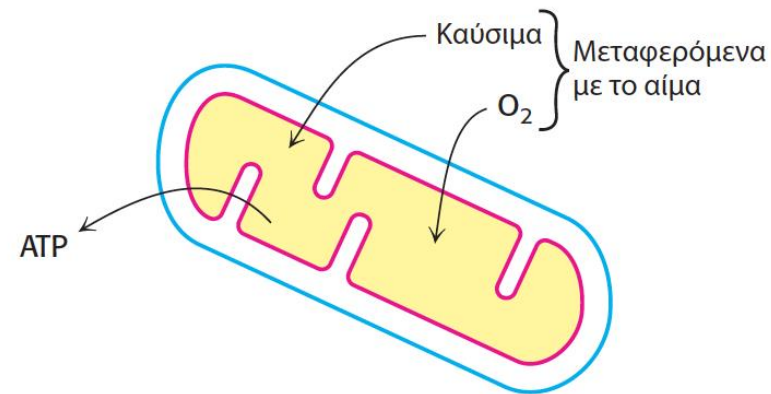
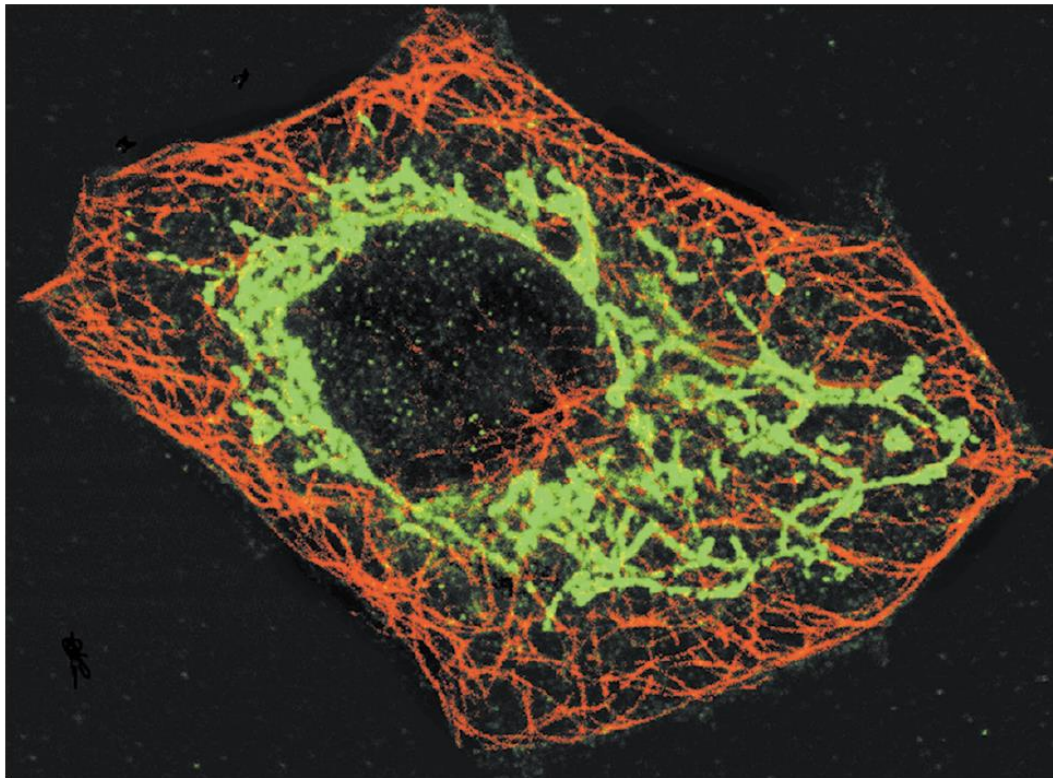


ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΗ ΦΩΣΦΟΡΥΛΙΩΣΗ



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.]

Η Οξειδωτική Φωσφορυλίωση

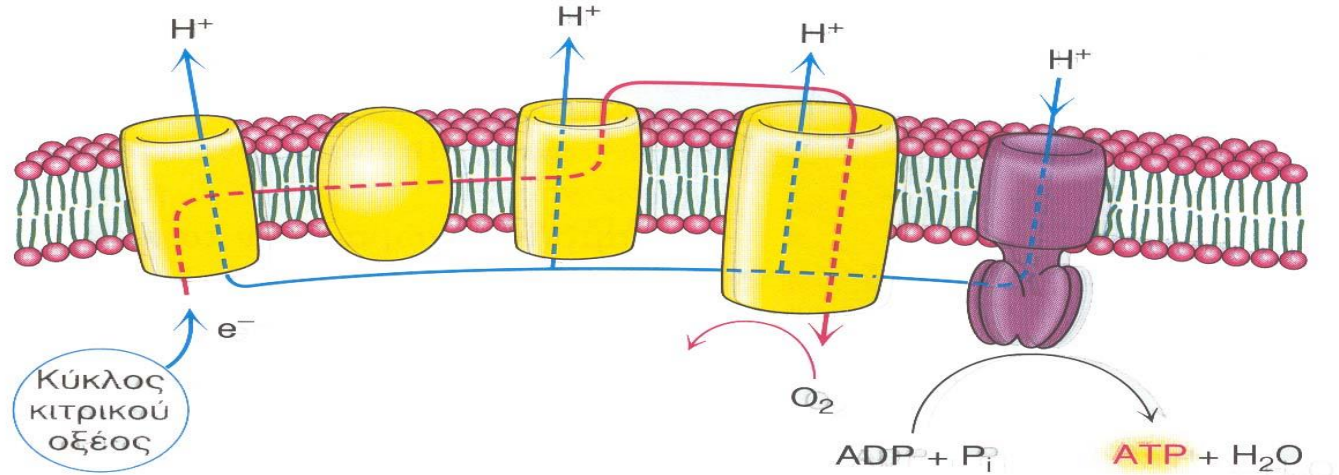
Αναλύει και εξηγεί:

- Που καταναλώνονται όλα τα αναγωγικά ενδιάμεσα του μεταβολισμού
 - Πως αυτά δημιουργούν βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων
 - Πως αυτή η βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων παράγει ATP

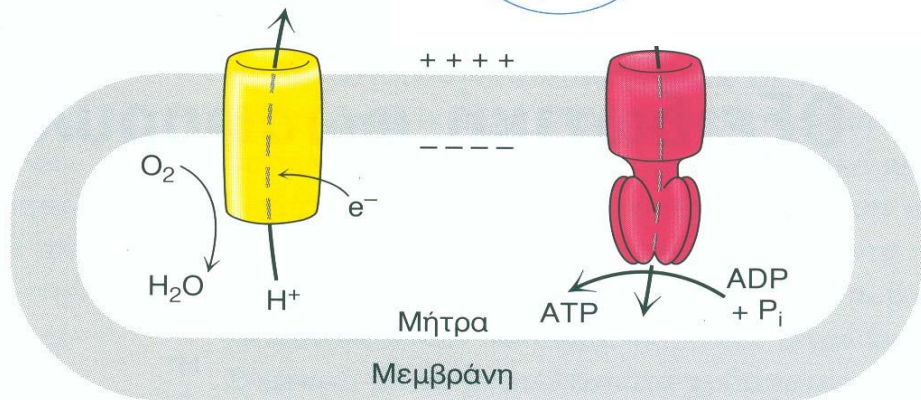
Αναπνοή

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 τα 30 μόρια ATP της G) κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων από το NADH ή το FADH₂ προς το O₂ δια μέσου μιας σειράς φορέων ηλεκτρονίων



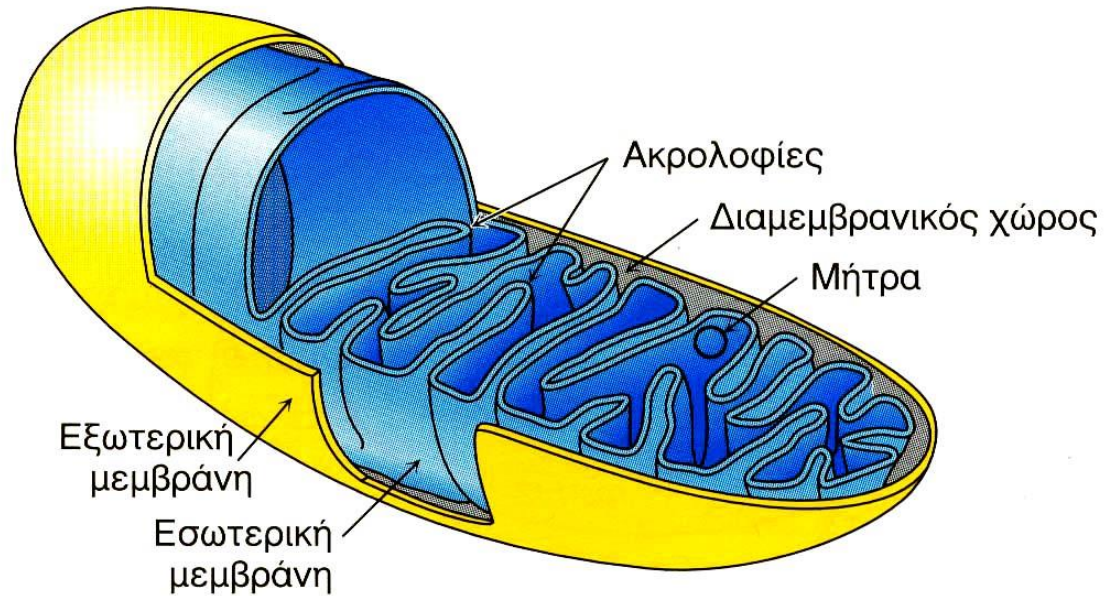
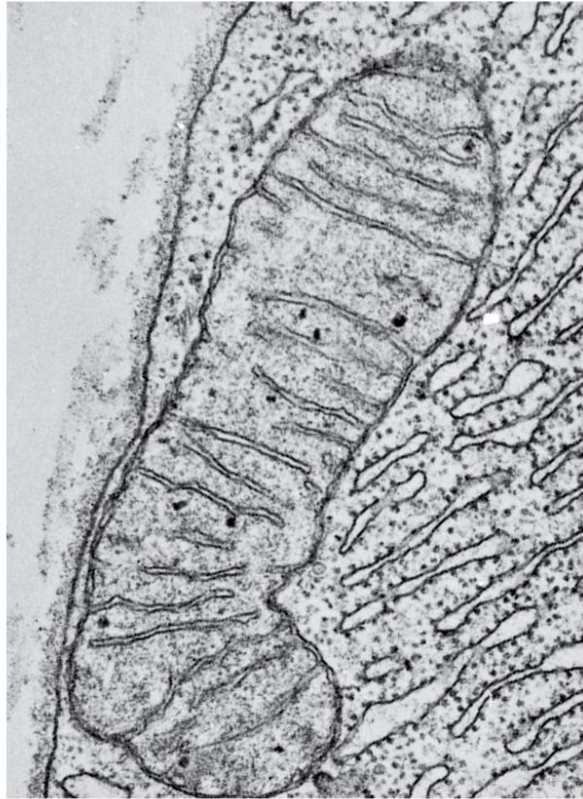
Κύκλος
κιτρικού
οξέος



μέσω μιας βαθμίδωσης συγκέντρωσης πρωτονίων μεταξύ των δύο πλευρών της εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης

2x0,5 μm διαστάσεις βακτηρίου

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

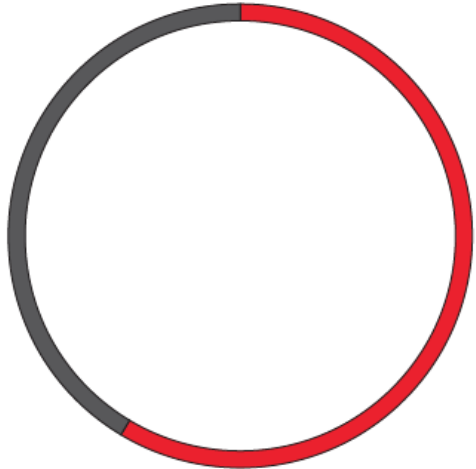
ΕΙΚΟΝΑ 18.1 Ηλεκτρονιομικρογραφία ενός μιτοχονδρίου. [Ευγενική προσφορά Dr. George Palade.]

Μιτοχόνδρια και διεργασία ενδοσυμβίωσης

Έχουν το δικό τους **DNA, RNA** και μια ποικιλία **πρωτεϊνών** πρωτεΐνες για αναπνευστική αλυσίδα (δεν υπάρχουν στο πυρηνικό DNA)

διαφορές μεγέθους σε μιτοχόνδρια διαφορετικών οργανισμών

→ Διπλή μεμβράνη, κυκλικό DNA, συνηγορούν στην ενδοσυμβίωση
 Το βακτήρια DNA με την μεγαλύτερη ομοιότητα με το γονιδιακό είναι το *Rickettsia prowazeki* (αίτιο του τύφου)



Rickettsia
(βακτήριο)

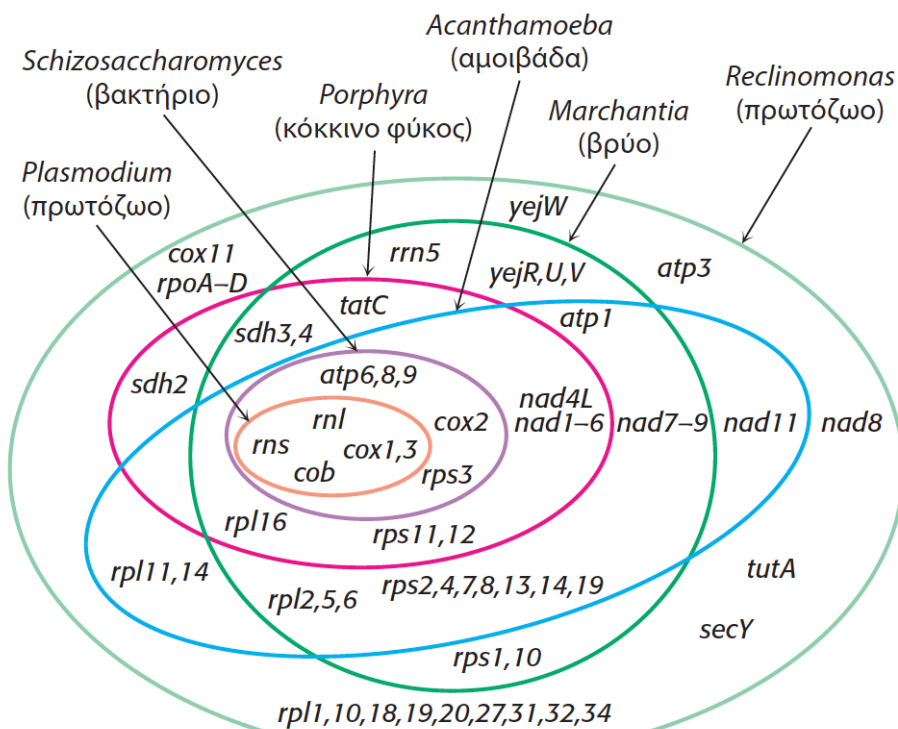


Arabidopsis
(φυτό)

Plasmodium
(πρωτόζωο)



Homo sapiens



Το γεγονός ότι διαφορετικοί οργανισμοί περιέχουν τα ίδια κοινά μιτοχόνδρια γονίδια (ομόκεντροι κύκλοι) φανερώνει ότι έγινε μια ενδοσυμβίωση

Το DNA του *Reclinomonas A.* περιέχει 97 γονίδια από τα οποία 67 γονίδια (69%) που τα βρίσκουμε σε μιτοχόνδρια.

Το *E. coli* έχει μόνο 2%

Εικόνα 18.3 Μεγέθη μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων. Τα μεγέθη τριών μιτοχονδριακών γονιδιωμάτων συγκρινόμενα με εκείνο του βακτηρίου *Rickettsia*, ενός συγγενούς του υποτιθέμενου προγόνου όλων των μιτοχονδρίων. Για γονιδιώματα μεγέθους άνω των 60 kbp, η περιοχή του DNA που κωδικεύει πρωτεΐνες με γνωστή λειτουργία φαίνεται με κόκκινο.

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

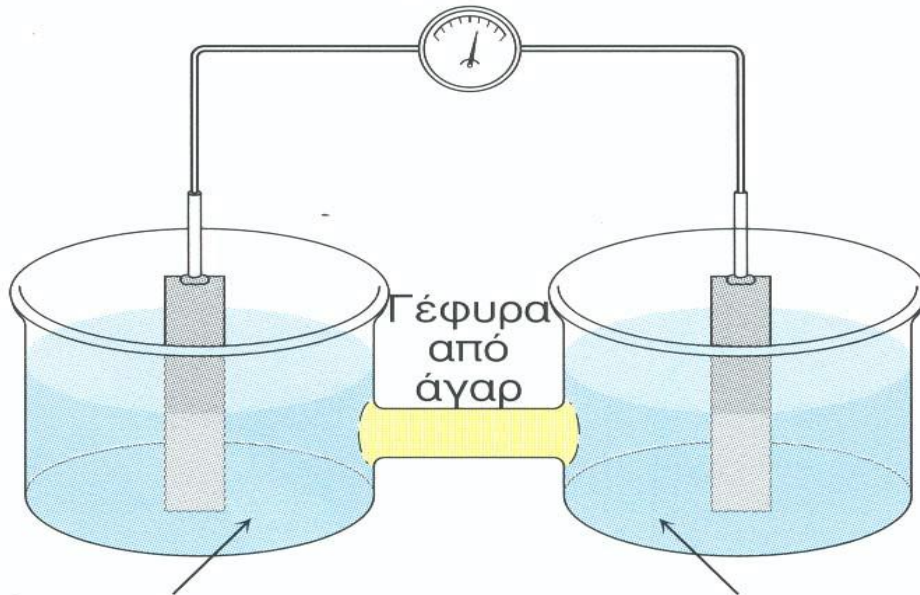
Το ίδιο ισχύει και για το ίδιο άτομο (C, N, S, O)
αλλά σε διαφορετικές ομάδες άτομα π.χ. C

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

Τελικά εφαρμόζεται και σε ενώσεις

Με συγκεντρώσεις 1M και ημιστοιχείο αναφοράς αυτό του H₂

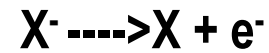
Βολτόμετρο



Διάλυμα από
1M X και 1M X⁻

1M H⁺ σε ισορροπία
με αέριο H₂
σε πίεση 1 atm

Σύμφωνα με τις εξισώσεις:



Το δυναμικό αναγωγής του X:X⁻ είναι η εναρκτήρια διαφορά δυναμικού σε συγκεντρώσεις 1M σε σύγκριση με αυτό του H⁺:H₂ δηλαδή 0 Volt.

Αρνητικό δηλώνει ότι η ουσία έχει μικρότερη συγγένεια για τα e από το H₂

Θετικό δηλώνει ότι η ουσία έχει μεγαλύτερη συγγένεια για τα e από το H₂

ΙΣΧΥΡΑ αναγωγικό (NADH) ==> μικρή ηλεκτρονική συγγένεια ==> αρνητικό V_{redox}

ΙΣΧΥΡΑ οξειδωτικό (O₂) ==> μεγάλη ηλεκτρονική συγγένεια ==> θετικό V_{redox}

ΠΙΝΑΚΑΣ 18.1 Πρότυπα δυναμικά αναγωγής μερικών αντιδράσεων.

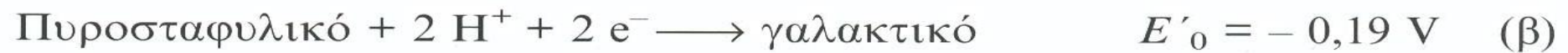
Οξειδωτικό	Αναγωγικό	<i>n</i>	E'_{o} (V)
Ηλεκτρικό + CO ₂	<i>α</i> -Κετογλουταρικό	2	- 0,67
Οξικό	Ακεταλδεΐδη	2	- 0,60
Φερρεδοξίνη (οξειδωμένη)	Φερρεδοξίνη (ανηγμένη)	1	- 0,43
2 H ⁺	H ₂	2	- 0,42
NAD ⁺	NADH + H ⁺	2	- 0,32
NADP ⁺	NADPH + H ⁺	2	- 0,32
Λιποϊκό (οξειδωμένο)	Λιποϊκό (ανηγμένο)	2	- 0,29
Γλουταθείο (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
1/2 O ₂ + 2 H ⁺	H ₂ O	2	0,82

Με κύρια διαφορά ότι το pH=7 και το σύμβολο E'_{o}

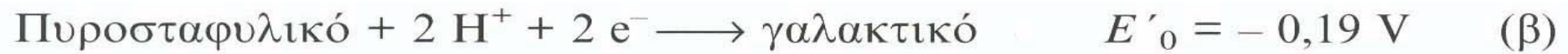
$$\Delta G^{o'} = -nF\Delta E'_{o}$$

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

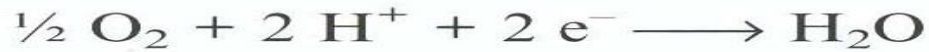
$$\Delta G^{\circ'} = \Delta G^{\circ'} (\text{αντίδρασης } \beta) + \Delta G^{\circ'} (\text{αντίδρασης } \delta)$$

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

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

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 $FADH_2$ σε σχέση με εκείνο του O_2 .



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



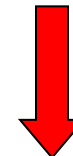
$$E'_{\circ} = + 0,32 \text{ V.}$$

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



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

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



Η παραπάνω (χημική ενέργεια) μετατρέπεται σε βαθμίδωση συγκέντρωσης H^+

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

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

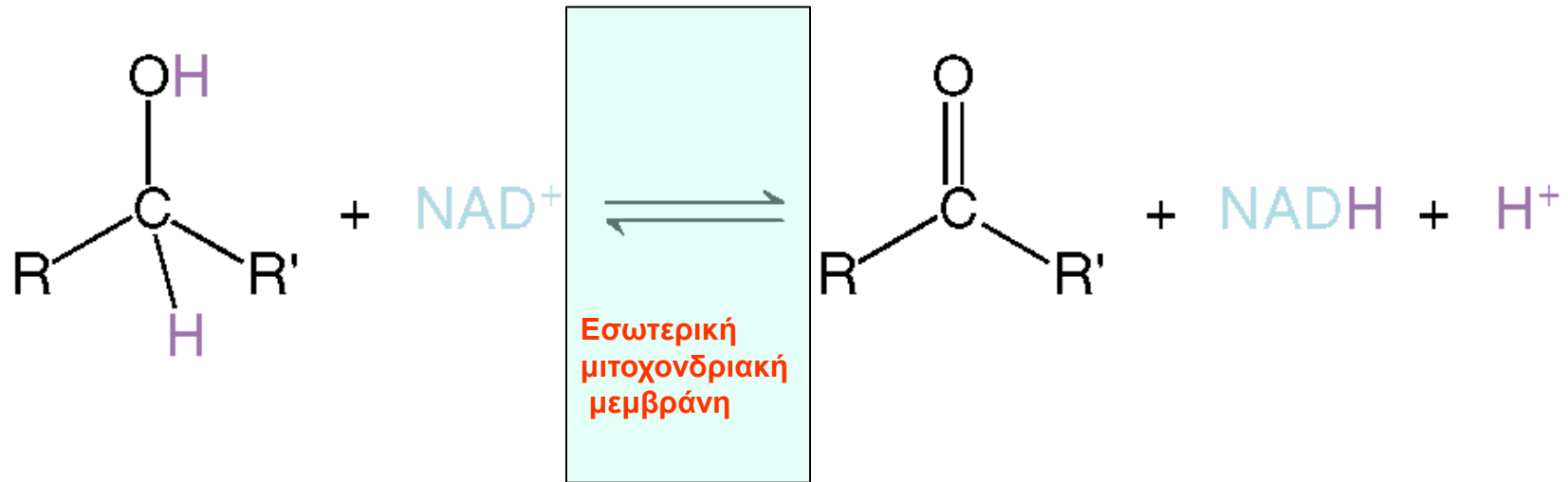
ΜΟΝΟ 21.9 Kcal mol⁻¹ (3 x 7,3 kcal/mol) για ATPs. **(40%)**

ΥΠΟΛΟΙΠΟ 30.7 Kcal mol⁻¹ **(60%)**

-- **ΘΕΡΜΟΤΗΤΑ**

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

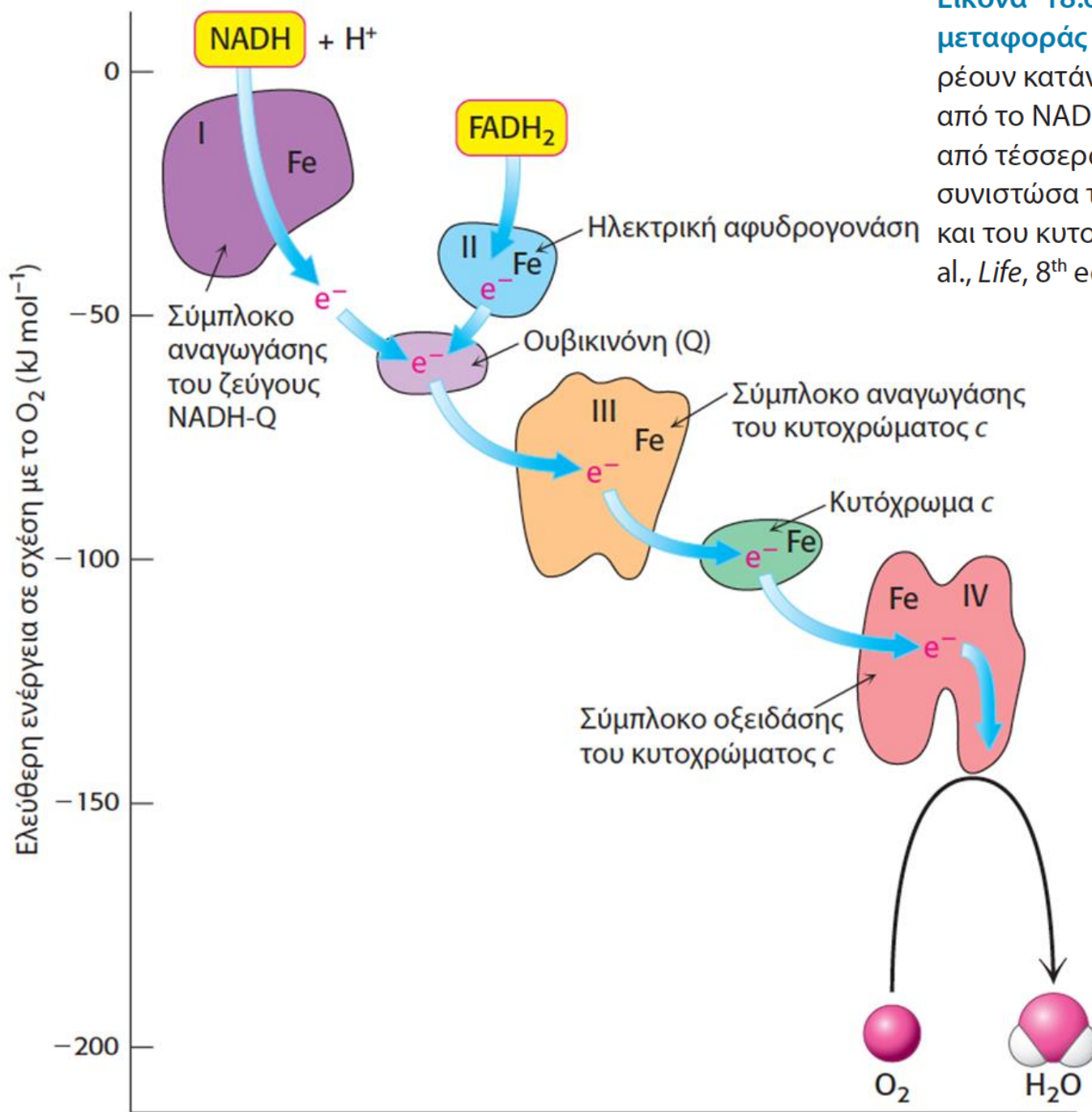
Παράδειγμα μεταφοράς H⁺ και δημιουργία βαθμίδωσης συγκέντρωσης πρωτονίων



Ξεκινώντας την αντίδραση στην μια μεριά της μεμβράνης και τελειώνοντας την στην άλλη μπορούμε να παράγουμε προϊόντα χρήσιμα για την βαθμιδωτή συγκέντρωσης

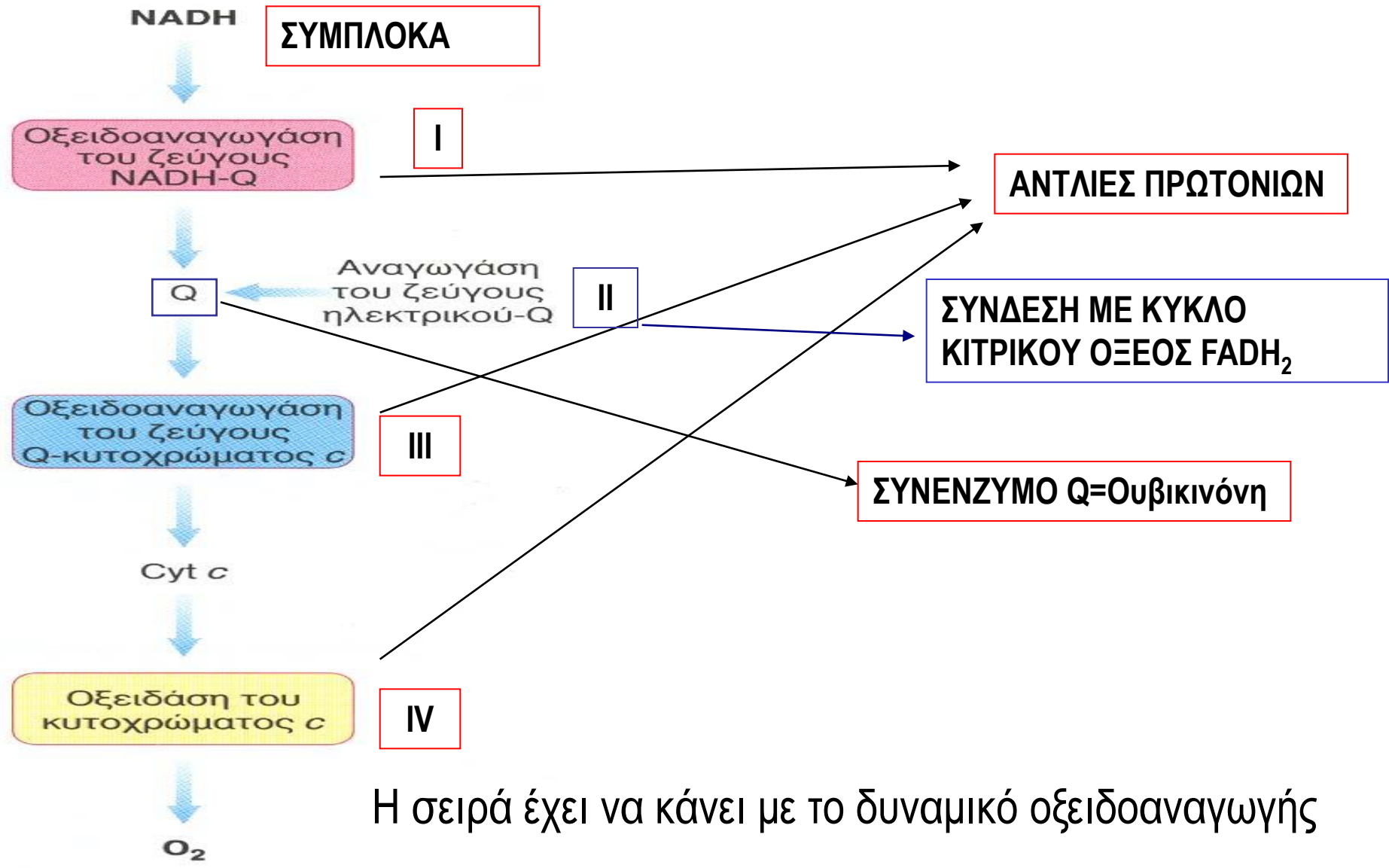
μια πληθώρα αντιδράσεων που μπορούν να επιτελέσουν τον παραπάνω σκοπό





Εικόνα 18.6 Οι συνιστώσες της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων. Τα ηλεκτρόνια ρέουν κατάντη μιας βαθμίδωσης ενέργειας από το NADH στο O_2 . Η ροή καταλύεται από τέσσερα σύμπλοκα. Ο σίδηρος είναι συνιστώσα των Συμπλόκων I, III και IV καθώς και του κυτοχρώματος c. [Κατά D. Sadava et al., *Life*, 8th edition, (Sinauer, 2008) p. 150.]

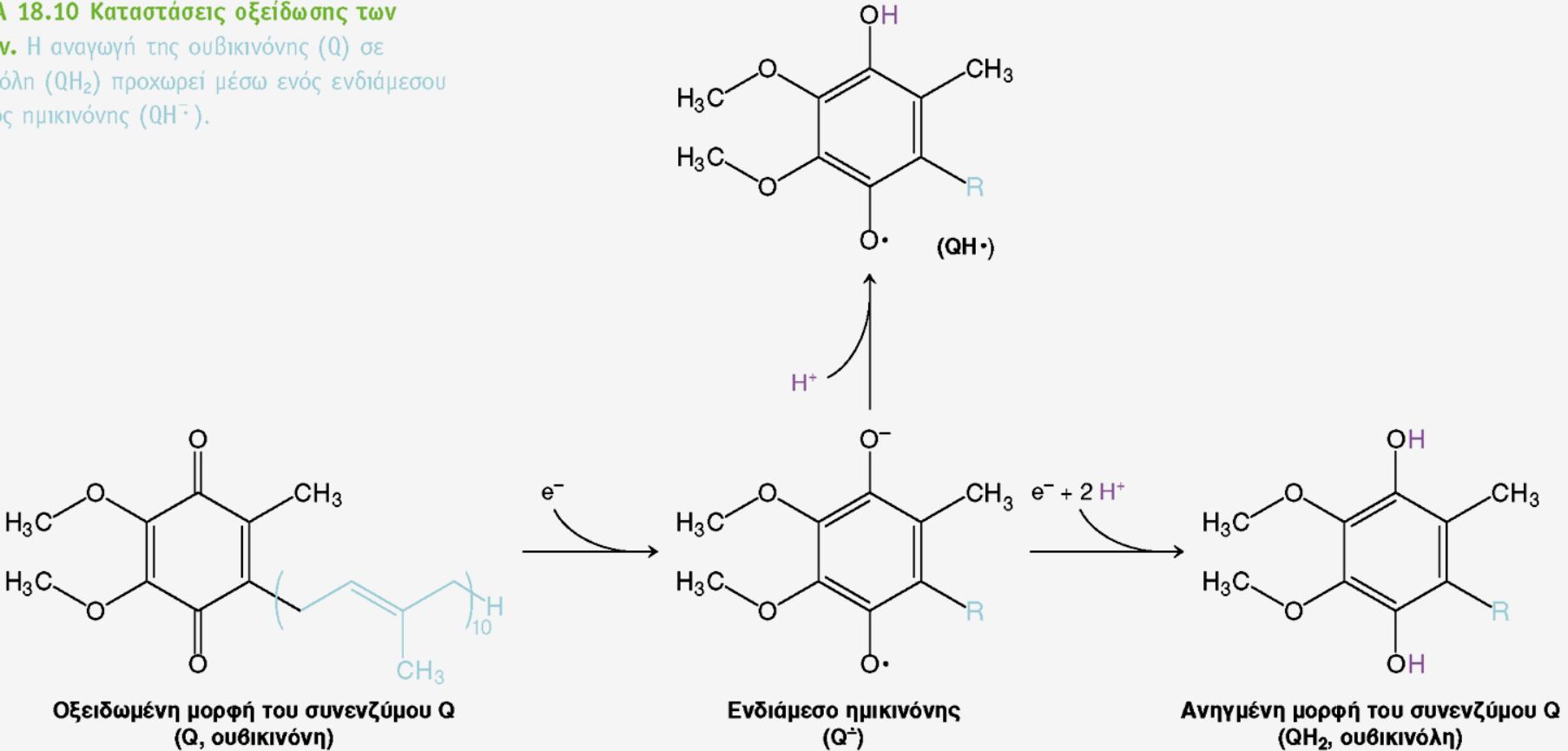
Η αλληλουχία των ΤΕΣΣΑΡΩΝ φορέων ηλεκτρονίων στην ΑΝΑΠΝ. ΑΛΥΣ. έχει ως εξής:



Η σειρά έχει να κάνει με το δυναμικό οξειδοαναγωγής

Η Q είναι υδρόφοβη κινόνη και διαχέεται ελεύθερα στην εσωτ. Μιτοχ. Μembrάνη ΚΑΙ συζευγμένη με πρόσδεση και μεταφορά πρωτονίων.

ΕΙΚΟΝΑ 18.10 Καταστάσεις οξείδωσης των κινονών. Η αναγωγή της ουβικινόνης (Q) σε ουβικινόλη (QH₂) προχωρεί μέσω ενός ενδιάμεσου ανιόντος ημικινόνης (QH⁻).



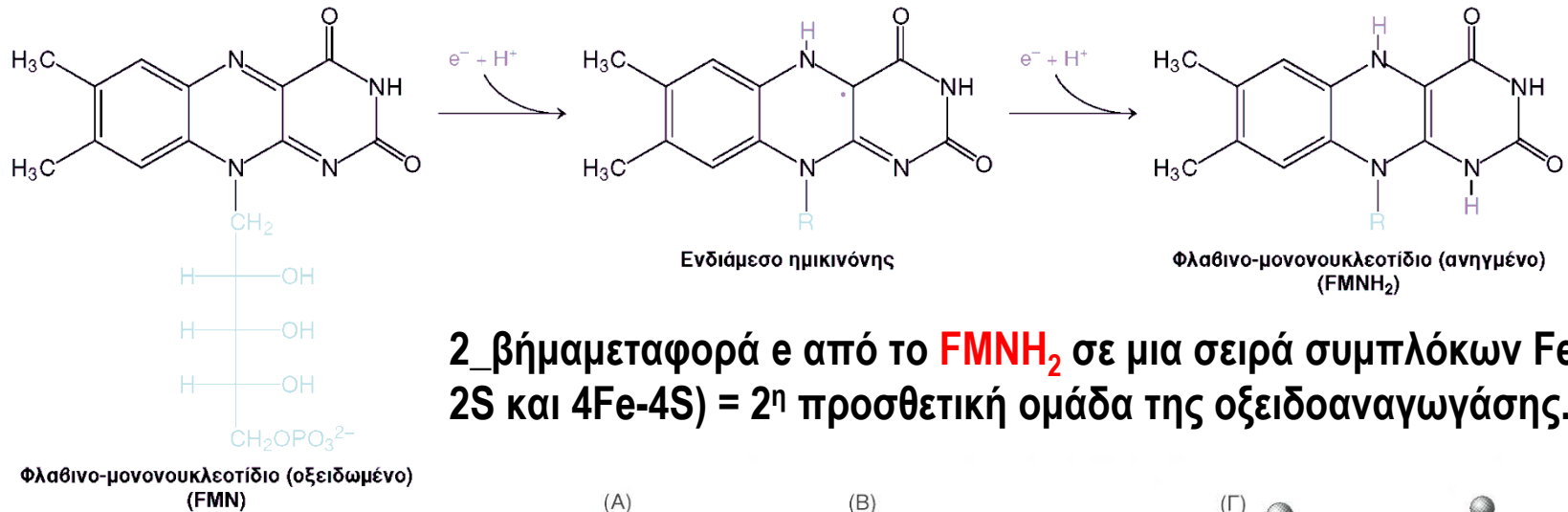
Η μεταφορά **e** οδηγεί σε απορρόφηση **H⁺** το οποίο με την σειρά του οδηγεί σε βαθμίδωση συγκέντρωσης **H⁺**

Η βαθμίδωση συγκέντρωσης H⁺ μπορεί να επιτύχει είτε με απορρόφηση η με παραγωγή **H⁺**

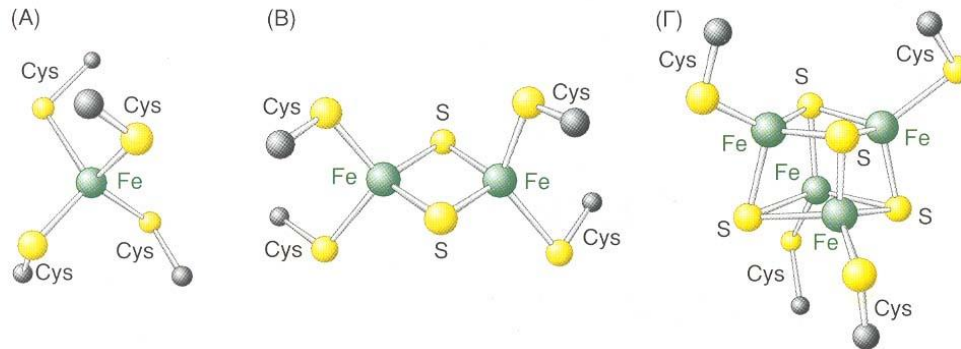
Τα ηλεκτρόνια υψηλού δυναμικού του NADH εισέρχονται στην αναπνευστική αλυσίδα μέσω της οξειδοαναγωγής του ζεύγους NADH-Q

Η ολική αντίδραση: $\text{NADH} + \text{Q} + 5\text{H}^+$ μήτρας $\rightarrow \text{NAD}^+ + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+$ κυτοσολίου σε τέσσερα βήματα

1_βήμα_ πρόσδεση του NADH στο ένζυμο και μεταφορά 2e στην προσθετική ομάδα FMN ==> FMNH_2

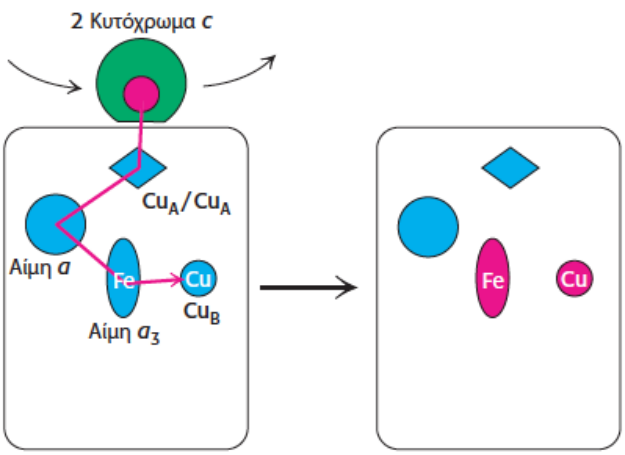


2_βήμα μεταφορά e από το FMNH_2 σε μια σειρά συμπλόκων Fe-S (2Fe-2S και 4Fe-4S) = 2^η προσθετική ομάδα της οξειδοαναγωγής.

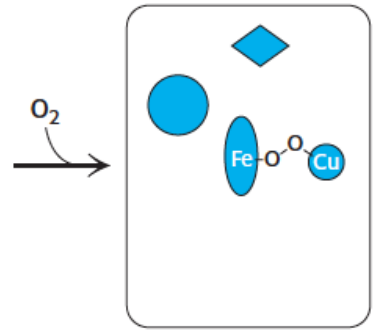


3_βήμα_ μεταφορά των 2e στο συνένζυμο Q ==> στην άντληση 4H⁺ από τη μήτρα του μιτοχονδρίου

1. Δύο μόρια ανηγμένου κυτοχρώματος c διαδοχικά μεταφέρουν ηλεκτρόνια για να αναγάγουν τον Cu_B και την αίμη a_3 .



2. Τα ανηγμένα Cu_B και Fe στην αίμη a_3 προσδένουν O_2 , το οποίο σχηματίζει μια γέφυρα υπεροξειδίου.

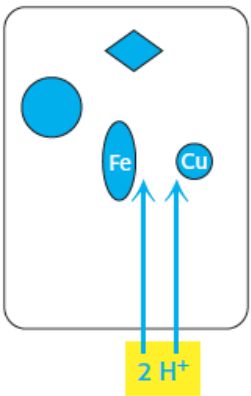


Η οξειδάση του ΚΥΤ.-c περιέχει δυο ομάδες αίμης A και A3 **Ιόντα Cu σε δύο κέντρα A και B.** Το Cu_A/Cu_A που δέχεται το e από το ΚΥΤ.-c και το Cu_B .

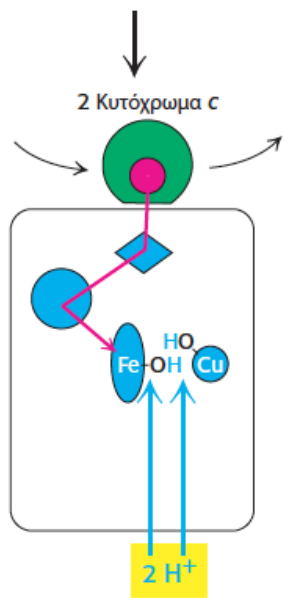
αίμη A: αίμη a =μεταφέρει e από το Cu_A/Cu_A αίμη a_3 =μεταφέρει e προς το Cu_B =δίπλα της

δεύτερο e μεταφέρεται στον Fe^{3+} μετά ο Fe^{2+} (μόνο) μπορεί να δεσμεύσει O_2

$2 H_2O$



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



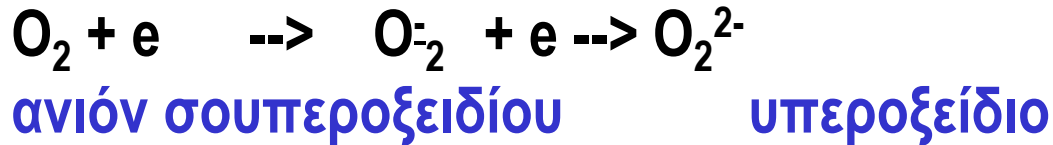
3. Η προσθήκη δύο επιπλέον ηλεκτρονίων και δύο επιπλέον πρωτονίων διασπά τη γέφυρα υπεροξειδίου.

αίμη a_3 και Cu_B αποτελούν το ενεργό κέντρο για την αναγωγή του O_2 σε H_2O .

Εικόνα 18.14 Μηχανισμός της οξειδάσης του κυτοχρώματος c. Ο κύκλος αρχίζει και τελειώνει με όλες τις προσθετικές ομάδες στην οξειδωμένη μορφή τους (με μπλε). Οι ανηγμένες μορφές φαίνονται με κόκκινο. Τέσσερα ανηγμένα μόρια κυτοχρώματος c προσφέρουν τέσσερα ηλεκτρόνια, τα οποία, με το να επιτρέπουν την πρόσδεση και τη διάσπαση ενός μορίου O_2 , επιτρέπουν επίσης την εισαγωγή τεσσάρων H^+ από τη μήτρα για τον σχηματισμό δύο μορίων H_2O , τα οποία απελευθερώνονται από το ένζυμο αναπαράγοντας την αρχική κατάσταση.

Το e ανάγει το αντλεί (ενώνεται) με ένα H^+ στην συνέχεια με άλλο H^+ συνολικά ενώνονται 4 H^+

Τυχόν βλαβερά παραπροϊόντα αναγωγής του μοριακού οξυγόνου



αντιμετωπίζονται αποτελεσματικά από:

-την οξειδάση του κυτ-c == δέσμευση του O_2 στα Fe και Cu.

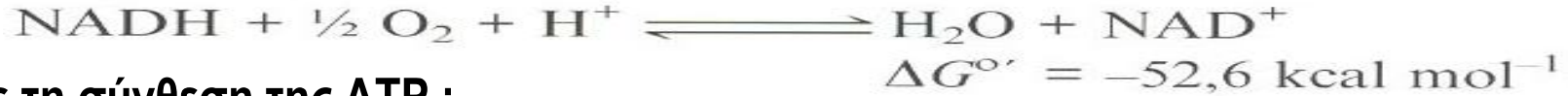
- τη δισμουτάση του σουπεροξειδίου ως εξής: $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$

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.

Η ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΗΣ ATP ΩΘΕΙΤΑΙ ΑΠΟ ΜΙΑ ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΠΡΩΤΟΝΙΩΝ

Πως συνδέεται είναι συζευγμένη η εξώεργη αντίδραση(=ροή e):



με τη σύνθεση της ATP :

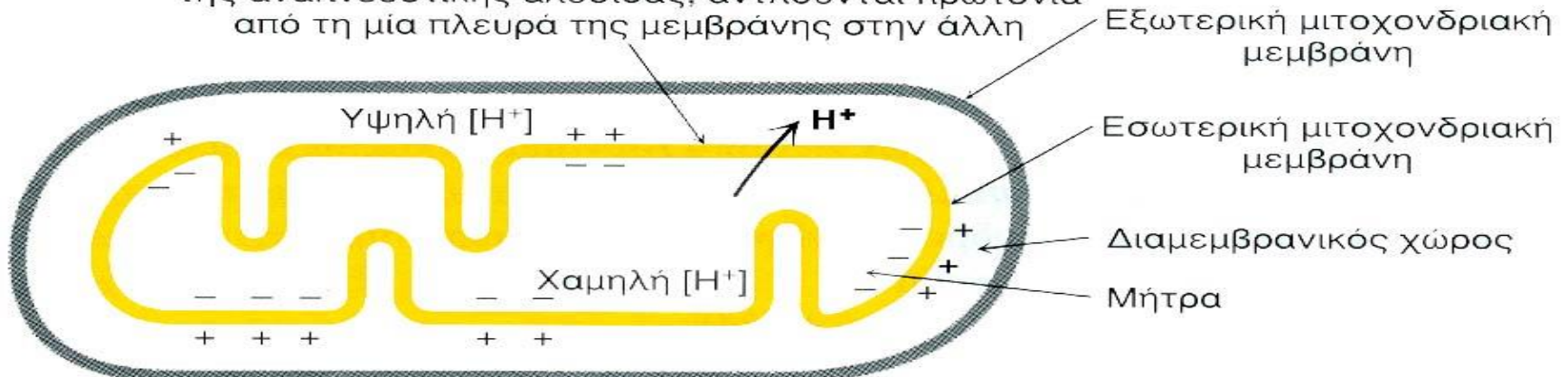


Πραγματοποιείται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη από το ενζυμικό σύστημα της μιτοχ. ATPασης ή F_1F_0 ATPασης = **συνθάση της ATP ή σύμπλοκο V**

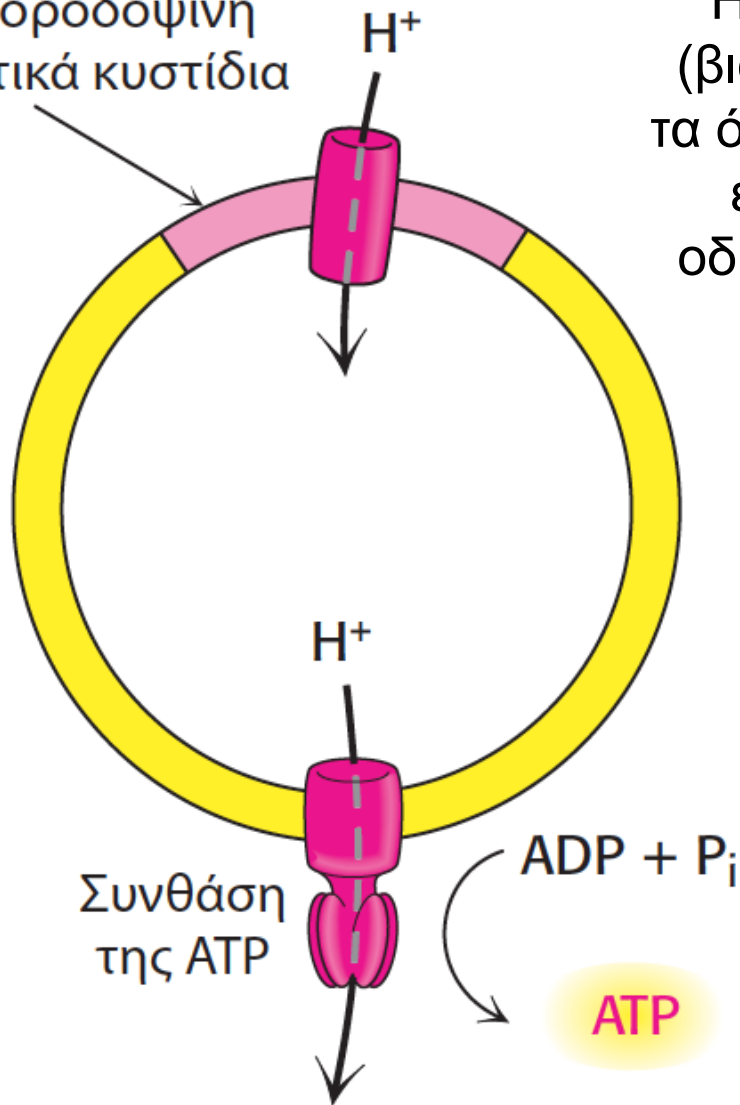
Η μεταφορά e και η σύνθεση της ATP είναι συζευγμένες με τη ΒΑΘΜΙΔΩΣΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ H^+ μεταξύ των δύο πλευρών της μιτοχ. μεμβράνης (ΕΣΩΤΕΡΙΚΗΣ).

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

Ενω ηλεκτρονια ρεουν δια μεσου της αναπνευστικής αλυσίδας, αντλούνται πρωτόνια από τη μία πλευρά της μεμβράνης στην άλλη



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.

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

Υποστηρίζεται από την 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 συνθάση της ATP (η μικρότερη μοριακή μηχανή στον κόσμο!)

έχει δύο λειτουργικές συνιστώσες:

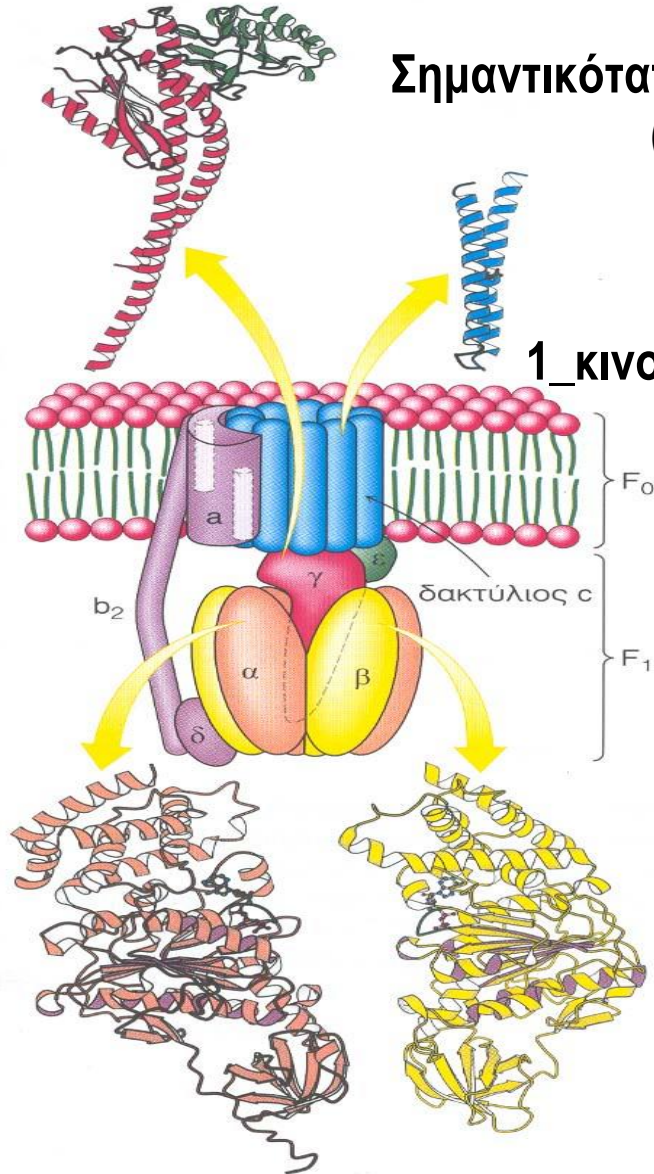
1_κινούμενη μονάδα περιστροφεία δακτύλιο c και ο μίσχος γ ε

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

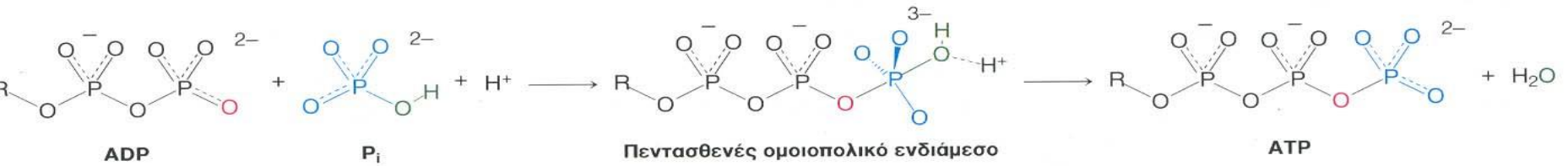
2_στατική μονάδα= στάτορα=το υπόλοιπο του μορίου

...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 γ ε**
2_μέσω εξωτερικής στήλης-**a+2b+δ**.



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



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

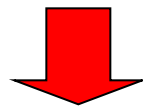
σύνθεση της ATP λαμβάνει χώρα ακόμη και χωρίς την παρουσία της πρωτονιοκίνητης Δύναμης λόγω υψηλής συγγένειας πρόσδεσης του ATP με την υπομονάδα β .

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

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

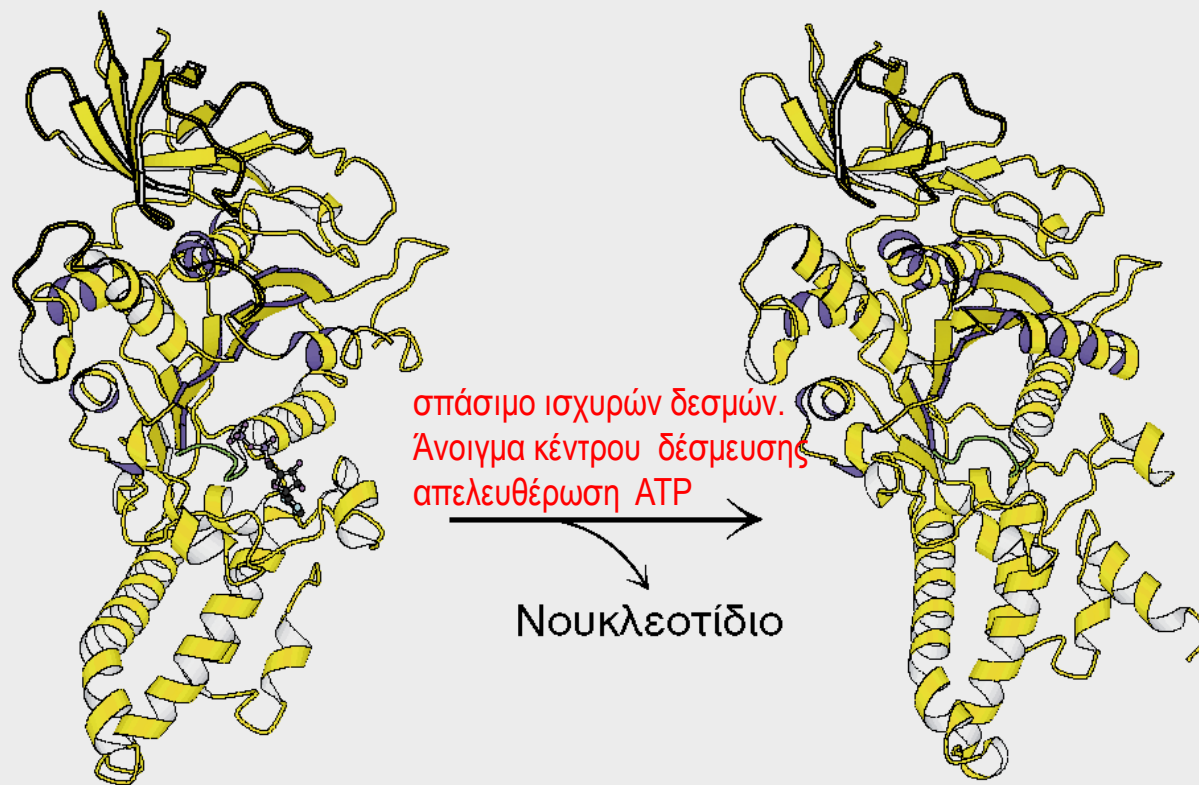
το πρόβλημα είναι: πώς θα απελευθερωθεί το ATP από μια πρωτεΐνη που προσδέεται παρά πολύ ισχυρά μαζί της ΔG^0 θα πρέπει να είναι $> -7,3$ (ΔG^0 της K_α)

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



Με την αριστερόστροφη περιστροφή των β υπομονάδων γύρω από τη γ

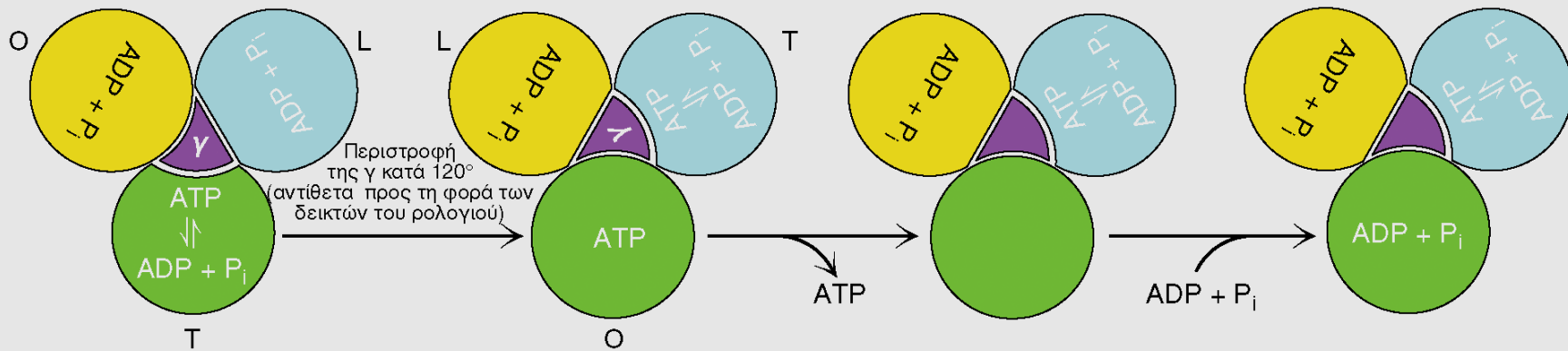
Με την περιστροφή αλλάζει το περιβάλλον της πρωτεΐνης και η συγγένεια πρόσδεσης με το ATP



ΕΙΚΟΝΑ 18.31 Απελευθέρωση της ATP από την υπομονάδα β στην ανοιχτή μορφή. Σε αντίθεση με τη σφιχτή και τη χαλαρή μορφή, η ανοιχτή μορφή της υπομονάδας β μπορεί να αλλάξει στερεοδιάταξη αρκετά έτσι ώστε να απελευθερωθούν προσδεμένα νουκλεοτίδια.

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

Κίνηση αντίθετη εκείνης των δεικτών του ρολογιού



ΕΙΚΟΝΑ 18.32 Μηχανισμός αλλαγής της συγγένειας πρόσδεσης για τη συνθάση της ATP. Η περιστροφή της υπομονάδας γ αλληλομετατρέπει τις τρεις υπομονάδες β . Η υπομονάδα στη στερεοδιάταξη T (tight, σφιχτή), η οποία περιέχει τη νεοσυντεθείσα ATP που δεν μπορεί να απελευθερωθεί, μετατρέπεται στη μορφή O (open, ανοιχτή). Στη μορφή αυτή μπορεί να απελευθερώσει ATP και στη συνέχεια να δεσμεύσει ADP και P_i αρχίζοντας έναν νέο κύκλο.

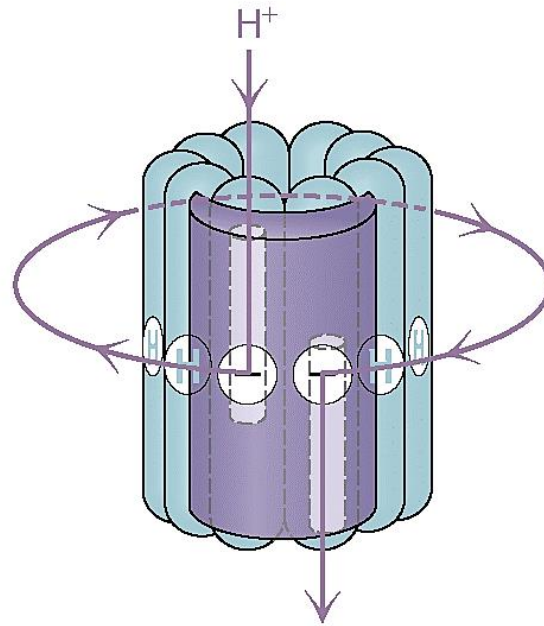
T (tight) τάση πρόσδεσης με ATP

O απελευθερώνει το ATP

L (loose) έχει τάση πρόσδεσης με ADP

Περιστροφή της υπομονάδας c

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



ΕΙΚΟΝΑ 18.36 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.

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 γ 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

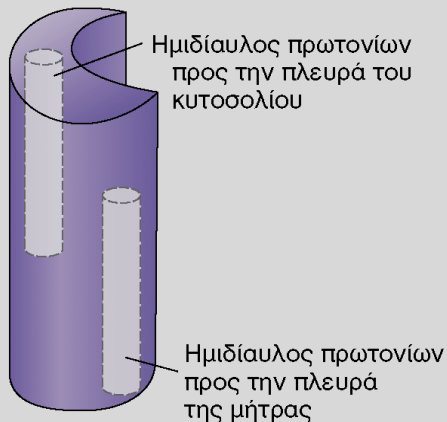
Πρωτόνια μπορούν να μπουν στους ημιδιάυλους της υπομονάδας a αλλά δεν μπορούν να διαπεράσουν τη μεμβράνη.

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

Οι υπομονάδες c είναι σε επαφή με τους ημιδιάυλους και H^+ μπορούν να μπουν μέσα στους ημιδιάυλους και να πρωτονιώσει το Asp κατάλοιπο της c να το κάνει το Asp ουδέτερο και τώρα θα μπορούσε να περιστραφεί όλο το c (αλλά μόνον προς την φορά των δεικτών του ρολογιού) και να βρεθεί το Asp μέσα στο περιβάλλον (υδρόφοβο) 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 (25 φορές) ελευθερώνεται το H^+ από το Asp (η αντίδραση πάει προς την αντίθετη κατεύθυνση)

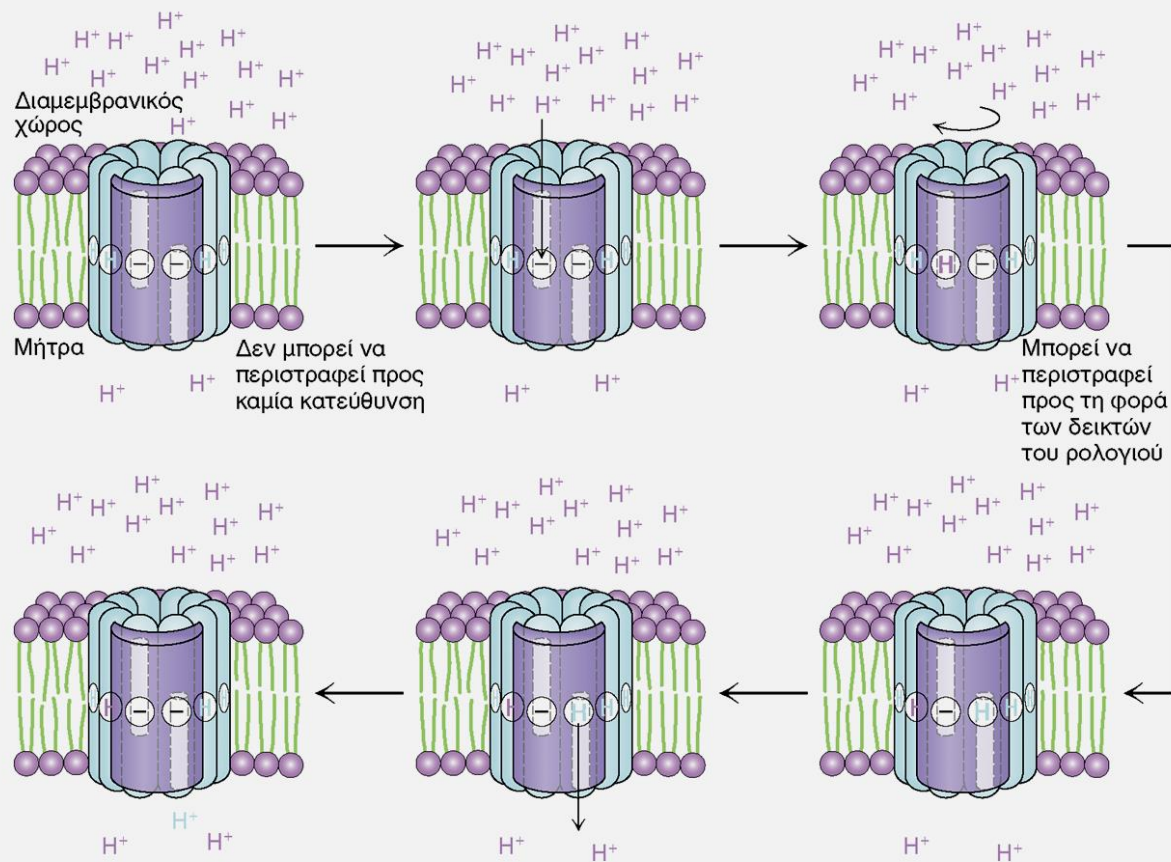


Υπομονάδα c



Υπομονάδα a

ΕΙΚΟΝΑ 18.34 Συνιστώσες της πρωτονιο-αγωγού μονάδας της συνθάσης της ATP. Η υπομονάδα c αποτελείται από δύο α -έλικες οι οποίες διαπερνούν τη μεμβράνη. Ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού στη δεύτερη έλικα 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.



ΕΙΚΟΝΑ 18.35 Η κίνηση των πρωτονίων διά μέσου της μεμβράνης ωθεί την περιστροφή του δακτυλίου c. Ένα πρωτόνιο εισέρχεται από τον διαμεμβρανικό χώρο στον διαμεμβρανικό ημιδιάυλο για να εξουδετερώσει το αρνητικό φορτίο σε ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού στην υπομονάδα c. Με το συγκεκριμένο φορτίο εξουδετερωμένο, ο δακτύλιος c μπορεί να περιστραφεί προς την φορά των δεικτών του ρολογιού κατά μία υπομονάδα c, μετακινώντας έτσι ένα κατάλοιπο ασπαραγινικού από τη μεμβράνη στον υποδιάυλο της μήτρας. Το ιοντίσιμο πρωτόνιο σε αυτό το ασπαραγινικό μπορεί να μετακινηθεί προς τη μήτρα, επαναφέροντας το σύστημα στην αρχική του

Ο δακτύλιος **c** στέρεα συνδεδεμένος με τις υπομονάδες **γ** και **ε** έτσι περιστρέφεται και η εξαμερής μονάδα **$\alpha_3\beta_3$**

Εάν υπάρχουν 10 υπομονάδες **c** (ATPase ζυμομύκητα) άρα για κάθε μόριο **ATP** απαιτείται $10/3=3,3$ **H⁺** (120° για περιστροφή της υπομονάδας **β**)

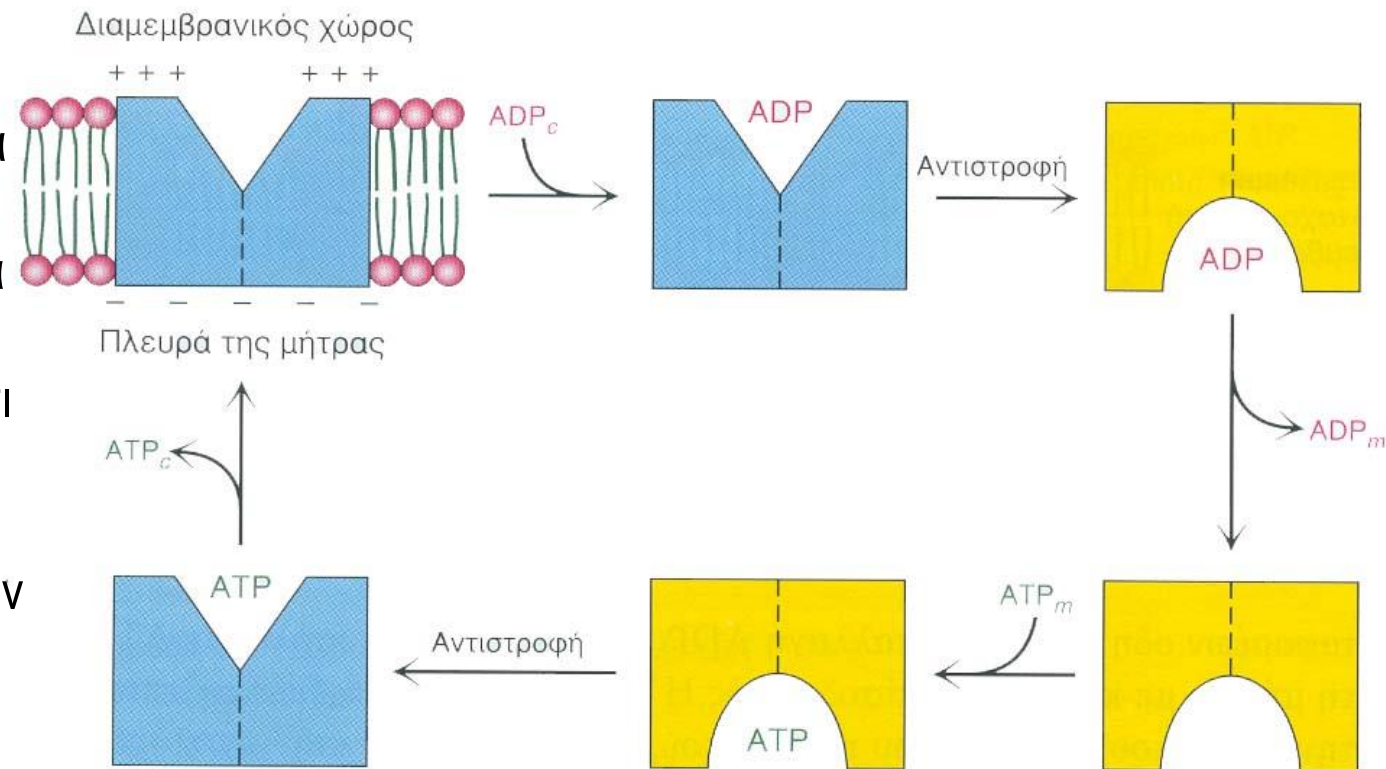
<http://www.youtube.com/watch?v=IOgea89L1UY>

<http://www.youtube.com/watch?v=XI8m6o0gXDY>

Η είσοδος και η έξοδος της ADP στα μιτοχόνδρια είναι συζευγμένη με την έξοδο ATP μέσω της 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** (14% μεμβράνης μιτοχ.). Η μετατοπάση δεν στρέφεται εάν πρώτα δεν συνδεθεί με ένα ADP

Η πρωτεΐνη δεν καταναλώνει άμεσα ενέργεια για την μεταφορά του ATP και του ADP αλλά η μεταφορά (ανά μονάδα χρόνου) το ATP είναι μεγαλύτερη γιατί **ADP³⁻ ενώ το ATP⁴⁻** (30 φορές ταχύτερη) γιατί 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 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.

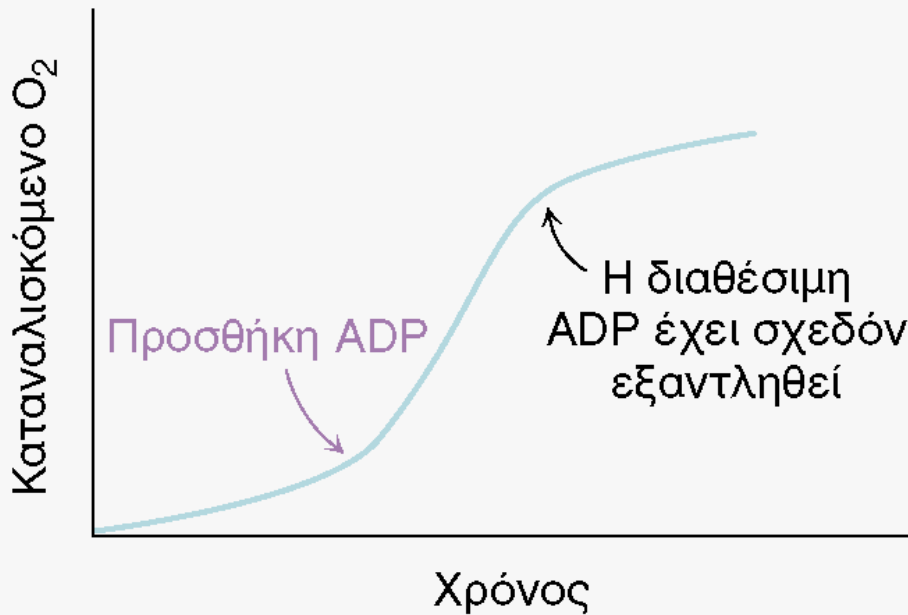
<i>Αλληλουχία αντιδράσεων</i>	<i>Παραγωγή ATP ανά μόριο γλυκόζης</i>
Γλυκόλυση: Γλυκόζη προς πυροσταφυλικό (στο κυττασόλιο)	
Φωσφορυλίωση της γλυκόζης	- 1
Φωσφορυλίωση της 6-φωσφορικής φρουκτόζης	- 1
Αποφωσφορυλίωση δύο μορίων 1,3-BPG	+ 2
Αποφωσφορυλίωση δύο μορίων φωσφο-ενολοπυροσταφυλικού	+ 2
Σχηματισμός δύο μορίων NADH κατά την οξείδωση δύο μορίων 3-φωσφορικής γλυκεραλδεΐδης	
Μετατροπή του πυροσταφυλικού σε ακετυλο-CoA (μέσα στα μιτοχόνδρια)	
Σχηματισμός δύο μορίων NADH	
Κύκλος του κιτρικού οξέος (μέσα στα μιτοχόνδρια)	
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 ₂ από την οξείδωση δύο μορίων ηλεκτρικού	
Οξειδωτική φωσφορυλίωση (μέσα στα μιτοχόνδρια)	
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 ₂ 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
ΚΑΘΑΡΗ ΑΠΟΔΟΣΗ ΑΝΑ ΜΟΡΙΟ ΓΛΥΚΟΖΗΣ	+ 30

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 δεν 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



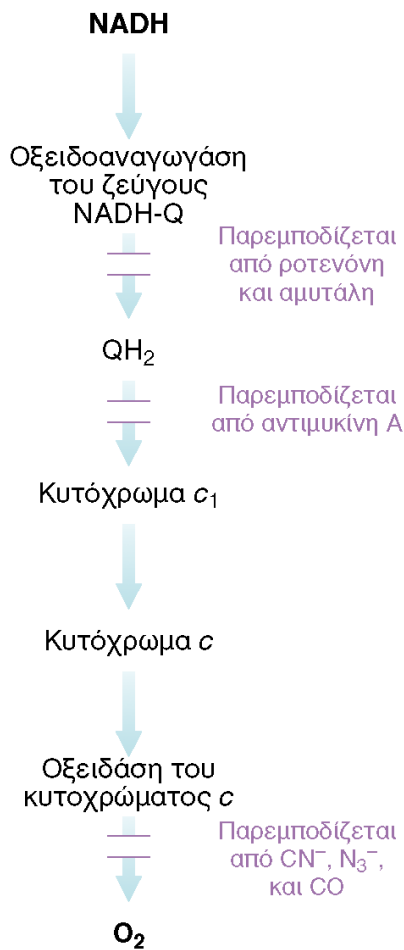
Ο ρυθμός κατανάλωσης O_2 από ένα ομοιογενές παρασκεύασμα ιστών αυξάνεται ταχύτατα όταν προστεθεί ADP και επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα όταν μετατραπεί σε ATP

ΕΙΚΟΝΑ 18.42 Έλεγχος της κυτταρικής αναπνοής. Τα ηλεκτρόνια μεταφέρονται προς το O_2 μόνον αν η ADP φωσφορυλιώνεται ταυτόχρονα σε ATP.

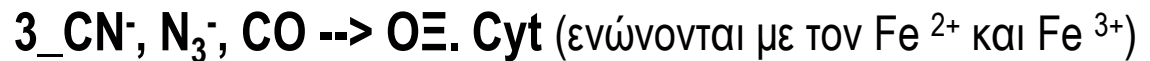
Αναπνευστικός έλεγχος ή έλεγχος του δέκτη

Τα ηλεκτρόνια δεν ρέουν από τα καύσιμα μόρια προς το O_2 εκτός και απαιτείται σύνθεση **ATP**

Η Οξειδ. Φωσφορυλίωση μπορεί να ανασταλεί σε πολλά στάδια



ροτενόνη-αμυτάλη παρεμποδίζει την χρήση του **NADH** σαν υπόστρωμα αλλά όχι την οξείδωση του ηλεκτρικού του όποιου τα ηλεκτρόνια εισέρχονται στο **QH₂**



ολιγομυκίνη, δικυκλοεξυλο-καρβοδιιμίδιο (DCCD)

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

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

ατρακυλοζίτη, μπογκρεκικό οξύ (σταματά η οξειδ. Φωσφορ. δείχνει την σημαντικότητα της μετατοπασης)

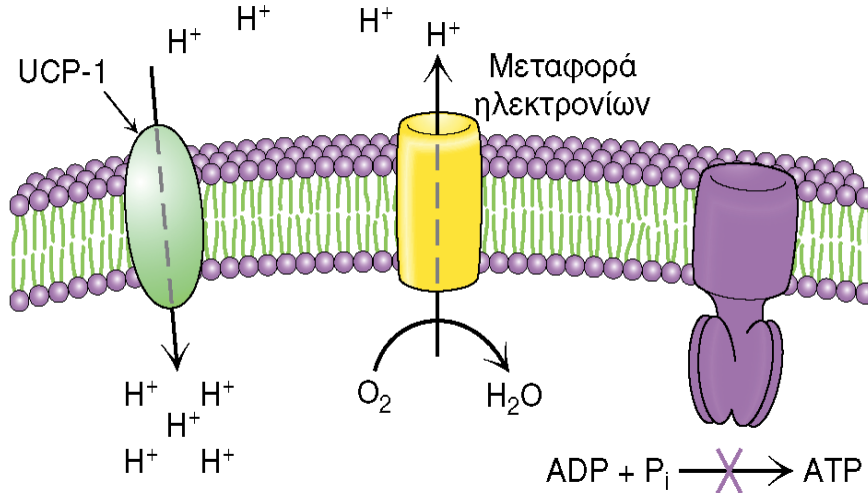
Συνθάση της ATP

Μετατοπάση ATP-ADP

ΕΙΚΟΝΑ 18.43 Θέσεις δράσης ορισμένων αναστολέων της μεταφοράς ηλεκτρονίων

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

Τα λιπαρά οξέα ενεργοποιούν τον δίαυλο UCP-1



ΕΙΚΟΝΑ 18.45 Η δράση μιας αποσυζευκτικής πρωτεΐνης. Η αποσυζευκτική πρωτεΐνη-1 (UCP-1) παράγει θερμότητα επιτρέποντας την είσοδο πρωτονίων στα μιτοχόνδρια χωρίς την παραγωγή ATP.

Βιολογικές εφαρμογές

Σε κατάσταση χειμερινής νάρκης

Σε ορισμένα νεογέννητα ζώα

Σε θηλαστικά προσαρμοσμένα στο ψύχος

Φυτό *Symplocarpus foetidus*

εξάτμιση αρωματικών μορίων που έλκουν έντομα)

Μιτοχονδριακές νόσοι

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

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

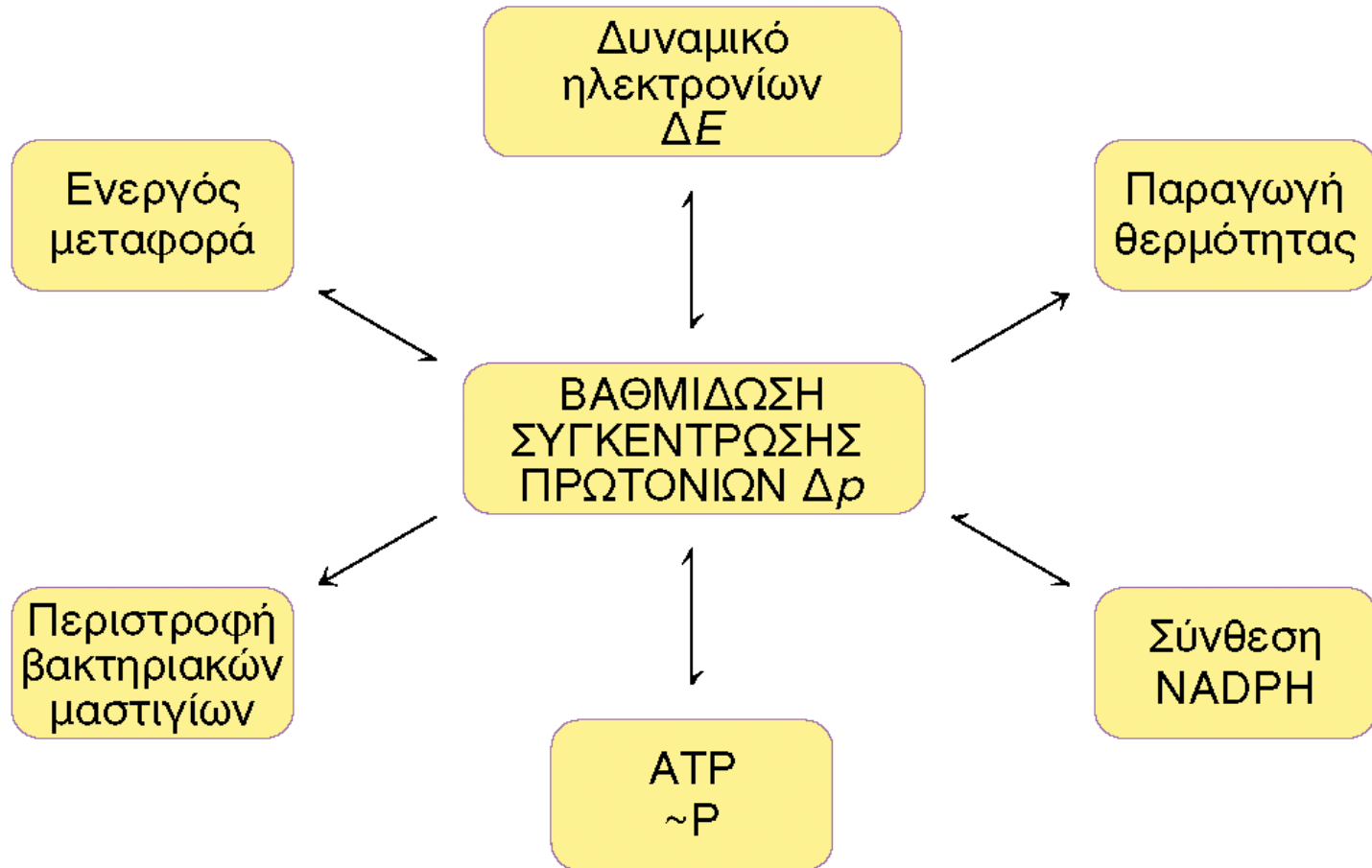
Απόπτωση= προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος
Επέρχεται κυτταρικός θάνατος από «εσωτερικά αίτια» στο κύτταρο

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

Ο μηχανισμός έχει διατηρηθεί ίδιος από τις ύδρα μέχρι τον άνθρωπο

Παράγωγή ενέργειας από βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Χρειάζεται μια τοπολογικά κλειστή μεμβράνη λιπιδίων μεταξύ δυο υδάτινων φάσεων



ΕΙΚΟΝΑ 18.46 Η Βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων είναι μια αλληλομετατροπόμενη μορφή ελεύθερης ενέργειας.