3. Kvantnokemijski izračun.....	39.
3.1. Općenito o kvantnokemijskim izračunima.....	40.
3.2. Procjena jakosti vodikove veze između ATP-a i vode.....	41.
4. Zaključak.....	56.
Literatura.....	58.
Životopis.....	59.

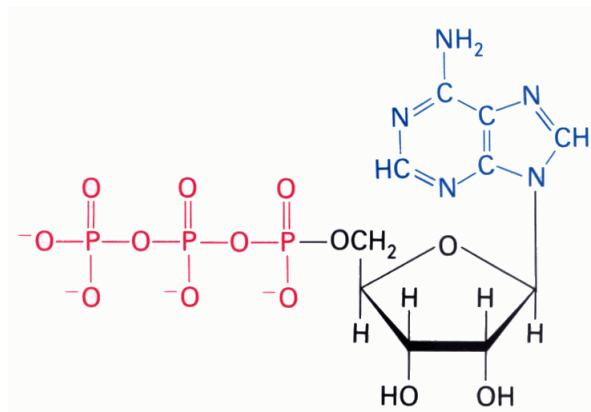
1. Uvod

Važnost adenzin trifosfata kao molekule u metabolizmu i složen mehanizam njegova nastanka izloženi su u prvom djelu ovog završnog rada. Drugi dio ovog rada sastoji se od kvantnokemijskog izračuna energije biokemijskih reakcija u kojima sudjeluje adenzin trifosfat i usporedba tako dobivenih rezultata s eksperimentalnim vrijednostima. No, u ovome završnome radu samo će neke osnovne reakcije biti obrađene kvantnokemijskim izračunima. Razlog tomu je u velikoj numeričkoj zahtjevnosti samih kvantnokemijskih izračuna za sve molekule koje se sastoje od stotinjak ili više atoma.

2. Teorijski uvod

2.1. Adenozin-trifosfat (ATP)

Adenozin-trifosfat (ATP) je jedan od životno najvažnijih organskih spojeva kemijska formule $C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3$. Njegova topljivost u vodi iznosi 1000000 mg/L, molarna masa 507.18 g/mol, gustoća 1.04 g/cm³ dok je talište 187 °C. Prema IUPAC-ovoj nomenklaturi naziv ovog spoja je [[(2R,3S,4R,5R)-5-(6-aminopurin-9-il)-3,4-dihidroksioksolan-2-il]metoksi-hidroksifosforil] fosfonij hidrogenfosfat. ATP je nukleotid koji se sastoji od purinske baze adenina, trifosfatne jedinice i šećera riboze. Slika 1. prikazuje strukturu molekule adenozin-trifosfata (trifosfatna jedinica prikazana je crvenom, riboza crnom, adenin plavom bojom).

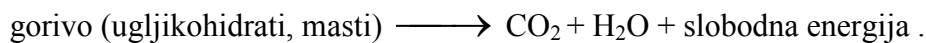


Slika 1. Struktura molekule adenozin-trifosfata
(<http://www.bmb.leeds.ac.uk/teaching/icu3/lecture/19/ATP.gif>)

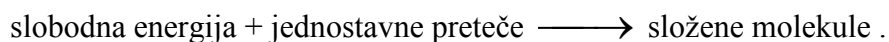
Važnost ATP-a očituje se u njegovoj trifosfatnoj jedinici koja sadrži dvije energijom bogate fosfoanhidridne veze. Prilikom hidrolize ATP-a dolazi do kidanja tih fosfoanhidridnih veza te oslobađanja slobodne energije koja služi kao izvor energije za termodinamički nepovoljne procese u stanici. Upravo iz toga razloga je hidroliza ATP-a najvažnija reakcija staničnog metabolizma i jedna od najznačajnijih kemijskih reakcija u prirodi. Stoga ATP još nazivamo enegijskom „valutom” metabolizma.

2.2. Uloga ATP-a u metabolizmu

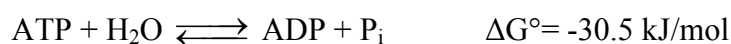
Metabolizam je zajednički naziv za kemijske reakcije unutar živog organizma čija je svrha održavanje i regulacija životnih funkcija organizma. Svaki metabolizam sastoji se od mnoštva međusobno povezanih i reguliranih reakcija. Iako postoji mnogo različitih metaboličkih putova oni se reguliraju na zajednički način. Zajednička regulacija posljedica je malog broja vrsta reakcija koje čine metabolizam i jednostavnosti njihovog mehanizma. Metaboličke putove dijelimo u dvije osnovne skupine: one koje prevode energiju goriva u biološki korisne oblike i one kojima je potreban dotok energije kako bi mogli teći. Katabolizam ili kataboličke reakcije razgrađuju složenije molekule u jednostavnije koje kasnije služe kao preteče u biosintezama pri čemu se oslobađa stanična energija:



Tako dobivena energija upotrebljava se za stvaranje složenih spojeva iz jednostavnijih ili visokoenergijskih stanja iz onih siromašnijih energijom. Takve reakcije kojima je potrebno dovesti energiju nazivaju se anaboličke reakcije ili anabolizam:

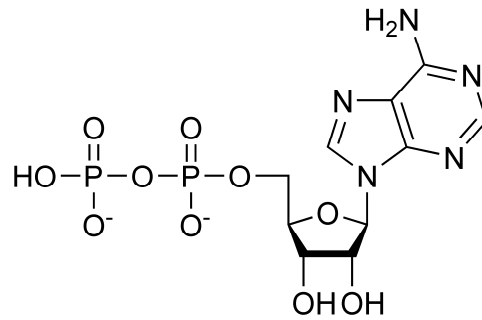


Neki metabolički putovi ovisno o uvjetima u stanici mogu biti ili katabolički ili anabolički. Takve metaboličke putove nazivamo amfiboličkim putovima. Razgradni i biosintetski putovi gotovo uvijek su različiti kako bi se osigurali termodinamički povoljni uvjeti za oba procesa i omogućila njihova bolja kontrola. Svaki metabolički put mora zadovoljiti dva uvjeta: mora biti termodinamički povoljan i svaka pojedina reakcija mora biti specifična. Enzimi osiguravaju specifičnost pojedinih reakcija (kako bi se iz reaktanata dobili točno određeni produkti) dok hidroliza ATP-a kao izrazito termodinamički povoljna reakcija svojim sudjelovanjem u metabolizmu osigurava odvijanje metaboličkih putova koji bi bez toga djelovanja bili termodinamički nepovoljni. Prilikom hidrolize ATP-a dolazi do kidanja energijom bogate fosfoanhidridne veze te kao produkti nastaju adenzin-difosfat (ADP) i ortofosfat (P_i):



pri čemu se oslobađa 30.5 kJ/mol (7.3 kcal/mol) energije. Ova reakcija osnovni je način prijenosa energije u biološkim sustavima.

Slika 2. prikazuje strukturu adenozin-difosfata (ADP-a).



Slika 2. Struktura adenozin-difosfata (ADP-a)

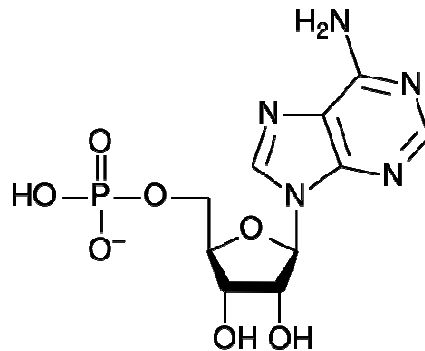
(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/06/ADP_chemical_structure.png)

Reakcijom hidrolize također kao produkti mogu nastati adenozin-monofosfat (AMP) i pirofosfat (PP_i):



Pri čemu se oslobađa 45.6 kJ/mol (10.9 kcal/mol) energije.

Slika 3. prikazuje strukturu adenozin-monofosfata (AMP-a).



Slika 3. Struktura adenozin-monofosfata (AMP-a)

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/f/fb/AMP_structure.svg/2000px-AMP_structure.svg.png)

Aktivni oblik ATP-a koji sudjeluje u reakcijama najčešće je njegov kompleks s ionima Mn²⁺ ili Mg²⁺. Reakcija čija promjena Gibbsove energije (ΔG) ima negativan predznak odvija se spontano i termodinamički je povoljna. Slobodna energija produkata takve reakcije je niža od slobodne energije reaktanata te se tom reakcijom postiže stanje niže energije.

Stanja niže energije su termodinamički stabilnija zbog čega prirodni sustavi nastoje postići što manju energiju. Razlika energija produkata i reaktanata oslobađa se u obliku slobodne energije. Kako bi se metabolički put odvijao spontano ukupna promjena Gibbsove energije toga procesa mora biti negativna. Ukupna promjena Gibbsove energije metaboličkog puta jednaka je zbroju promjena Gibbsove energije niza spregnutih reakcija koje čine taj metabolički put. Neke reakcije koje čine metabolički put termodinamički su nepovoljne, ali sprežanjem s hidrolizom ATP-a postaju moguće. Kod takvih reakcija potrebno je uložiti energiju jednaku ili manju od slobodne energije koja se oslobađa hidrolizom ATP-a. Uzmimo kao primjer reakciju:



Oznake A i B mogu predstavljati dva različita kemijska spoja, dvije konformacije proteina (neaktiviranu i aktiviranu) ili dvije različite koncentracije istog iona ili molekule unutar i izvan stanice. Konstantu ravnoteže (K_{rav}) računamo prema izrazu:

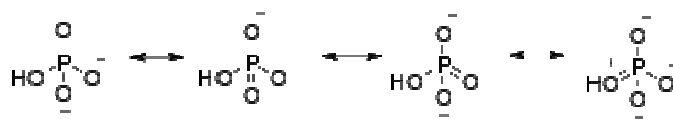
$$K_{\text{rav}} = 10^{-\Delta G^\circ / 5.67}$$

Zadana reakcija pri 25 °C ima konstantu ravnoteže koja iznosi 1.15×10^{-3} . A ne može spontano prijeći u B kada je molarni odnos B prema A jednak ili veći od konstante ravnoteže reakcije pri danim uvjetima. Međutim sprežanjem s hidrolizom ATP-a ukupna reakcija je:



Promjena standardne slobodne energije ukupne reakcije jednaka je zbroju vrijednosti ΔG° obje reakcije ($-30.5 \text{ kJ/mol} + 16.7 \text{ kJ/mol}$) te iznosi -13.8 kJ/mol . Kako je $\Delta G^\circ < 0$ ukupna reakcija se odvija spontano te A spontano prelazi u B. Konstanta ravnoteže (K_{rav}) ukupne reakcije iznosi 2.67×10^2 . Molekula A spontano će prelaziti u molekulu B sve dok se ne uspostavi ravnoteža. Zahvaljujući djelovanju ATP-a dolazi do pomaka kemijske ravnoteže u smjeru nastajanja produkta B. Ravnotežni odnos B prema A se povećao za više od 10^5 puta . Povećanje je još izrazitije pri u uvjetima koji vladaju u stanici (približno 10^8 puta). Važnost molekule ATP-a očituje se upravo u pomicanju ravnoteže spregnutih reakcija čime termodinamički nepovoljni slijed reakcija može postati povoljan ukoliko se hidrolizira dovoljno molekula ATP-a. Metabolički putovi stoga su regulirani energijskim nabojem stanice. Energijsko naboj (stanje) omjer je koncentracije ATP-a i ADP-a odnosno ATP-a i

AMP-a. Reakcije razgradnje biti će aktivirane pri niskom energijskom naboju dok će visoki energijski naboj aktivirati biosintetske reakcije. Iz vrijednosti ΔG° za reakciju hidrolize ATP-a vidljivo je da ATP lako prenosi krajnju fosforilnu skupinu na molekulu vode. Visoki potencijal prijenosa fosforilne skupine ATP može se objasniti promatrajući strukturu ATP-a i produkata hidrolize ADP-a i ortofosfata (P_i). Čimbenici koji utječu na tako visok potencijal su: rezonancijska stabilizacija, stabilizacija zbog hidriranja i elektrostatsko odbijanje. Rezonancijska stabilizacija posljedica je većeg broja rezonancijskih struktura kod molekula ADP-a i ortofosfata nego kod molekule ATP-a. Slika 4. prikazuje rezonancijske strukture ortofosfata.



Slika 4. Rezonancijske strukture ortofosfata

(https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/ee/Ortho_resonance.svg/350px-Ortho_resonance.svg.png)

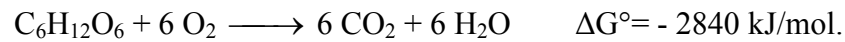
Stabilizacija zbog hidriranja pristna je zbog jačeg vezanja molekula vode na ADP i ortofosfat nego na fosfoanhidridni dio molekule ATP čime se produkti reakcije dodatno stabiliziraju hidriranjem. Elektrostatsko odbijanje koje smanjuje stabilnost molekula izraženo je kod molekule ATP-a. Četri negativna naboja koji se zbog blizine odbijaju prisutni su pri pH=7 u trifosfatnoj jedinici molekule ATP-a. Molekula ADP-a nema toliko izraženo elektostatsko odbijanje. Temeljem svega navedenog možemo zaključiti da su produkti hidrolize niže energije i stoga stabilniji od reaktanata. Fosfoanhidridna veza u molekuli ATP-a sama po sebi nije „bogata” energijom već se zbog gore navedenih razloga oslobađa velika količina energije prilikom kidanja te veze u reakciji hidrolize. Osim ATP-a izvor energije u metaboličkim reakcijama također su nukleotidi gvanozin-trifosfat (GTP), uridin-trifosfat (UTP) i citidin-trifosfat (CTP). Reakcijama hidrolize nastaju odgovarajući difosfatni oblici molekula. NAD^+ (nikotinamid-adenin-dinukleotid) i FAD (flavin-adenin-dinukleotid) jedni od glavnih prijenosnika elektrona derivati su ATP-a.

2.3. Stvaranje ATP-a u organizmu

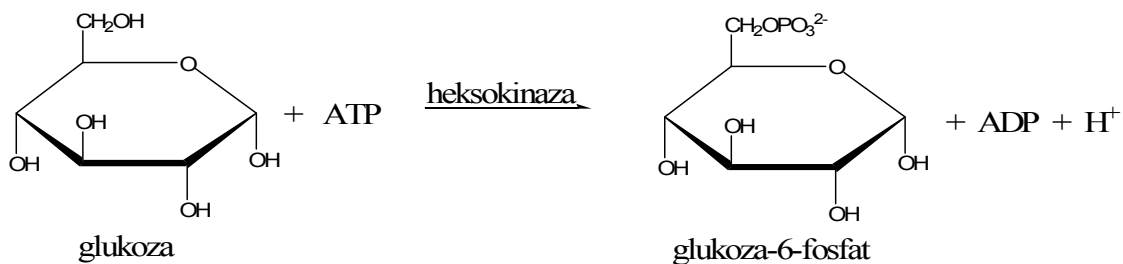
Metabolički putovi u stanicama imaju različite uloge. Neki metabolički putovi sudjeluju u procesu stvaranja molekula adenozin-trifosfata (ATP-a). Kod fototropskih organizama koji sami proizvode hranjive tvari ATP se stvara u reakcijama na svjetlu koji su sastavni dio procesa fotosinteze. Stvaranje ATP-a kod druge vrste organizama, kemotrofa, koji energiju dobivaju oksidacijom hranjivih tvari ostvaruje se međusobnom suradnjom triju metaboličkih putova: glikolize, ciklusa limunske kiseline i oksidativne fosforilacije.

2.3.1. Glikoliza

Glikoliza je anaeroban metabolički put koji se sastoji od deset kemijskih reakcija u kojem se glukoza razgrađuje do dvije molekule piruvata uz oslobađanje dvije molekule ATP-a. Odvija se u citosolu stanice. Pri aerobnim uvjetima glukoza ne podliježe glikolizi već se oksidira do CO_2 i H_2O u oslobađanje energije (2840 kJ/mol):



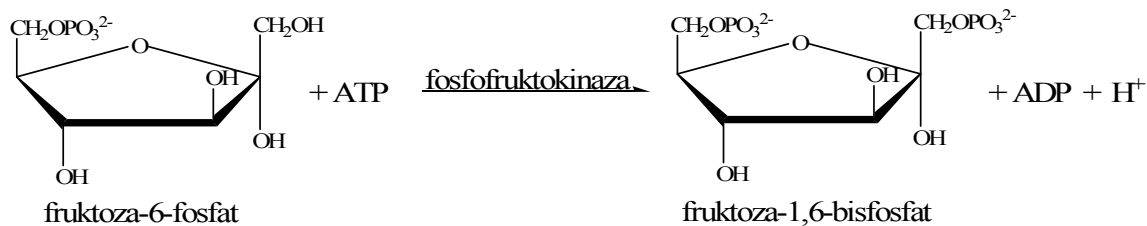
Glikolitički put se sastoji od tri faze. Prva faza glikolize odnosi se na provođenje glukoze u fruktoza-1,6-bisfosfat kroz tri koraka. Pomoću specifičnih transportnih proteina glukoza ulazi u citosol stanice i tamo podliježe prvoj reakciji - fosforilaciji. Fosforilna skupina prenosi se s ATP-a na hidroksilnu skupinu glukoze uz enzim heksokinazu kao katalizator:



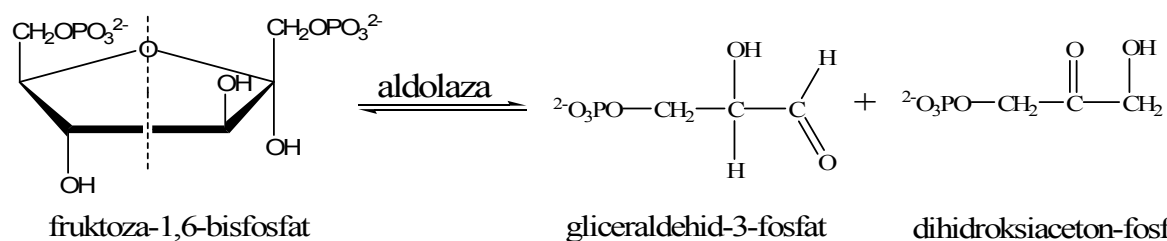
Produkt ove reakcije glukoza-6-fosfat reaktivniji je od glukoze zbog dodatka fosforile skupine te mu je onemogućen prolaz kroz membranu stanice. Prijenos fosforilne skupine s ATP-a na neki akceptor kataliziraju enzimi kinaze. Djelovanje tih enzima omogućeno je prisutnošću dvovalentnih iona metala kao što su Mn^{2+} i Mg^{2+} . Ukoliko su akceptori šećeri heksoze poput manoze i glukoze enzim se naziva heksokinaza. Nakon fosforilacije slijedi izomeracija glukoza-6-fosfata u fruktoza-6-fosfat uz enzim fosfogluko-izomerazu kao katalizator:



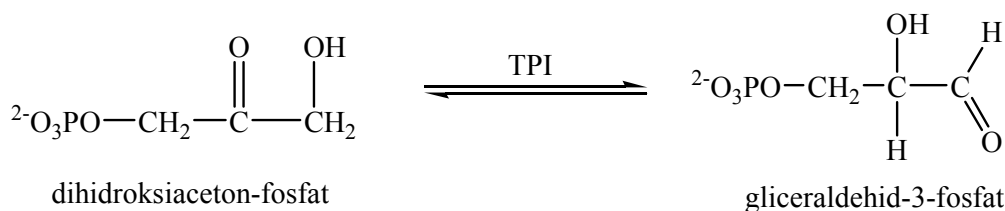
Prije nego što dođe do izomeracije prsten glukoza-6-fosfata se otvara. Nastaje otvoreni lanac fruktoza-6-fosfata koji se onda zatvara u prsten. Zadnji korak ove faze glikolize je ponovna fosforilacija fruktoza-6-fosfata u fruktoza-1,6-bisfosfat uz fosfofruktokinazu kao katalizator:



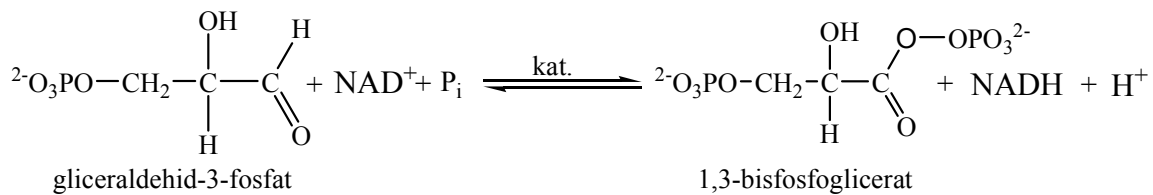
Fosfofruktokinaza najvažniji je enzim koji kontrolira glikolizu. Fruktoza-1,6-bisfosfat sadrži dvije odvojene monofosforilne skupine. Njegova je važnost u lakoći kojom se može cijepati na fosforilirane trikarbonske jedinice. Druga faza glikolize temelji se upravo na toj sposobnosti fruktoza-1,6-bisfosfata. Fruktoza-1,6-bisfosfat razlaže se na gliceraldehid-3-fosfat (GAP) i dihidroksiacton-fosfat (DHAP) uz aldolazu kao katalizator:



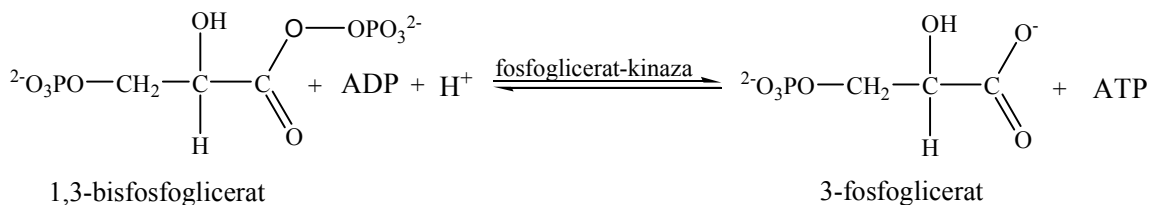
Gliceraldehid-3-fosfat ulazi u slijedeću fazu glikolize. Kako bi se iskoristila tri C-atoma iz dihidroksiacton-fosfata koji ne sudjeluje u daljnim koracima glikolize dolazi do njegove izomerizacije u gliceraldehid-3-fosfat uz enzim triožu-fosfat-izomerazu (TPI) kao katalizator:



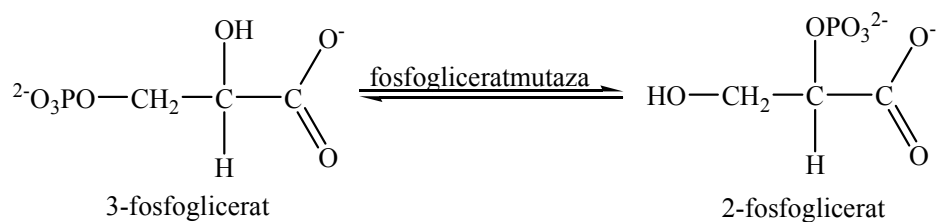
Iako je ravnoteža izrazito pomaknuta u smjeru nastanka dihidroksiacton-fosfata nastanak gliceraldehid-3-fosfata teče lako jer se stalno troši u daljnjem koraku glikolize čime se ravnoteža stalno pomiče u smjeru njegova nastanka. Tako se početna molekula glukoze pretvorila u dvije molekule gliceraldehid-3-fosfata uz potrošene dvije molekule ATP-a. Zadnja faza glikolize započinje prevođenjem gliceraldehid-3-fosfata u 1,3-bisfosfoglicerat (1,3-BPG) uz enzim gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenazu kao katalizator:



Ova reakcija se može smatrati zbrojem dvaju procesa: oksidacije aldehida u kiselinu pomoću NAD^+ kao oksidacijskog sredstva te reakcije tako nastale kiseline s ortofosfatom pri čemu nastaje 1,3-bisfosfoglicerat koji ima velik potencijal za prijenos fosforilne skupine. Upravo na toj sposobnosti temelji se slijedeći korak glikolize. Kako 1,3-bisfosfoglicerat ima viši potencijal za prijenos fosforila od molekule ATP-a njegova fosforilna skupina može prijeći na ADP stvarajući ATP. Reakciju 1,3-bisfosfoglicerata s ADP-om u kiselim uvjetima katalizira enzim fosfoglicerat-kinaza pri čemu kao produkti nastaju 3-fosfoglicerat i ATP:

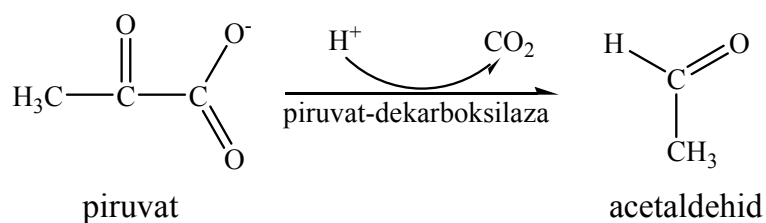


Kako su u zadnju fazu glikolize ušle dvije molekule gliceraldehid-3-fosfata tako su iz njih ovim dvjema reakcijama nastale dvije molekule ATP-a koje su nadomjestile dvije molekule ATP-a potrošene na početku glikolize. Ovakav način dobivanja ATP-a naziva se *fosforilacijom na razini supstrata*. Slijedeći korak glikolize je pregrađivanje 3-fosfoglicerata u 2-fosfoglicerat uz enzim fosfoglicerat-mutazu kao katalizator:

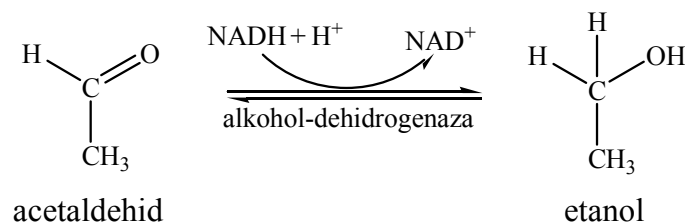


Kao što je vidljivo iz reakcije došlo je do pomaka fosforilne skupine unutar same molekule. Općenito takav intramolekulski prijenos skupina kataliziraju enzimi koji se nazivaju mutaze. Sama reakcija pregrađivanja nema jednostavan mehanizam. Isprva se fosforilna skupina prenosi na 3-fosfoglicerat te nastaje 2,3-bisfosfoglicerat koji je nužan za katalitičku aktivnost enzima fosfoglicerat-mutaze:

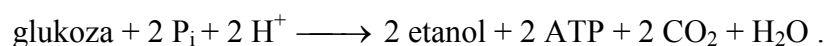
Fruktoza se može prevesti i u fruktoza-1-fosfat koji se cijepa na dihidroxiaceton-fosfat i gliceraldehid koji se zatim fosforilira u gliceraldehid-3-fosfat koji također sudjeluje u glikolizi. Taj proces zbiva se u jetri i naziva se *put fruktoza-1-fosfata*. Po završetku glikolize potrošene su dvije molekule NAD^+ koje su se reducirale u NADH. Regeneracija tih molekula je nužna kako bi glikoliza nastavila kontinuirano teći i postiže se metabolizmom piruvata. Ukoliko nije prisutan kisik piruvat podliježe reakcijama vrenja (alkoholnom i mliječno-kiselinskom). Alkoholno vrenje proces je prevođenja glukoze u alkohol etanol. Dekarboksilacija piruvata uz enzim piruvat-dekarboksilaza kao katalizator prvi je korak ovog procesa pri čemu nastaje acetaldehid:



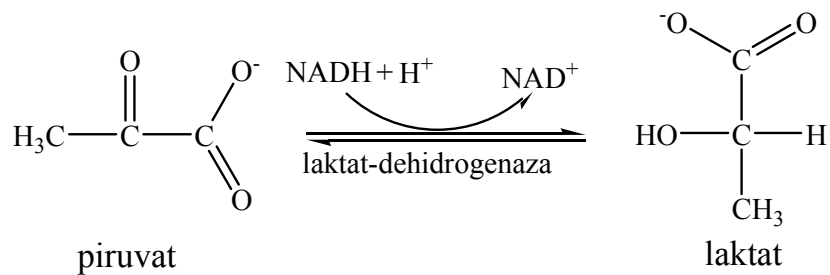
Acetaldehid se zatim pomoću NADH reducira u etanol uz enzim alkohol-dehidrogenazu kao katalizator:



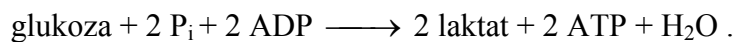
Tom reakcijom se regeneriraju dvije molekule NAD^+ koje su prethodno potrošene u glikolizi. Cjelokupna reakcija pretvaranja glukoze u etanol kroz proces alkoholnog vrenja glasi:



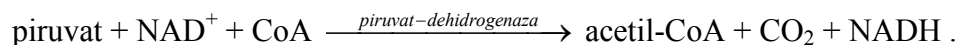
Mliječno-kiselinsko vrenje (laktatna fermentacija) proces je prevođenja glukoze u laktat. Redukcija piruvata u laktat postiže se uz redukcijsko sredstvo NAD^+ i enzim laktat-dehidrogenazu kao katalizator:



Cjelokupna reakcija pretvaranja glukoze u etanol kroz proces mliječno-kiselinskog vrenja glasi:



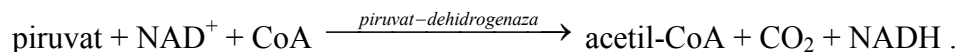
Prisutnost kisika omogućuje oslobađanje većih količina energije iz glukoze. Glikolizom dobiveni piruvat u ciklusu limunske kiseline i procesu oksidativne fosforilacije razgrađuje se do ugljikova dioksid i vode. Oksidativna dekarboksilacija piruvata nužan je korak koji prethodi ovim dvama procesima i kojim se piruvat prevodi u acetil-koenzim A uz kompleks piruvat-dehidrogenazu kao katalizator:



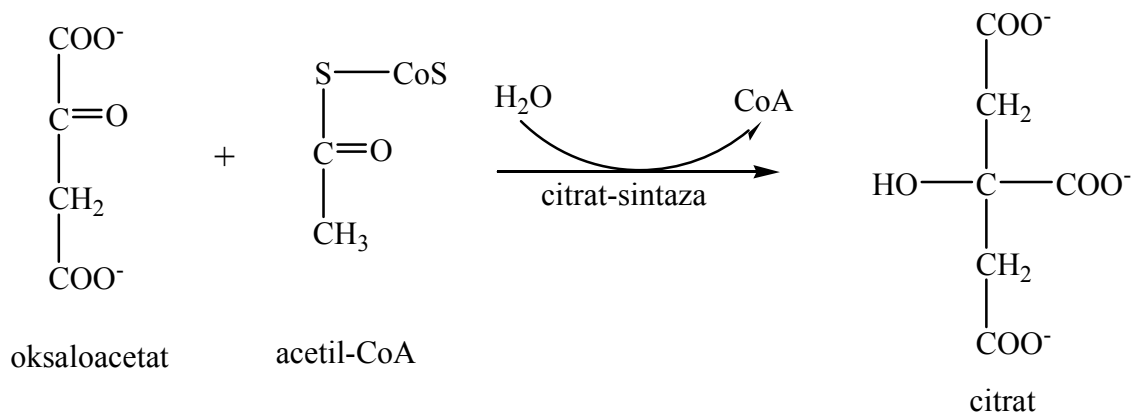
Dvije molekule NAD^+ koje potrošene u ovoj reakciji kao i one koje su potrošene u glikolizi regeneriraju se pri prijenosu elektrona s NADH na O_2 putem lanca prijenosa elektrona. Enzimi koji reguliraju glikolizu su fosfofruktokinaza, heksokinaza i piruvat-kinaza. Svaki enzim katalizira po jedan ireverzibilni korak glikolize. Fosfofruktokinaza je najvažniji regulator glikolize koji inhibira glikolizu pri visokim koncentracijama ATP-a odnosno pri visokom energijskom naboju. Katalizira odlučujući korak glikolize. Aktivnost tog enzima raste s povećanjem pH vrijednosti i povećanjem koncentracije AMP. Heksokinazu inhibira produkt prvog koraka glikolize glukoza-6-fosfat. Kako se glukoza-6-fosfat u mišiću prevodi u glikogen odnosno nije samo međuprodukt glikolize heksokinaza nije glavni kontrolni element glikolize. Alanin koji se dobiva iz piruvata i visok energijski naboj stanice inhibiraju enzim piruvat-kinazu koji kontrolira zadnji korak glikolize. Visoka koncentracija fruktoza-6-fosfata aktivira taj enzim. Glukoneogeneza je proces sinteze glukoze iz neugljikohidratnih preteča poput aminokiselina, laktata i glicerola. Prevođenjem tih spojeva u piruvat započinje proces glukoneogeneze. Put glukoneogeneze nije inverzan putu glikolize. Oba procesa ne odvijaju se istovremeno već se glukoneogeneza odvija pri niskoj koncentraciji glukoze, a glikoliza pri visokoj.

2.3.2. Ciklus limunske kiseline (Krepsov ciklus)

Ciklus limunske kiseline (Krepsov ciklus) je aeroban metabolički put koji se odvija u matriksu mitohondrija u kojem se piruvat oksidira do dvije molekule CO₂. Ovaj ciklus naziva se i ciklus trikarboksilne kiseline (TCA). Riječ je o amfiboličkom metabolizmu jer se molekule goriva (aminokiseline, masne kiseline i ugljikohidrati) oksidiraju (kataboličke reakcije) pri čemu nastaju spojevi koji su preteče u biosintetskim (anaboličkim) reakcijama. Sastoji se od niza oksidacijsko-redukcijskih reakcija kojima se prikupljaju visokoenergijski elektroni koji će se kasnije u procesu oksidativne fosforilacije koristiti kao pogon za sintezu ATP-a. Prije početka samog ciklusa potrebno je molekule goriva prevesti do acetil-CoA. Pomoću prijenosnočkih proteina koji se nalaze u membrani mitohondrija piruvat se prenosi u mitohondrije gdje se u reakciji oksidacijske karboksilacije prevodi u acetil-CoA:

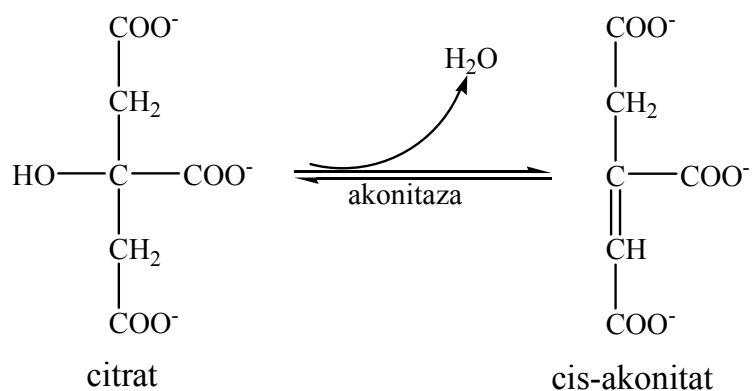


Navedena reakcija je spona između glikolize i Krepsova ciklusa. Piruvat-dehidrogenaza (PDH) koji katalizira ovu reakciju je složeni homologni kompleks koji se sastoji od tri vrste enzima: E₁ (piruvat-dehidrogenaza/dekarboksilaza), E₂ (dihidrolipoil-transacetilaza) i E₃ (dihidrolipoil-dehidrogenaza). Složena struktura toga enzima omogućuje prijenos skupina s jednog aktivnog mjesta na drugo. Mehanizam ove reakcije iznimno je složen te osim djelovanja ovog kompleksa potrebno je i djelovanje pet koenzima. Katalitički kofaktori su koenzimi tiamin-pirofosfat (TPP), lipoična kiselina i FAD dok su stehiometrijski kofaktori CoA i NAD⁺. Reakcija se sastoji od tri koraka: dekarboksilacije, oksidacije i prijenosa nastale acetilne skupine na CoA. E₁ (prostetička skupina TPP) katalizira dekarboksilaciju piruvata, E₂ (prostetička skupina lipoamid) katalizira oksidaciju C2-jedinice i prijenos nastale acetilne skupine na CoA dok E₃ (prostetička skupina FAD) katalizira obnavljanje oksidiranog oblika lipoamida. Strukturna integracija triju vrsta enzima omogućuje koordiniranu katalizu te povećanje ukupne brzine reakcije i manji broj posrednih reakcija zbog međusobne brzine enzima. Produkti ove reakcije acetil-CoA i NADH ujedno su i njezini inhibitori. Ciklus možemo podijeliti na osam stupnjeva. Prvi stupanj ciklusa limunske kiseline je aldolna kondenzacija oksaloacetata i acetil-CoA nakon koje slijedi hidroliza pri čemu nastaje citrat uz enzim citrat-sintazu kao katalizator:

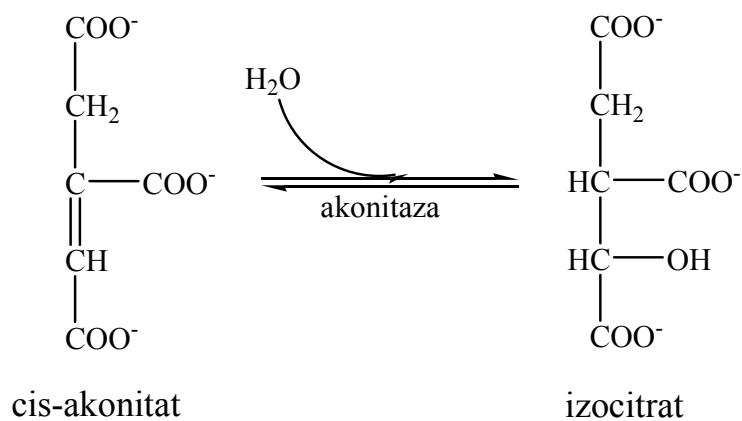


Drugi stupanj je izomerizacija citrata u izocitrat. Izomerizacija je potrebna jer položaj hidroksilne skupine u citratu ne dopušta dekarboksilacijsku reakciju koja bi trebala uslijediti.

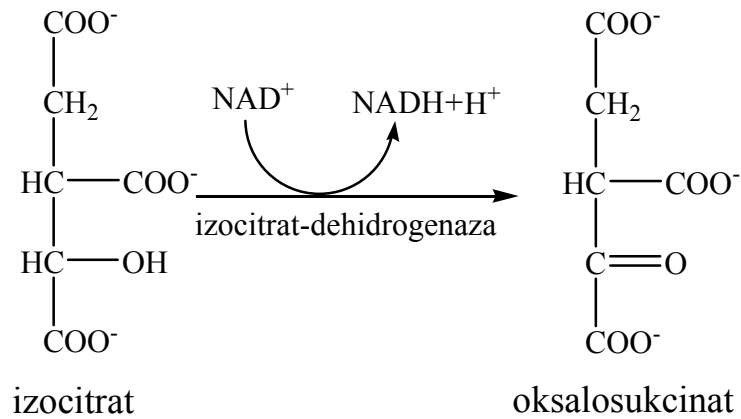
Citrat se prvo dehidratira u međuprodukt cis-akonitat:



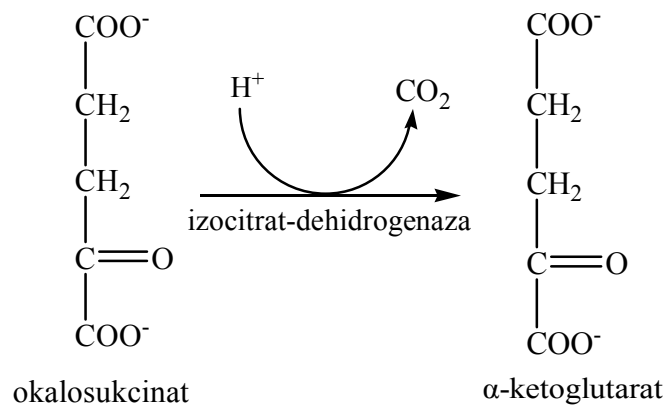
Zatim se cis-akonitat hidratira u izocitrat:



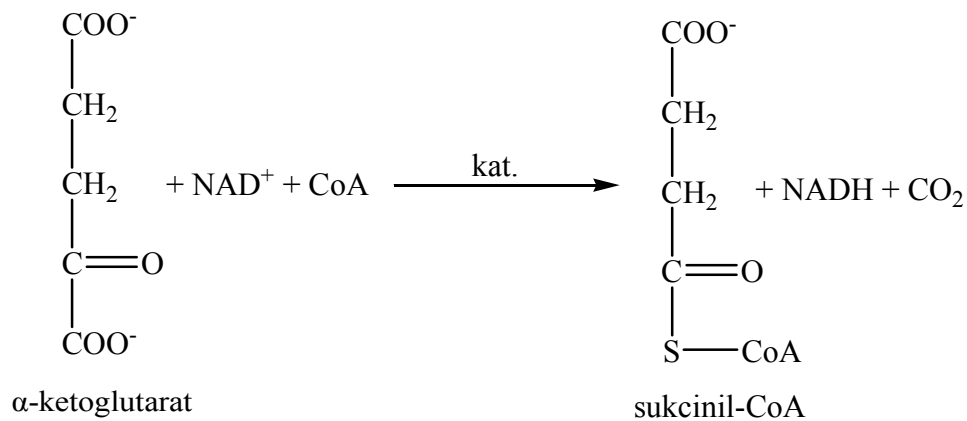
Katalizator u obje reakcije je enzim akonitaza. Treći stupanj je oksidativna dekarboksilacija citrata odnosno stvaranje α -ketoglutarata. Izocitrat se oksidira pomoću NAD^+ u međuprodukt oksalosukcinat (oksalojantarnu kiselinu):



Oksalosukcinat je nestabilna β -ketokiselina koja lako otpušta CO_2 :

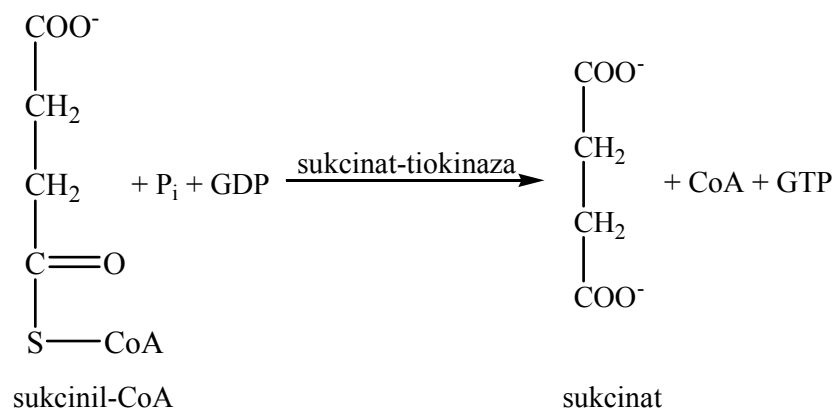


Enzim izocitrat-dehidrogenaza u katalizira ove reakcije. Par elektrona (hidridni ion) prenosi se na NAD^+ dajući NADH spoj koji ima visok potencijal za prijenos elektrona. Druga molekula CO_2 i druga molekula NADH nastaju u četvrtom stupnju ciklusa kojim se stvara sukcinil-CoA oksidacijskom dekarboksilacijom α -ketoglutarata uz kompleks α -ketoglutarat-dehidrogenazu:

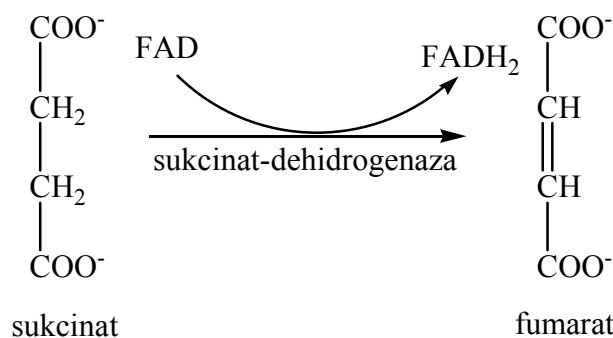


Sukcinil-CoA je energijom bogati spoj čijom se hidrolizom oslobađa energija (-33.5 kJ/mol) približna energiji koja se oslobađa hidrolizom ATP-a.

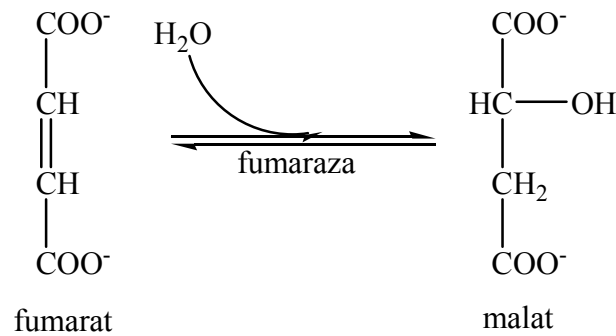
Peti stupanj ciklusa je fosforilacija GDP uz kidanje tioesterske veze Sukcinil-CoA pri čemu nastaju sukcinat i GTP uz enzim sukcinil-CoA sintetaza (sukcinat-tiokinaza):



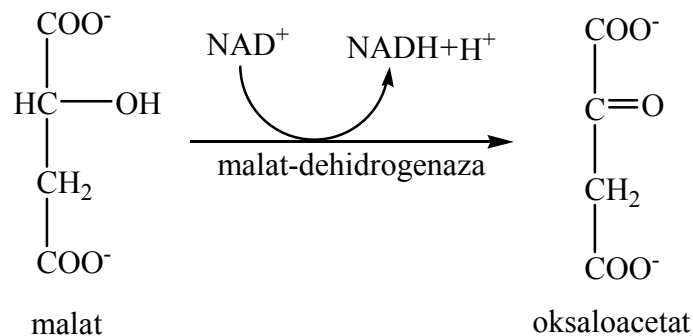
Prikazana reakcija jedina kao produkt ima jednu od energijom bogatih purinskih nukleotida. Šesti stupanj ciklusa je oksidacija/dehidrogenacija sukcinata pomoću oksidacijskog sredstva FAD-a pri čemu nastaje fumarat i molekula FADH₂ uz enzim sukcinat-dehidratazu kao katalizator:



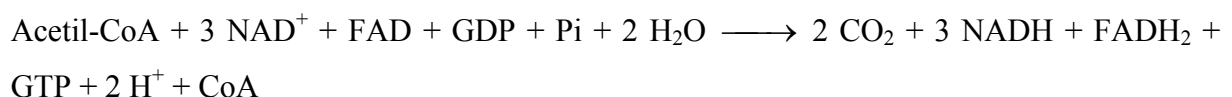
Promjena energije u ovoj reakciji je nedovoljna za redukciju molekule NAD^+ zbog čega dolazi do redukcije molekule FAD. Prva dva vodikova atoma (dva elektrona) sa molekule sukcinata. Sedmi stupanj ciklusa je hidratacija sukcinata uz enzim fumarazu kao katalizator pri kojoj nastaje L-malat:



Fumaraza je stereospecifični enzim koji katalizira trans-adiciju H^+ i OH^- iona zbog čega nastaje samo jedan stereoizomer malata. Zadnji (osmi) stupanj ciklusa je oksidacija L-malata pomoću oksidacijskog sredstva NAD^+ u oksaloacetat uz malat-dehidrogenazu kao katalizator:

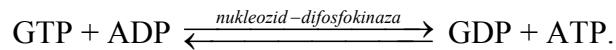


Vidljivo je da metilenska skupina u sukcinatu kroz tri stupnja se prevađa u karbonilnu skupinu ($\text{C}=\text{O}$) oksalata koji se regenerira kako bi ciklus ponovno mogao započeti. Ukupna reakcija ciklusa limunske kiseline je:



Energija koja se oslobodila tijekom cijelog ciklusa nije pohranjena u obliku ATP-a već se nalazi pohranjena u elektronima u molekulama NADH i FADH_2 te u jednoj molekuli GTP-a. Šest je elektrona pohranjeno u tri molekule NADH dok su dva pohranjena u molekuli FADH_2 . Molekularni kisik (O_2) ne sudjeluje izravno u Krepsovu ciklusu već je potreban kako bi se molekule NADH i FADH_2 mogle oksidirati prijenosom elektrona na njega. Oksidacija se

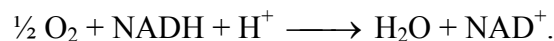
odvija u slijedećem procesu – oksidativnoj fosforilaciji. Prilikom prijenosa elektrona kroz membranske proteine stvara se protonski gradijent kroz unutrašnju mitohondrijsku membranu koji daje energiju za stvaranje ATP-a. Oko 2.5 molekula ATP-a dobije se iz jedne molekule NADH i oko 1.5 molekula ATP-a iz jedne molekule FADH₂. Ukupno se iz produkata Krepsova ciklusa dobiva devet molekula ATP-a oksidacijom i još jedna iz GTP-a:



Pretvorbu katalizira enzim nukleozid-difosfokinaza. Kako se iz glukoze glikolizom dobivaju dvije molekule piruvata ukupno nastaju dvije molekule FADH₂ i GTP-a te šest molekula NADH. Stvaranje acetil-CoA koje prethodi samom početku ciklusa ima važnu regulacijsku ulogu. Ulazak glikolizom stvorenog piruvata u sam ciklus odnosno njegovo prevađanje u acetil-CoA uvjetovano je obnovom molekula NAD⁺ oksidativnom fosforilacijom odnosno potrebom stanica za ATP-om. Brzina samog ciklusa također je regulirana tom potrebom. Enzimi koji kontroliraju odvijanje ciklusa su α -ketoglutarat-dehidrogenaza i izocitrat-dehidrogenaza. Izocitrat-dehidrogenaza je alosterički enzim kojeg stimulira ADP dok NADH kao produkt reakcije koju katalizira inhibira njegovo djelovanje. Visoke količine NADH i sukcinil-CoA inhibiraju α -ketoglutarat-dehidrogenazu kao i visoki energijski naboj stanice. Povezanost ciklusa limunske kiseline s drugim metaboličkim procesima postignuta je upravo njihovim regulacijskim djelovanjem.

2.3.3. Oksidativna fosforilacija

Oksidativna fosforilacija (stanično disanje ili respiratorni lanac) je aeroban metabolički put kojim se 26 molekula ATP-a dobiva kao posljedica prijenosa elektrona s NADH ili FADH₂ na O₂ putem serije nosača elektrona. Odvija se u mitohondriju stanice. Glavni je izvor energije kod aerobnih organizama. Mitohondriji su organeli ovalnoga oblika koji imaju dvije membrane: vanjsku i unutarnju. Prostor unutar mitohondrija možemo podijeliti na međumembranski prostor i prostor koji omeđuje naborana unutarnja membrana - matriks. Površina naborane membrane mitohondrija mjesto je gdje se ovaj proces odvija. Razlika između ove dvije membrane je i u njihovoj propusnosti za molekule. Dok je vanjska membrana propusna za većinu malih molekula i iona, unutarnja je membrana gotovo nepropusna. Transportni proteini prenose metabolite kroz unutarnju membranu mitohondrija. Membranski potencijal unutarnje membrane na strani matriksa je negativan, a na strani citoplazme je pozitivan. Pokretačka sila oksidativne fosforilacije je razlika u potencijalu prijenosa elektrona između molekula NADH ili FADH₂ i molekularnog kisika. Potencijal prijenosa elektrona iskazuje se razlikom redukcijskog potencijala (ΔE). Jednadžba oksidacije NADH pomoću molekularnog kisika glasi:



Standardni redukcijski potencijal ove reakcija iznosi 1.14 V. Izraz koji povezuje redukcijski potencijal s Gibbsonovom energijom glasi:

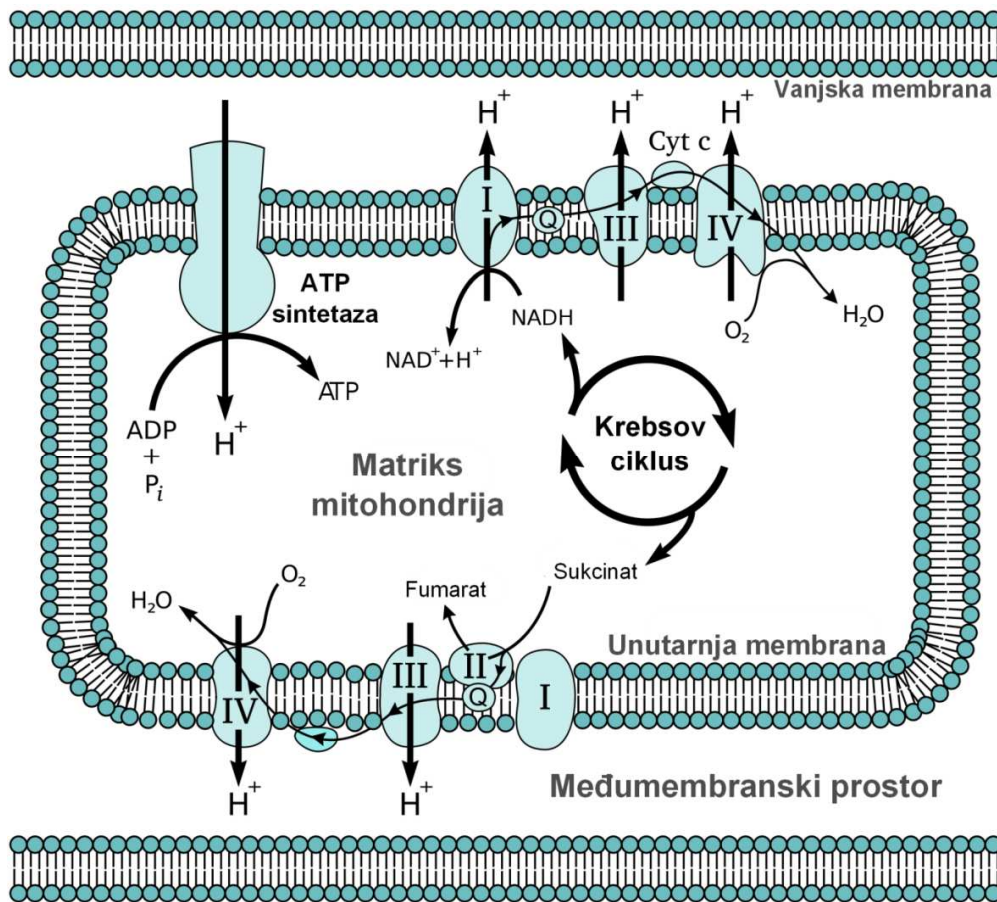
$$\Delta G^\circ = -n F \Delta E^\circ$$

gdje je n broj elektrona koji se izmjenjuju, a F je Faradayeva konstanta (96.5 kJ mol⁻¹ V⁻¹). Standardna promjena slobodne energije za ovu reakcije iznosi:

$$\Delta G^\circ = -2 \times 96.5 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times 1.14 \text{ V} = -220.02 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Energija koja se oslobađa oksidacijom NADH veća je od energije koju dobijamo hidrolizom ATP-a i iskorištava se za stvaranje protonskog gradijenta. Prijenos elektrona u ovoj reakciji odvija se kroz lanac od tri velika proteinska kompleksa: NADH-Q-oksidoireduktazu (kompleks I), oksidoireduktazu Q-citokroma c (kompleks III) i oksidaza citokroma c (kompleks IV). Protok elektrona kroz te komplekse dovodi do prijenosa protona kroz unutarnju membranu u međumembranski prostor. Četvrti kompleks koji sudjeluje u ovom

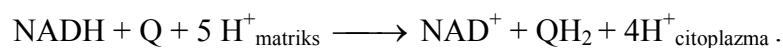
metaboličkom putu suksinat-Q-reduktaza (kompleks II) nije protonska pumpa. Slika 5. daje pregled oksidativne fosforilacije.



Slika 5. Shematski prikaz oksidativne fosforilacije

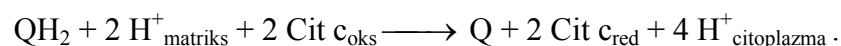
([https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Mitochondrial_electron_transport_chain_\(hrvatski\).png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/03/Mitochondrial_electron_transport_chain_(hrvatski).png))

Proces započinje na kompleksu I. Taj kompleks se sastoji od 46 polipeptidnih lanaca. Oblika je slova L s vertikalnom linijom koja prodire u matriks i horizontalnom koja je u ravni unutarnje membrane. Katalizira reakciju:

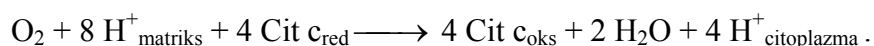


Q je oznaka za koenzim Q (kinon). Potpuno oksidirani kinon ima dvije keto-skupine, semikinonski oblik (QH) nastaje primitkom jedanog elektrona i jedanog protona dok ubikinon (QH₂) nastaje nakon što se semikinonskom obliku dodaju još jedan proton i elektron. Reakcije prijenosa elektrona povezane su s reakcijama prijenosa protona. Unutarnja membrana mitohondrija posjeduje stalnu količinu Q + QH₂. Prostetička skupina kompleksa I flavin-mononukleotid (FMN) na početku procesa na sebe veže NADH i prima dva njegova

visokoenergetska elektrona pri čemu prelazi u reducirani oblik FMNH₂. Serija klastera Fe-S koja je druga prostetička skupina ovog kompleksa zatim prima elektronski par s FMNH₂ i prolazi kroz niz oksido-reduktivnih reakcija nakon kojih elektroni prijelaze na kinon uz izbacivanje četiri protona (H⁺) iz matriksa mitohondrija u međumembranski prostor. Kinon (Q) se reducira u ubikinon (QH₂) koji napušta enzim i odlazi u hidrofobni dio membrane. Dolazi do nastanka molekula NAD⁺ čija je regeneracija nužna za kontinuirano odvijanje glikolize. Dio kompleksa II je i enzim sukcinat-dehidrogenaza koji katalizira reakciju stvaranja fumarata pri čemu nastaje FADH₂ koji ostaje u kompleksu. Elektroni s FADH₂ prelaze na Fe-S klaster te sa njih na kinon reducirajući ga do ubikinona. Kako taj kompleks nije protonska pumpa oksidacijom FADH₂ ne nastaje gradijent protona i nastaje manje molekula ATP-a. Kompleks III prenosi elektrone s dvije prethodno nastale molekule ubikinona (QH₂) na oksidirani citokrom c (Cit c). Taj proces nazivamo kinonski ciklus. Svaka molekula predaje citokromu c dva elektrona i dva protona (H⁺) pri čemu se iz matriksa izbacuju četiri protona. Reakcija glasi:

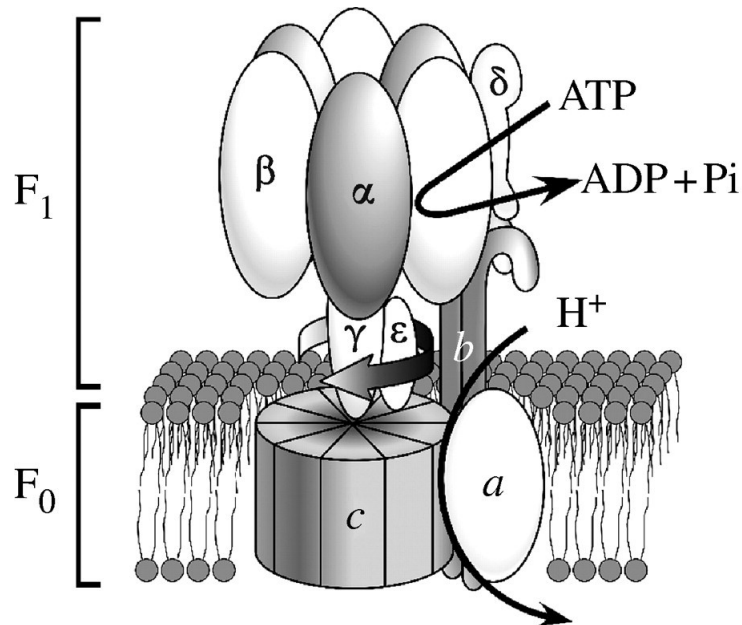


Citokromi su proteinski nosači elektrona čije su prostetičke skupine hemske grupe. Međusobno se razlikuju prema načinu na koji se vežu za protein, bočnim lancima u porfirinu i afinitetu za elektrone. Prilikom transporta elektrona dolazi do prelaska željezovog iona koji se nalazi u središtu hemske grupe iz reduciranog oblika (Fe²⁺) u oksidirani oblik (Fe³⁺). Sam kompleks III sadrži dvije vrste citokroma: citokrom b i citokrom c₁. Kompleks IV katalizira prijenos elektrona s reduciranog oblika citokroma c na molekularni kisik (O₂):



Četiri protona (H⁺) reduciraju kisik u vodu dok se druga četiri protona izbacuju preko kompleksa u citoplazmu. Ova reakcija pokazuje zašto je kisik neophodan za oksidativnu fosforilaciju, te zašto se Krepsov ciklus kao uvod u taj proces odvija samo uz njegovu prisutnost. Prijenos elektrona s NADH i FADH₂ na O₂ egzergoni je proces koji daje energiju za sintezu molekula ATP-a. Predaja energije objašnjena je pomoću kemiosmotske hipoteze. Prijenos elektrona duž respiracijskog lanca uzrok je izbacivanju protona (H⁺) iz matriksa te se zbog tih gubitaka unutar matriksa stvara negativno električno polje. Protoni se moraju vratiti u matriks kako bi se izjednačili naboji. Nejednolika raspodjela naboja uzrokuje proton-motornu silu koja se sastoji od kemijskog gradijenta i gradijenta naboja. Kemijski gradijent je

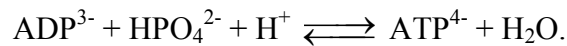
uzrokovan nejednolikim pH-vrijednostima dok gradijent naboja nastaje zbog nejednolike raspodjele naboja. Sinteza ATP-a pomoću enzima ATP-sintaze omogućena je upravo djelovanjem te sile. Slika 6. prikazuje složenu strukturu ovog enzima.



Slika 6. Struktura enzima ATP-sintaze

(<http://d1vn86fw4xmcz1.cloudfront.net/content/royptb/363/1500/2135/F1.large.jpg>)

Sastoji se od dvije podjedinice: podjedinice F₀ koja ima izgled štapa i podjedinice F₁ koja je poput kugle smještena na njoj. Podjedinica F₀ većim je dijelom uronjena u unutarnju membranu mitohondrija. Hidrofobni je fragment koji sadrži transmembranski kanal za prolaz protona (H⁺) koji se sastoji od prstena kojeg grade 10 do 14 podjedinica c. Na vanjskoj strani prstena nalazi se pojedinička a. Podjedinica F₁ izbočena je u matriks mitohondrija i sastoji se od pet vrsta polipeptidnih lanaca: α₃, β₃, γ, δ i ε. Najveći dio podjedinice F₁ sastoji se od homolognih α i β podjedinica koje su izmjenično raspoređene u heksamernom prstenu α₃β₃. β-podjedinica jedina izravno sudjeluje u katalizi. Ispod heksamernog prstena α₃β₃ nalazi se središnje stablo sastavljeno od γ i ε podjedinica. Prsten zajedno s stablom čini pokretni dio ovog enzima (rotor) dok je ostatak enzima nepokretan (stator). Podjedinica γ sastoji se od duge uzvojnice koja se proteže još od sredine heksamernog prstena. Osim središnjim stablom dvije podjedinice ovoga enzima povezane su i vanjskim stupom koji je sastavljen od jedne podjedinice a i δ te dvije podjedinice b. Stvaranje ATP-a pomoću ATP-sintaze iskazuje se ovom jednačinom:

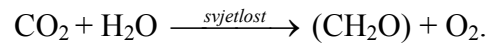


Istraživanja su pokazala da proton-motorna sila nije potrebna za stvaranje ATP-a već da ona služi kako bi se nastali ATP oslobodio sa enzima. Njezina uloga objašnjena je pomoću mehanizma vezanje-promjena. Mehanizam se temelji na pretpostavci da podjedinica β obavlja sva tri koraka sinteze ATP-a mijenjanje svoje konformacije: vezanje ADP-a i P_i , sinteza ATP-a i otpuštanje ATP-a. Interakcija podjedinice γ narušava simetriju heksamera $\alpha_3\beta_3$ i omogućuje postojanje triju različitih konformacija. Labava (L) konformacija slabo veže ADP i P_i , tijesna (T) konformacija veže ih jače i pretvara u ATP dok je otvorena (O) konformacija manje kruta od ostale dvije zbog čega može otpustiti nastali ATP. U heksameru su uvijek prisutne sve tri konformacije koje prelaze jedna u drugu okretanjem konformacije γ za 120° u smjeru suprotnom od kretanja kazaljke na satu. Uzrok takvog gibanja je tijek protona kroz F_0 . Otvorena konformacija prelazi u labavu konformaciju, labava konformacija u tijesnu konformaciju dok tijesna konformacija prelazi u otvorenu konformaciju. Kada nastali ATP napusti enzim na podjedinicu β otvorene konformacije vežu se ADP-a i P_i . Svakim okretanjem konformacije γ za 120° oslobađa se jedna molekula ATP-a. Okretanje podjedinice γ objašnjava se strukturom podjedinice F_0 . Smatra se da je podjedinica a ima dva hidrofilna polukanala od kojih nijedan ne prolazi kroz membranu i svaki stupa u interakciju s jednom podjedinicom c. Podjedinica c građena je od para α -uzvojnica. Aspartanski ostatak (Asp 61) nalazi se na sredini jedne od tih dviju uzvojnica. Proton ulazi kroz polukanal iz protonima bogate citoplazme mitohondrija te se veže na aspartanski ostatak (Asp 61) podjedice c koja se rotira sve dok aspartan ne dođe u područje siromašno protonima drugog polukanala gdje se proton otpušta. Prsten sastavljen od podjedinica c zbog toga se rotira, a kako je s podjedinicama γ i ϵ čvrsto vezan ta vrtnja se prenosi na njih. Puna rotacija konformacije γ (360°) omogućena je prolaskom onog broja protona koliko ima podjedinica c. Dva lanca b koji čine vanjski cilindar i podjedinica δ sprečavaju vrtnju heksamera. Povećana koncentracija ADP-a potiče oksidativnu fosforilaciju. Regulacija brzine procesa pomoću ADP-a naziva se respiracijska ili akceptorska kontrola. Iz jedne molekule glukoze glikolizom su dobivene dvije molekule ATP-a, dvije molekule NADH i dvije molekule piruvata. Prevođem piruvata u acetil-CoA nastaju dvije molekule NADH. Krepsovim ciklusom stvara se još šest molekula NADH, dvije molekule FADH_2 i dvije molekule GTP-a. Dvije molekule GTP-a prevode se u dvije molekule ATP-a. Dvije molekule NADH koje su nastale u glikolizi daju ukupno tri molekule ATP-a (1.5 molekula ATP-a po molekuli NADH) dok preostalih osam molekula

NADH daju ukupno dvadeset molekula ATP-a (2.5 molekula ATP-a po molekuli NADH).
Potpunom oksidacijom glukoze u CO₂ nastaje trideset molekula ATP-a.

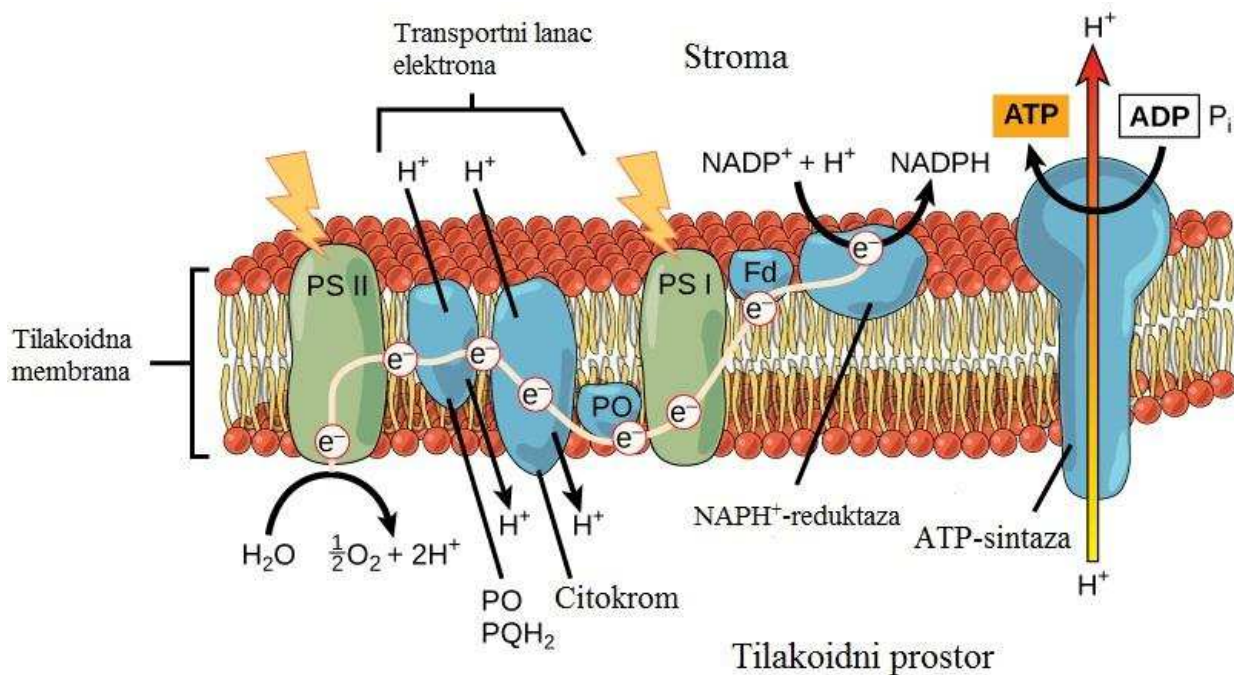
2.3.4. Fotosintetske reakcije na svjetlu

Fotosinteza je proces kojim se Sunčeva energija pretvara u kemijsku energiju pohranjenu u organskim molekulama (ugljikohidratima). Osim stvaranja hranjivih tvari važnost fotosinteze očituje se i u oslobađanju molekularnog kisika (O₂). Osnovna reakcija fotosinteze glasi:



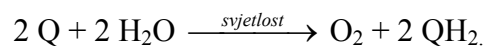
(CH₂O) označuje ugljikohidrate najvećim djelom saharozu i škrob. Reakcije fotosinteze djelimo na reakcije na svjetlu i reakcije u tami. Reakcije fotosinteze na svjetlu kao produkt daju molekule ATP-a i NADPH-a (nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfata). Reakcije u tami koje se još nazivaju Calvinov ciklus koriste te molekule kako bi se iz ugljikova dioksida i vode dobili korisniji organski spojevi. Kod zelenih biljaka fotosinteza se odvija u kloroplastima. Kloroplasti su organeli u biljnim stanicama koji imaju tri membrane: vanjsku, unutarnju i tilakoidnu membranu. Između vanjske i unutarnje membrane nalazi se međumembranski prostor dok unutarnja membrana okružuje prostor koji nazivamo stroma. Unutar strome se nalaze tilakoidne vrećice koje su naslagane jedna na drugu u grane (granum). Grane su međusobno povezane dijelovima tilakoidne membrane koje nazivamo stromnim lamelama. Tilakoidne membrane odvajaju tilakoidni prostor (lumen) od strome. Unutrašnja i tilakoidna membrana za razliku od vanjske membrane kloroplasta su nepropusne za većinu iona i molekula. Nastanak ATP-a reakcijama fotosinteze koje se odvijaju u svjetlu sličan je nastanku ATP-a procesom oksidativne fosforilacije. U oba procesa tok visokoenergetskim elektrona uzrokuje proton-motornu silu koja pokreće sintezu ATP-a putem ATP-sintaze. Glavna razlika je u načinu na koji nastaju visokoenergijski elektroni. Nastajanje visokoenergijskih elektrona omogućeno je apsorpcijom svjetlosne energije. Glavni fotoakceptor u kloroplastima je klorofil a (tetrapiol s magnezijevim ionom u sredini). Klorofil a pripada u skupinu spojeva koji se nazivaju polieni. Oni sadrže mrežu alternirajućih jednostrukih i dvostrukih veza. Jake apsorpcijske vrpce klorofila nalaze se u vidljivom djelu spektra koje je kod Sunčevog zračenja maksimalno. Apsorbirana svjetlosna energija podiže elektron s niže energijske razine na višu energijsku razinu. Kako se u blizini nalazi prikladni primatelj elektrona elektron se ne vraća u osnovno stanje već se premješta na akceptor. Pozitivan naboj stvara se na klorofilu dok se negativni naboj stvara na akceptoru. Ovaj proces nazivamo fotoinducirano razdvajanje naboja, a mjesto odvijanja toga procesa nazivamo reakcijskim središtem. Elektron izdvojen iz klorofila a posjeduje veliku moć redukcije. Kod

zelenih biljaka fotosinteza se odvija na tilakoidnoj membrani kloroplasta. Slika 7. shematski prikazuje fotosintetske reakcija na svjetlu kod zelenih biljaka.



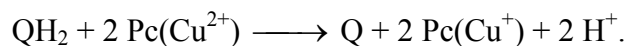
Slika 7. Shematski prikaz fotosintetskih reakcija na svjetlu kod zelenih biljaka
<http://cnx.org/resources/b8f695dc01ac31c43f66aa6fe044206a>

Pogodnost tilakoidne membrane očituje se u posjedovanju dva fotoosjetljiva kompleksa neophodna za proces: fotosustava I (PS I) i fotosustava II (PS II). Fotosustav II je veliki transmembranski kompleks koji se sastoji od dvadeset podjedinica. Jezgra ovog fotosustava sastoji se od međusobno sličnih podjedinica D1 i D2 koje prolaze kroz tilakoidnu membranu i sadrže poseban par klorofilnih molekula. Trideset molekula klorofila vezanih na ostale podjedinice povećavaju uspješnost samog procesa. Ovaj kompleks katalizira prijenos elektrona s vode na plastokinon pri čemu nastaje molekularni kisik:

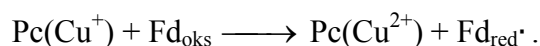


Q označuje oksidirani oblik plastokinona dok QH₂ označuje reducirani oblik plastokinona-plastokinol. Plastokinon je fotosintetski ekvivalent kinola. Reakcija započinje pobuđivanjem posebnoga para koji apsorbira svjetlost pri valjnoj duljini manjoj od 680 nm pa se taj par još naziva P680. Elektroni se zatim prenose s posebnog para na molekulu feofitina. Gubitkom elektrona posebni par poprima pozitivni naboj P680⁺ koji kao jak oksidans privlači elektrone molekula vode vezanih na manganski centar. Manganski centar posjeduje četiri manganova i

dva kalcijeva iona te je okrenut prema tilakoidnom prostoru. Neposredni donor elektrona pozitivno nabijenom posebnom paru nije molekula vode već tirozinski ostatak podjedinice D₁. Doniranjem elektrona nastaje radikal tirozina koji uklanja elektrone s manganovih iona. Tako nastali manganovi ioni u reduciranom obliku oksidiraju dvije molekule vode u jednu molekulu kisika uz oslobađanje četiri protona u tilakoidni prostor. Kako bi došlo do oksidacije vode moraju se apsorbirati četiri fotona. Feofitin predaje elektrone čvrsto vezanom plastokinonu Q_A nakon kojeg elektrone prima pokretni plastokinon Q_B. Pokretni plastokinon primanjem dva elektrona i dva protona koji potječu iz strome prelazi u plastokinol QH₂. Apsorpcijom četiri fotona (koliko je potrebno za oksidaciju vode) nastaju dvije molekule QH₂. Dakle, fotosustav II uzima protone iz strome, a otpušta ih u tilakoidni prostor. Zbog veće koncentracije protona na strani tilakoidnog prostora stvara se gradijent protona kroz tilakoidnu membranu. Kompleks citokrom bf povezuje fotosustav II s fotosustavom I katalizirajući prijenos elektrona s plastokinola (QH₂) na plastocijanin (Pc ili PO):

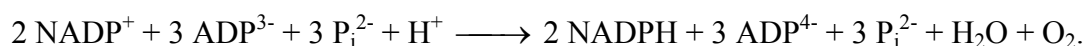


Plastocijanin je mali i topljivi protein koji se nalazi u tilakoidnome prostoru. Prvo se plastokinol oksidira u plasokinon pri čemu elektroni prelaze na klaster Fe-S kako bi se plastocijanin preveo u reducirani oblik. Zatim se plastokinon reducira u plastokinol primajući dva protona iz strome nakon čega slijedi ponovna oksidacija plastokinola kako bi se ti protoni izbacili u tilakoidni prostor. Takvo uzimanje protona iz prostora strome uzrokuje gradijent protona. Fotosustav I je veliki transmembranski kompleks koji se sastoji od četrnaest polipeptidnih lanaca, brojnih kofaktora i proteina. Jezgra ovog kopleksa izgrađena je od dvije podjedinice: psA i psB. Središte kompleksa apsorbira Sunčevo zračenje valnih duljina manjih od 700 nm pomoću posebnog para klorofila koji je nazvan P700. Pobuđeni elektroni prelaze na molekulu klorofila na mjestu A₀ od koje prelaze na molekulu kinona na mjestu A₁ nakon čega putuju kroz niz od četiri klastera 4Fe-4S do topljivog proteina feredoksina (Fd). Reducirani feredoksina sudjeluje u redukciji NADP⁺. Ukupna reakcija koju katalizira fotosustav I glasi:



Elektrone s reduciranog plastocijanina veže P700⁺ što omogućuje ponovno pobuđivanje posebnog para klorofila u kompleksu. Posljednji katalitor u ovom procesu je flavoprotein feredoksin- NADP⁺-reduktaza čija prostetička skupina je FAD. On katalizira redukciju

NADP⁺ u molekulu NADPH. Prostetička skupina FAD na sebe veže dva elektrona s dvije molekule reduciranog feredoksina i dva protona iz strome pri čemu nastaje FADH₂. Hidridni ion (H⁻) prenosi se na NADP⁺ pri čemu nastaje NADPH. Dva protona iz strome koja su iskorištena u ovoj reakciji pridonose stvaranju protonskog gradijenta. Gradijent protona uzrokuje stvaranje proton-motorne sile koja potiče stvaranje ATP-a pomoću ATP-sintaze. Energija sadržana u protonskom gradijentu iskazuje se kao zbroj dviju komponenti: gradijenta naboja i kemijskog gradijenta. Tilakoidna membrana je propusna za Cl⁻ i Mg²⁺ zbog čega se održava električna neutralnost i gradijent naboja se gotovo može zanemariti. Kako je ista membrana nepropusna za protone kemijski gradijent je izražen i nosi najveći dio energije za pokretanje sinteze. Tilakoidni prostor je značajno zakiseljen pa protoni putuju prema stromi kako bi se smanjila razlika pH-vrijednosti s obe strane membrane. Princip nastanka ATP-a jednak je kao kod oksidativne fosforilacije. ATP-sintaza označuje se i CF₁-CF₀ (C-kloroplast, F-faktor). CF₁ nalazi se na stromalnoj strani tilakoidne membrane te molekule ATP-a čiji nastanak katalizira otpušta u stromu. CF₀ provodi protone iz tilakoidnog prostora kroz tilakoidnu membranu u stromu. Komponenta III CF₀ sastoji se od dvanaest podjedinica čija je funkcija jednaka funkciji podjedinica c u mitohondrijskoj ATP-sintazi. Prema tome za sintezu tri molekule ATP-a (potpuno okretanje CF₁) potrebno je protjecanje dvanaest protona kroz ATP-sintazu. Apsorpcijom osam fotona (svaki fotosustav apsorbira po četiri fotona) ukupno je u tilakoidni prostor otpušteno dvanaest protona što dovodi do sinteze tri molekule ATP-a (2.7 fotona potrebno za sintezu jedne molekule ATP-a). Ukupna reakcija glasi:



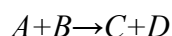
Ukoliko je omjer NADPH : NADP⁺ visok elektroni koji su preneseni s fotosustava I na feredoksin prenose se kroz kompleks citokroma bf na plastocijan. Prilikom ovog procesa koji se naziva ciklička fotofosforilacija dolazi do crpljenje protona od kompleksa citokroma bf zbog čega nastaje protonski gradijent kao pogonska snaga za nastajanje ATP-a. Apsorpcijom četiri fotona u fotosustav I otpušta se osam elektrona u tilakoidni prostor što je dovoljno za nastajanje dvije molekule ATP-a. Ciklička fotofosforilacija ne dovodi do nastanka NADPH i O₂. Vidljivo je da je ciklička fotofosforilacija djelotvorni način sinteze ATP-a jer dva apsorbirana fotona dovode do sinteze jedne molekule ATP-a. Osim posebnog para klorofila u apsorpciji svjetla sudjeluju i kompleksi za prikupljanje svjetla koji sadrže dodatne pigmente poput karotenoida, klorofila a i klorofila b. Oni okružuju reakcijsko središte u kojeg slijevaju prikupljenu energiju.

3. Kvantnokemijski izračun

3.1. Općenito o kvantnokemijskim izračunima

Svrha ovoga rada sastoji se u primjeni kvantnokemijskih izračuna za neke procese što se odvijaju u organizmima živih bića, a tiču se glavne molekule za pretvorbu energije—adenozin-trifosfata (ATP). Svi izračuni obavljani su u Zavodu za fiziku Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu. Izračuni su izvršeni u programskom paketu "GAUSSIAN 09", uporabom teorije funkcionala gustoće (DFT). U svim je izračunima uporabljen najpopularniji funkcional gustoće B3LYP za izračune korelacijsko-izmjenjske energije, uz standardnu bazu funkcija 6-311++G(d,p). Za sve spomenute spojeve i reakcije u ovom radu nije bilo moguće napraviti izračune zbog vremenskih ograničenja, pa su napravljeni izračuni samo za osnovne spojeve i reakcije. U tekstu ovoga rada jasno je naznačen napravljeni računski dio, a za spojeve i reakcije za koje nisu napravljeni odgovarajući izračuni uzeti su samo literaturni podatci.

Osnovni sastojci kvantnokemijskih izračuna su **energija osnovnog stanja** i pripadajuća **optimalna geometrija molekule**. Ako s $E(A)$, $E(B)$, $E(C)$ i $E(D)$ označimo energije osnovnih stanja molekula A , B , C i D , onda će procjena promjene Gibbsove energije ΔG u kemijskoj reakciji



biti jednaka

$$\Delta G = E(C) + E(D) - E(A) - E(B)$$

Gore navedena procjena promjene Gibbsove energije nije najpreciznija, ali ćemo je rabiti u ovom radu jednostavno zato što precizniji izračuni zahtijevaju znatno više vremena i računalnih resursa. Zato u usporedbi s eksperimentalnim podacima za Gibbsovu energiju ponajprije očekujemo kvalitativnu podudarnost s izračunatom energijom, a manje očekujemo jaku numeričku podudarnost. U izračunima se energija izražava u atomskim jedinicama

$$1 \text{ Hartree} = 27.212 \text{ eV} = 2625.5 \text{ kJ/mol}$$

Izračun optimalne geometrije i energije osnovnoga stanja molekule odnosi se na samo jednu molekulu, što znači da izračunate veličine odgovaraju molekuli određene tvari u plinovitoj fazi. Međutim, molekule o kojima je riječ u ovome radu nalaze se u različitim okruženjima, uglavnom u vodi ili određenoj otopini. Jasno je da izračunate veličine za plinovitu fazu ne

moгу precizno opisati stanje molekule u određenom složenom okruženju. Iz tih razloga nema svrhe ni potrebe preciznije računati promjenu Gibbsove energije od one koju dobijemo prije navedenom jednađbom.

3.2. Procjena jakosti vodikove veze između ATP-a i vode

Da bismo dali računsku procjenu jakosti vodikove veze između molekule ATP-a i vode, napravili smo naivan izračun. Postavili smo najprije jednu molekulu vode u blizinu molekule ATP-a i izračunali energiju osnovnog stanja toga **kompleksa**. Da bismo dobili što vjerodostojniju procjenu, izračunali smo energije osnovnog stanja još jednog kompleksa - molekule ATP-a s dvije molekule vode. Izračunate energije prikazane su u Tablici 1. :

Tablica 1. Vrijednosti izračunatih energija za zadane molekule i komplekse

Molekula/kompleks	Energija osnovnog stanja (Hartree)
H ₂ O	-76.45853080
ATP	-2667.29471926
ATP + H ₂ O	-2743.77726445
ATP +2* H ₂ O	-2820.25577619
ATP u vodi kao sredstvu	-2667.33858592

Sada za energiju vodikove veze dobivamo sljedeći rezultat s jednom molekulom vode

$$E(ATP+H_2O)-E(ATP)-E(H_2O)= -0.024 \text{ Hartree} = -63.05 \text{ kJ/mol} ,$$

odnosno s dvije molekule vode

$$E(ATP+2*H_2O)-E(ATP)-2*E(H_2O) = -0.044 \text{ Hartree} = -115.51 \text{ kJ/mol}$$

$$= -57.75 \text{ kJ/mol/po jednoj vodikovoj vezi}$$

Postavlja se pitanje zašto nismo promatrali komplekse s više od dvije molekule vode. Odgovor na to pitanje nalazi se u samoj strukturi molekule ATP-a u plinovitoj fazi. Naime, iz strukture te molekule vidljivo je da će ona u prosjeku tvoriti najviše dvije vodikove veze --P--O....H-O-H s okolnom vodom. Zato možemo reći da će biti dovoljno ako izračunamo optimiziranu geometriju molekule ATP-a **u vodi kao dielektričnom sredstvu** s dielektričnom konstantom $\epsilon_r=82$. Zaista, za razliku energija osnovnih stanja molekule ATP-a u vodi i molekule ATP-a u plinovitoj fazi, navedenih u Tablici 1., dobijemo rezultat:

$$E(ATP \text{ u vodi})-E(ATP) = -0.044 \text{ Hartree} = -115.17 \text{ kJ/mol}$$

$$= -57.59 \text{ kJ/mol/po jednoj vodikovoj vezi}$$

što je vrlo blizu prije izračunatoj razlici

$$E(ATP+2*H_2O)-E(ATP)-2*E(H_2O) = -57.75 \text{ kJ/mol/po jednoj vodikovoj vezi.}$$

Ovi numerički rezultati kvantnokemijskih izračuna, koji su svi provedeni nezavisno jedan od drugoga, jasno pokazuju značajnu suglasnost i podudarnost. To nam daje za pravo da kažemo da je izračunata jakost vodikove veze molekule ATP unutar vode vrlo jaka i da iznosi oko 57 kJ/mol.

Za izračunatu procjenu jakosti vodikove veze u samoj vodi, odnosno između molekula vode, možemo navesti već provedene kvantnokemijske izračune s nakupinama molekula vode [izvor : Marko Sklezur, „Energija vodikovih veza različitih nakupina molekula vode“, Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2010.], po kojima prosječna vrijednost vodikove veze unutar vode iznosi oko *17.6 kJ/mol*. Za usporedbu možemo navesti i sljedeće izračune provedene za svrhu ovoga rada, tako što smo izračunali energije osnovnih stanja slobodne molekule vode i molekule vode **u vodi kao sredstvu**, kako je to već prije spomenuto. Podatci su navedeni u Tablici 2. :

Tablica 2. Vrijednosti izračunatih energija osnovnog stanja za vodu kao slobodnu molekulu i molekulu vodu u vodi kao dielektričnom sredstvu

Molekula vode, H ₂ O	Energija osnovnog stanja
U plinovitoj fazi	-76.45853080
U samoj vodi kao dielektričnom sredstvu	-76.46647761

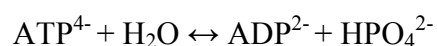
Razlika tih dviju energija **jedne molekule vode**, iznosi

$$E(\text{H}_2\text{O u vodi}) - E(\text{H}_2\text{O, plin}) = -0.0079 \text{ Hartree} = -20.86 \text{ kJ/mol}$$

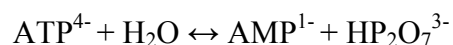
Ovaj se rezultat za jakost vodikove veze molekule H₂O u vodi, odnosno u okruženju velikoga broja drugih istovjetnih molekula, dobro slaže s rezultatom od *17.6 kJ/mol*, pogotovo ako uzmemo u obzir vjerodostojnu pretpostavku da jedna molekula vode u prosjeku tvori nešto više od jedne vodikove veze s drugim molekulama vode u tekućem stanju.

Svrha navedenih izračuna je u tome da pokažemo kako je vodikova veza između molekule ATP-a i molekule H₂O znatno jača od vodikovih veza između samih molekula H₂O, što znači da je ATP vrlo topljiv u vodi.

Za izračun promjene slobodne energije u reakcijama adenozintrifosfata (ATP) u vodi uzet ćemo nabijene molekule, budući da je to u skladu s empirijskim podacima. Molekula ATP-a u vodi se najčešće pojavljuje kao ion ATP⁴⁻, a u produktima reakcija se pojavljuju ioni adenozindifosfata ADP²⁻, adenozinmonofosfata AMP¹⁻, hidrogenfosfata HPO₄²⁻ i hidrogenpirofosfata HP₂O₇³⁻. Za sve te molekule izračunate su optimizirane geometrije i pripadajuće energije osnovnih stanja **u vodi kao sredstvu**. Za osnovni način prijenosa energije imamo reakciju:



a također postoji i reakcija



Osnovne energije svih navedenih molekula i iona dane su u Tablici 3. :

Tablica 3. Vrijednosti energija osnovnog stanja za zadane molekule i ione u vodi

Molekula (ion) u vodi	Energija osnovnog stanja (<i>Hartree</i>)
H ₂ O	-76,46647761
ATP ⁴⁻	-2665,52055587
ADP ²⁻	-2098,62850438
AMP ¹⁻	-1531,23075710
HPO ₄ ²⁻	-643,37374145
HP ₂ O ₇ ³⁻	-1210,77295057

Za promjene slobodnih energija dobivamo sljedeće rezultate za prvu reakciju, tj. osnovni način prijenosa energije:

$$\Delta G = E(\text{ADP}^{2-}) + E(\text{HPO}_4^{2-}) - E(\text{ATP}^{4-}) - E(\text{H}_2\text{O}) = -0.0152135 \text{ Hartree} = -39.9 \text{ kJ/mol}$$

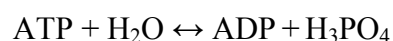
a za drugu reakciju dobivamo:

$$\Delta G = E(\text{AMP}^{1-}) + E(\text{HP}_2\text{O}_7^{3-}) - E(\text{ATP}^{4-}) - E(\text{H}_2\text{O}) = -0.01667419 \text{ Hartree} = -43.8 \text{ kJ/mol}$$

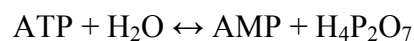
Eksperimentalna vrijednost promjene slobodne energije za prvu reakciju je -30.5 kJ/mol , a za drugu reakciju je -45.6 kJ/mol , kako je to već prije navedeno u teorijskom dijelu rada. Vidimo da je kvantnokemijski izračun po iznosu precijenio promjenu slobodne energije za oko 30%, a za drugu reakciju je podcijenio energiju za oko 4%. Uzroci takvom neslaganju prije svega se nalaze u činjenici da molekula ATP-a najčešće dolazi u kompleksima s ionima Mn²⁺ ili Mg²⁺, što u računu nije uzeto u obzir. Razumije se da i sama metoda, premda je zasnovana na egzaktnim postavkama, naime na Schrödingerovoj jednačbi za mnogoelektronske sustave, ima svoja teorijska i numerička ograničenja, što dodatno smanjuje preciznost izračuna.

Nadalje, jako je teško i zahtjevno u računima uzeti u obzir stvarno okruženje i uvjete u kojima se reakcije odvijaju. Čista voda kao kontinuirani medij određene dielektrične konstante zacijelo nije u najboljem skladu sa stvarnim okruženjem u kojima se molekule nalaze. No, unatoč svemu tome vidimo da kvantnokemijski izračuni daju dobar opći odnos u energijama reakcija i njihov ispravan poredak, u smislu koja je promjena Gibbsove energije veća.

Kao dodatnu provjeru navedenih tvrdnji, navest ćemo izračun promjena slobodne energije u reakcijama s neutralnim molekulama u plinovitoj fazi. Reakcije tada izgledaju ovako:



odnosno



Energije osnovnih stanja molekula navedene su u Tablici 4. :

Tablica 4. Vrijednosti energija osnovnog stanja za zadane molekule u plinu

Molekula u plinu	Energija osnovnog stanja (<i>Hartree</i>)
H ₂ O	-76,45853080
ATP	-2667,29471926
ADP	-2099,47998873
AMP	-1531,65115562
H ₃ PO ₄	-644,28088559
H ₄ P ₂ O ₇	-1212,10534534

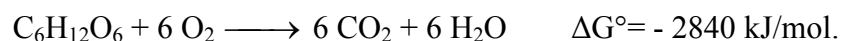
Za navedene reakcije dobivamo sljedeće promjene slobodne energije:

$$E(ADP)+E(H_3PO_4)-E(ATP)-E(H_2O) = -0.0076 \text{ Hartree} = -20 \text{ kJ/mol}$$

odnosno

$$E(AMP)+E(H_4P_2O_7)-E(ATP)-E(H_2O) = -0.00325 \text{ Hartree} = -8.5 \text{ kJ/mol}$$

Uočimo da su ove vrijednosti za promjene slobodnih energija reakcija molekula u plinovitom stanju znatno manje u skladu s eksperimentalnim vrijednostima od izračuna za nabijene molekule u vodenom okruženju. Ipak, da bismo ilustrirali tvrdnju da jako veliko odstupanje u izračunima slobodne energije u reakcijama s neutralnim molekulama ATP-a, ADP-a, AMP-a i ostalih, u odnosu na istovjetne račune s nabijenim molekulama u vodenom okruženju, nije samo stvar nesavršenosti metode nego je i stvarni učinak, navest ćemo izračun promjene slobodne energije u reakciji oksidacije glukoze, koja je navedena u prvom dijelu rada:



Energije molekula navedene su u Tablici 5.:

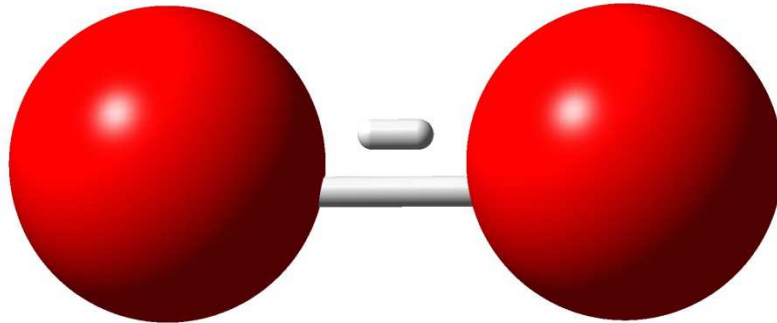
Tablica 5. Vrijednosti energija osnovog stanja za zadane molekule

Molekula	Energija osnovnog stanja (<i>Hartree</i>)
H ₂ O	-76,45853080
CO ₂	-188,64691476
O ₂	-150,30895588
C ₆ H ₁₂ O ₆	-687,38514010

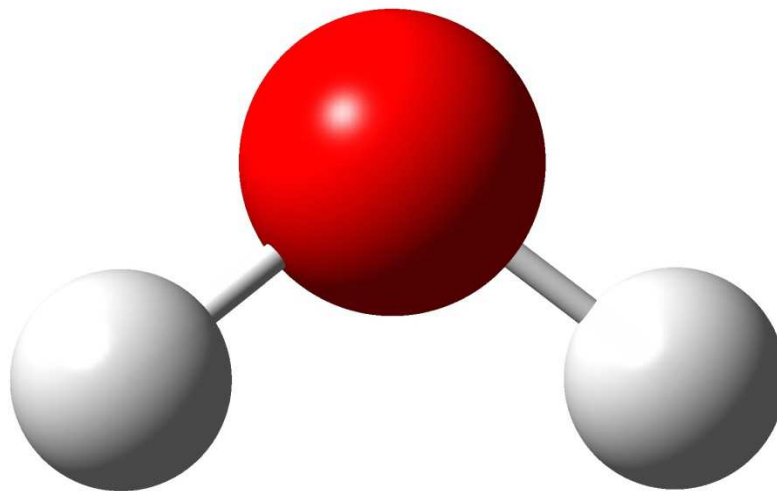
Izračunata promjena slobodne energije je:

$$\Delta G = 6 * E(\text{CO}_2) + 6 * E(\text{H}_2\text{O}) - E(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6) - 6 * E(\text{O}_2) = -1.39379798 \text{ Hartree} = -3659 \text{ kJ/mol}$$

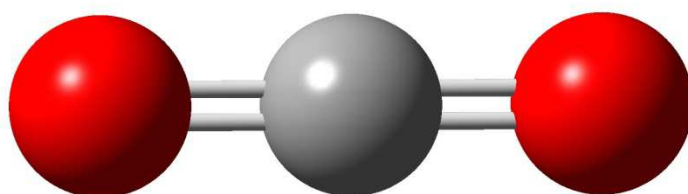
Relativno odstupanje izračunate promjene slobodne energije od eksperimentalne vrijednosti je oko 29%. Takvo odstupanje smo već vidjeli u izračunu u reakcijama molekule ATP. Naime, nije uzeto u obzir aerobno okruženje, nego su sve molekule u plinovitom stanju.



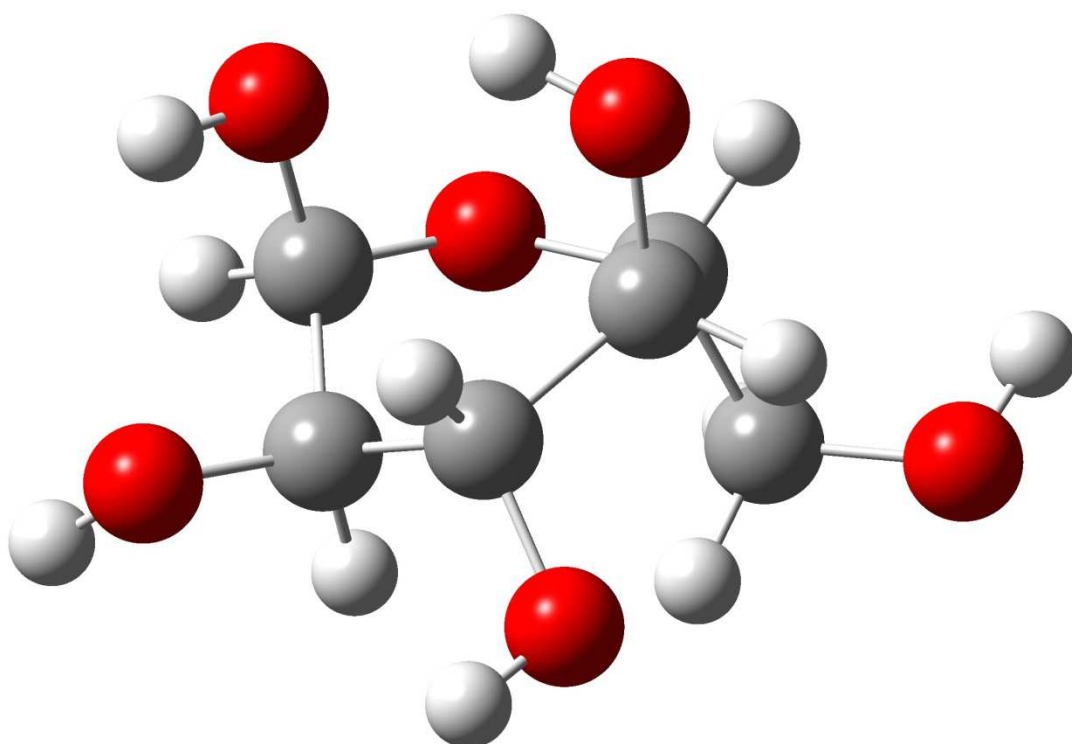
Slika 8. Prikaz strukture molekule kisika, O₂



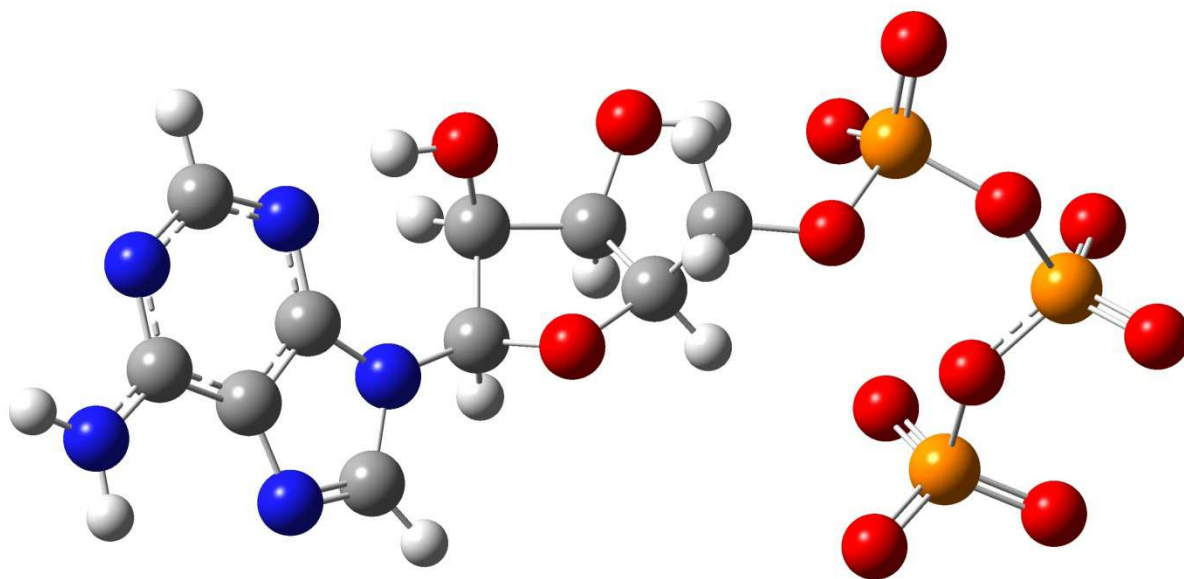
Slika 9. Prikaz strukture molekule vode, H₂O



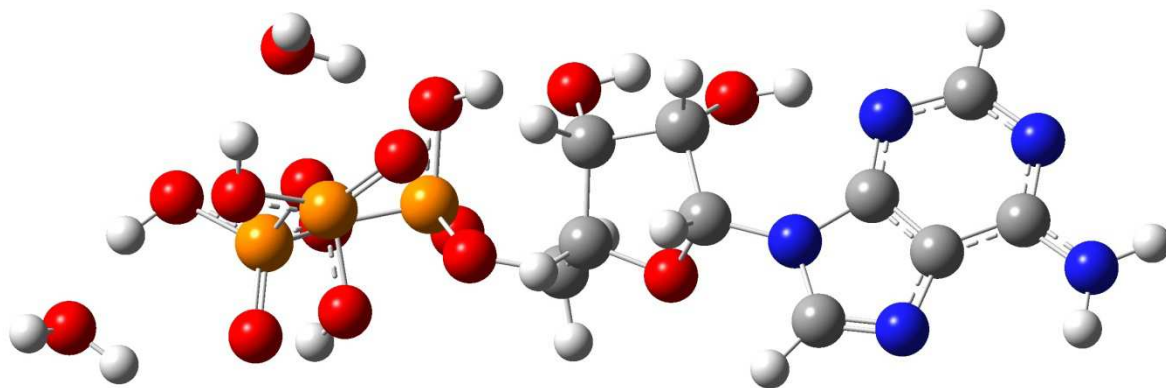
Slika 10. Prikaz strukture molekule ugljikova dioksida, CO_2



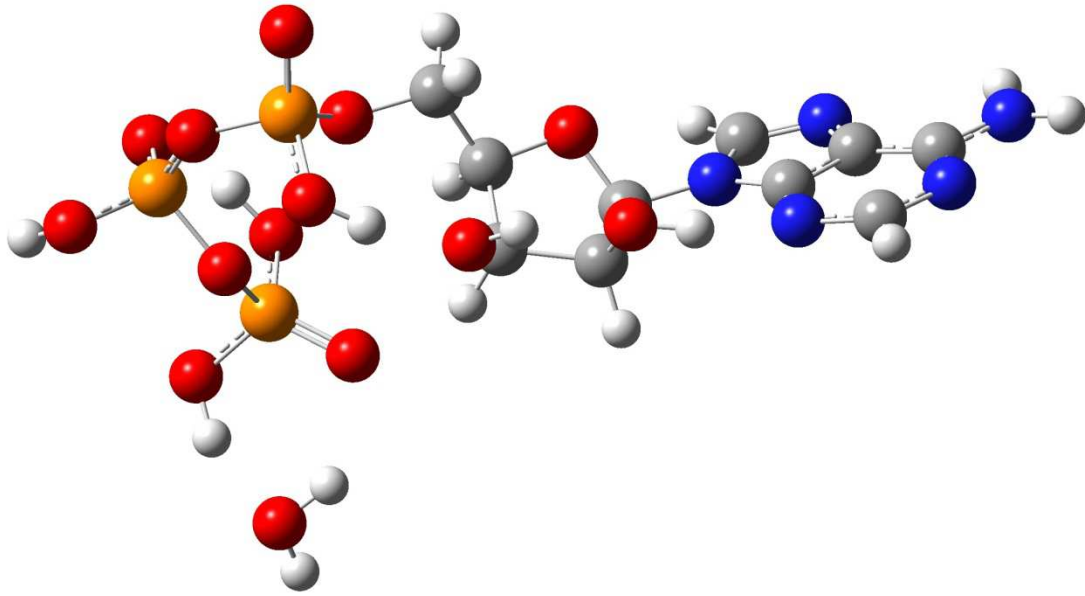
Slika 11. Prikaz strukture molekule glukoze, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$



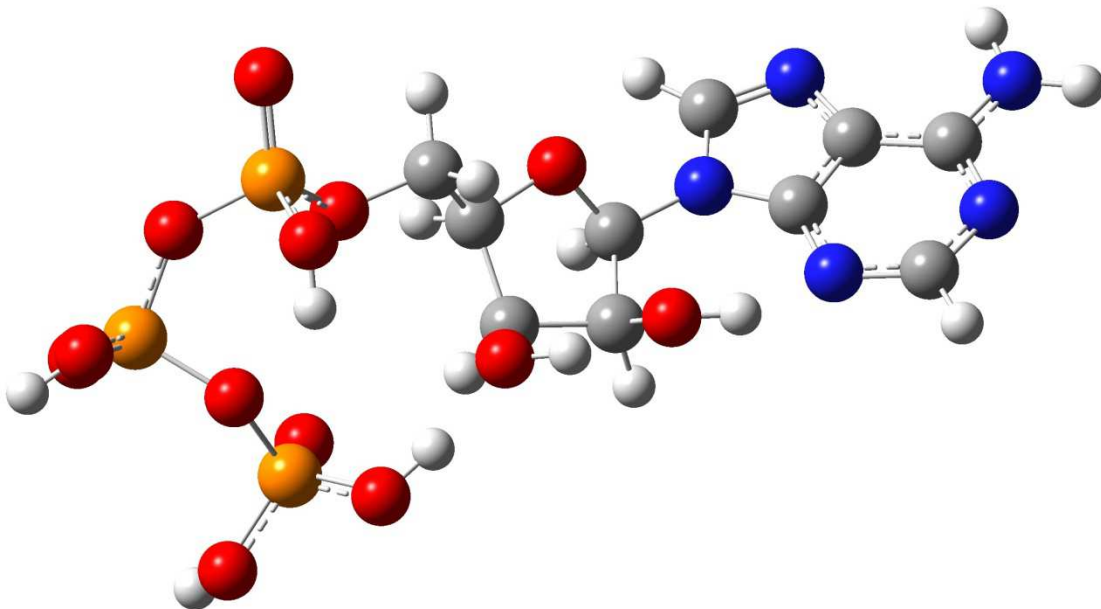
Slika 12. Prikaz strukture iona ATP⁴⁻ u vodi



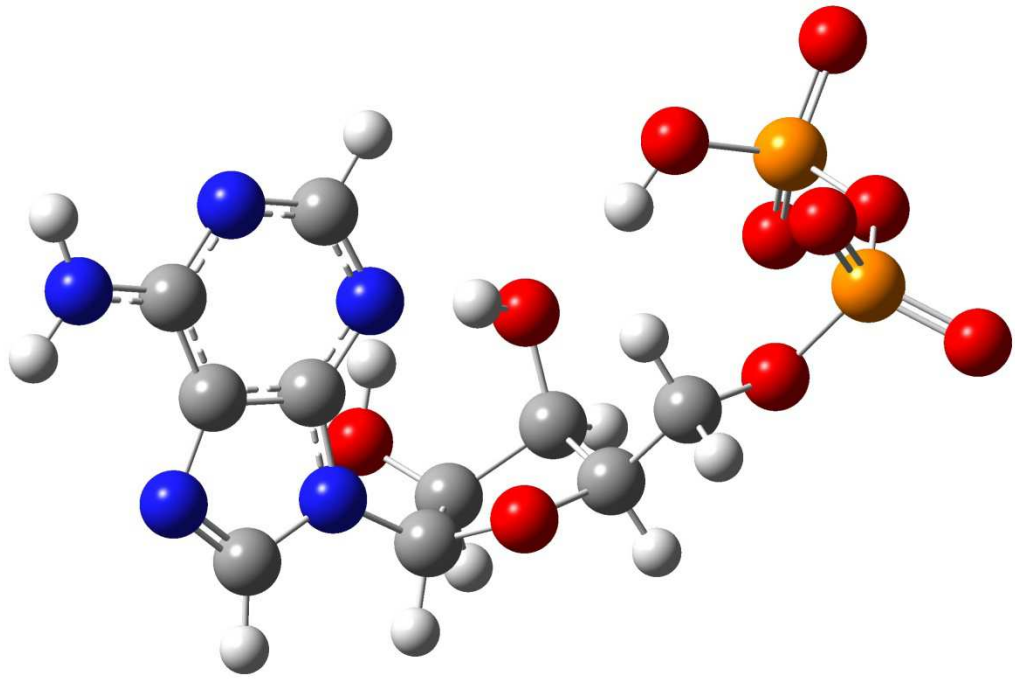
Slika 13. Prikaz strukture molekule ATP-a i dvije molekule vode



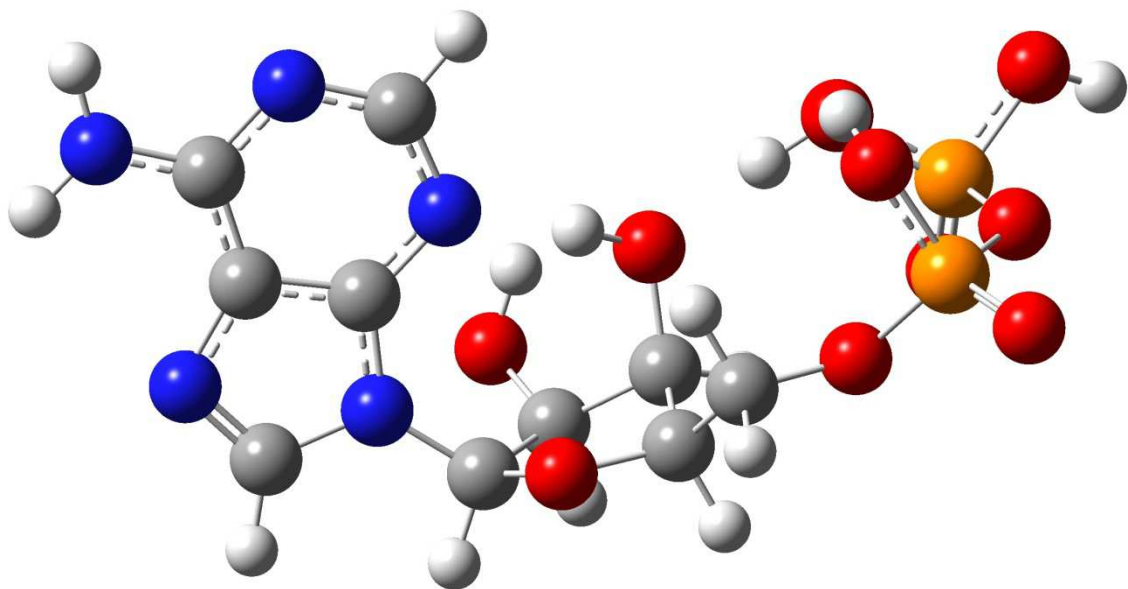
Slika 14. Prikaz strukture molekule ATP-a i jedne molekule vode



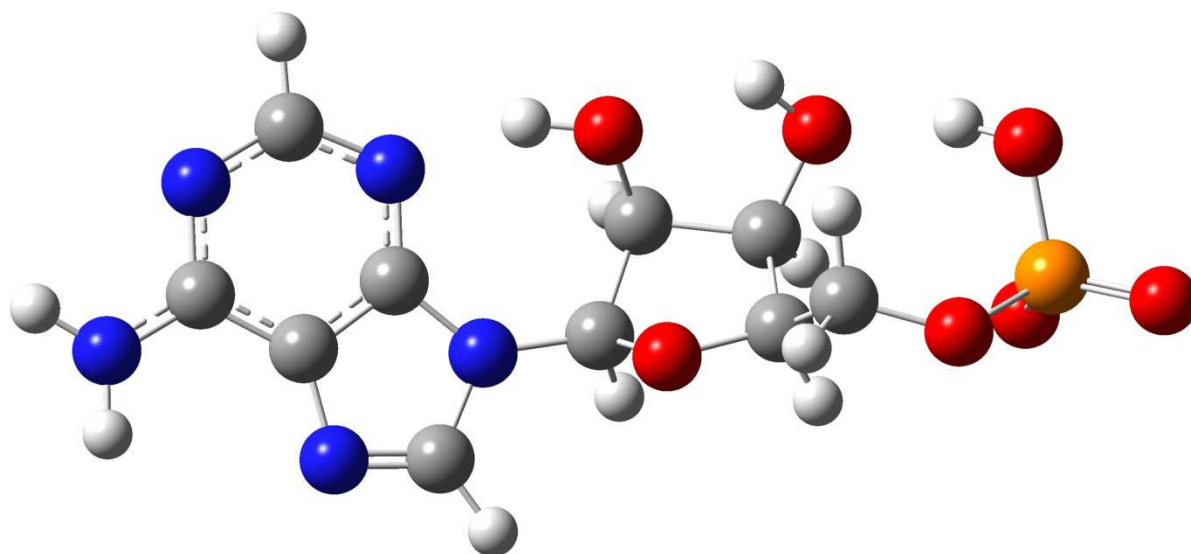
Slika 15. Prikaz strukture molekule ATP-a u plinovitoj fazi



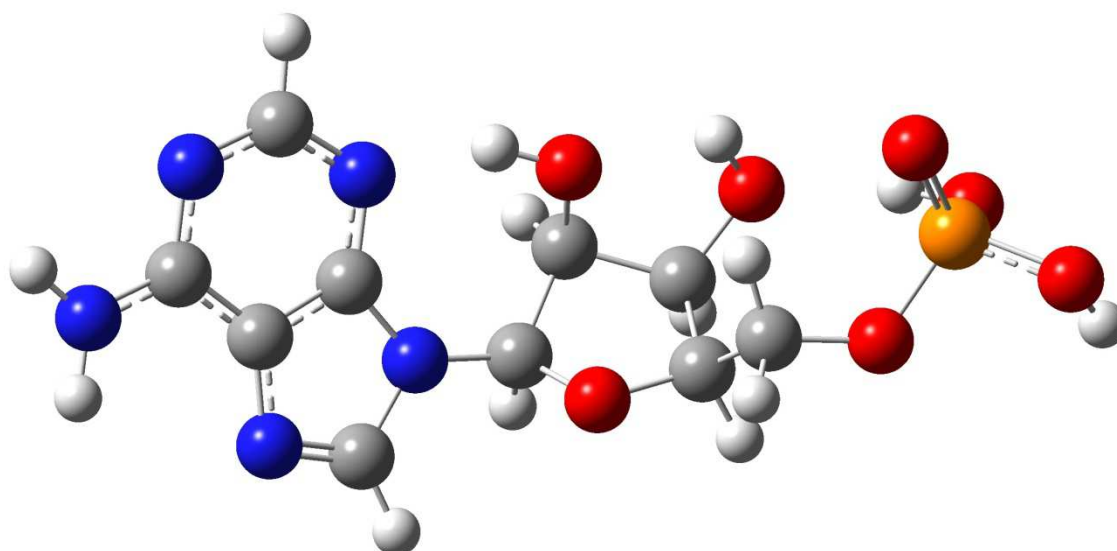
Slika 16. Prikaz strukture iona ADP²⁻ u vodi



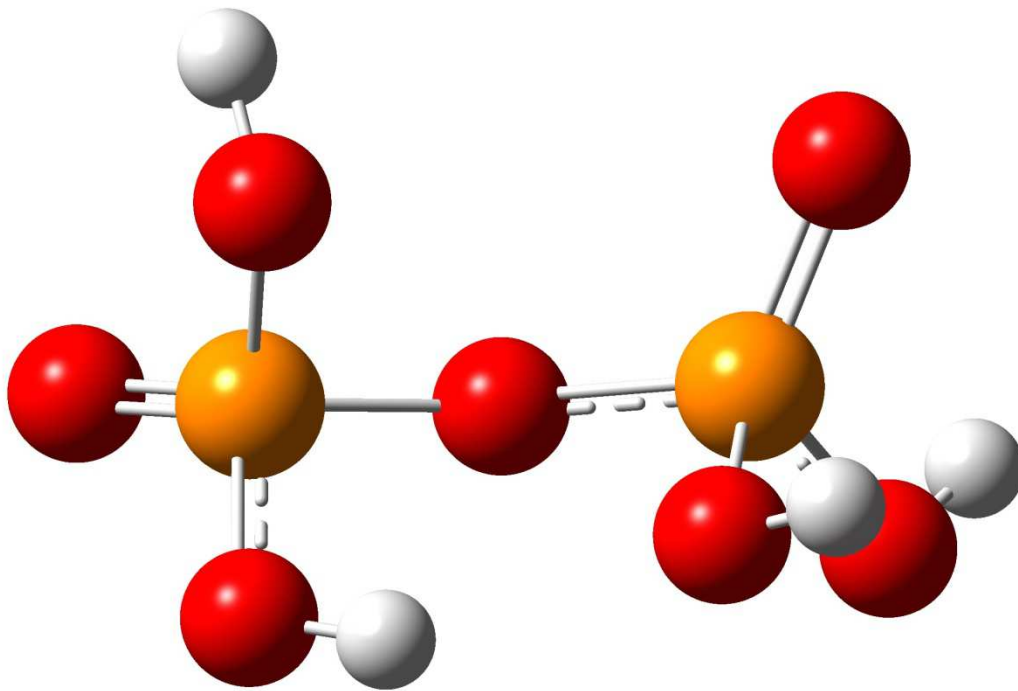
Slika 17. Prikaz strukture molekule ADP-a u plinovitoj fazi



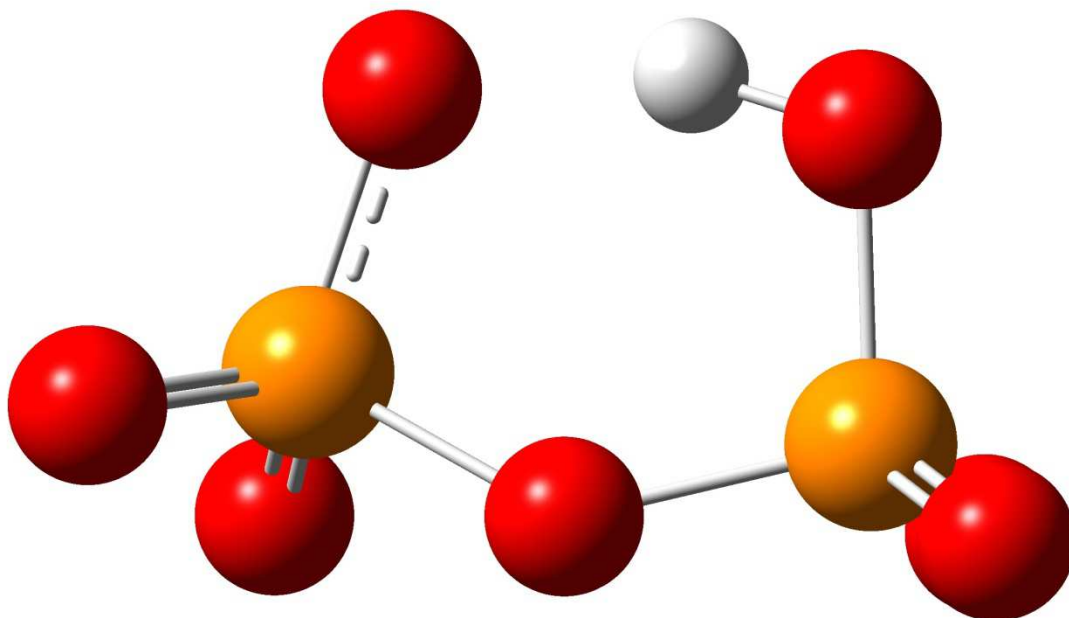
Slika 18. Prikaz strukture iona AMP⁻ u vodi



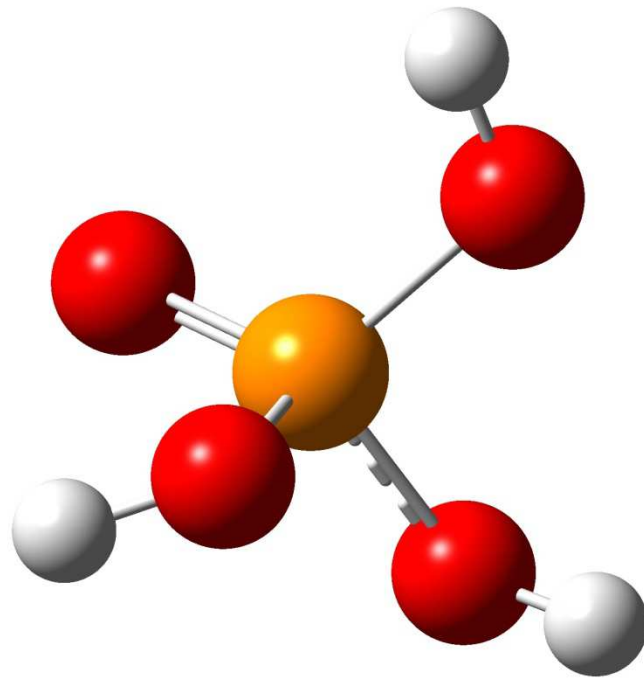
Slika 19. Prikaz strukture molekule AMP-a u plinovitoj fazi



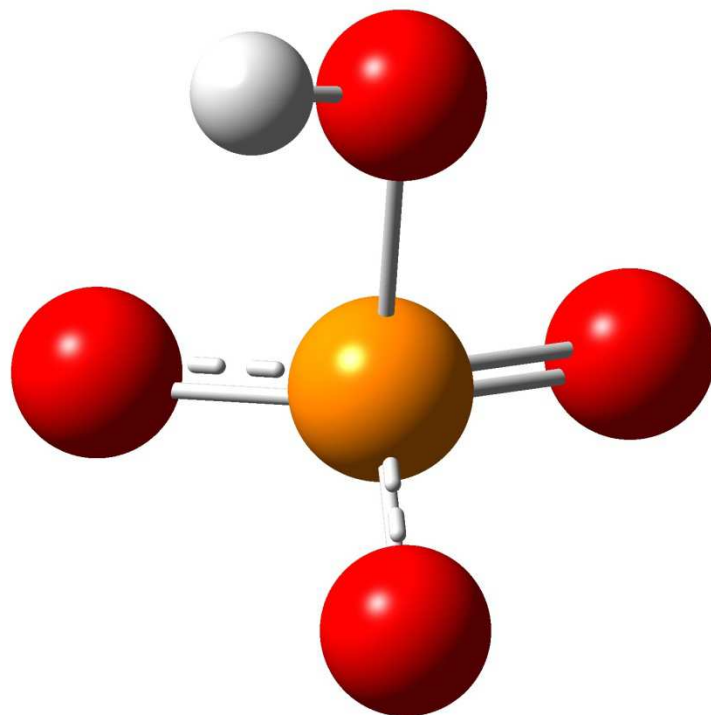
Slika 20. Prikaz strukture molekule pirofosfata, H₄P₂O₇



Slika 21. Prikaz strukture iona pirofosfata, HP₂O₇³⁻



Slika 22. Prikaz strukture molekule ortofosfata, H₃PO₄



Slika 23. Prikaz strukture iona ortofosfata, HPO₄²⁻

4. Zaključak

Kvantnokemijski izračuni za molekule i reakcije razmatrane u ovom radu pokazuju dobar trend. Što se tiče utjecaja vode u reakcijama ATP-a, kvantnokemijski izračuni potvrđuju da je taj utjecaj ključan za razumijevanje i opis izmjene energije u biološkim procesima u živim organizmima. Premda je metoda kvantnokemijskih zasnovana na egzaktnim temeljima, ona je upravo zato jako zahtjevna, ali i obećavajuća. Rezultati izloženi u ovom radu mogu biti samo početni korak u nastojanju da se kvantna kemija uspješno primijeni i na biološki aktivnim molekulama. Najteži dio u tome nastojanju nalazi se u što boljoj simulaciji stvarnog okruženja u kojima se zbivaju biokemijske reakcije.

Literatura:

Marko Sklezur, „Energija vodikovih veza različitih nakupina molekula vode“, Završni rad, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2010.

Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Luberg Stryer, Biokemija, 1. Izdanje, Zagreb, 2013.

Levine I. N. , Quantum Chemistry, 5. izdanje, 2000.

ŽIVOTOPIS

OSOBNI PODACI:

IME I PREZIME: Lucija Vujević
ADRESA: Drage Kodrmana 9, Zaprešić
TELEFON: 01 3319281
MOBITEL: 095 7246 245
E-MAIL: lucijavujevic@gmail.com
DATUM ROĐENJA: 08. 12. 1993.

OBRAZOVANJE:

2013. – 2016.: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb
smjer: Primjenjena kemija
2009. – 2013.: Opća gimnazija Ban Josip Jelačić, Zaprešić

STRANI JEZICI:

engleski jezik – aktivno u govoru i pismu

POSEBNA ZNANJA I VJEŠTINE:

Odlično poznavanje rada na računalu:

MS Office paket (Excel, Word, Powerpoint)