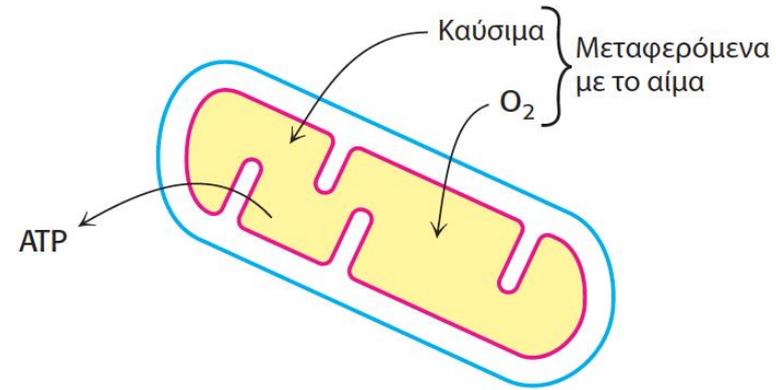
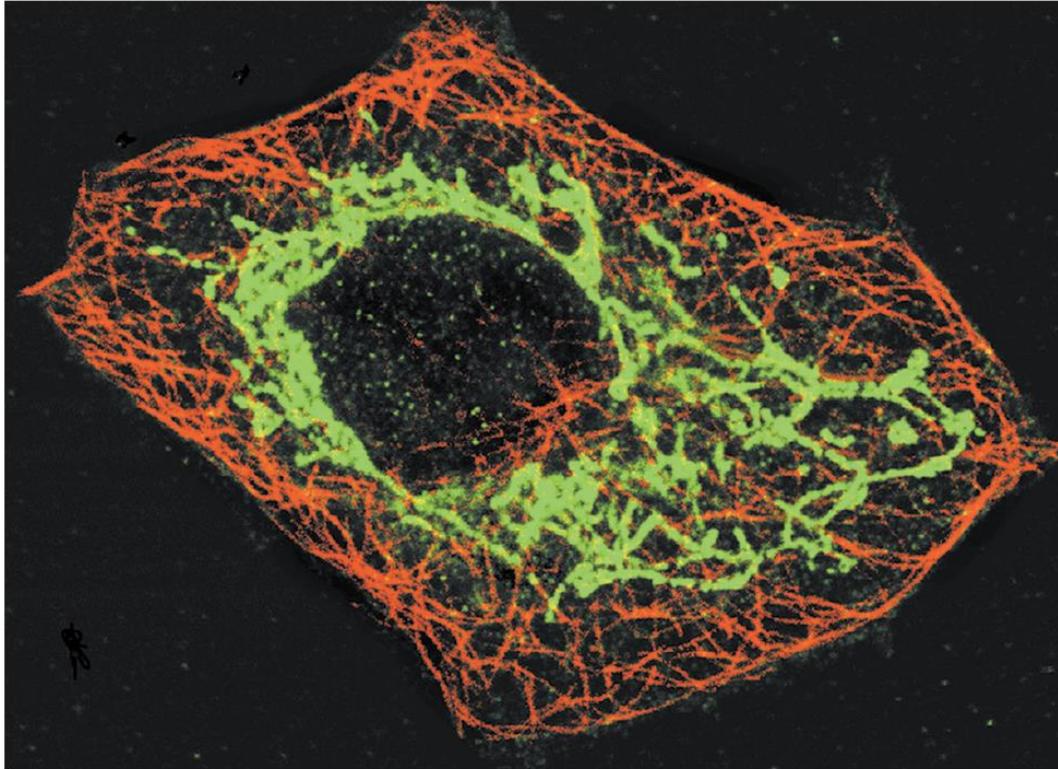


# ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ



Τα μιτοχόνδρια, χρωματισμένα πράσινα, σχηματίζουν ένα δίκτυο μέσα σε μια ινοβλάστη (αριστερά). Τα μιτοχόνδρια οξειδώνουν καύσιμα οργανικά μόρια για την παραγωγή κυτταρικής ενέργειας στη μορφή ATP. [(Αριστερά) Ευγενική προσφορά Michael P. Yaffee, Dept. of Biology, University of California at San Diego.]

Ένας άνδρας με καθιστική ζωή και βάρος 70 κιλά χρειάζεται περίπου 2000 kcal

Για να παραχθεί τόση ενέργεια απαιτούνται 83 kg ATP!

Ο άνθρωπος δεν έχει παρά μόνο 250 g ATP ανά πάσα στιγμή.

## Η Οξειδωτική Φωσφορλίωση

### Αναλύει και εξηγεί:

Που καταναλώνονται όλα τα αναγωγικά ενδιάμεσα του μεταβολισμού



Πώς αυτά δημιουργούν βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

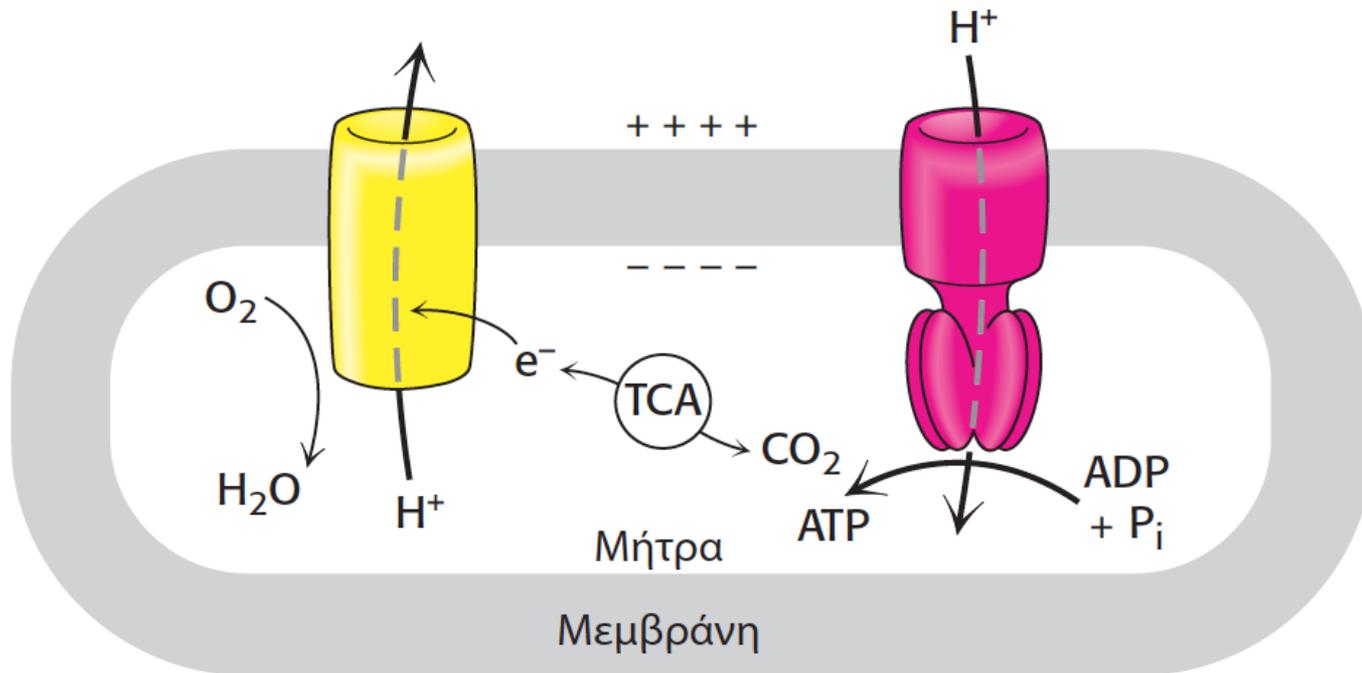
Πώς αυτή η βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων παράγει ATP



## Αναπνοή

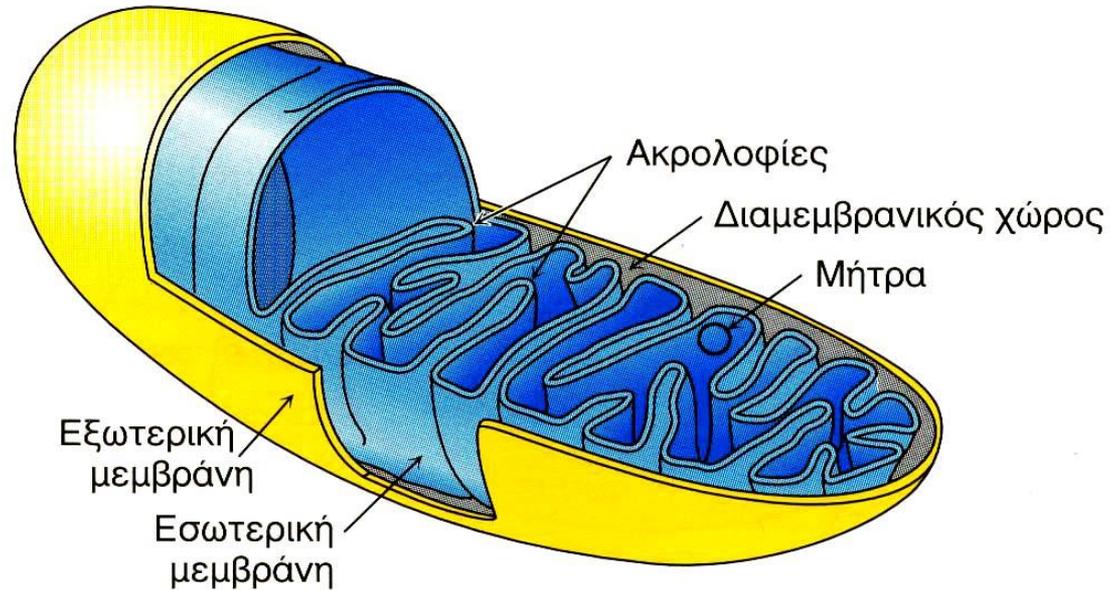
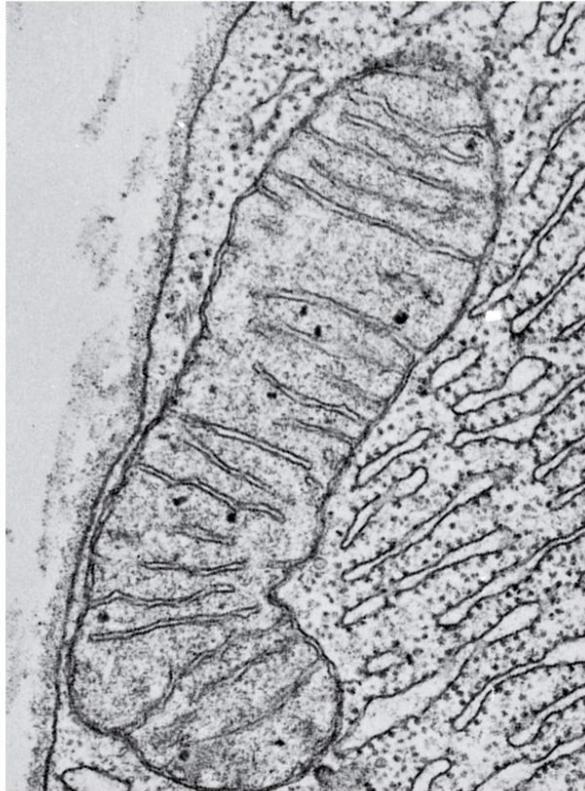
Μια διεργασία η οποία παράγει ATP και κατά την οποία μια ανόργανη ουσία (όπως το μοριακό οξυγόνο) λειτουργεί ως τελικός δέκτης ηλεκτρονίων. Ο δότης ηλεκτρονίων μπορεί να είναι είτε κάποια οργανική, είτε κάποια ανόργανη ένωση

**Οξειδωτική Φωσφορυλίωση (Ο.Φ.):** είναι η διεργασία στην οποία παράγεται ATP (26 από 30 μόρια ATP της G) και βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης κατά τη μεταφορά  $e^-$  από το NADH ή το  $FADH_2$  προς το  $O_2$  δια μέσου μιας σειράς φορέων ηλεκτρονίων



2x0,5 μm διαστάσεις βακτηρίου

**Η Ο.Φ. λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια-εσωτερική μεμβράνη κύκλος του κιτρικού και οξείδωση λιπαρών οξέων λαμβάνουν χώρα στη μήτρα**



Η εξωτερική μεμβράνη είναι διαπερατή από όλα τα μικρά μόρια (μιτοχονδριακή μεμβράνη). Μήτρα (-) προς κυτοσόλιο (+)

**Η εσωτερική μεμβράνη είναι αδιαπέραστη από όλα τα ιόντα και τα πολικά μόρια.**

**Η μεταφορά επιτελείται με τη βοήθεια μιας οικογένειας μεταφορέων.**

Ο άνθρωπος έχει συνολικά ~14.000 m<sup>2</sup> εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης, όσο περίπου τρία γήπεδα ποδοσφαίρου!!!

**ΕΙΚΟΝΑ 18.1** Ηλεκτρονιομικρογραφία ενός μιτοχονδρίου. [Ευγενική προσφορά Dr. George Palade.]



Γιατί τα ηλεκτρόνια πηγαίνουν από ένα άτομο σε ένα άλλο;

Λόγο ηλεκτρανητικότητας

H 2.1							He 0
Li 0.98	Be 1.57	B 2.04	C 2.55	N 3.04	O 3.44	F 3.98	Ne 0
Na 0.93	Mg 1.31	Al 1.61	Si 1.9	P 2.19	S 2.58	Cl 3.16	Ar 0

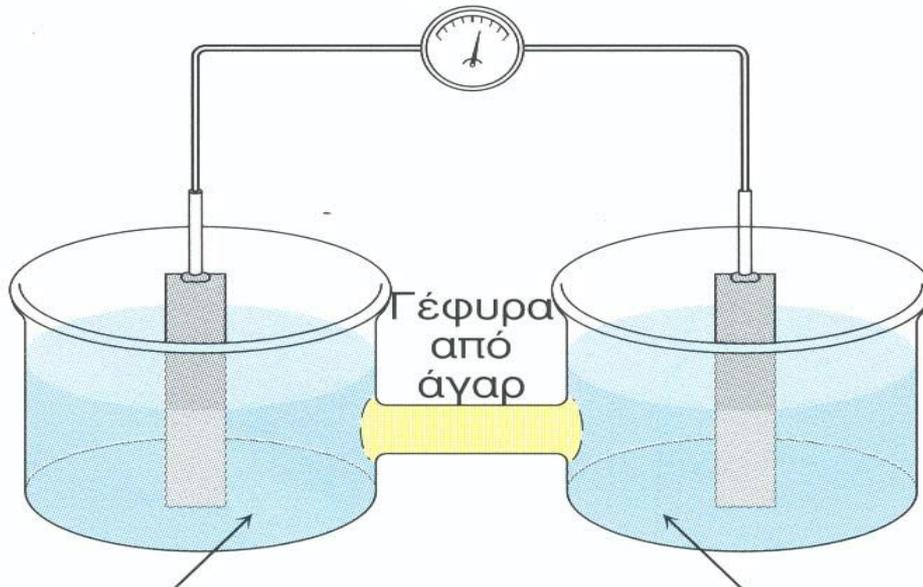
Το ίδιο ισχύει και για το ίδιο άτομο (C, N, S, O) όταν βρίσκεται σε διαφορετικές ομάδες άτομα π.χ. C

Amide > Acid > Alcohol > Ketone ~ Aldehyde > Amine > Ester > Ether > Alkane

**Τελικά εφαρμόζεται και σε ενώσεις**

## Με συγκεντρώσεις 1M και ημιστοιχείο αναφοράς αυτό του H<sub>2</sub>

Βολτόμετρο



Διάλυμα από  
1M X και 1M X<sup>-</sup>

1M H<sup>+</sup> σε ισορροπία  
με αέριο H<sub>2</sub>  
σε πίεση 1 atm

Σύμφωνα με τις εξισώσεις:



Το δυναμικό αναγωγής του X:X<sup>-</sup> είναι η εναρκτήρια διαφορά δυναμικού σε συγκεντρώσεις 1M σε σύγκριση με αυτό του H<sup>+</sup>:H<sub>2</sub> δηλαδή 0 Volt.

Αρνητικό δηλώνει ότι η ουσία έχει μικρότερη συγγένεια για τα e από το H<sub>2</sub>

Θετικό δηλώνει ότι η ουσία έχει μεγαλύτερη συγγένεια για τα e από το H<sub>2</sub>

ΙΣΧΥΡΑ αναγωγικό (NADH) ==> μικρή ηλεκτρονική συγγένεια ==> αρνητικό V<sub>redox</sub>

ΙΣΧΥΡΑ οξειδωτικό (O<sub>2</sub>) ==> μεγάλη ηλεκτρονική συγγένεια ==> θετικό V<sub>redox</sub>

**ΠΙΝΑΚΑΣ 18.1** Πρότυπα δυναμικά αναγωγής μερικών αντιδράσεων.

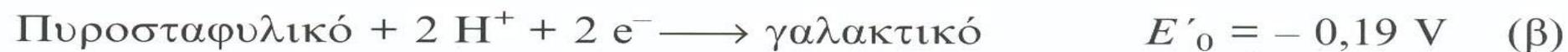
Οξειδωτικό	Αναγωγικό	<i>n</i>	$E'_{o}$ (V)
Ηλεκτρικό + CO <sub>2</sub>	<i>α</i> -Κετογλουταρικό	2	- 0,67
Οξικό	Ακεταλδεΐδη	2	- 0,60
Φερρεδοξίνη (οξειδωμένη)	Φερρεδοξίνη (ανηγμένη)	1	- 0,43
2 H <sup>+</sup>	H <sub>2</sub>	2	- 0,42
NAD <sup>+</sup>	NADH + H <sup>+</sup>	2	- 0,32
NADP <sup>+</sup>	NADPH + H <sup>+</sup>	2	- 0,32
Λιποϊκό (οξειδωμένο)	Λιποϊκό (ανηγμένο)	2	- 0,29
Γλουταθείο (οξειδωμένο)	Γλουταθείο (ανηγμένο)	2	- 0,23
Ακεταλδεΐδη	Αιθανόλη	2	- 0,20
Πυροσταφυλικό	Γαλακτικό	2	- 0,19
Φουμαρικό	Ηλεκτρικό	2	0,03
Κυτόχρωμα <i>b</i> (+3)	Κυτόχρωμα <i>b</i> (+2)	1	0,07
Δεϋδροασκορβικό	Ασκορβικό	2	0,08
Ουβικινόνη (οξειδωμένη)	Ουβικινόνη (ανηγμένη)	2	0,10
Κυτόχρωμα <i>c</i> (+3)	Κυτόχρωμα <i>c</i> (+2)	1	0,22
Fe (+3)	Fe (+2)	1	0,77
½ O <sub>2</sub> + 2 H <sup>+</sup>	H <sub>2</sub> O	2	0,82

Με κύρια διαφορά ότι σύμβολο  $E'_{o}$  ισχύει για pH=7

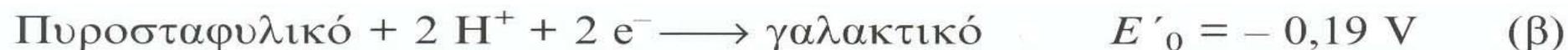
$$\Delta G^{o'} = -nF\Delta E'_{o}$$

*n*- ο αριθμός των μεταφερόμενων e, F (1 Faraday) = 23,06kcal/mol.V  $\Delta E'_{o}$  (V) και  $\Delta G^{o'}$  (kcal ή kJ)





**Για να προκύψει η (α) πρέπει οι (β) και (γ) να γίνουν:**



Για την αντίδραση (β), η ελεύθερη ενέργεια υπολογίζεται με  $n = 2$  ως,

$$\Delta G^{\circ'} = -2 \times 23,06 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times (-0,19) \text{ V}$$

$$\Delta G^{\circ'} = + 8,8 \text{ kcal mol}^{-1} (36,7 \text{ kJ mol}^{-1}).$$

Παρομοίως, για την αντίδραση (δ),

$$\Delta G^{\circ'} = -2 \times 23,06 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times (+0,32) \text{ V}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -14,8 \text{ kcal mol}^{-1} (61,7 \text{ kJ mol}^{-1}).$$

Άρα, η ελεύθερη ενέργεια της αντίδρασης (α) δίνεται από

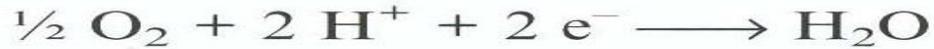
$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^{\circ'} (\text{αντίδρασης } \beta) + \Delta G^{\circ'} (\text{αντίδρασης } \delta)$$

$$\Delta G^{\circ'} = + 8,8 + (-14,8) \text{ kcal mol}^{-1}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -6,0 \text{ kcal mol}^{-1} (-25,1 \text{ kJ mol}^{-1}).$$

**Με τη σύζευξη αντιδράσεων λαμβάνει χώρα μια αντίδραση που από μόνη της δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί**

Η κινητήρια δύναμη της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης είναι το δυναμικό μεταφοράς  $e$  του NADH ή FADH<sub>2</sub> σε σχέση με εκείνο του O<sub>2</sub>.



$$E'_{\text{o}} = + 0,82 \text{ V}$$



$$E'_{\text{o}} = + 0,32 \text{ V.}$$

$$\Delta V = +1,14 \text{ V}$$



$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= -nF\Delta E'_{\text{o}} \quad \Delta G^{\circ'} = -2 \times 23,06 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times (+0,82) \text{ V} - \\ &\quad (-2 \times 23,06 \text{ kcal mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times (-0,32) \text{ V}) \\ &= -37,8 \text{ kcal mol}^{-1} - (14,8 \text{ kcal mol}^{-1}) \\ &= -52,6 \text{ kcal mol}^{-1} \quad (-220,1 \text{ kJ mol}^{-1}). \end{aligned}$$

θα χρησιμοποιηθεί για παραγωγή ATP  $\Delta G^{\circ'} = -7.3 \text{ kcal/mol}$



Η παραπάνω (χημική ενέργεια) μετατρέπεται σε βαθμίδωση συγκέντρωσης H<sup>+</sup>

η βαθμίδωση συγκέντρωσης, μπορεί να εκφραστεί σαν ενέργεια

$$\Delta G = RT \ln(c_2/c_1) + ZF\Delta V = 2,302 RT \log_{10}(c_2/c_1) + ZF\Delta V = 5,2 \text{ kcal/mol}$$

διαφορά pH 1,4 ( $\ln c_2/c_1$ ), Z=+1 για πρωτόνια, διαφορά δυναμικού μεμβράνης 0,14 V

Κάθε πρωτόνιο μεταφέρεται  $E \times \Omega$  από τη μήτρα του μιτοχονδρίου ==> διαμεμβρανικό χώρο με κατανάλωση 5.2 kcal/mol ελεύθερης ενέργειας!!!

$\Delta G^{0'} = -52.6 \text{ Kcal mol}^{-1} \dots$

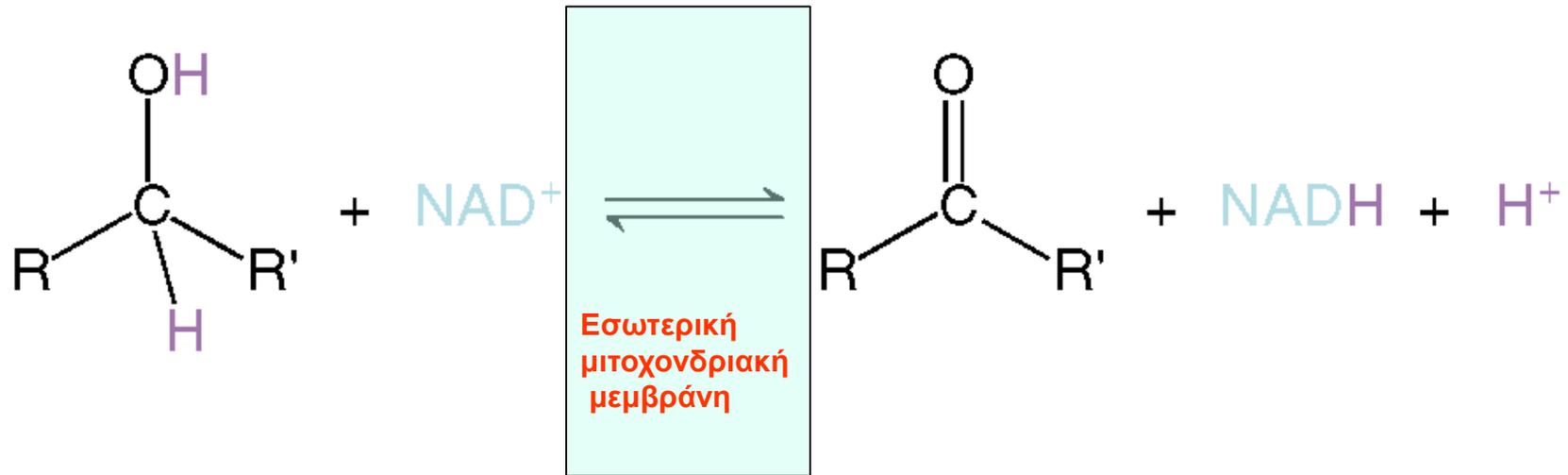
**ΜΟΝΟ**  $21.9 \text{ Kcal mol}^{-1}$  (3 x 7,3 kcal/mol) για ATPs. **(40%)**

**ΥΠΟΛΟΙΠΟ**  $30.7 \text{ Kcal mol}^{-1}$  **(60%)**

-- **ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ**

-- **Διατήρηση της θερμοκρασίας του σώματος.**

# Παράδειγμα μεταφοράς H<sup>+</sup> και δημιουργία βαθμίδωσης συγκέντρωσης πρωτονίων



Ξεκινώντας την αντίδραση στη μια μεριά της μεμβράνης και τελειώνοντάς την στην άλλη μπορούμε να παράγουμε προϊόντα χρήσιμα για τη βαθμίδωση συγκέντρωσης

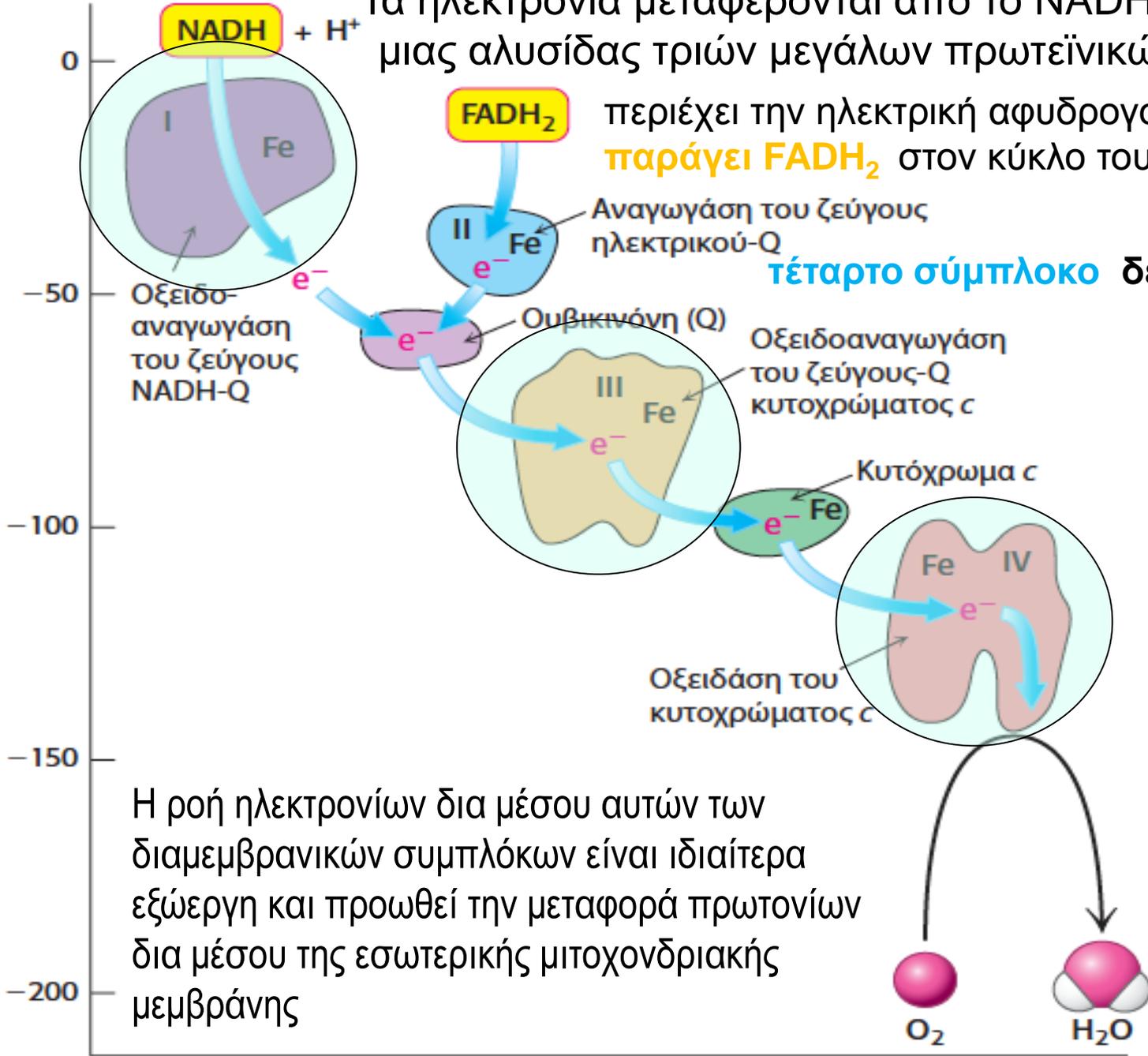
μια πληθώρα αντιδράσεων που μπορούν να επιτελέσουν τον παραπάνω σκοπό



Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται από το NADH στο O<sub>2</sub> μέσω μιας αλυσίδας τριών μεγάλων πρωτεϊνικών συμπλόκων

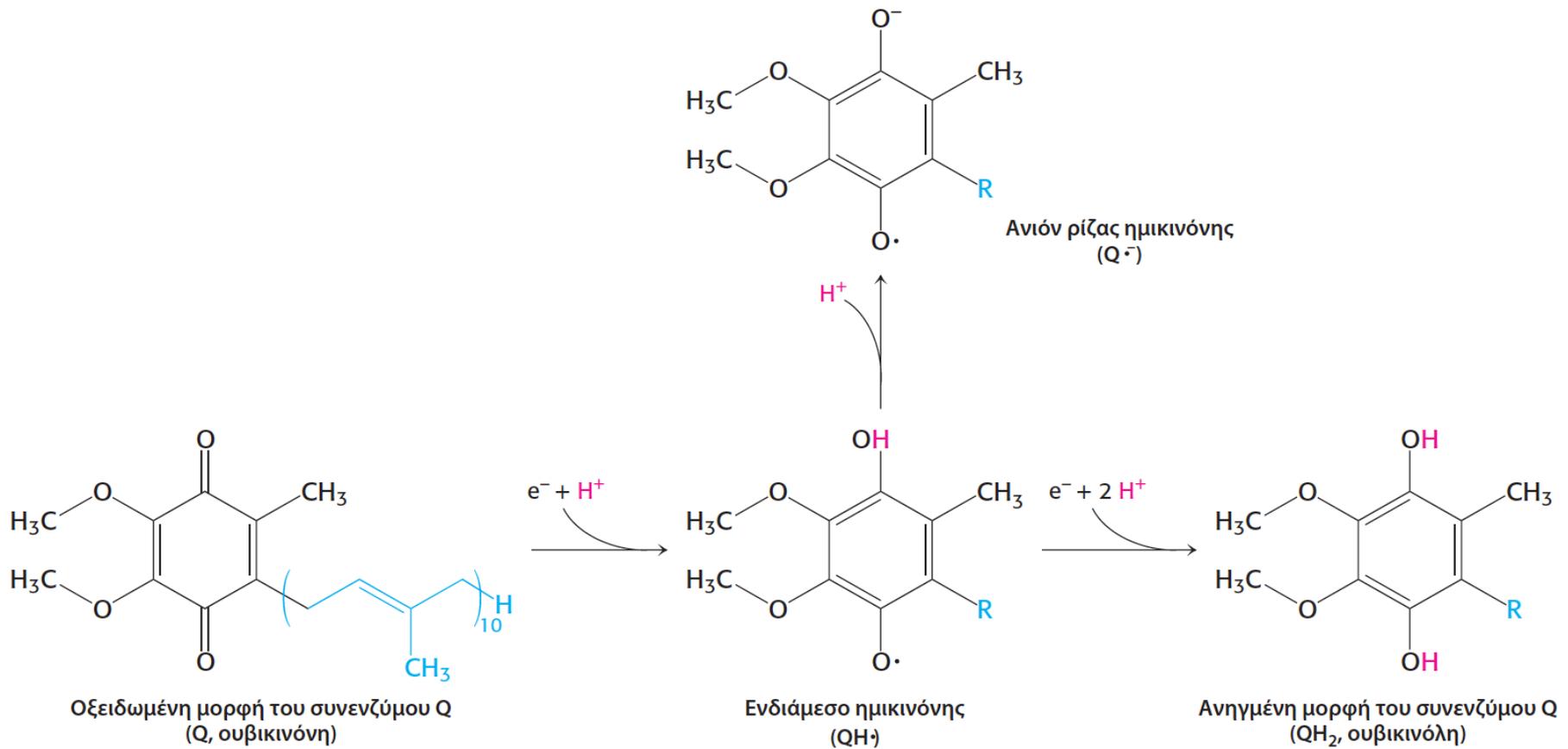
περιέχει την ηλεκτρική αφυδρογονάση η οποία παράγει FADH<sub>2</sub> στον κύκλο του κιτρικού οξέος.

Ελεύθερη ενέργεια σε σχέση με το O<sub>2</sub> (kJ mol<sup>-1</sup>)



**τέταρτο σύμπλοκο** δεν αντλεί H<sup>+</sup>

Η ροή ηλεκτρονίων δια μέσου αυτών των διαμεμβρανικών συμπλόκων είναι ιδιαίτερα εξώεργη και προωθεί την μεταφορά πρωτονίων δια μέσου της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης



**Εικόνα 18.7 Καταστάσεις οξείδωσης των κινονών.** Η αναγωγή της ουβικινόνης (Q) σε ουβικινόλη ( $QH_2$ ) προχωρεί μέσω ενός ενδιάμεσου ημικινόνης ( $QH^{\cdot}$ ).

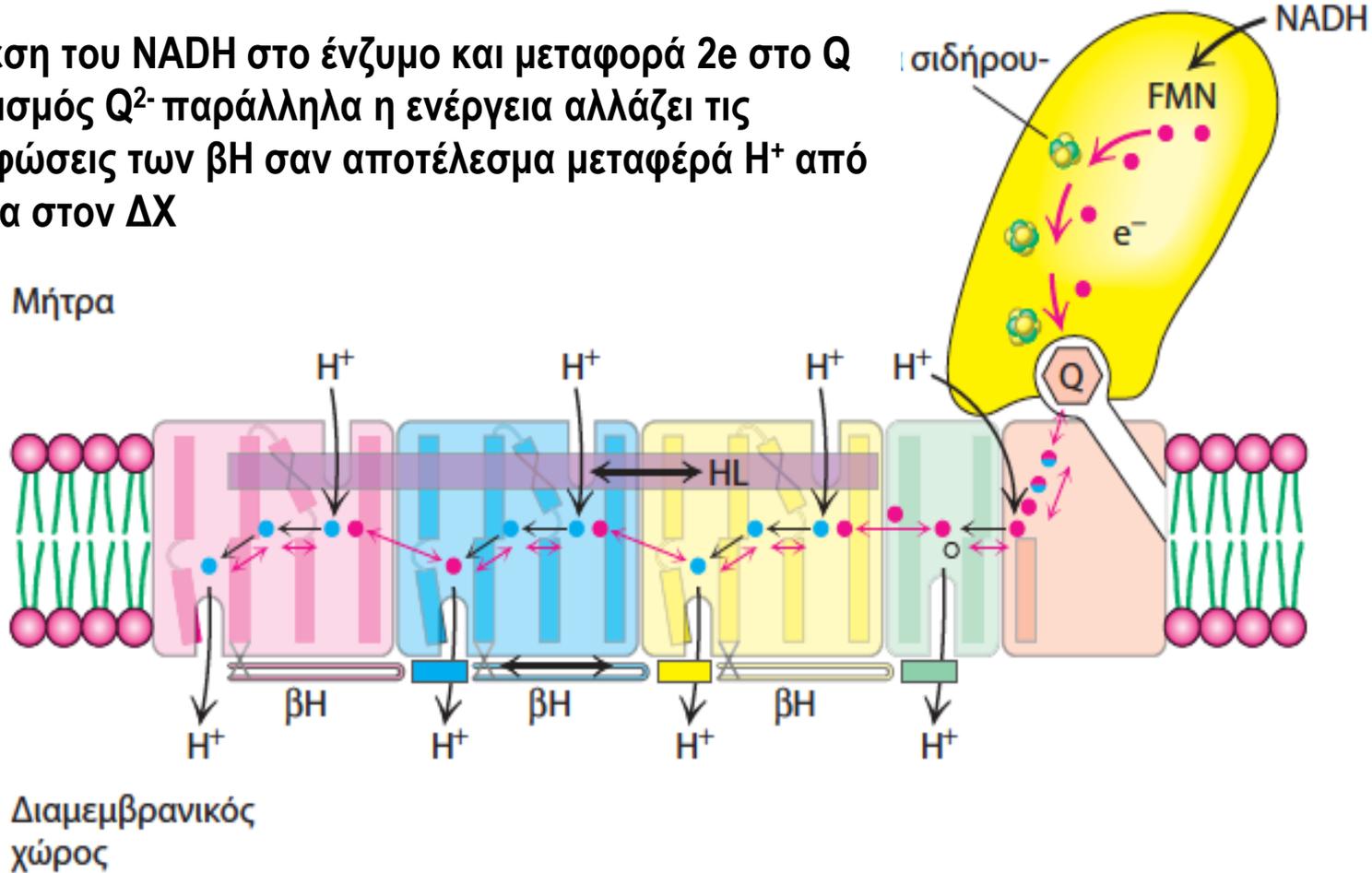
Η μεταφορά  $e^-$  οδηγεί σε απορρόφηση  $H^+$  το οποίο με την σειρά του οδηγεί σε βαθμίδωση συγκέντρωσης  $H^+$

Η βαθμίδωση συγκέντρωσης  $H^+$  μπορεί να επιτύχει είτε με απορρόφηση ή με παραγωγή  $H^+$

Τα ηλεκτρόνια υψηλού δυναμικού του NADH εισέρχονται στην αναπνευστική αλυσίδα μέσω της οξειδοαναγωγής του ζεύγους NADH-Q

Η ολική αντίδραση:  $\text{NADH} + \text{Q} + 5\text{H}^+$  μήτρας  $\rightarrow \text{NAD}^+ + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+$  διαμεμβρανικό χώρο (ΔΧ)

πρόσδεση του NADH στο ένζυμο και μεταφορά 2e στο Q  
σχηματισμός Q<sup>2-</sup> παράλληλα η ενέργεια αλλάζει τις  
διαμορφώσεις των βΗ σαν αποτέλεσμα μεταφέρα H<sup>+</sup> από  
τη μήτρα στον ΔΧ



Το Q<sup>2-</sup> άντληση 2 επιπλέον H<sup>+</sup> από τη μήτρα του μιτοχονδρίου σχηματισμός QH<sub>2</sub>

# Μηχανισμός/παράδειγμα μεταφοράς $e^-$ και απορρόφησης $H^+$

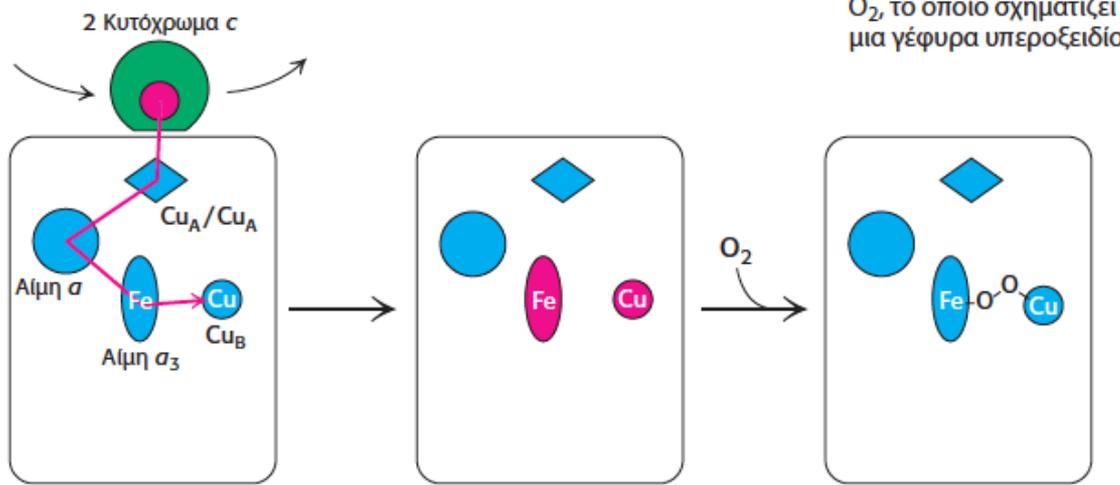
Jeremy M. Berg et. al., ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ, ΠΕΚ 2017, www.cup.gr

Η οξειδάση του ΚΥΤ.-C περιέχει δυο ομάδες αίμης α και α3 και ιόντα Cu. Ο  $Fe^{3+}$  όπως και ο  $Cu^{2+}$  μπορούν να αλλάζουν σθένος (3+, 2+ και 2+, 1+)

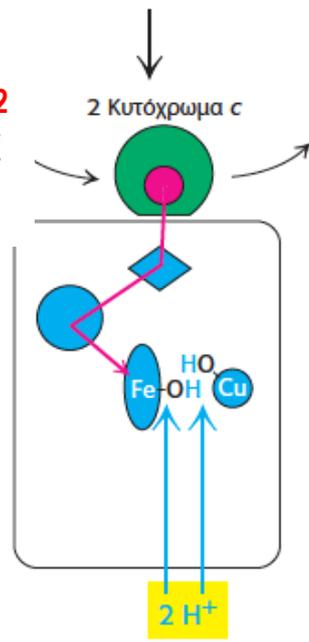
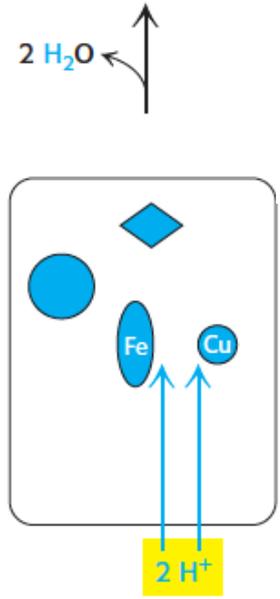
2X  $e^-$  ενώνονται & ανάγονται από  $H^+$  σε H. Με αυτό τον τρόπο αντλούνται 2X $H^+$  από την μια μεριά της μεμβράνης, συνολικά 4X  $H^+$

1. Δύο μόρια ανηγμένου κυτοχρώματος c διαδοχικά μεταφέρουν ηλεκτρόνια για να αναγάγουν τον  $Cu_B$  και την αίμη  $\alpha_3$ .

2. Τα ανηγμένα  $Cu_B$  και Fe στην αίμη  $\alpha_3$  προσδέονται  $O_2$ , το οποίο σχηματίζει μια γέφυρα υπεροξειδίου.



Πρόσδεση με το μοριακό  $O_2$  αφαιρεί ένα  $e^-$  από τα ιόντα  $Fe^{+2}$  όπως και ο  $Cu^{+1}$



4. Η προσθήκη άλλων δύο πρωτονίων οδηγεί στην απελευθέρωση δύο μορίων ύδατος.

3. Η προσθήκη δύο επιπλέον ηλεκτρονίων και δύο επιπλέον πρωτονίων διασπά τη γέφυρα υπεροξειδίου.

# Πιθανά βλαβερά παραπροϊόντα αναγωγής του μοριακού οξυγόνου

Το O<sub>2</sub> αποτελεί τον ιδανικό τελικό αποδέκτη ηλεκτρονίων και η τελική ένωση H<sub>2</sub>O είναι πολύ σταθερή αλλά δεν ισχύει το ίδιο για τα ενδιάμεσα παρόλο που ο καταλύτης για ασφάλεια δεν απελευθερώνει μερικώς ανηγμένα προϊόντα



Τα επικίνδυνα ενδιάμεσα (**ελεύθερες ρίζες**) αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά από:

τη δισμουτάση του σουπεροξειδίου ως εξής:  $2\text{O}_2^{\cdot-} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$

στη συνέχεια με τη δράση της καταλάσης:  $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$

- αντιοξειδωτικές βιταμίνες E και C.

**Μια σειρά από ασθένειες προκαλούνται από βλάβη μέσω ελεύθερων ριζών**

# Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ATP ΩΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ

Πως συνδέεται \_είναι συζευγμένη\_ η εξώεργη αντίδραση(=ροή e):



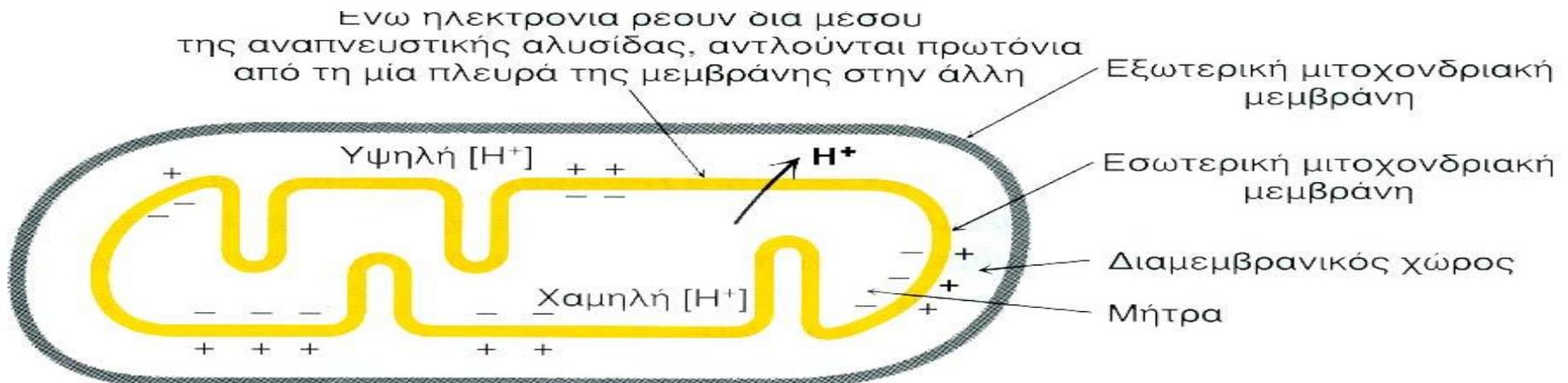
με τη σύνθεση της ATP :



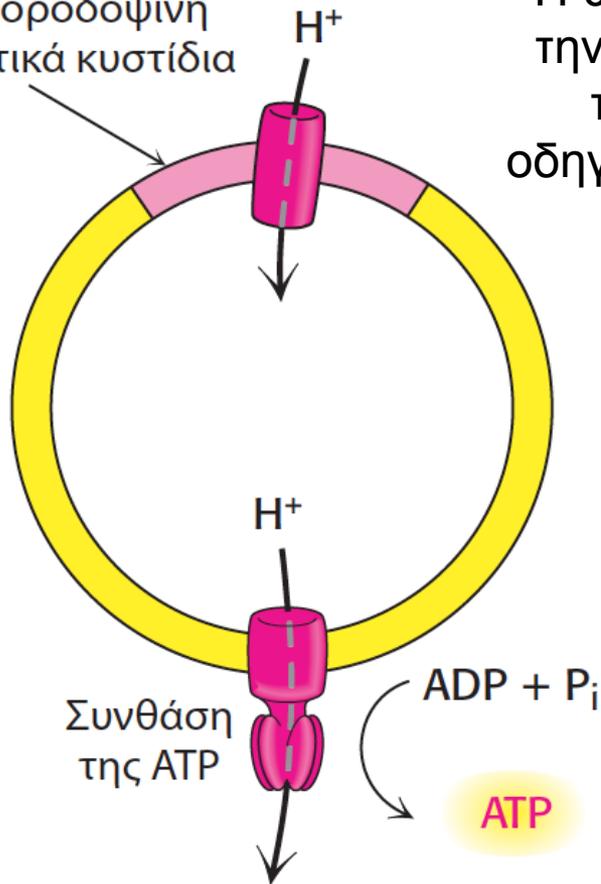
Πραγματοποιείται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη από το ενζυμικό σύστημα της μιτοχ. ATPασης ή  $F_1F_0$ ATPασης = **συνθάση της ATP ή σύμπλοκο V**

Η μεταφορά e και η σύνθεση της ATP \_είναι συζευγμένες με τη ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ  $\text{H}^+$  μεταξύ των δύο πλευρών της μιτοχ. μεμβράνης (ΕΣΩΤΕΡΙΚΗΣ).

...με μικρότερη  $[\text{H}^+]_{\text{μήτρα}} \implies$  ΔΙΑΦΟΡΑ ηλεκτροχημικού δυναμικού  $\implies$  με (-) στο εσωτερικό της-**χημειοσμωτική υπόθεση Mitchell...**



Βακτηριοροδοψίνη  
σε συνθετικά κυστίδια



Η υπόθεση επιβεβαιώθηκε πειραματικά (βιοχημικά) με την κατασκευή κυστιδίων, τα όποια παρείχαν αυξημένη ποσότητα  $H^+$  εσωτερικά στην συνέχεια η αύξηση  $H^+$  οδηγούσε σε λειτουργία της ATPάσης και την παραγωγή **ATP**

**Εικόνα 18.23 Έλεγχος της χημειωσμωτικής υπόθεσης.** Η ATP συντίθεται όταν φωτιστούν ανασυγκροτημένα μεμβρανικά κυστίδια που περιέχουν βακτηριοροδοψίνη (μια αντλία πρωτονίων ωθούμενη από το φως) και συνθάση της ATP. Ο προσανατολισμός της συνθάσης της ATP σε αυτή την ανασυγκροτημένη μεμβράνη είναι αντίστροφος του φυσιολογικού στα μιτοχόνδρια.

Η ATP συντίθεται όταν φωτιστούν ανασυγκροτημένα μεμβρανικά κυστίδια που περιέχουν βακτηριοροδοψίνη (μια αντλία πρωτονίων ωθούμενη από το φως) και συνθάση της ATP. Ο προσανατολισμός της συνθάσης της ATP σε αυτή την ανασυγκροτημένη μεμβράνη είναι αντίστροφος του φυσιολογικού στα μιτοχόνδρια.

Το συγκεκριμένο πείραμα αποδεικνύει ότι η σύνθεση του ATP είναι διαφορετικά συστήματα

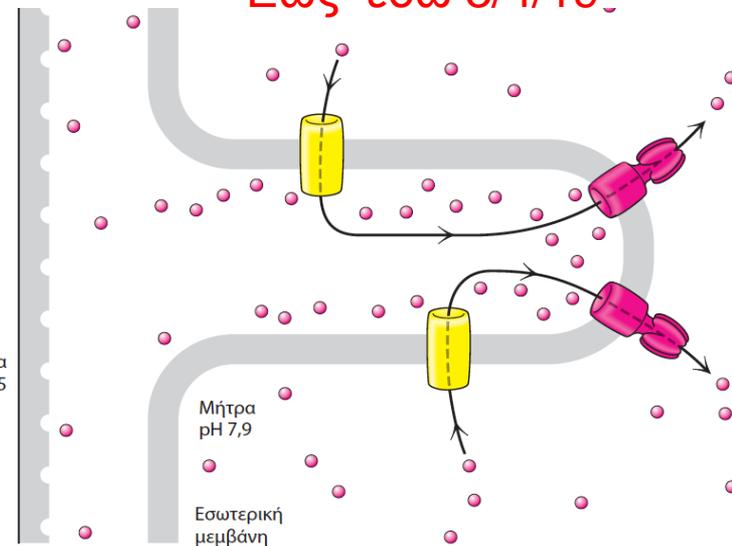
## Μοριακή Ανατομία!!

Οι ATP συνθάσες σχηματίζουν διμερή τα οποία με την σειρά τους διευκολύνουν τον σχηματισμό ακρολοφιών που περιορίζουν την βαθμίδωση συγκέντρωσης των  $H^+$

Κυτταρόπλασμα  
pH 7,35

Εξωτερική  
μεμβράνη

Έως εδώ 3/4/19



**πρωτονιοκίνητη Δύναμη** οδηγεί στη σύνθεση της ATP από το σύμπλοκο V-σύνθεσης της ATP.

Υποστηρίζεται από τη διαφορά **pH των 1,4 μονάδων** από τη μήτρα στο δ.χώρο και τη διαφορά δυναμικού της μεμβράνης **0,14 V - (+)** στο εξωτερικό  **$\Delta G^{\circ} = 5,2 \text{ kcal mol}^{-1}$**

Σημαντικότερο ρόλο στην πορεία αυτή παίζει η συνθάση της ATP  
(η μικρότερη μοριακή μηχανή στον κόσμο!)

έχει δύο λειτουργικές συνιστώσες:

1\_κινούμενη μονάδα περιστροφεία δακτύλιο c και ο μίσχος  $\gamma \epsilon$

...που αποτελείται από την υπομονάδα  **$F_0$  (10 έως 14c+a)**=  
διάυλος πρωτονίων του συμπλόκου

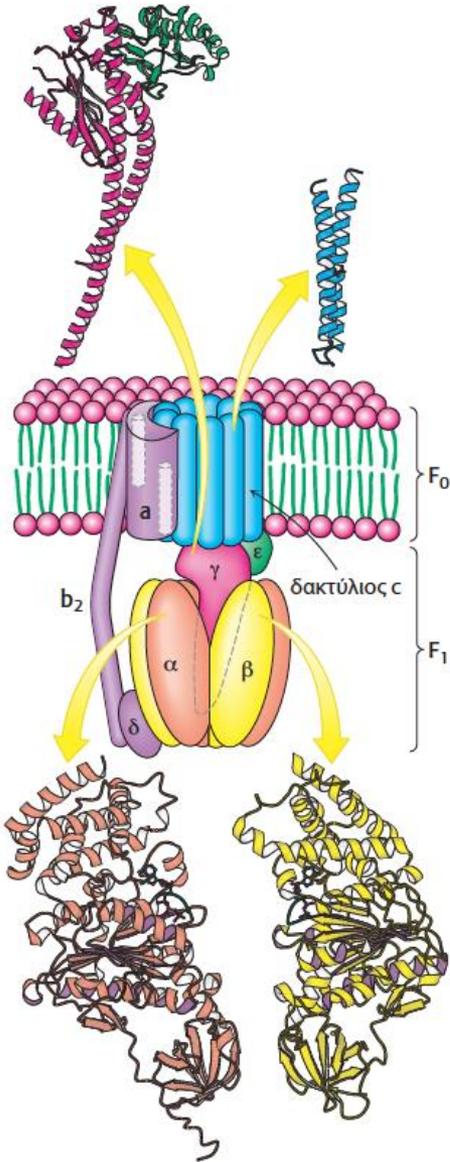
2\_στατική μονάδα=στάτορα=το υπόλοιπο του μορίου

...που αποτελείται από τις υπομονάδες  **$F_1$  - $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$** -  
με τις  $\beta$  να συμμετέχουν άμεσα στην κατάλυση...

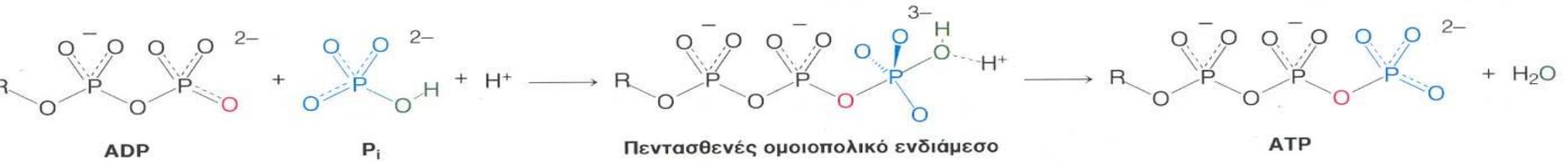
οι οποίες συνδέονται με δύο τρόπους:

1\_μέσω του **μίσχου  $\gamma \epsilon$**

2\_μέσω εξωτερικής στήλης-**a+2b+ $\delta$** .



Η αντίδραση που καταλύει η συνθάση της ATP είναι:  $ADP^{3-} + P_i^{2-} + H^+ \rightleftharpoons ATP^{4-} + H_2O$



Με ποιον τρόπο η ροή των  $H^+$  ωθεί τη σύνθεση της ATP;

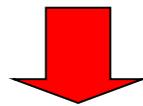
σύνθεση της ATP λαμβάνει χώρα ακόμη και χωρίς την παρουσία της πρωτονιοκίνητης Δύναμης λόγω υψηλής συγγένειας πρόσδεσης του ATP με την υπομονάδα  $\beta$ .

ίσες ποσότητες ATP και ADP είναι προσδεμένες στην περιοχή πρόσδεσης και σε ισορροπία

$ADP + P_i \leftrightarrow ATP$  με  $K_\alpha$  και  $ATP + \beta \leftrightarrow \beta ATP$  με  $K_\beta$  εάν  $K_\beta$  πολύ μεγαλύτερη από την  $K_\alpha$  τότε  $ADP + P_i + \beta \rightarrow \beta ATP$  K

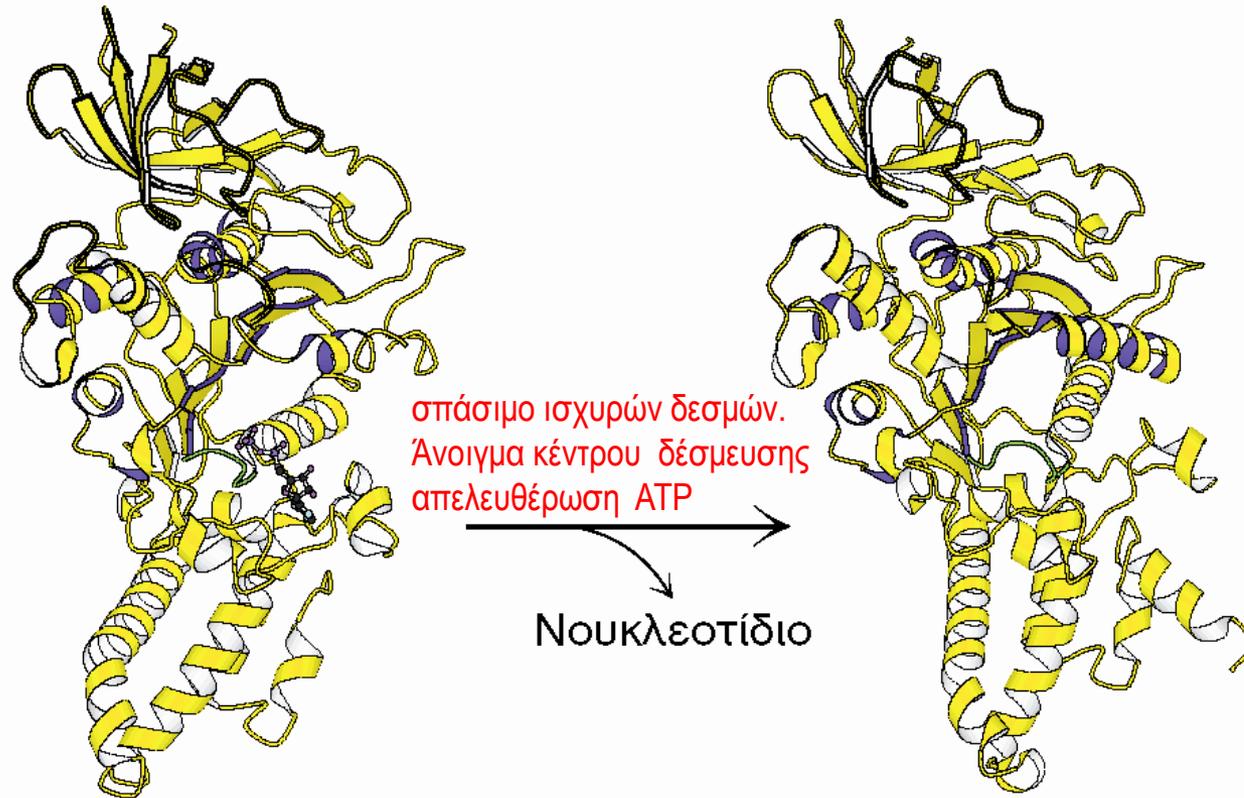
το πρόβλημα είναι: πώς θα απελευθερωθεί το ATP από μια πρωτεΐνη που προσδέεται παρά πολύ ισχυρά μαζί της,  $\Delta G^0$  θα πρέπει να είναι  $> -7,3$  ( $\Delta G^0$  της  $K_\alpha$ )

Ο ρόλος της βαθμίδωση  $[H^+]$  δεν είναι να σχηματίσει ATP **αλλά** να την ελευθερώσει από το ένζυμο.



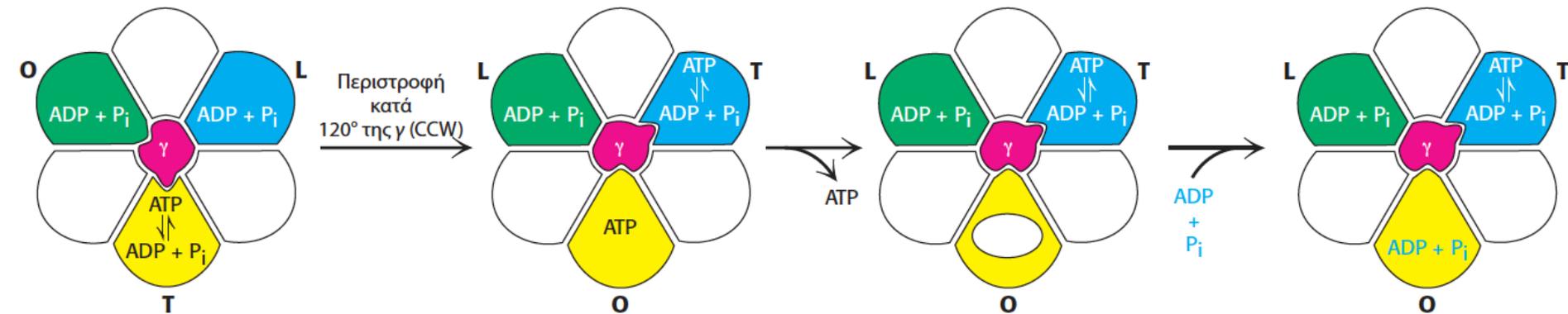
Με την αριστερόστροφη περιστροφή των  $\beta$  υπομονάδων γύρω από τη  $\gamma$

# Με την περιστροφή αλλάζει το περιβάλλον της πρωτεΐνης και η συγγένεια πρόσδεσης με το ATP



Αυτό βέβαια προϋποθέτει σπάσιμο (ενέργεια) όλων των ισχυρών δεσμών που συγκρατούν το **ATP** στην πρωτεΐνη

# Σύνθεση ATP με Κίνηση αντίθετη εκείνης των δεικτών του ρολογιού



**T** (tight) τάση πρόσδεσης ADP και  $P_i$  με σχηματισμό ATP

**O** με προσθήκη ενέργειας απελευθέρωση (σχηματισμός) ATP

**L** (loose) έχει τάση πρόσδεσης με ADP

# Η ροή πρωτονίων από τον δακτύλιο c ωθεί τη σύνθεση του ATP

η ροή των  $H^+$  γύρω από το δακτύλιο c ωθεί την περιστροφή της  $\gamma$  και τη σύνθεση του ATP

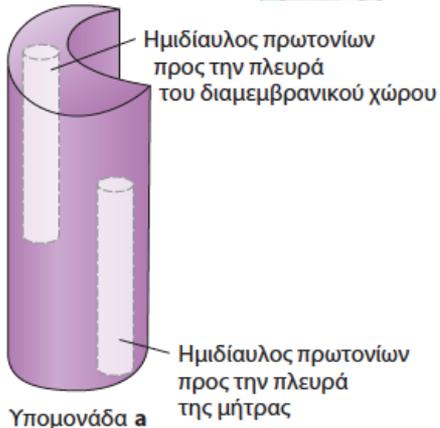
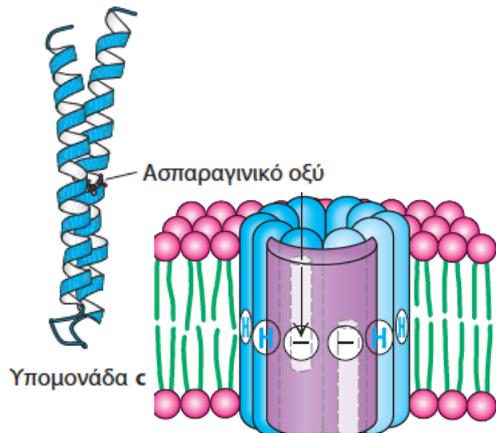
Έχει να κάνει με τις υπομονάδες a και c της  $F_0$  που έχουν ως εξής

Το Asp πρέπει να είναι στην μορφή του αδιάστατου οξέος –COOH (φορτίο 0) όταν βρίσκεται σε επαφή με το υδρόφοβο τμήμα της μεμβράνης

Πρωτόνια μπορούν να μπουν στους ημιδιάυλους της υπομονάδας a αλλά δεν μπορούν να διαπεράσουν τη μεμβράνη.

η όλη διαδικασία προωθείται από πρωτονίων και απο-πρωτονίωση της ομάδας  $-COO^-$  του Asp ( $pK_a=3.86$ , σε pH 3.86  $[-COO^-]/[-COOH]=1$ )

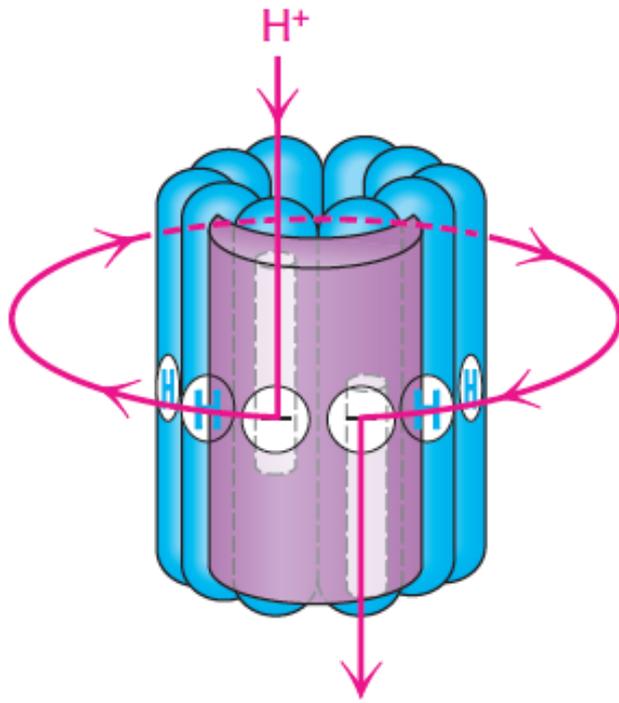
Οι υπομονάδες c, είναι σε επαφή με τους ημιδιάυλους. Τα  $H^+$  μπορούν κινούμενα μέσα στους ημιδιάυλους να πρωτονιώσουν το καρβοξύλιο από το  $Asp^-$  κατάλοιπο της c και να το μετατρέψουν σε Asp ουδέτερο. Τώρα η ουδέτερη πια υπομονάδα c μπορεί να περιστραφεί (αλλά μόνον προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού) και να βρεθεί το Asp μέσα στο (υδρόφοβο)περιβάλλον της μεμβράνης. Ταυτόχρονα ένα άλλο πρωτονιόμενο κατάλοιπο Asp έχει έρθει σε επαφή, λόγω της περιστροφής με τον ημιδιάυλο προς την πλευρά της μήτρας. Επειδή εκεί η συγκέντρωση η συγκέντρωση  $H^+$  είναι πιο χαμηλή ελευθερώνεται το  $H^+$  από το Asp (η αντίδραση πάει προς την αντίθετη κατεύθυνση)



**ΕΙΚΟΝΑ 18.31** Συνιστώσες της πρωτονιοαγωγού μονάδας της συνθάσης της ATP. Η υπομονάδα c αποτελείται από δύο  $\alpha$ -έλικες οι οποίες διαπερνούν τη μεμβράνη. Στην *E.coli* ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού στη μία από τις έλικες βρίσκεται στη μέση της μεμβράνης. Η δομή της υπομονάδας a δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί άμεσα, φαίνεται όμως ότι περιέχει δύο ημιδιάυλους οι οποίοι επιτρέπουν σε πρωτόνια να εισέλθουν και να διαπεράσουν, εν μέρει και όχι πλήρως, τη μεμβράνη.

## Περιστροφή της υπομονάδας c

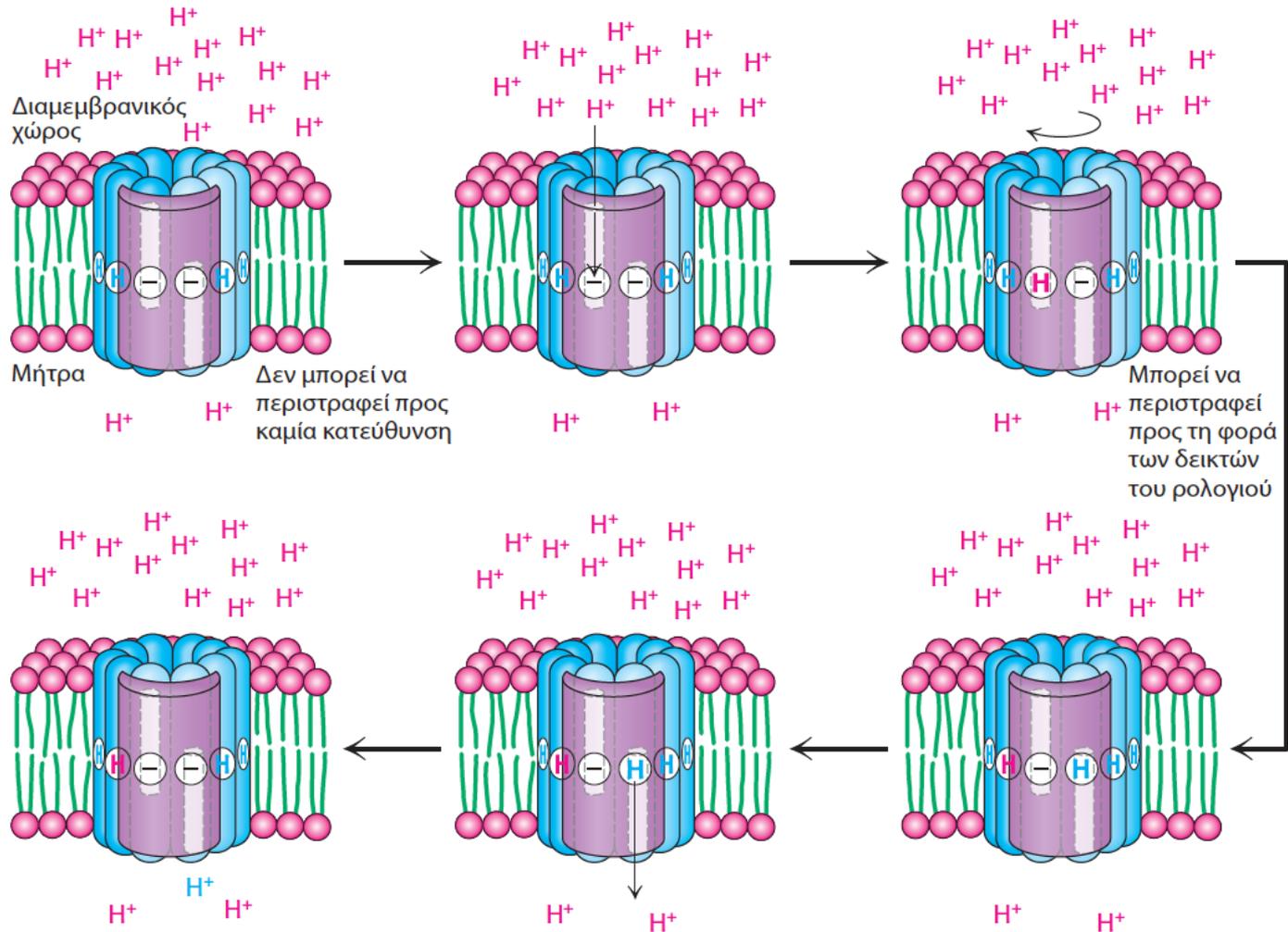
Η υπομονάδα C είναι σταθερά συνδεδεμένη με τους **διαμεμβρανικούς ημιδίαυλους** και περιστρέφεται μαζί με αυτούς



Τώρα η ουδέτερη πια υπομονάδα c μπορεί να περιστραφεί (αλλά μόνον προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού) και να βρεθεί το Asp μέσα στο (υδρόφοβο)περιβάλλον της μεμβράνης. Ταυτόχρονα ένα άλλο πρωτο-νιόμενο κατάλοιπο Asp έχει έρθει σε επαφή, λόγω της περιστροφής με τον ημιδίαυλο προς την πλευρά της μήτρας. Επειδή εκεί η συγκέντρωση η συγκέντρωση  $H^+$  είναι πιο χαμηλή ελευθερώνεται το  $H^+$  από το Asp (η αντίδραση πάει προς την αντίθετη κατεύθυνση)

**ΕΙΚΟΝΑ 18.33** Η πορεία του πρωτονίου διά μέσου της μεμβράνης. Κάθε πρωτόνιο εισέρχεται στον διαμεμβρανικό ημιδίαυλο, ακολουθεί μια πλήρη περιστροφή του δακτυλίου c και εξέρχεται από τον άλλο ημιδίαυλο στη μήτρα.

**ΕΙΚΟΝΑ 18.32** Η κίνηση των πρωτονίων διά μέσου της μεμβράνης ωθεί την περιστροφή του δακτυλίου  $\epsilon$ . Ένα πρωτόνιο εισέρχεται από τον διαμεμβρανικό χώρο στον διαμεμβρανικό ημιδιάυλο για να εξουδετερώσει το αρνητικό φορτίο σε ένα κατάλοιπο γλουταμικού στην υπομονάδα  $\epsilon$ . Με το συγκεκριμένο φορτίο εξουδετερωμένο, ο δακτύλιος  $\epsilon$  μπορεί να περιστραφεί προς τη φορά των δεικτών του ρολογιού κατά μία υπομονάδα  $\epsilon$ , μετακινώντας έτσι ένα κατάλοιπο γλουταμικού οξέος από τη μεμβράνη στον ημιδιάυλο της μήτρας. Το πρωτόνιο μπορεί να μετακινηθεί προς τη μήτρα, επαναφέροντας το σύστημα στην αρχική του κατάσταση.

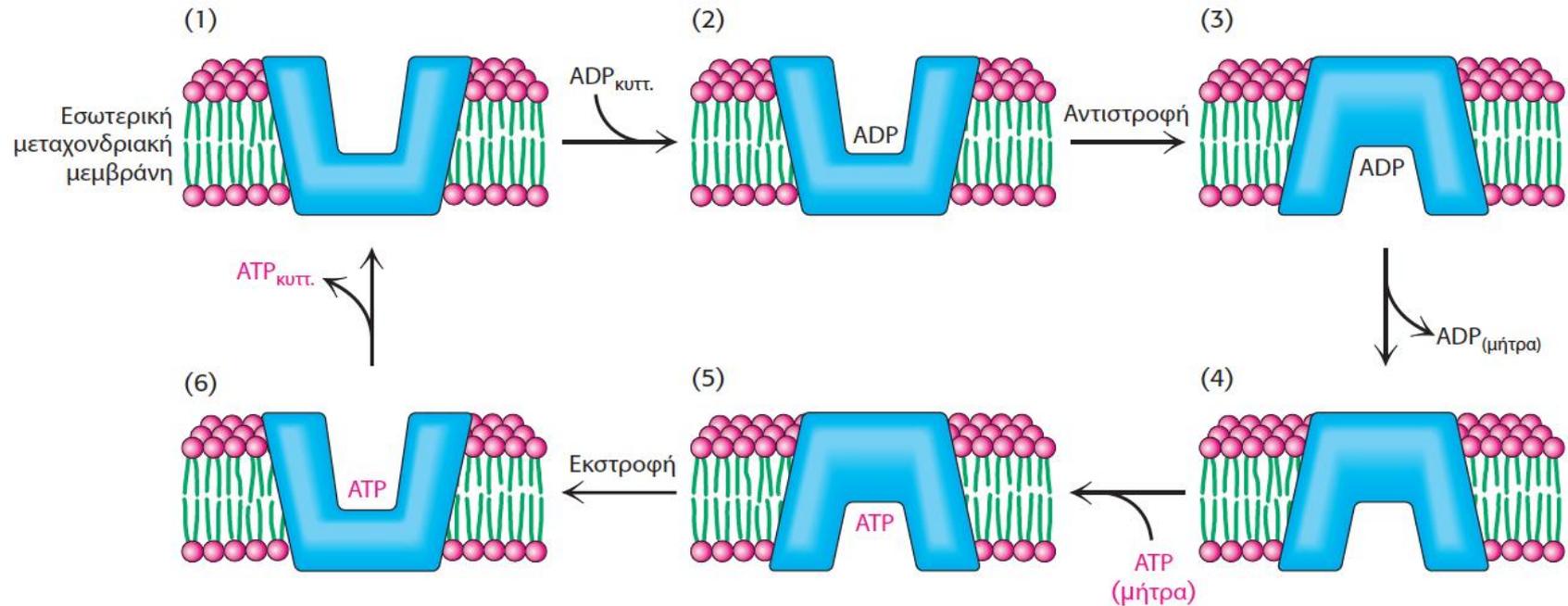


85 kg ATP ανά ημέρα αντιστοιχούν σε  $3,3 \times 10^{25} \text{ H}^+$  ανά ημέρα ή  $3,3 \times 10^{21} \text{ H}^+/\text{sec}$

Εάν υπάρχουν 10 υπομονάδες  $\epsilon$  (ATPase ζυμομύκητα) τότε για κάθε μόριο **ATP** απαιτείται  $10/3=3,3 \text{ H}^+$  ( $120^\circ$  για περιστροφή της υπομονάδας  $\beta$ )

# Πως τα φορτισμένα μόρια ADP και ATP μεταφέρονται μέσω των μεμβρανών; **μετατοπάσης ATP-ADP**

Το ATP δεν διαχέεται ελεύθερα μέσω της εσωτ. μιτοχονδριακής μεμβράνης, όλο το παραγόμενο **ATP** εξέρχεται με τη βοήθεια της **μετατοπάσης ATP-ADP** (15% της μεμβράνης μιτοχ.). Η μετατοπάση δε στρέφεται εάν πρώτα δεν συνδεθεί με ένα ADP



Η πρωτεΐνη δεν καταναλώνει άμεσα ενέργεια για τη μεταφορά του ATP και του ADP αλλά η μεταφορά (ανά μονάδα χρόνου) του ATP είναι μεγαλύτερη γιατί  **$ADP^{3-}$  ενώ το  $ATP^{4-}$**  (30 φορές ταχύτερη) επειδή μεταφέρεται σε περιβάλλον με θετικό φορτίο

Αυτό βέβαια οδηγεί σε απώλεια του μεμβρανιακού δυναμικού αφού έχουμε καθαρή μεταφορά αρνητικού φορτίου έξω από την μήτρα Η ανταλλαγή καταναλώνει το  $\frac{1}{4}$  της ενέργειας από την αναπνευστική αλυσίδα

# Ενεργειακό όφελος από την πλήρη οξείδωση της γλυκόζης

**ΠΙΝΑΚΑΣ 18.4 Απόδοση σε ATP από την πλήρη οξείδωση της γλυκόζης.**

<i>Αλληλουχία αντιδράσεων</i>	<i>Παραγωγή ATP ανά μόριο γλυκόζης</i>
<b>Γλυκόλυση: Γλυκόζη προς πυροσταφυλικό (στο κυτοσόλιο)</b>	
Φωσφορυλίωση της γλυκόζης	- 1
Φωσφορυλίωση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης	- 1
Αποφωσφορυλίωση δύο μορίων 1,3-BPG	+ 2
Αποφωσφορυλίωση δύο μορίων φωσφο-ενολοπυροσταφυλικού	+ 2
Σχηματισμός δύο μορίων NADH κατά την οξείδωση δύο μορίων 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης	
<b>Μετατροπή του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA (μέσα στα μιτοχόνδρια)</b>	
Σχηματισμός δύο μορίων NADH	
<b>Κύκλος του κιτρικού οξέος (μέσα στα μιτοχόνδρια)</b>	
Σχηματισμός δύο μορίων τριφωσφορικής γουανοσίνης από 2 μόρια ηλεκτρυλο-CoA	+ 2
Σχηματισμός έξι μορίων NADH από την οξείδωση δύο μορίων από τα: ισοκιτρικό, α-κετογλουταρικό και μηλικό	
Σχηματισμός δύο μορίων FADH <sub>2</sub> από την οξείδωση δύο μορίων ηλεκτρικού	
<b>Οξειδωτική φωσφορυλίωση (μέσα στα μιτοχόνδρια)</b>	
Σχηματισμός δύο μορίων NADH από τη γλυκόλυση· το κάθε ένα αποδίδει 1,5 μόρια ATP (υποτίθεται ότι η μεταφορά NADH γίνεται από το σύστημα μεταφοράς της φωσφορικής γλυκερόλης)	+ 3
Σχηματισμός δύο μορίων NADH από την οξειδωτική αποκαρβοξυλίωση του πυροσταφυλικού· το κάθε ένα αποδίδει 2,5 μόρια ATP	+ 5
Σχηματισμός δύο μορίων FADH <sub>2</sub> από τον κύκλο του κιτρικού οξέος· το κάθε ένα αποδίδει 1,5 μόρια ATP	+ 3
Σχηματισμός έξι μορίων NADH από τον κύκλο του κιτρικού οξέος· το κάθε ένα αποδίδει 2,5 μόρια ATP	+ 15
<b>ΚΑΘΑΡΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΑΝΑ ΜΟΡΙΟ ΓΛΥΚΟΖΗΣ</b>	<b>+ 30</b>

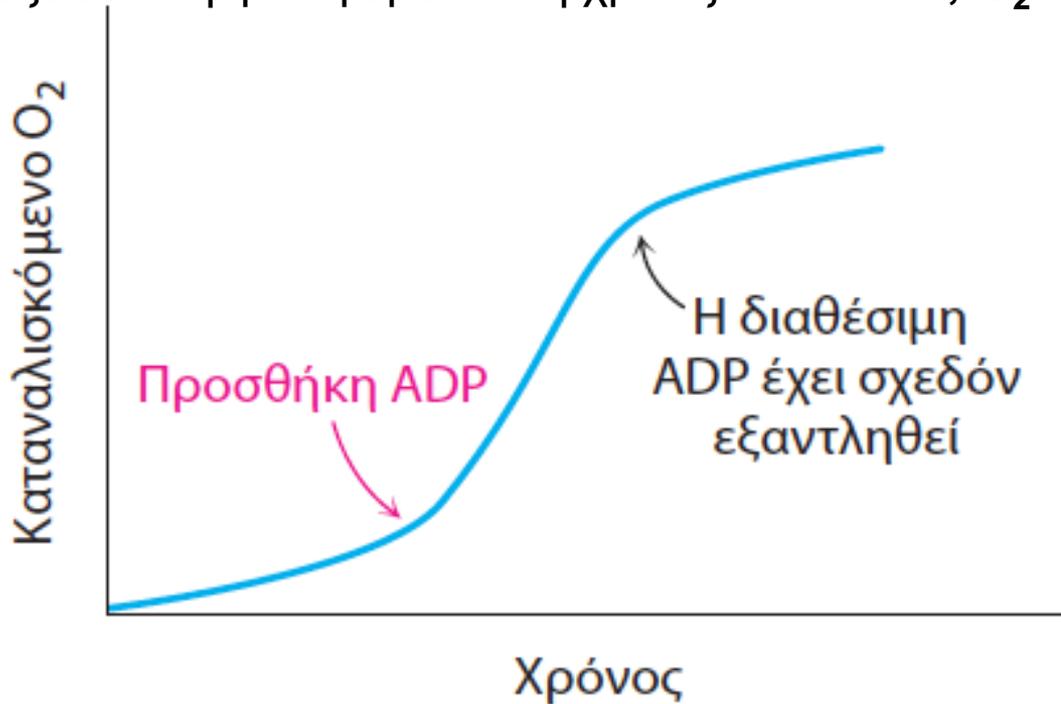
*Πηγή:* Η απόδοση σε ATP της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης βασίζεται σε τιμές που δόθηκαν από P. C. Hinkle, M. A. Kumar, A. Resetar και D. L. Harris, *Biochemistry* 30(1991):3576.

*Σημείωση:* Η σημερινή τιμή των 30 μορίων ATP ανά μόριο γλυκόζης αντικαθιστά την προγενέστερη των 36 μορίων ATP. Οι στοιχειομετρίες στην άντληση πρωτονίων, τη σύνθεση ATP και τη μεταφορά μεταβολιτών θα πρέπει να θεωρηθούν ως προσεγγίσεις. Περίπου δύο επιπλέον μόρια ATP σχηματίζονται ανά μόριο πλήρως οξειδωμένης γλυκόζης όταν χρησιμοποιείται το σύστημα μεταφοράς μηλικού-ασπαραγινικού αντί εκείνου της 3-φωσφορικής γλυκερόλης.

## Ο ρυθμός της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης καθορίζεται από τις ανάγκες σε ATP

Τα ηλεκτρόνια δε ρέουν δια μέσου της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων προς το  $O_2$  εκτός και εάν η ADP φωσφορυλιώνεται ταυτόχρονα σε ATP

Η οξειδωτική φωσφορυλίωση χρειάζεται **NADH**,  $O_2$  και  $P_i$

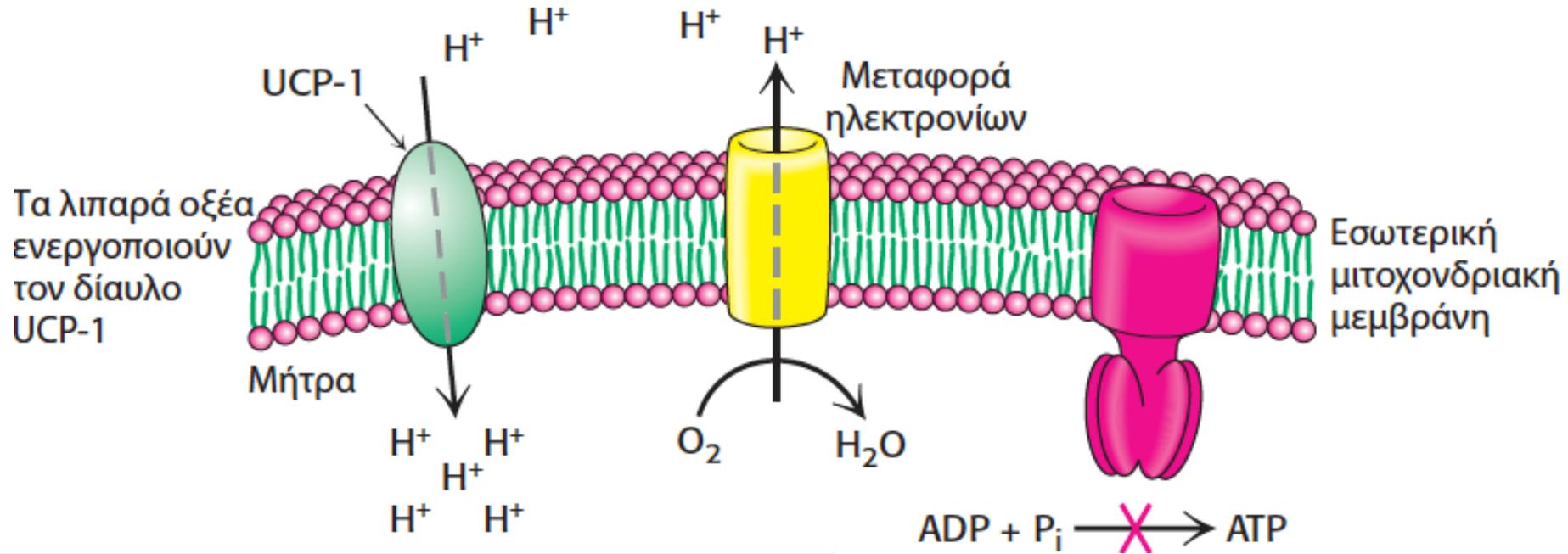


Ο ρυθμός κατανάλωσης  $O_2$  από ένα ομοιογενές παρασκεύασμα ιστών αυξάνεται ταχύτατα όταν προστεθεί ADP (**αναπνευστικός έλεγχός**) και επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα όταν μετατραπεί σε ATP

**ΕΙΚΟΝΑ 18.40 Έλεγχος της κυτταρικής αναπνοής.** Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται προς το  $O_2$  μόνο αν η ADP φωσφορυλιώνεται ταυτόχρονα σε ATP.

**Αναπνευστικός έλεγχος ή έλεγχος του δέκτη**  
Τα ηλεκτρόνια δε ρέουν από τα καύσιμα μόρια προς το  $O_2$  εκτός και απαιτείται σύνθεση ATP

Η ρυθμιζόμενη αποσύζευξη πρωτεΐνη UCP1) οδηγεί στην παραγωγή θερμότητας μη τρέμουσα θερμογένεση, γίνεται εξειδικευμένα στα μιτοχόνδρια του καστανού λίπους



Δέσμευση λιπαρών στην UCP-1 σαν ανιόν καρβοξυλίου ένωση με  $H^+$  στην μήτρα και απελευθέρωση στον ενδιάμεσο χώρο

Βιολογικές εφαρμογές

Σε κατάσταση χειμερίας νάρκης

Σε ορισμένα νεογέννητα ζώα

Σε θηλαστικά προσαρμοσμένα στο ψύχος

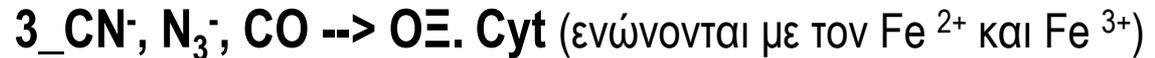
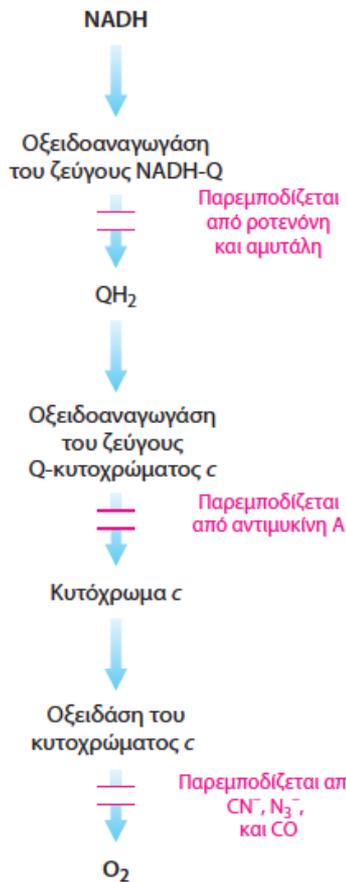
Φυτό *Symplocarpus foetidus*

εξάτμιση αρωματούχων μορίων που έλκουν έντομα)

Οι χοίροι είναι τα μόνα ζώα με σπλές που φτιάχνουν φωλιές για την γέννα και πολλά νεογνά **οι χοίροι δεν διαθέτουν UCP-1**

Η Οξειδ. Φωσφορυλίωση μπορεί να ανασταλεί σε πολλά στάδια (από ισχυρά και θανατηφόρα δηλητήρια)

**ροτενόνη-αμυτάλη** παρεμποδίζει τη χρήση του **NADH** σαν υπόστρωμα αλλά όχι την οξείδωση του ηλεκτρικού, του οποίου τα ηλεκτρόνια εισέρχονται στο **QH<sub>2</sub>**



**ολιγομικίνη, δικυκλοεξυλο-καρβοδιιμίδιο (DCCD)**

αναστολέας της ATPάσε ΧΩΡΙΣ σύνθεση ATP=αύξηση Q σταματά η διαδικασία

**2,4-διντροφαινόλη** οι ενώσεις αυτές μεταφέρουν H<sup>+</sup> μέσω της εσ. μιτοχονδριακής μεμβράνης (παραγωγή θερμότητας όχι ATP)

**ατρακτυλοζίτη, βογκρεκικό οξύ** (σταματά η οξειδ. Φωσφορ. δείχνει τη σημαντικότητα της μετατοπίας)

EΙΚΟΝΑ 18.44 Θέσεις δράσης ορισμένων αναστολέων της μεταφοράς ηλεκτρονίων.

**Συνθάση της ATP**

**Μετατοπίαση ATP-ADP**

# Μιτοχονδριακές νόσοι

**κληρονομική οπτική νευροπάθεια Leber** (μεταλλάξεις στην οξειδ/αση του ζεύγους NADH-Q)

Τα μιτοχόνδρια μεταφέρονται (κυρίως) από τη μητέρα  
Το ωάριο περιέχει εκατοντάδες χιλιάδες ενώ το σπερμ/ριο μερικές εκατοντάδες

## **Απόπτωση= προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος**

Επέρχεται κυτταρικός θάνατος από «εσωτερικά αίτια» στο κύτταρο

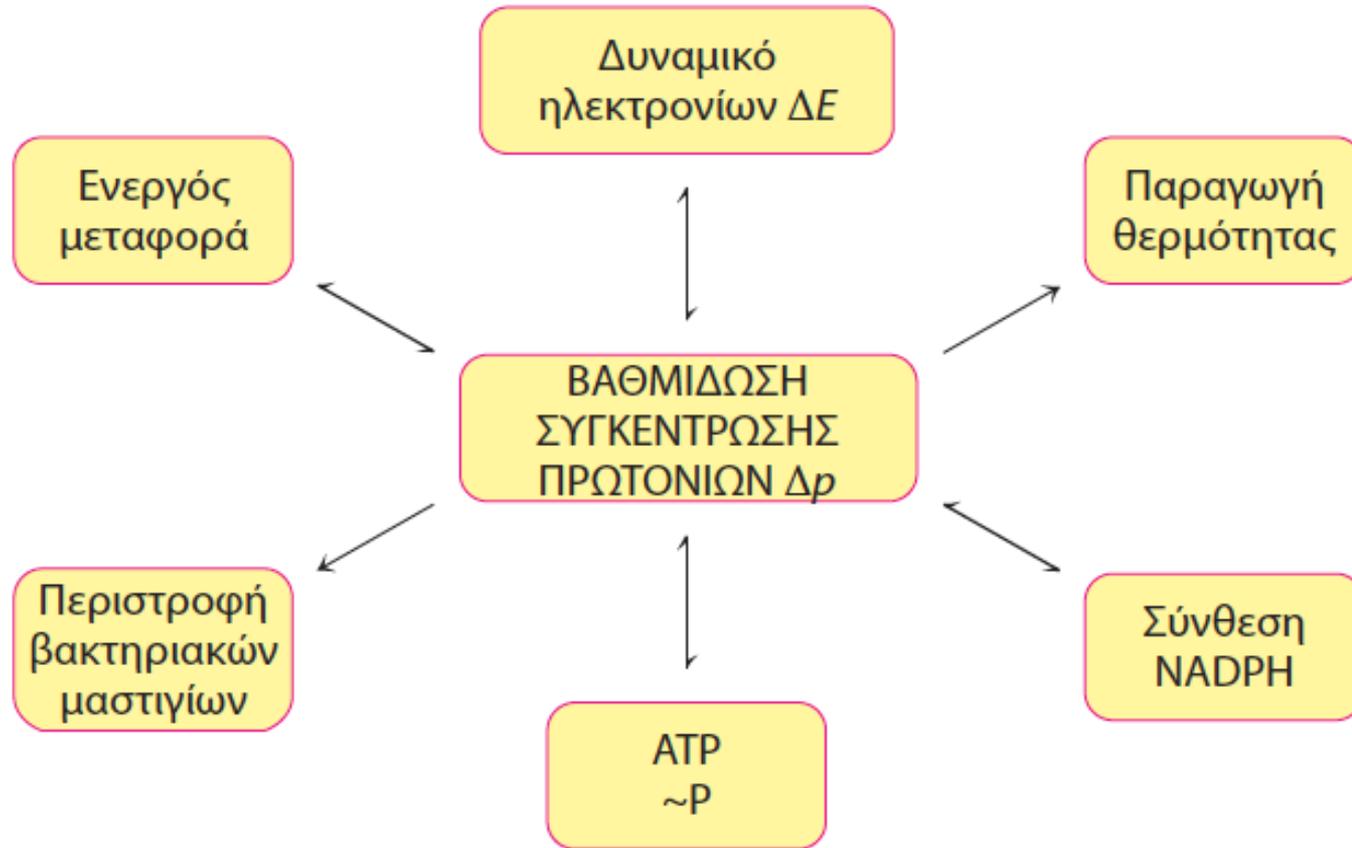
Ξεκινάει με την *διαπερατοποίηση της εξωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης*

παρουσία του κυτοχρώματος c (φυσιολογική θέση εσωτερική μεμβράνη μιτοχονδρίων) στο κυτοσόλιο ενεργοποιεί έναν καταρράκτη πρωτεολυτικών ενζύμων, τις **κασπάσες**, οι οποίες καταστρέφουν πρωτεΐνες που διατηρούν την κυτταρική δομή

Ο μηχανισμός έχει διατηρηθεί ίδιος από την ύδρα μέχρι τον άνθρωπο

# Παραγωγή ενέργειας από βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Χρειάζεται **μόνο** μια τοπολογικά κλειστή μεμβράνη λιπιδίων μεταξύ δυο υδάτινων φάσεων



**ΕΙΚΟΝΑ 18.45** Η βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων είναι μια αλληλομετατροπόμενη μορφή ελεύθερης ενέργειας.