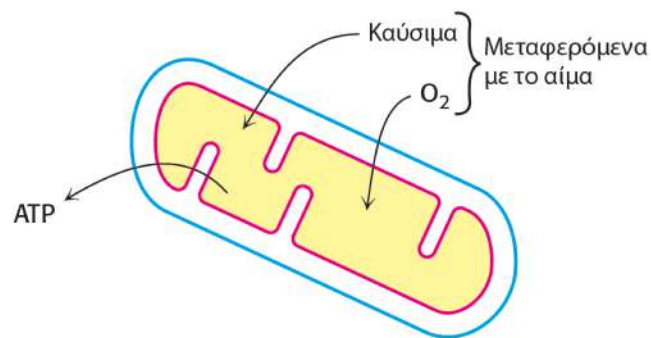
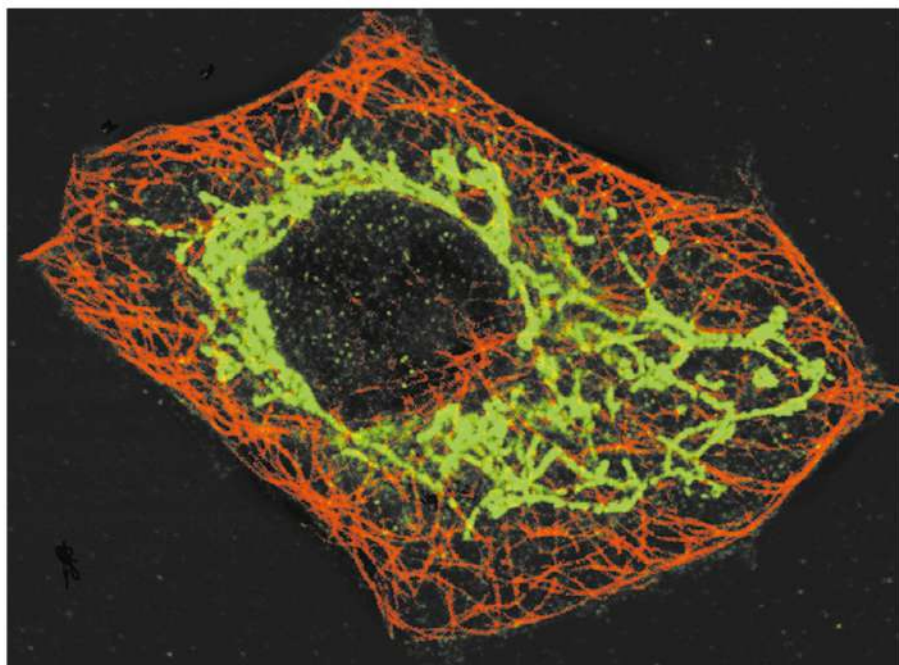


Βιοχημεία I

Κεφάλαιο 18

Οξειδωτική φωσφορυλίωση



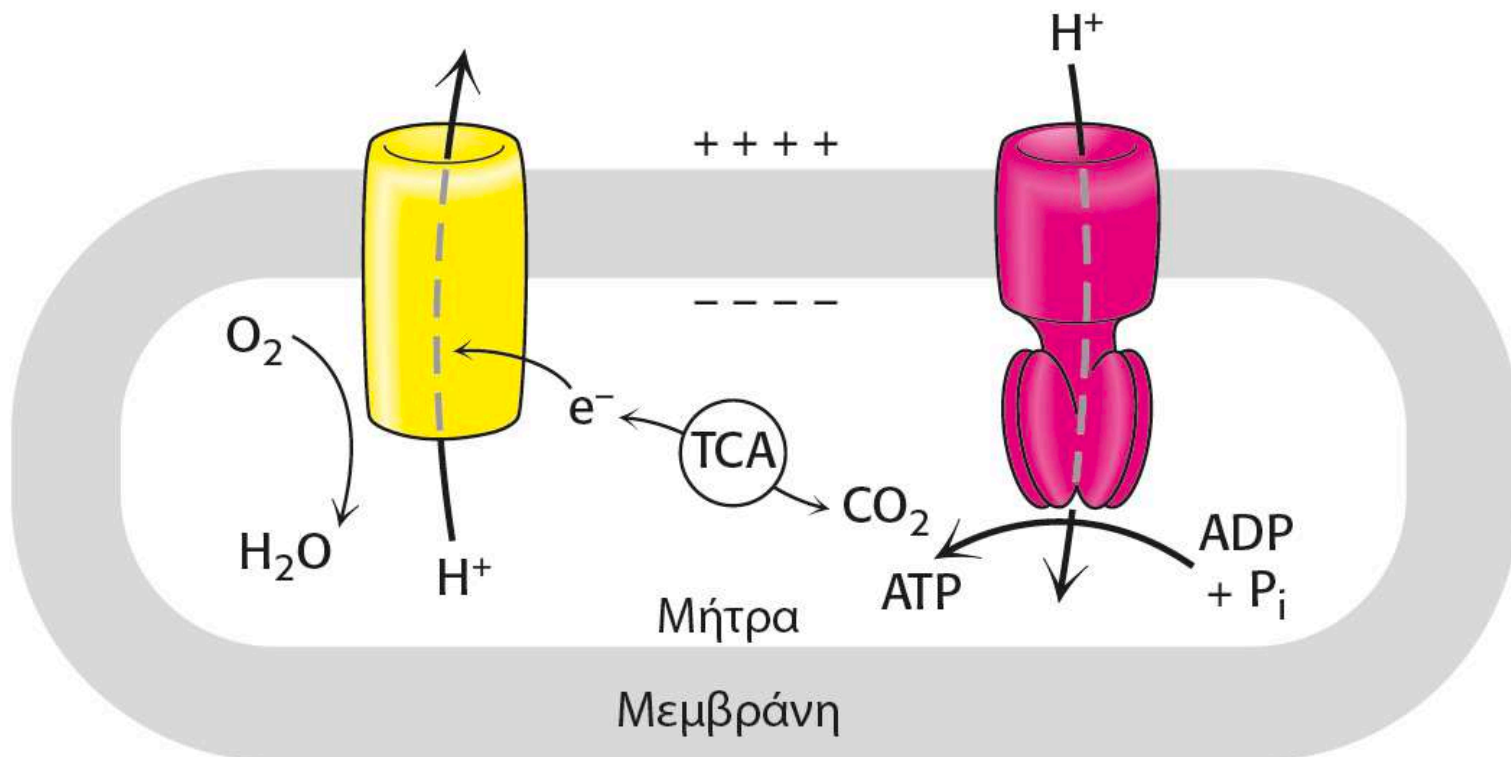
Χρειαζόμαστε 83kg ATP σε μια ημέρα
Έχουμε 250g διαθέσιμα

Κάθε μόριο ATP ανακυκλώνεται περίπου
300 φορές ημερησίως.

Η οξείδωση καύσιμων μορίων και η
σύνθεση της ATP είναι συζευγμένες
μέσω μιας βαθμίδωσης συγκέντρωσης
πρωτονίων μεταξύ δύο πλευρών της
εσωτερικής μιτοχονδριακής μεμβράνης.

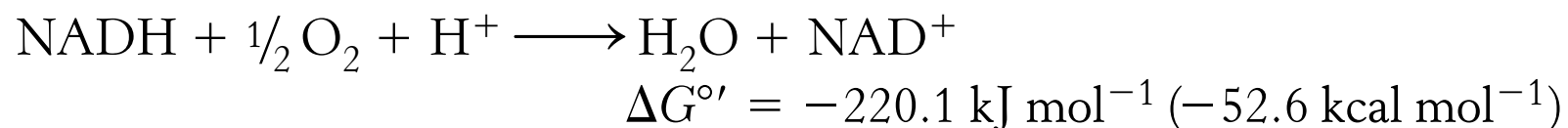
18.0 Εισαγωγή

Εποπτική εικόνα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης



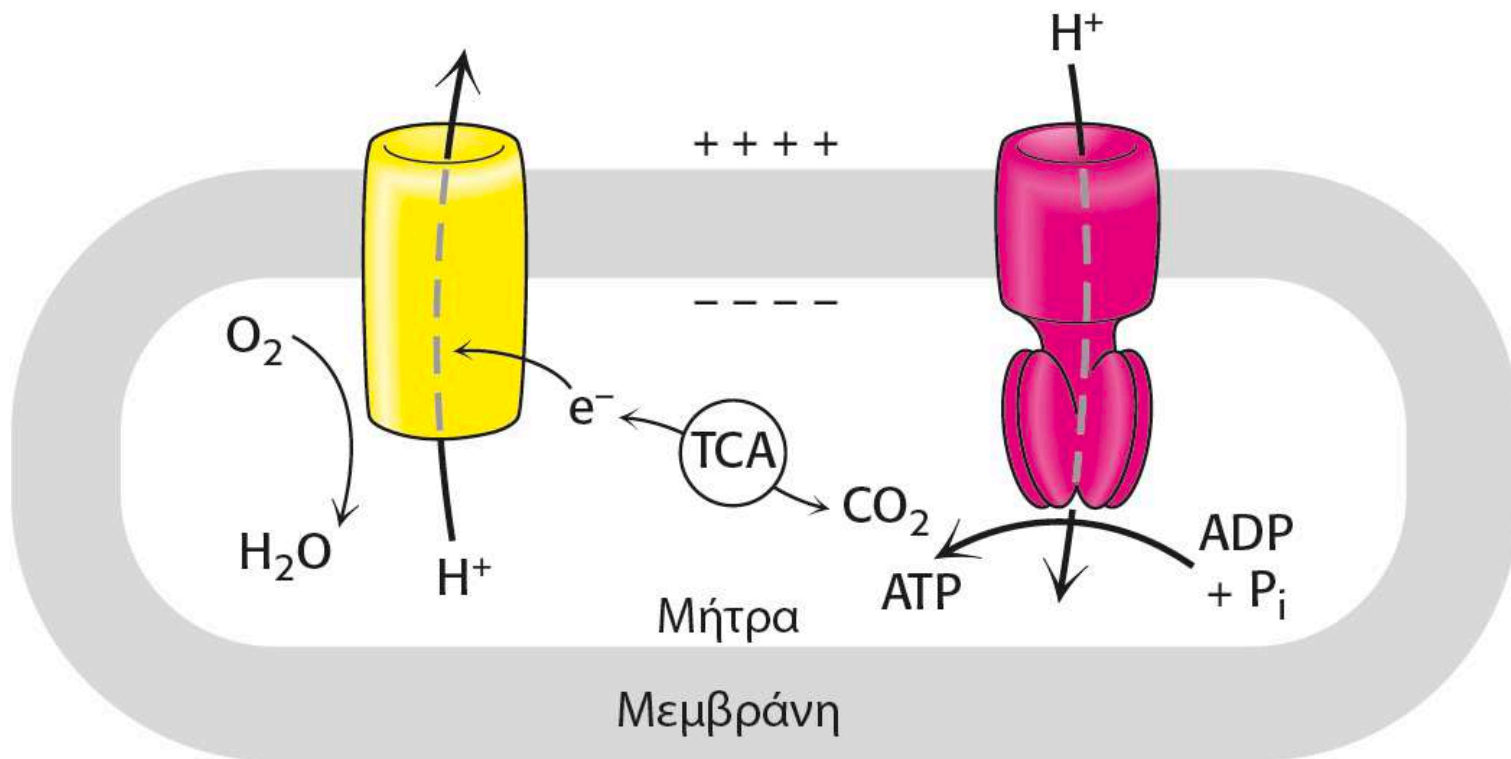
Αντιδράσεις οξειδοαναγωγής, που επιτρέπουν την ροή e^- από το NADH και το $FADH_2$ προς το O_2

Λαμβάνει χώρα σε 4 μεγάλα συμπλέγματα πρωτεϊνών που βρίσκονται βυθισμένα στην εσωτερική μεμβράνη των μιτοχονδρίων και συλλογικά ονομάζονται **αναπνευστική αλυσίδα ή αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων**



18.0 Εισαγωγή

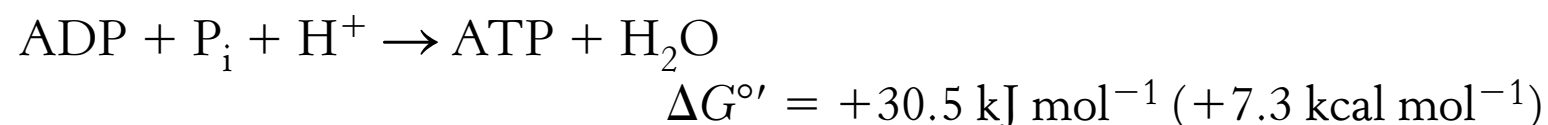
Εποπτική εικόνα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης



Τρία από τα συμπλέγματα αντλούν H^+ από τη μιτοχονδριακή μήτρα προς τον διαμεμβρανικό χώρο

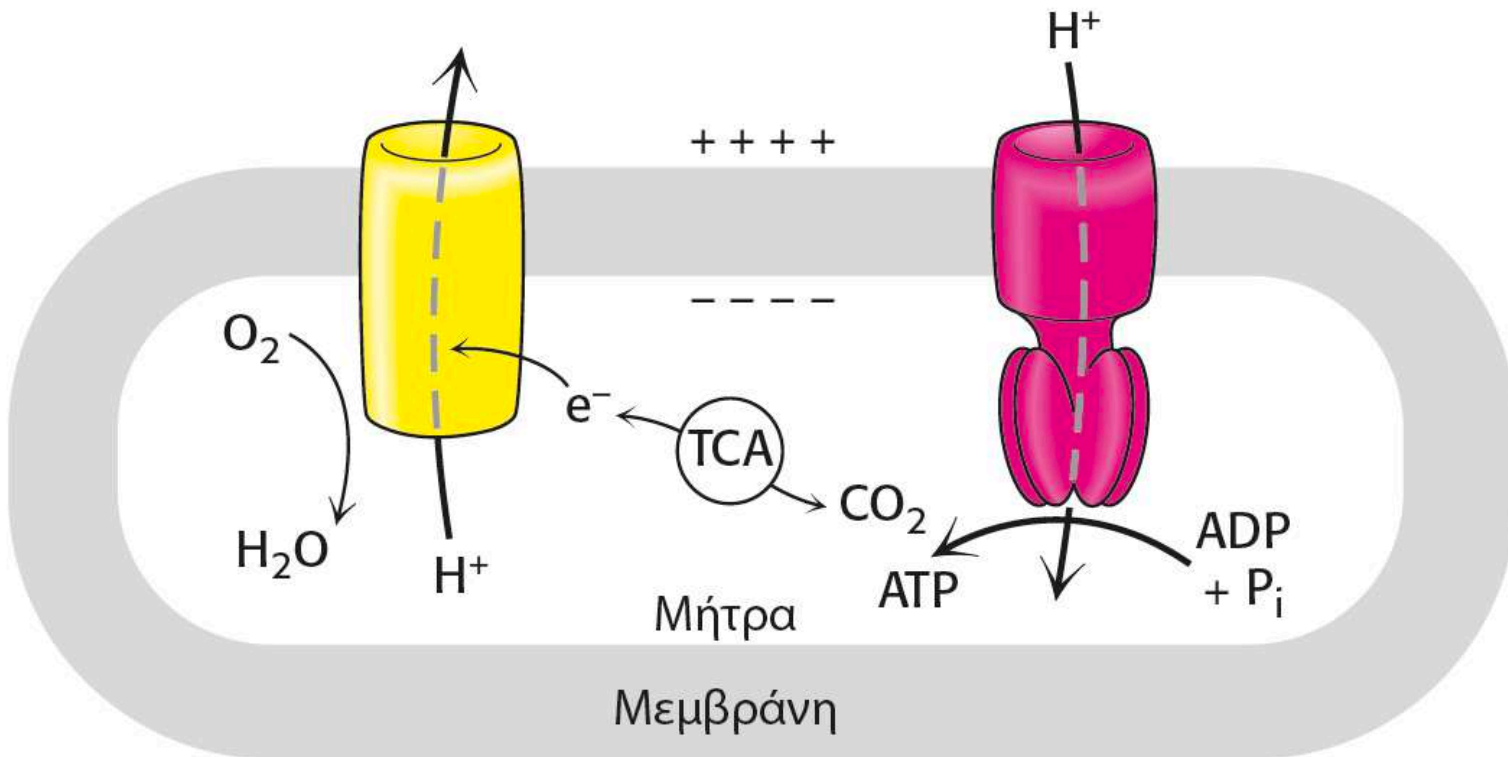
1) Βαθμίδωση pH και 2) μια μεμβρανική διαφορά δυναμικού, ώστε να παραχθεί μια πρωτονιοκίνητη δύναμη

Η ATP συντίθεται όταν τα H^+ ρέουν προς την μιτοχονδριακή μήτρα μέσω ενός ενζυμικού συμπλέγματος (της συνθάσης της ATP)



18.0 Εισαγωγή

Εποπτική εικόνα της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης



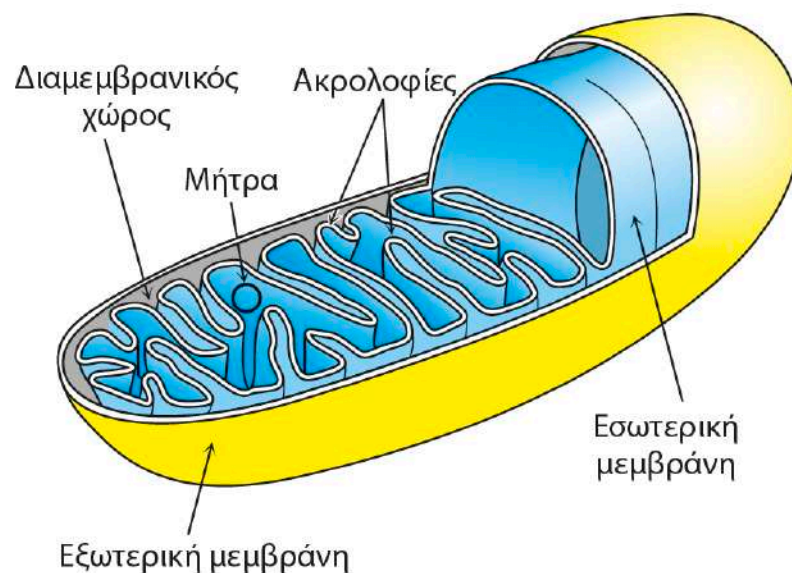
Η παραγωγή ηλεκτρονίων υψηλού δυναμικού μεταφοράς στον κύκλο του κιτρικού οξέος, η ροή τους μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας και η συνοδούσα σύνθεση της ATP ονομάζονται στο σύνολο τους **κυτταρική αναπνοή ή αναπνοή**.

18.1 Η οξειδωτική φωσφορυλίωση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς λαμβάνει χώρα στα μιτοχόνδρια

Τα μιτοχόνδρια περιβάλλονται από μια διπλή μεμβράνη



(A)

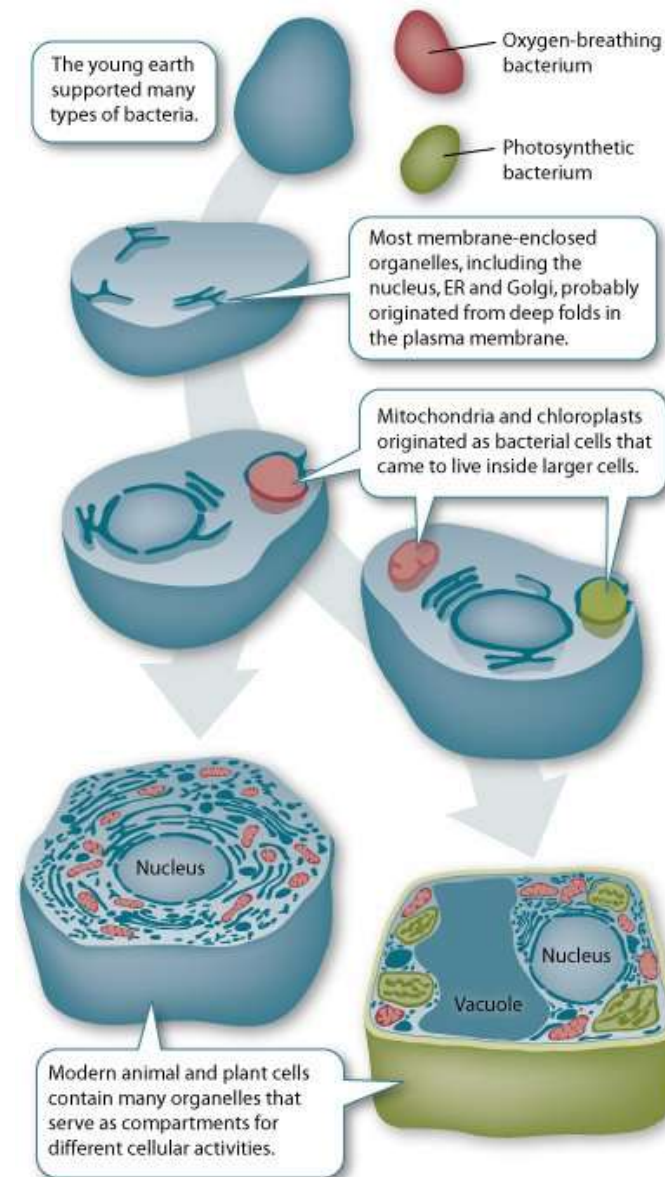
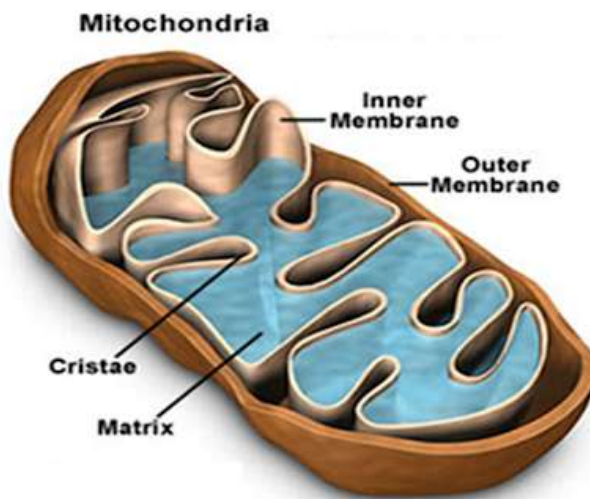
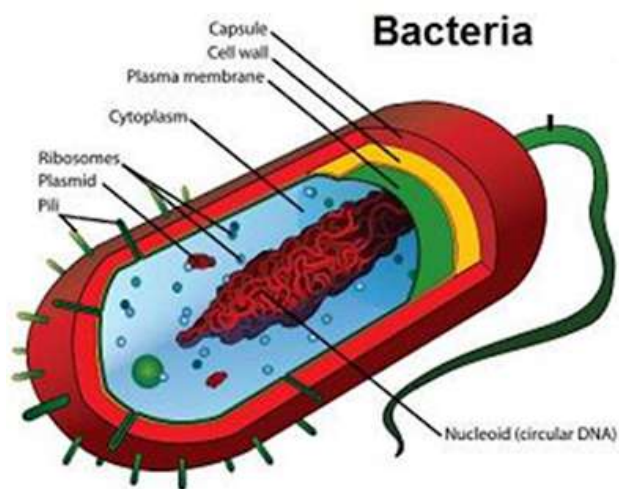


(B)

- Ωοειδή οργανίδια που έχουν συνήθως μήκος 2 μm και διάμετρο 0,5 μm , δηλαδή έχουν διαστάσεις βακτηρίου
- Μια εξωτερική μεμβράνη
- Μια μεγάλων διαστάσεων εσωτερική μεμβράνη
- Στην μήτρα πραγματοποιούνται οι περισσότερες αντιδράσεις του κύκλου του κιτρικού οξέος
- Στην εσωτερική μεμβράνη η οξειδωτική φωσφορυλίωση

18.1

Τα μιτοχόνδρια και τα βακτήρια



18.2 Η οξειδωτική φωσφορυλίωση εξαρτάται από τη μεταφορά ηλεκτρονίων

Το δυναμικό μεταφοράς ηλεκτρονίων μετράται ως δυναμικό οξειδοαναγωγής (ή δυναμικό αναγωγής)

Ένα ισχυρό αναγωγικό αντιδραστήριο (π.χ. NADH) είναι σε θέση να δώσει ηλεκτρόνια και έχει **αρνητικό** δυναμικό αναγωγής

Ένα ισχυρό οξειδωτικό αντιδραστήριο (π.χ. O₂) είναι έτοιμο να δεχθεί ηλεκτρόνια και έχει **θετικό** δυναμικό αναγωγής

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

Οξειδωτικό	Αναγωγικό	n	E'° (V)
Ηλεκτρικό + CO ₂	α-Κετογλουταρικό	2	- 0,67
Οξικό	Ακεταλδεϋδη	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
Γλουταθειό (οξειδωμένο)	Γλουταθειό (ανηγμένο)	2	- 0,23
Ακεταλδεϋδη	Αιθανόλη	2	- 0,20
Πυροσταφυλικό	Γαλακτικό	2	- 0,19
Φουμαρικό	Ηλεκτρικό	2	0,03
Κυτόχρωμα b (+3)	Κυτόχρωμα b (+2)	1	0,07
Δειδροασκορβικό	Ασκορβικό	2	0,08
Ουβικινόνη (οξειδωμένη)	Ουβικινόνη (ανηγμένη)	2	0,10
Κυτόχρωμα c (+3)	Κυτόχρωμα c (+2)	1	0,22
Fe (+3)	Fe (+2)	1	0,77
½ O ₂ + 2 H ⁺	H ₂ O	2	0,82

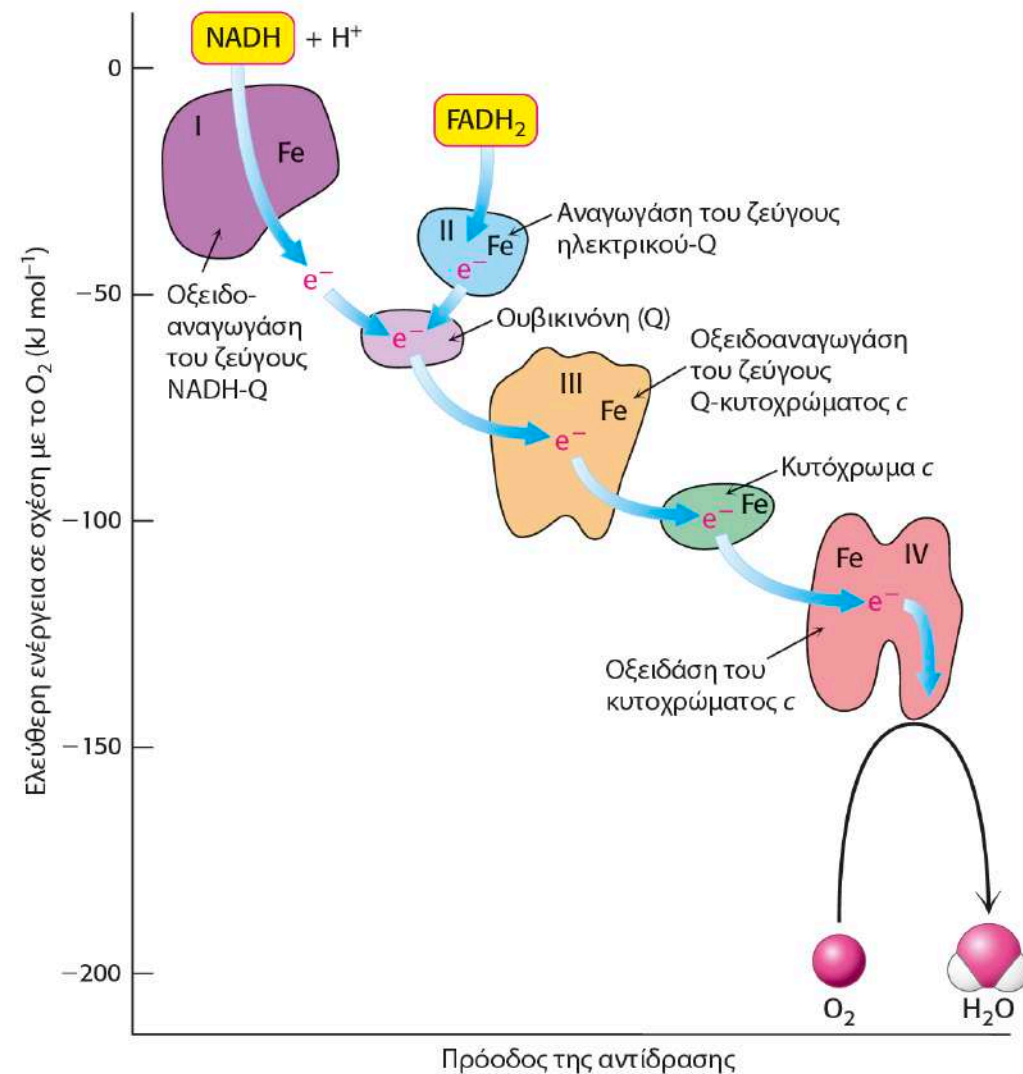
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Τα συστατικά της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (4 σύμπλοκα)

- 3 αντλίες H⁺
- Φυσική σύνδεση με τον κύκλο του κιτρικού οξέος

Ενζυμικό σύμπλοκο	Μάζα (kd)	Προσθετική ομάδα	Οξειδωτικό ή αναγωγικό		Διαμεμβρανικός Χώρος
			Πλευρά μήτρας	Εσωτερικό μεμβράνης	
Οξειδοαναγωγή του ζεύγους NADH-Q	880	FMN	NADH Fe-S	Q	
Αναγωγή του ζεύγους ηλεκτρικού-Q	140	FAD	Ηλεκτρικό Fe-S	Q	
Οξειδοαναγωγή του ζεύγους Q-κυτοχρώματος c	250	Αίμη b _H		Q	Κυτόχρωμα c
Οξειδάση του κυτοχρώματος c	160	Αίμη a Αίμη a ₃ Cu _A και Cu _B			Κυτόχρωμα c

Τα ηλεκτρόνια ρέουν σε μια βαθμίδωση ενέργειας από το NADH στο O₂



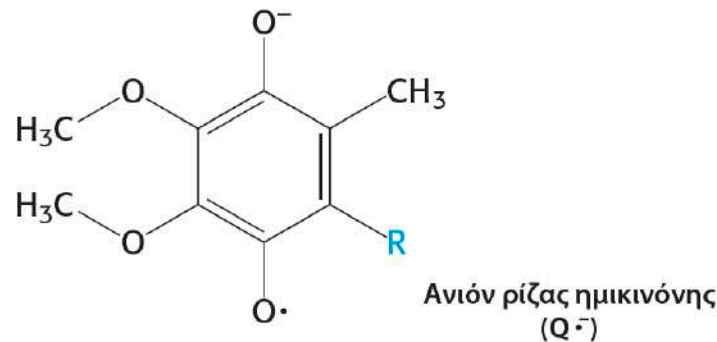
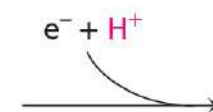
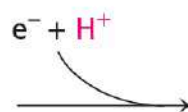
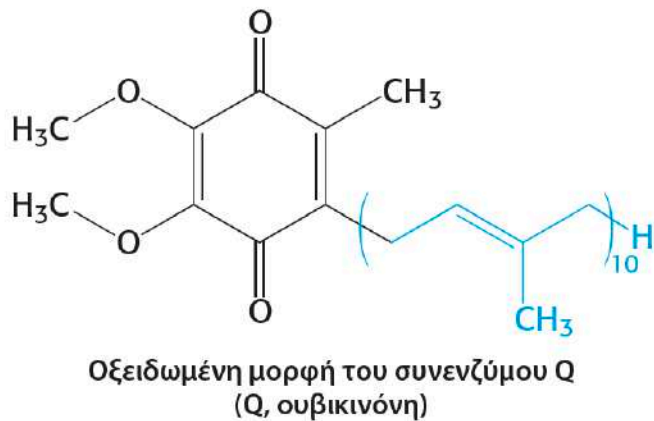
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Εξειδικευμένοι φορείς ηλεκτρονίων μεταφέρουν ηλεκτρόνια από το ένα σύμπλοκο στο επόμενο (συζευγμένα με πρόσδεση και απελευθέρωση H^+)

Συνένζυμο Q (ουβικινόνη)

- Δεξαμενή Q και QH_2 (εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη)

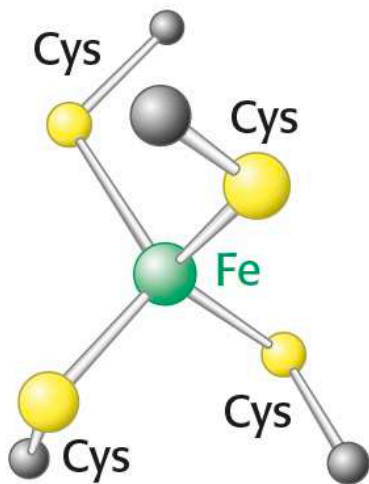
Γιατί η αλυσίδα ισοπρενίου;



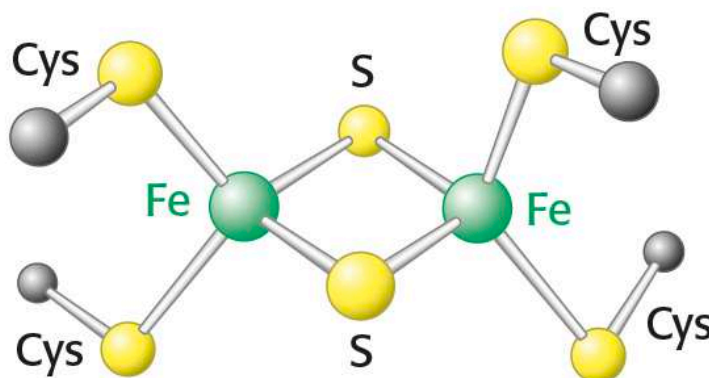
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Σύμπλοκα σιδήρου-θείου είναι κοινά συστατικά της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων (αντιδράσεις οξειδοαναγωγής)

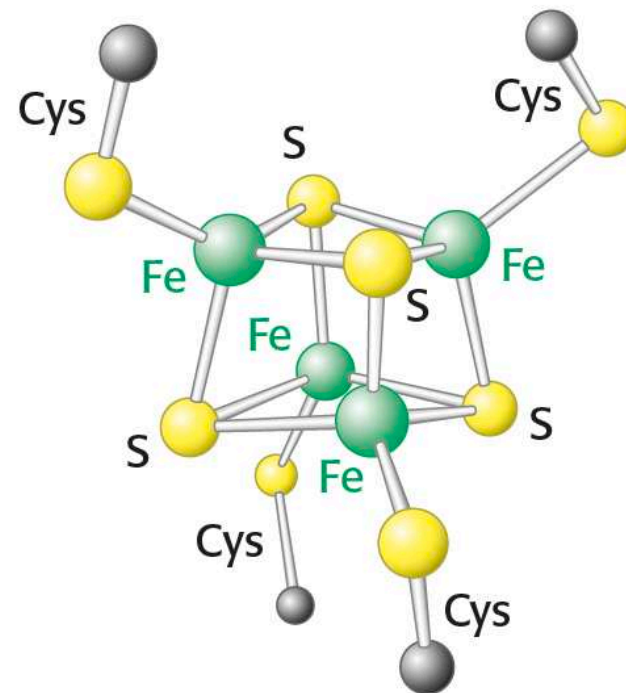
Αλλάζουν το σθένος τους μεταξύ Fe^{2+} (ανηγμένα) και Fe^{3+} (οξειδωμένα)



Fe-S



2Fe-2S



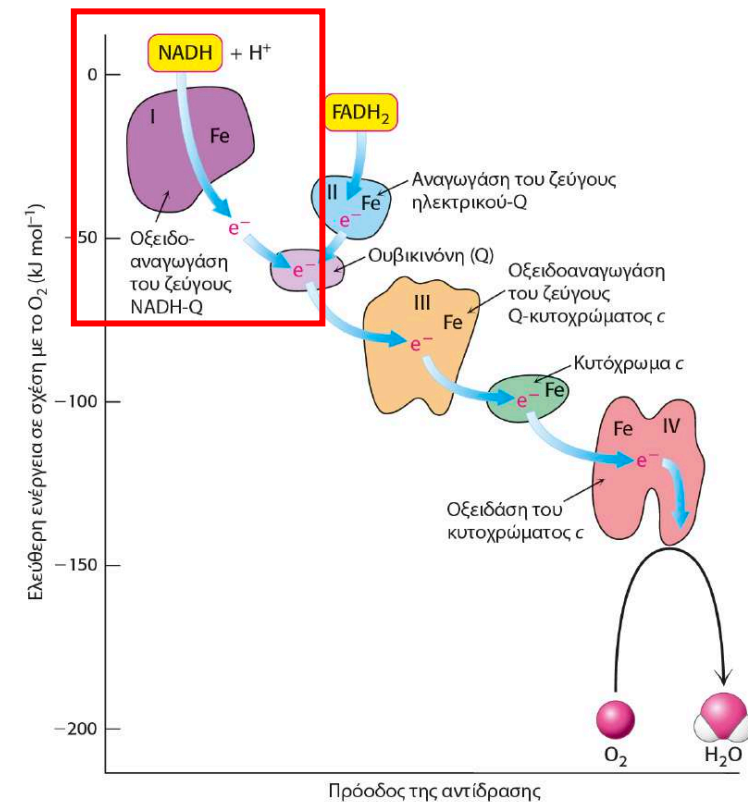
4Fe-4S

18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

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

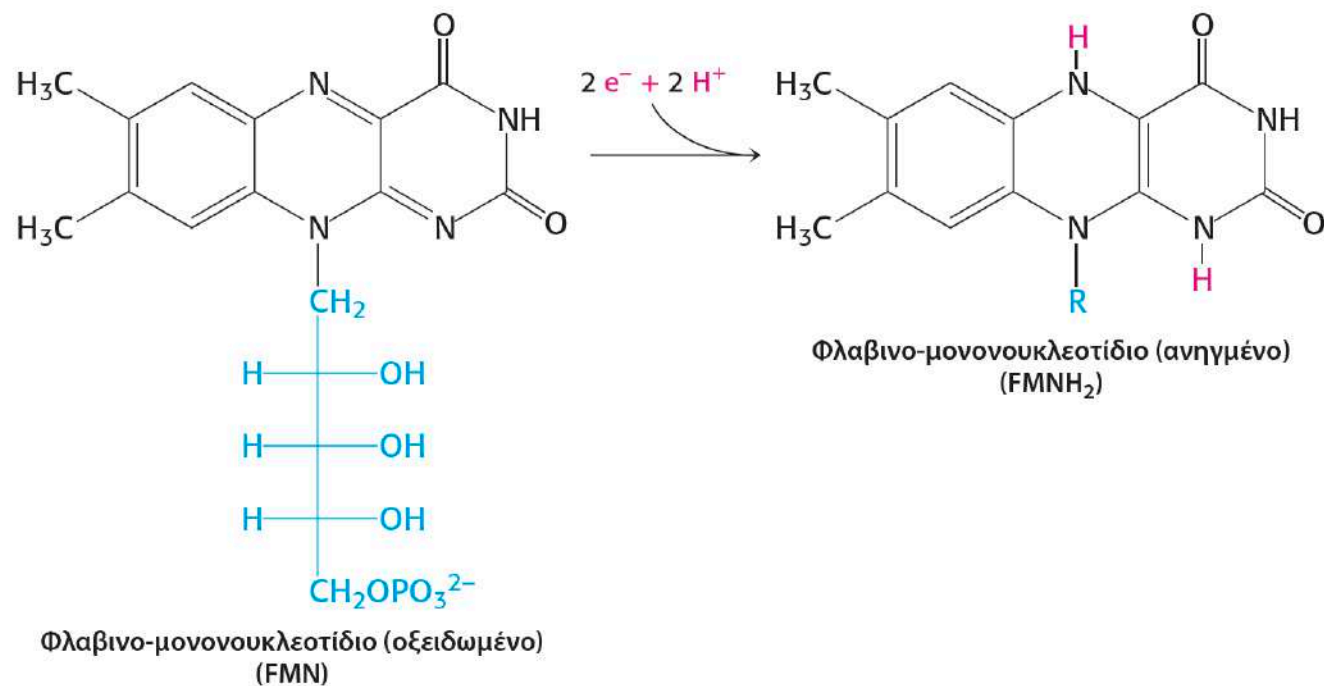
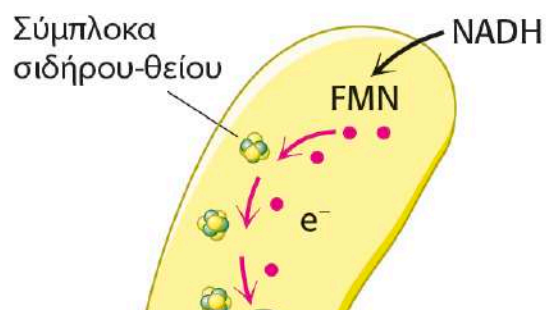


- Η ροή 2 e⁻ από το NADH στο συνένζυμο Q οδηγεί στην άντληση 4 H⁺ έξω από τη μήτρα του μιτοχονδρίου
- Το Q²⁻ προσλαμβάνει 2 H⁺ από τη μήτρα καθώς ανάγεται σε QH₂



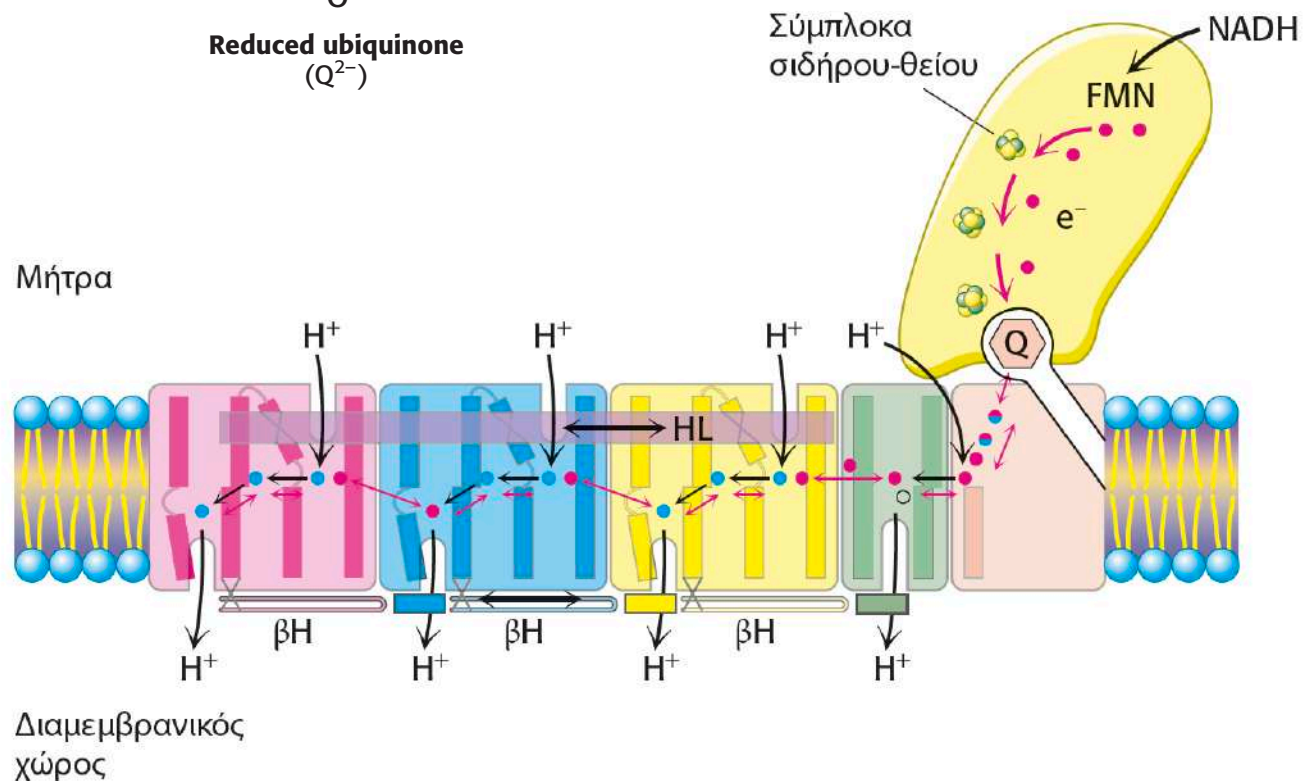
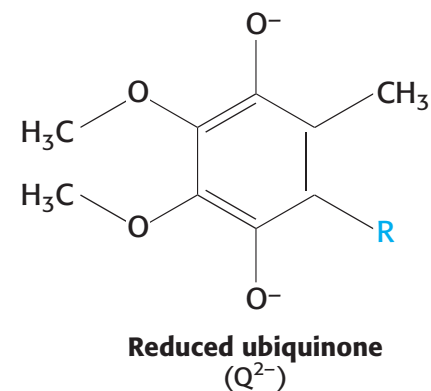
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

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



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

- Το Q^{2-} αλληλεπιδρά ηλεκτροστατικά με υδρόφιλα αμινοξέα (μεταφέρεται το φορτίο του)
- Αλλαγή στην διαμόρφωση
- Αλλαγή στο pKa των αμινοξέων
- Τα H^+ από την μήτρα εισέρχονται
- Τα H^+ εξέρχονται στο διαμεμβρανικό χώρο
- Το Q^{2-} προσλαμβάνει 2 H^+ από τη μήτρα καθώς ανάγεται σε QH_2

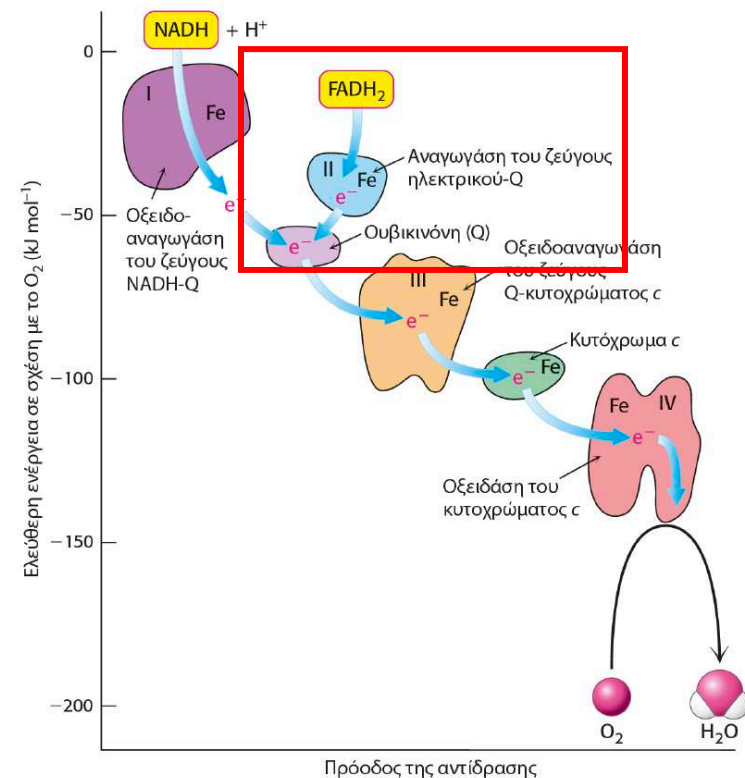


18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Η ουβικινόλη είναι το σημείο εισόδου ηλεκτρονίων από το FADH_2 των φλαβινοπρωτεϊνών

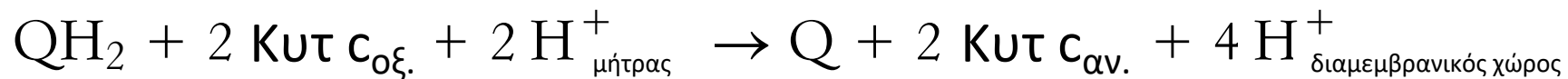
Το FADH_2 σχηματίζεται στον κύκλο του κιτρικού οξέος κατά την οξείδωση του ηλεκτρικού σε φουμαρικό από την ηλεκτρική αφυδρογονάση

Η ηλεκτρική αφυδρογονάση είναι μέρος του συμπλόκου της αναγωγής του ζεύγους ηλεκτρικού-Q (Σύμπλοκο II)



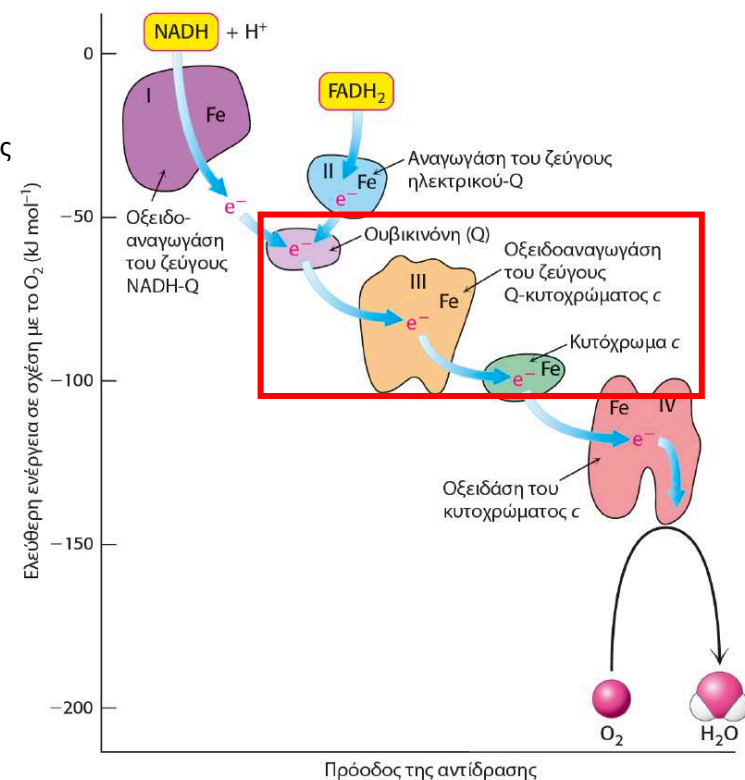
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Τα ηλεκτρόνια ρέουν από την ουβικινόλη (QH₂) προς το κυτόχρωμα c (εξειδικευμένος φορέας e⁻), μέσω της οξειδοαναγωγής του ζεύγους Q-κυτοχρώματος c (Σύμπλοκο III)



Η ίδια η οξειδοαναγωγή του ζεύγους Q-κυτοχρώματος c περιέχει δύο τύπους κυτοχρωμάτων (b, c1)

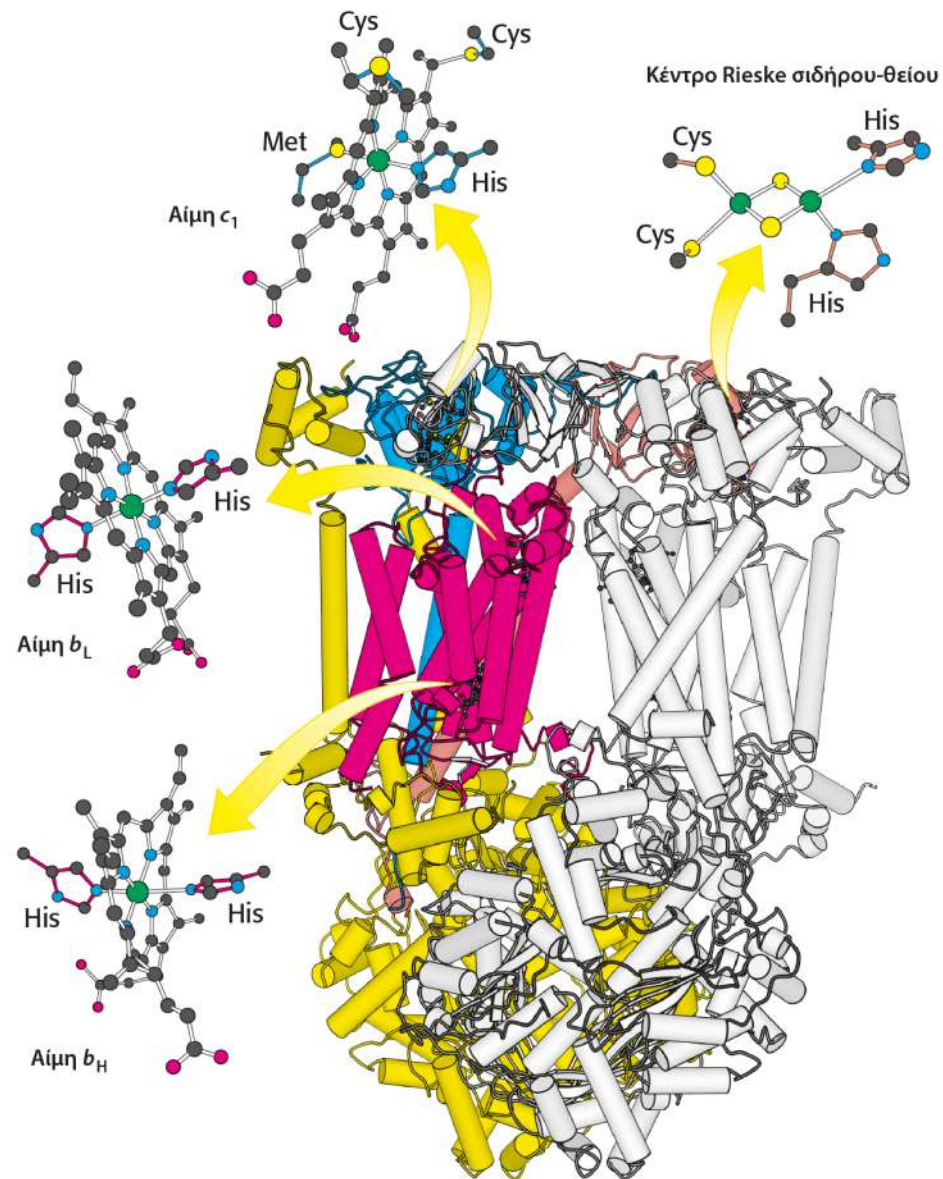
Το κυτόχρωμα είναι πρωτεΐνη μεταφοράς ηλεκτρονίων που περιέχει προσθετική ομάδα αίμης



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Δομή της οξειδοαναγωγής του ζεύγους Q-κυτοχρώματος c

- Ομοδιμερές
- Αίμη c_1 , b_L και b_H
- Κέντρο Rieske 2Fe-2S
- Κατά τη μεταφορά ηλεκτρονίων, το ιόν σιδήρου ενός κυτοχρώματος εναλλάσσεται μεταξύ της κατάστασης αναγωγής, σιδηρο-(+2), και της κατάστασης οξείδωσης, σιδηρι-(+3).



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

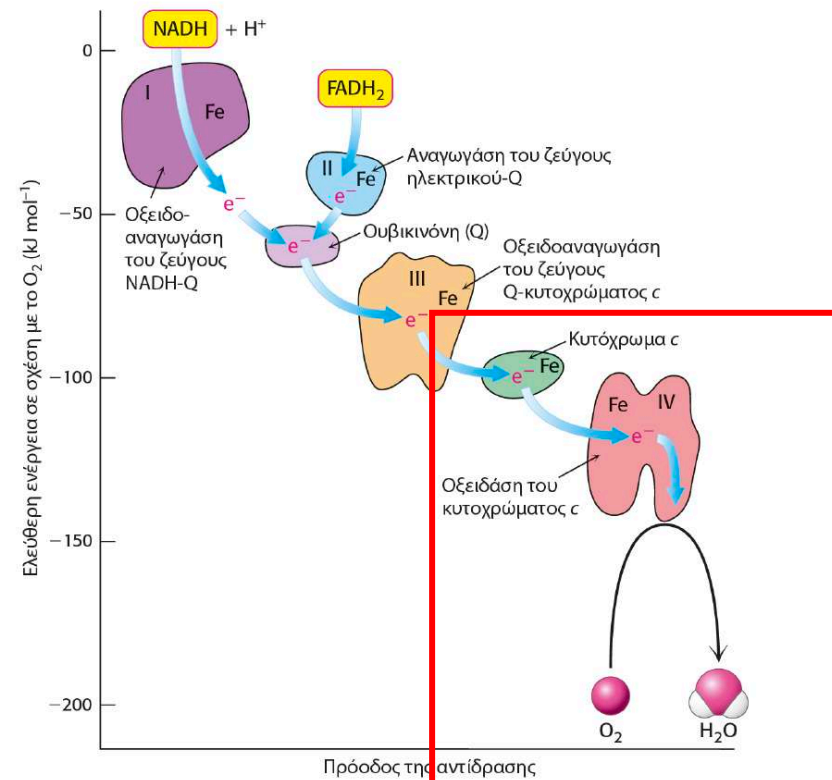
Η οξειδάση του κυτοχρώματος c (Σύμπλοκο IV) καταλύει την αναγωγή του μοριακού οξυγόνου σε νερό



4 e⁻ διοχετεύονται στο O₂ για την πλήρη αναγωγή του σε H₂O, και παράλληλα 4 H⁺ αντλούνται από τη μιτοχονδριακή μήτρα προς τον διαμεμβρανικό χώρο

Η απαίτηση για μοριακό αέριο οξυγόνο σε αυτή την αντίδραση είναι εκείνη που καθιστά τους «αερόβιους» οργανισμούς αερόβιους

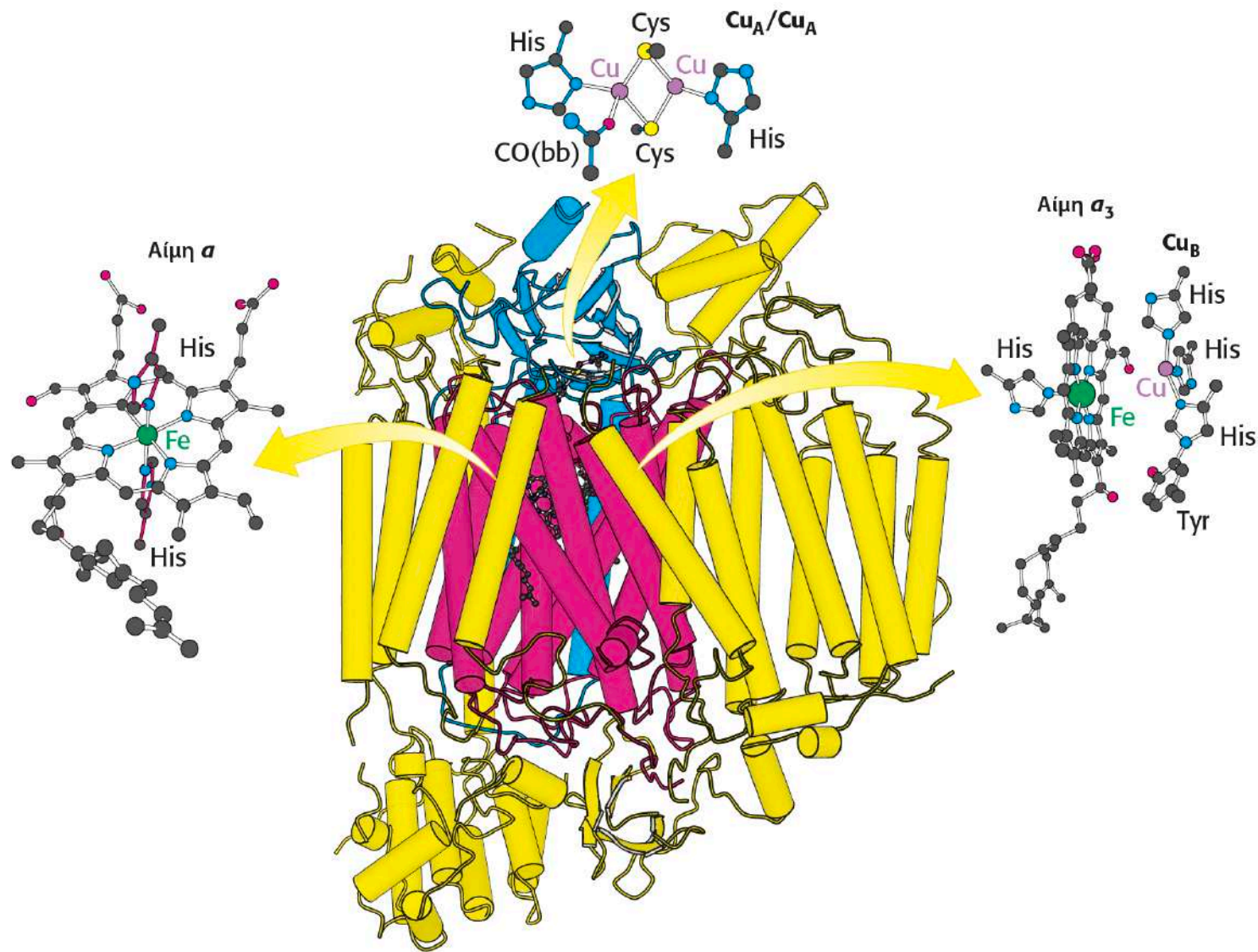
Η αντίδραση αυτή είναι ο λόγος που πρέπει να αναπνέουμε



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Η δομή της οξειδάσης του κυτοχρώματος c

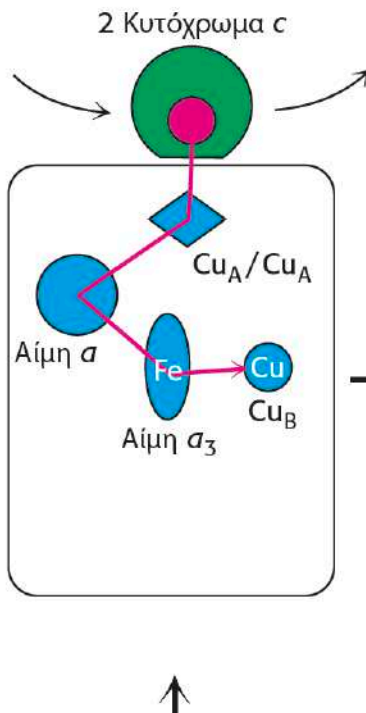
- 2 ομάδες αίμης α
- 3 ιόντα χαλκού σε διάταξη δύο κέντρο χαλκού που ονομάζονται A και B
- Εναλλάσσονται μεταξύ Cu^+ και Cu^{2+}



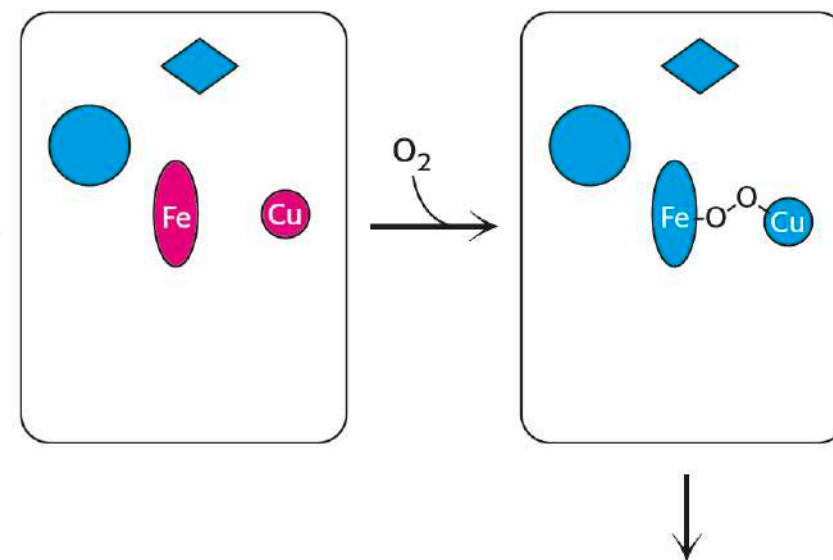
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Ο μηχανισμός της οξειδάσης του κυτοχρώματος c

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

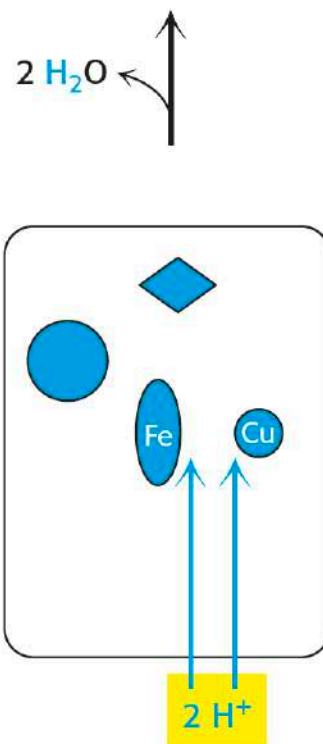


2. Τα ανηγμένα Cu_B και Fe στην αίμη a_3 προσδένουν O_2 , το οποίο σχηματίζει μια γέφυρα υπεροξειδίου.

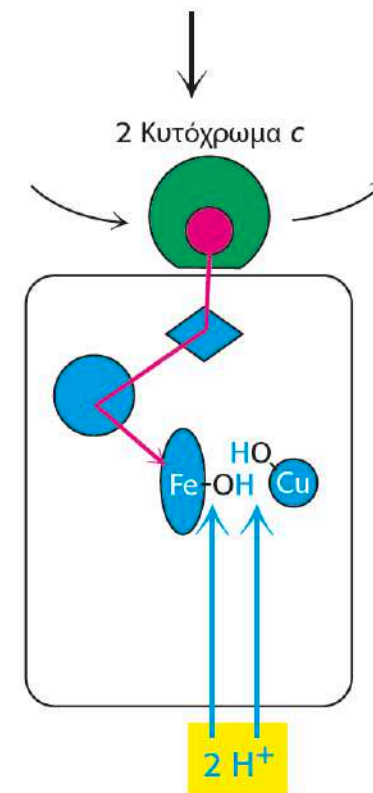


18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Ο μηχανισμός της οξειδάσης του κυτοχρώματος c



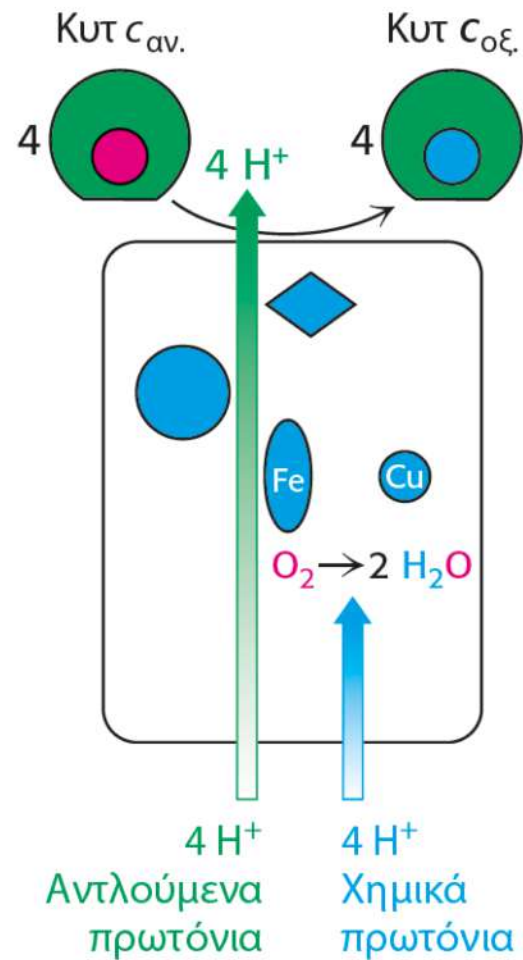
4. Η προσθήκη άλλων δύο πρωτονίων οδηγεί στην απελευθέρωση δύο μορίων ύδατος.



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

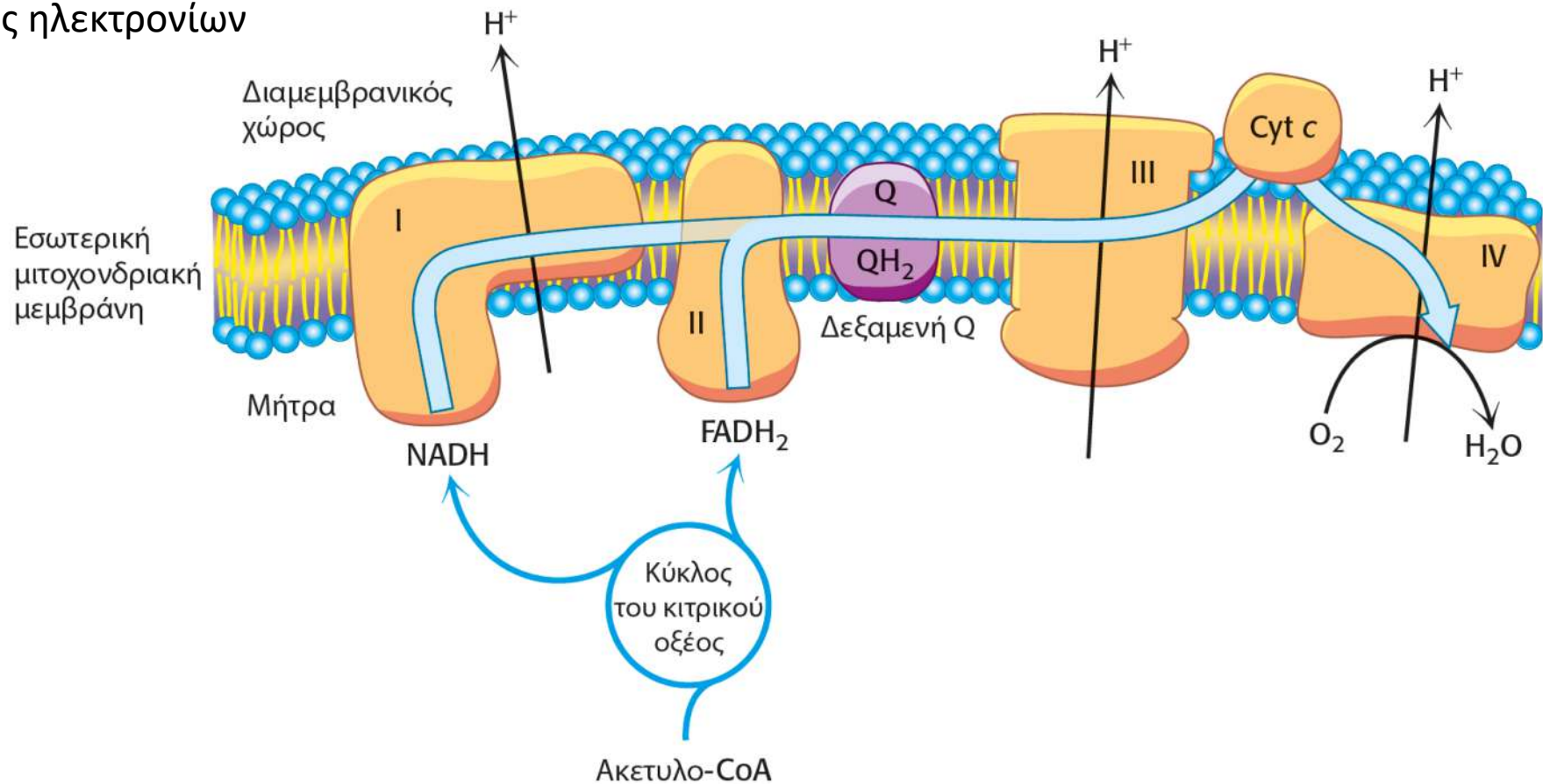
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Μεταφορά H^+ από την οξειδάση του κυτοχρώματος c



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

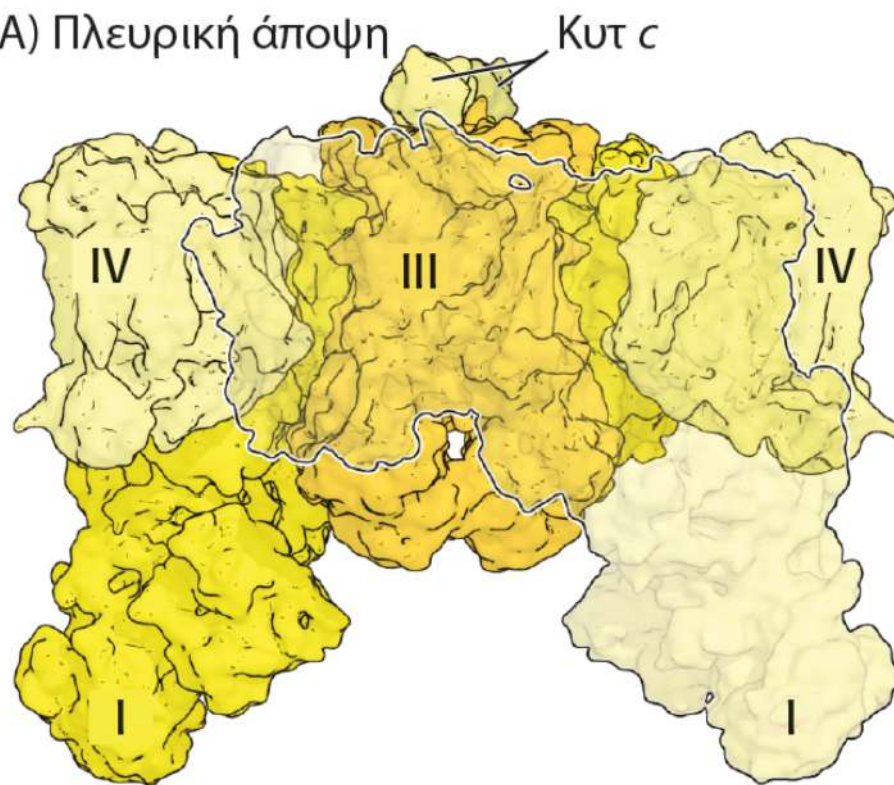
Η αλυσίδα μεταφοράς ηλεκτρονίων



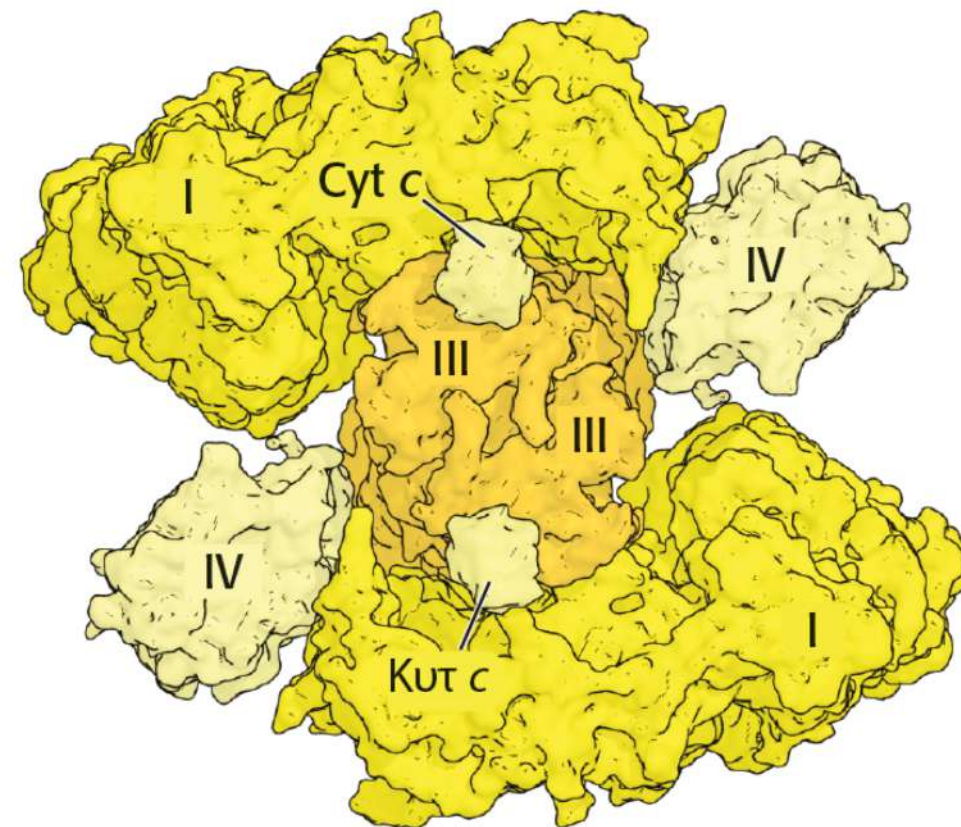
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Το αναπνεόσωμα

(A) Πλευρική άποψη

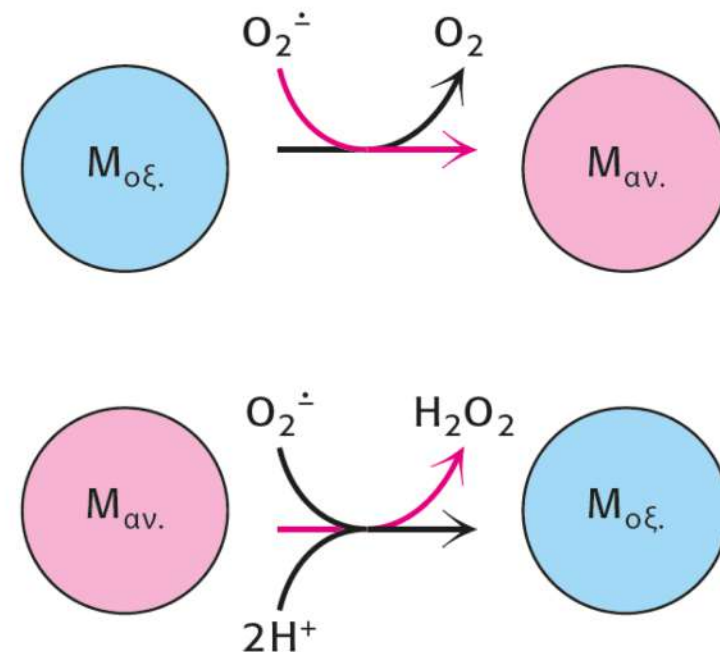
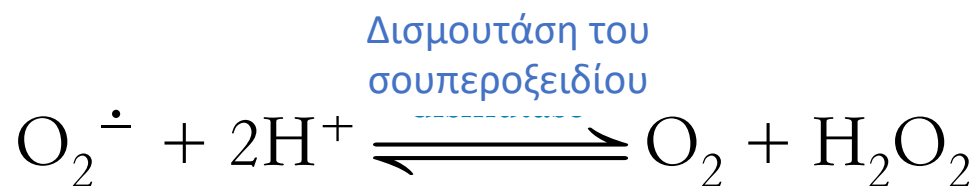
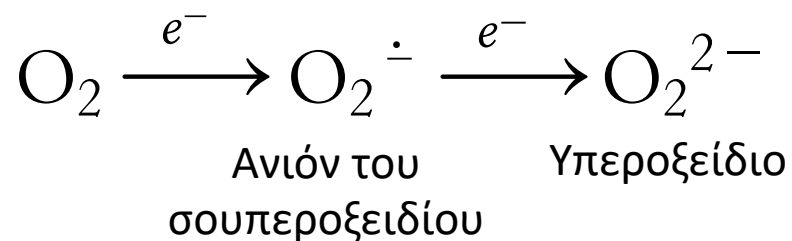


(B) Κορυφαία άποψη (κάτοψη)



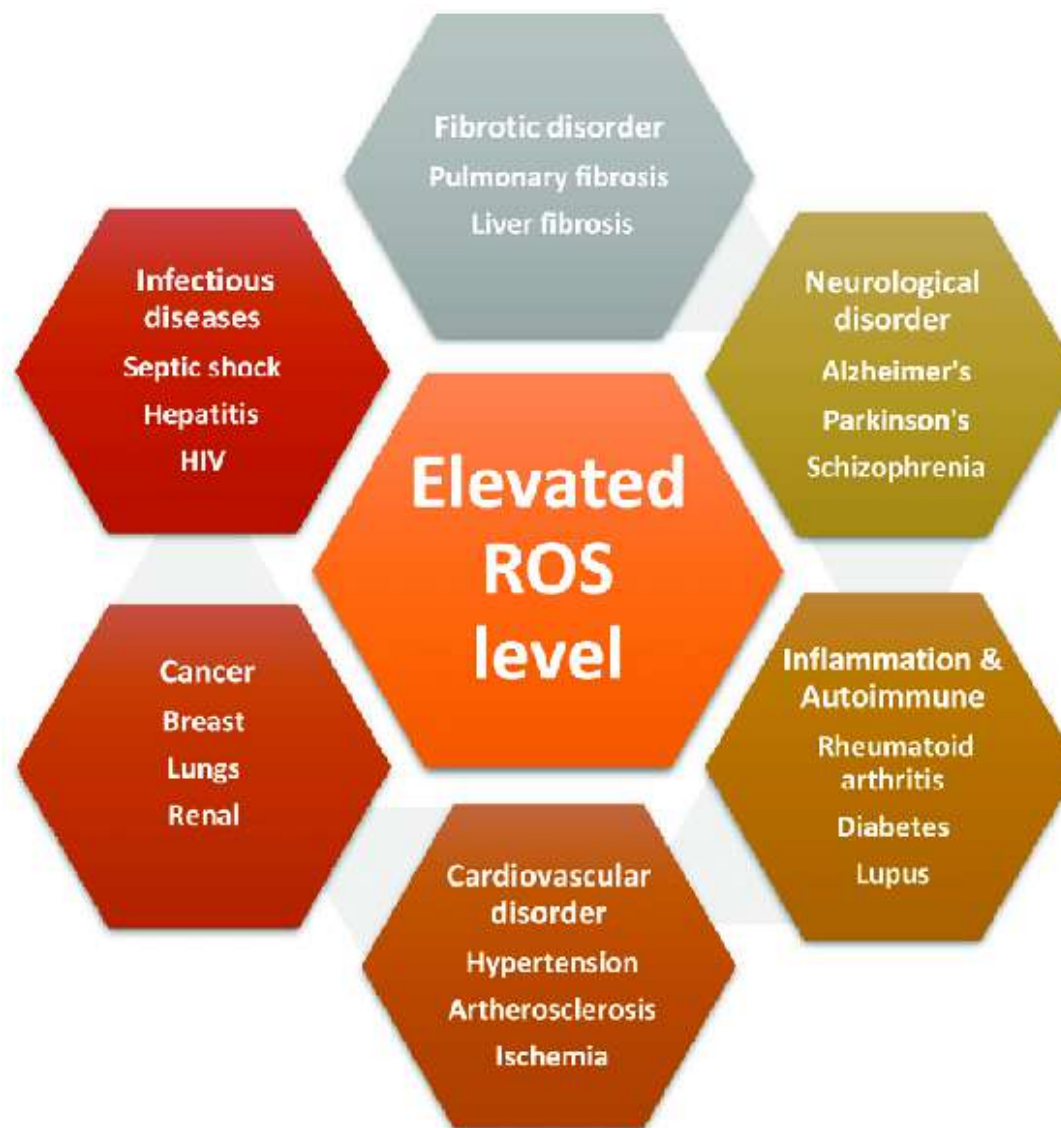
18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

Τοξικά παράγωγα του μοριακού οξυγόνου, όπως οι ρίζες του σουπεροξειδίου, περισυλλέγονται από προστατευτικά ένζυμα



18.3 Η αναπνευστική αλυσίδα

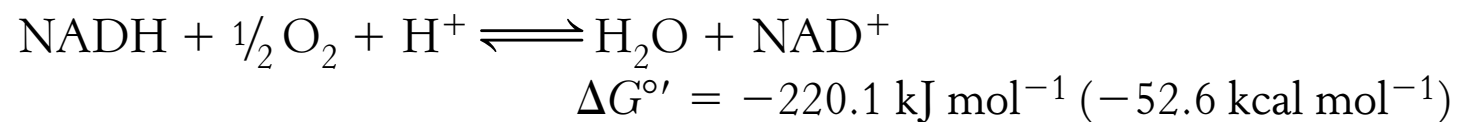
Αντιδραστικές ενώσεις οξυγόνου
ROS



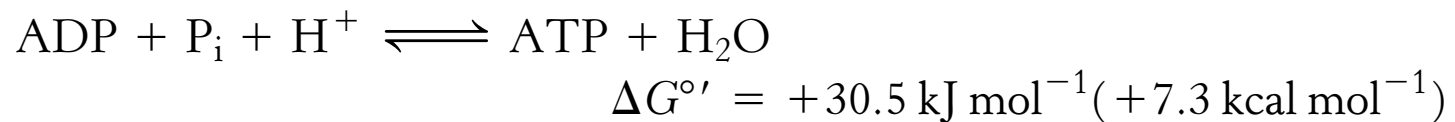


18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Ροή ηλεκτρονίων από NADH προς το O₂ (εξώεργη διεργασία)



Σύνθεση ATP (ενδόεργη διεργασία)



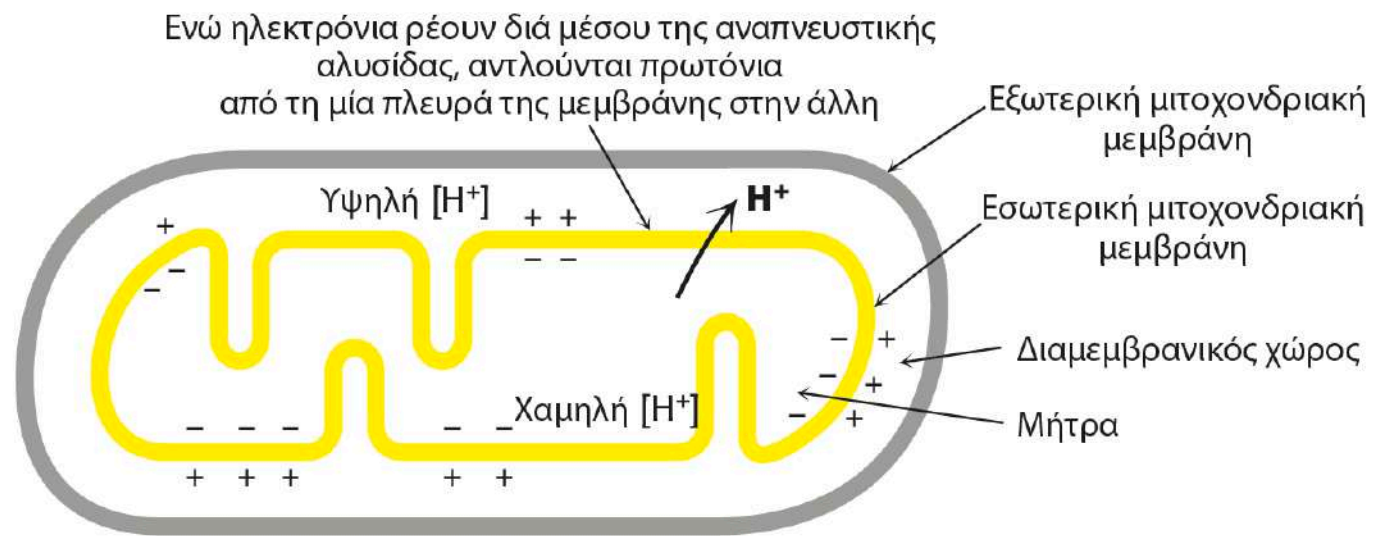
πως οι διεργασίες αυτές
είναι συζευγμένες;

Η συνθάση ATP (Σύμπλοκο V)

18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Χημειωσμωτική υπόθεση

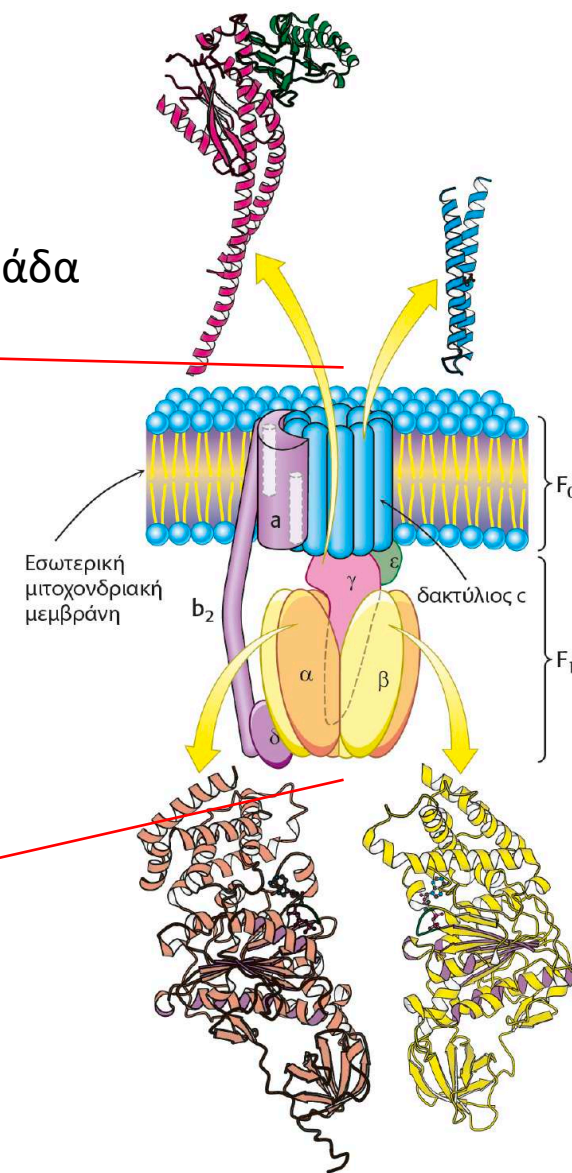
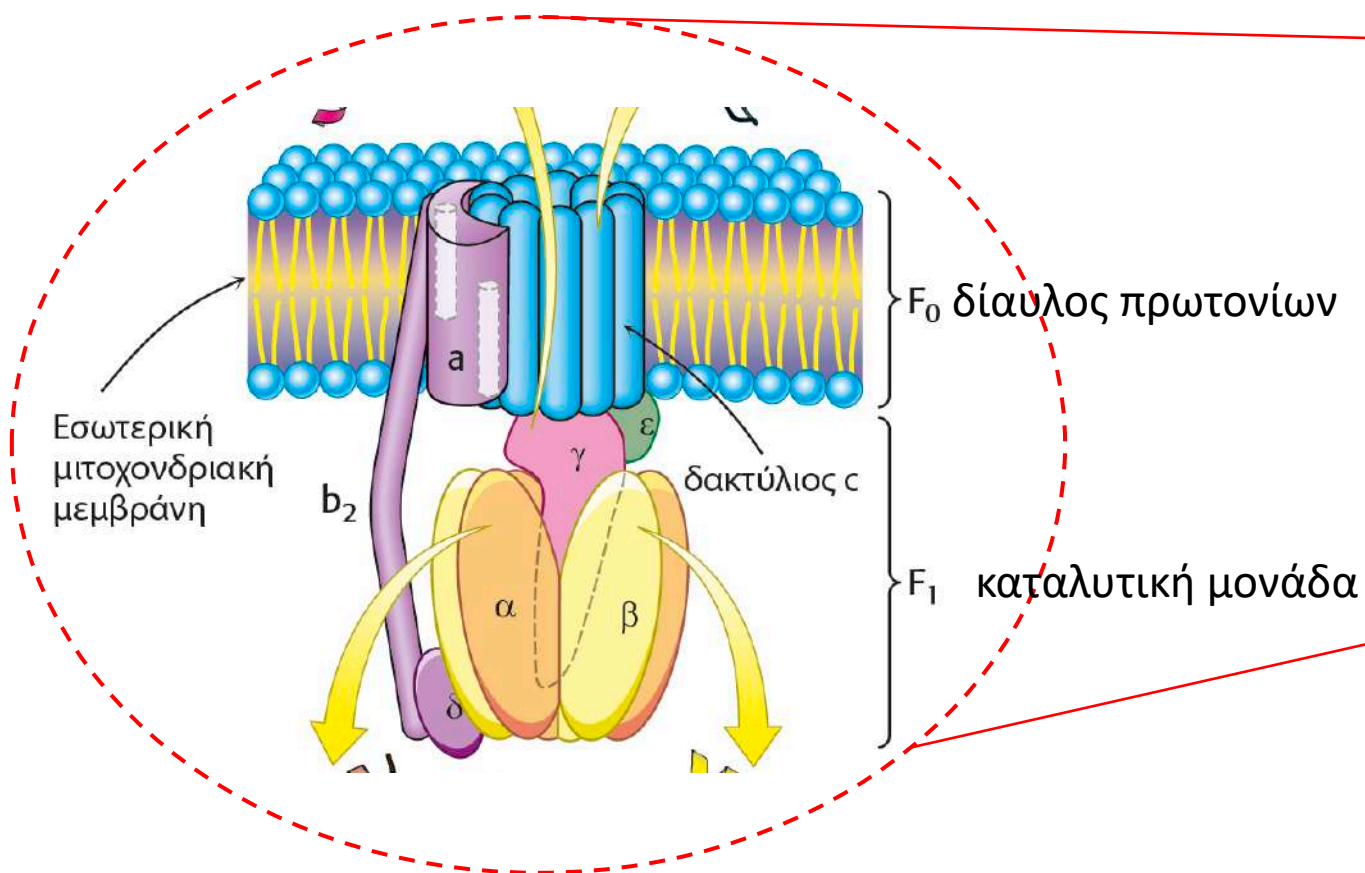
- Η μεταφορά ηλεκτρονίων μέσω της αναπνευστικής αλυσίδας οδηγεί στην άντληση πρωτονίων από τη μήτρα προς τον διαμεμβρανικό χώρο
- Ο συνδυασμός 1) βαθμίδωσης pH και 2) ηλεκτρικού δυναμικού της εσωτερικής μεμβράνης αποτελούν μια **πρωτονιοκίνητη δύναμη** η οποία χρησιμοποιείται για να ωθήσει τη σύνθεση της ATP



$$\text{Proton-motive force}(\Delta p) = \text{chemical gradient}(\Delta pH) + \text{charge gradient}(\Delta\psi)$$

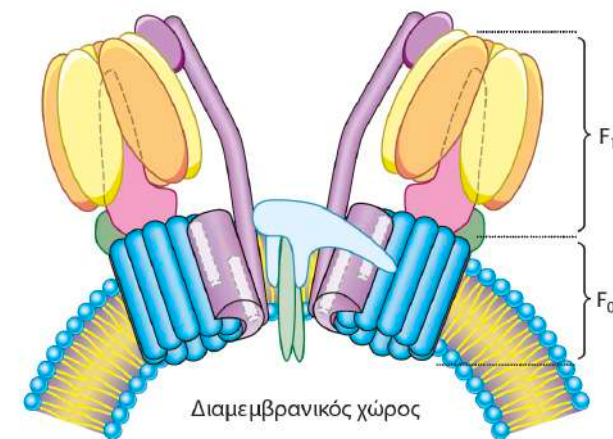
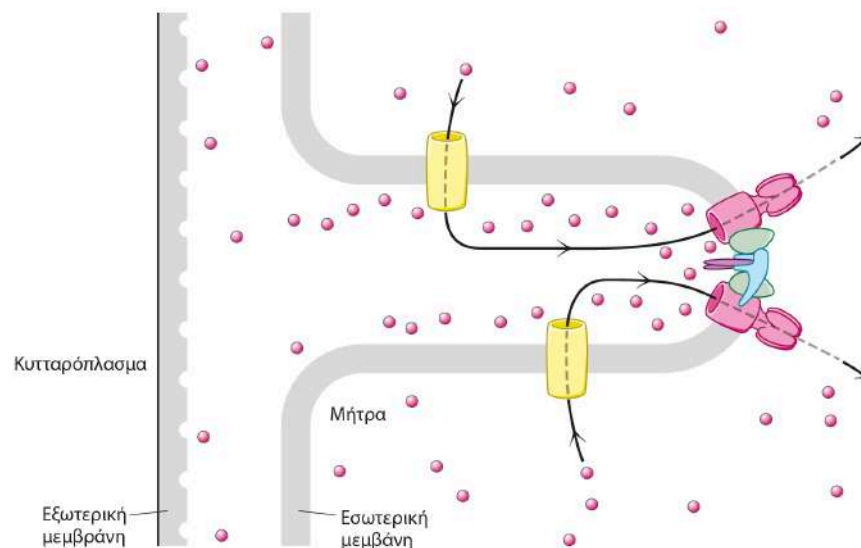
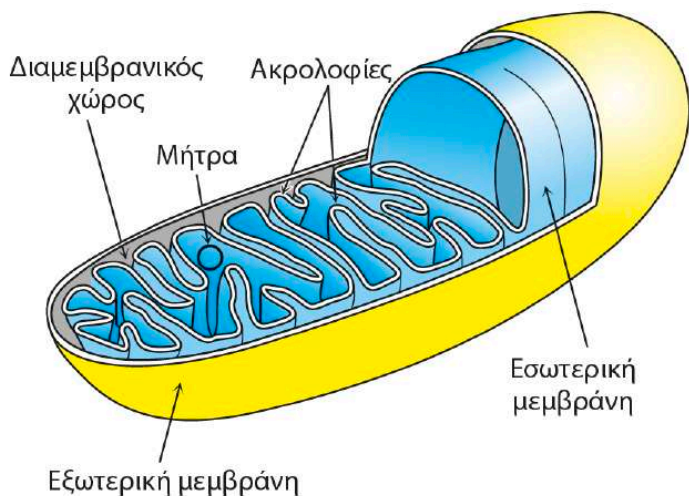
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Η συνθάση της ATP αποτελείται από μια μονάδα αγωγής πρωτονίων και μια καταλυτική μονάδα



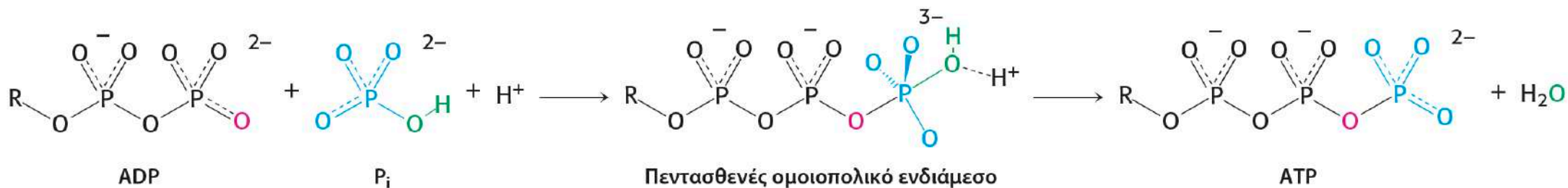
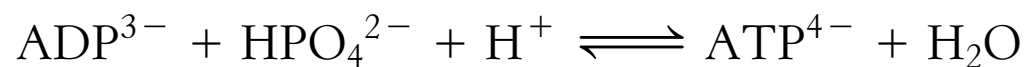
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Η ΑΤΡαση συμβάλλει στον σχηματισμό των ακρολοφιών

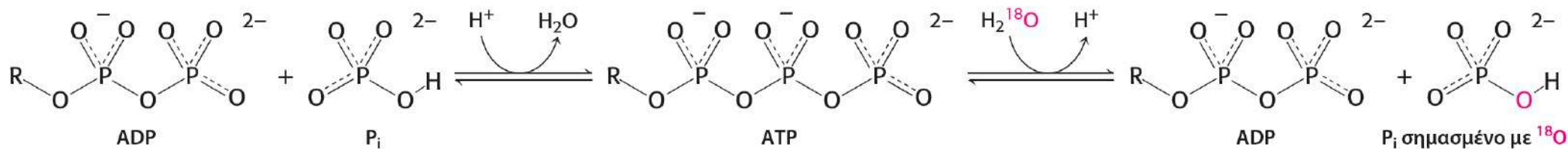


18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Η ροή πρωτονίων μέσω της συνθάσης ATP στην απελευθέρωση στερεά προσδεμένης ATP



Ο ρόλος της βαθμίδωσης συγκέντρωσης H⁺ δεν είναι για να σχηματίσει ATP αλλά να την ελευθερώσει από την συνθάση



18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Οι θέσεις πρόσδεσης νουκλεοτιδίων στην συνθάση της ATP δεν είναι ισοδύναμες

3 υπομονάδες β της συνιστώσας F₁, δηλαδή 3 ενεργά κέντρα

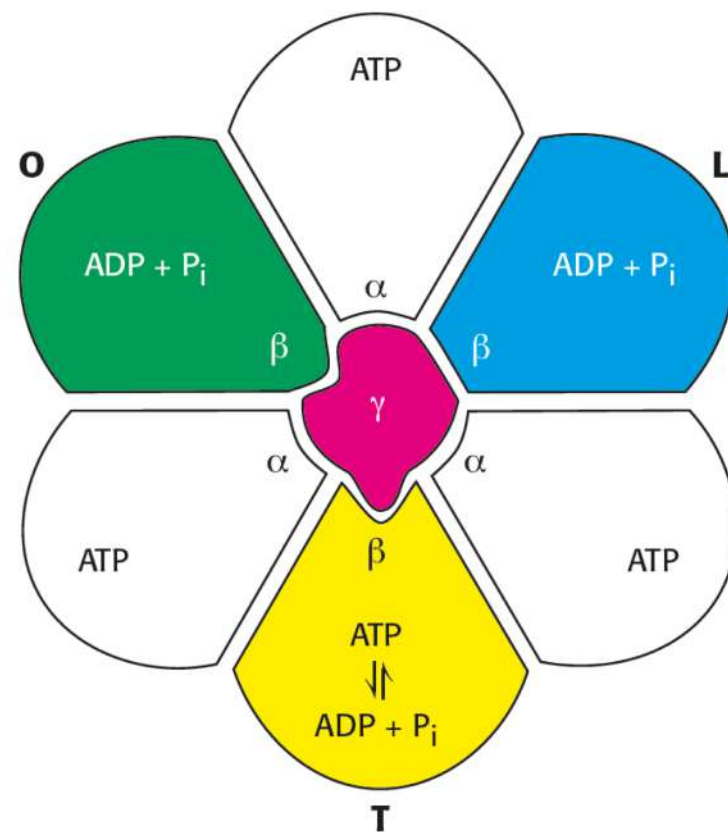
Το καθένα επιτελεί διαφορετική λειτουργία ανά πάσα στιγμή

L: δεσμεύει ADP και P_i

T: προσδένει ATP με υψηλή συγγένεια (ώστε να μπορεί να μετατρέψει την προσδεμένη ADP και P_i σε ATP)

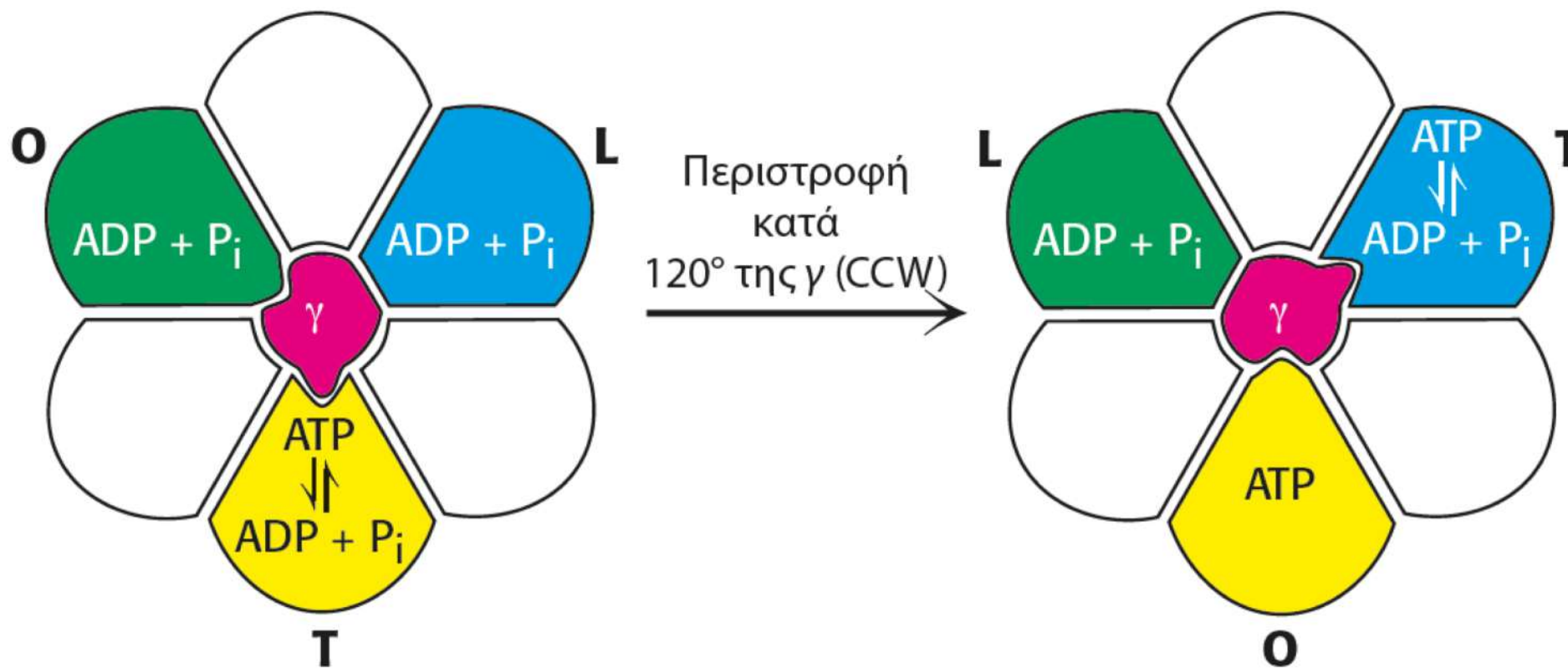
O: δεσμεύει και απελευθερώνει νουκλεοτίδια αδενίνης

Η αλληλομετατροπή των 3 μορφών αυτών ωθείται από την περιστροφή της υπομονάδας γ



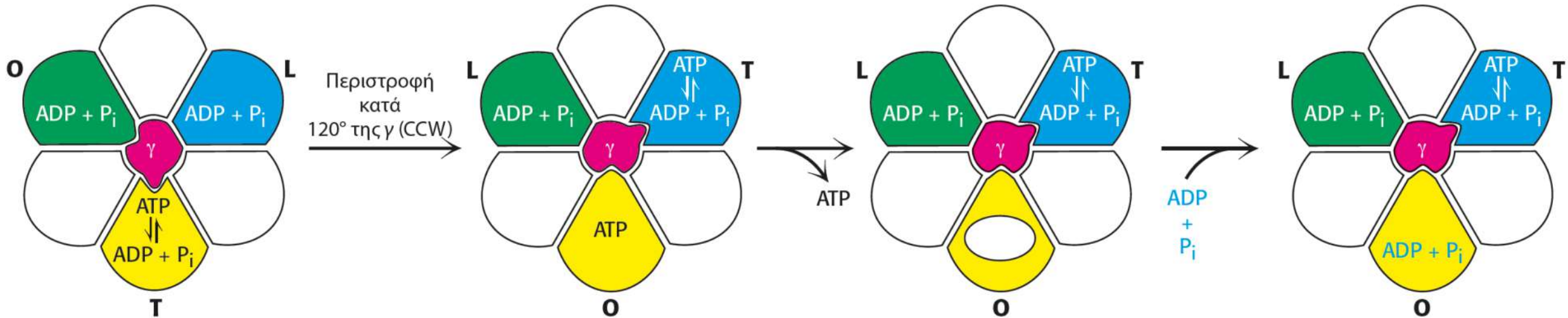
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Μηχανισμός αλλαγής συγγένειας πρόσδεσης



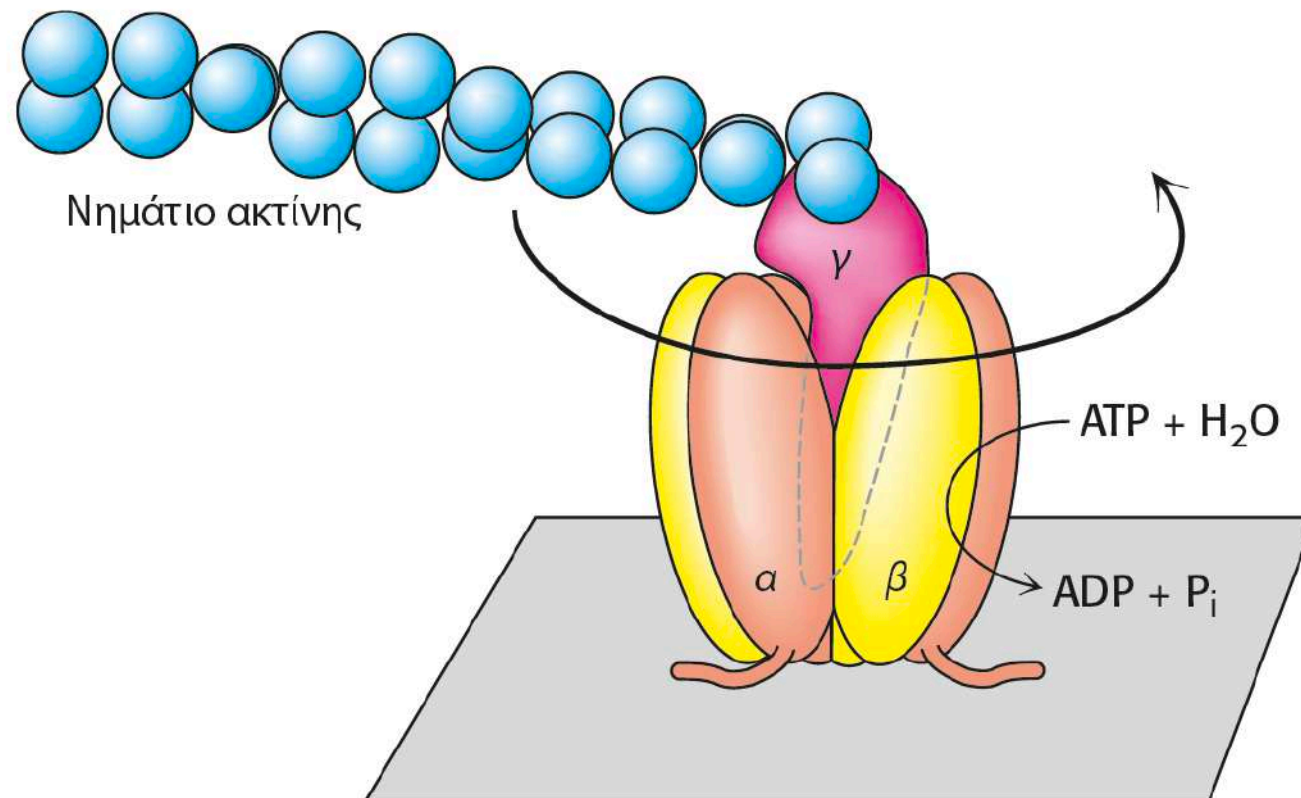
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Μηχανισμός αλλαγής συγγένειας πρόσδεσης



18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Άμεση παρακολούθηση της ωθούμενης από ATP περιστροφής της συνθάσης της ATP



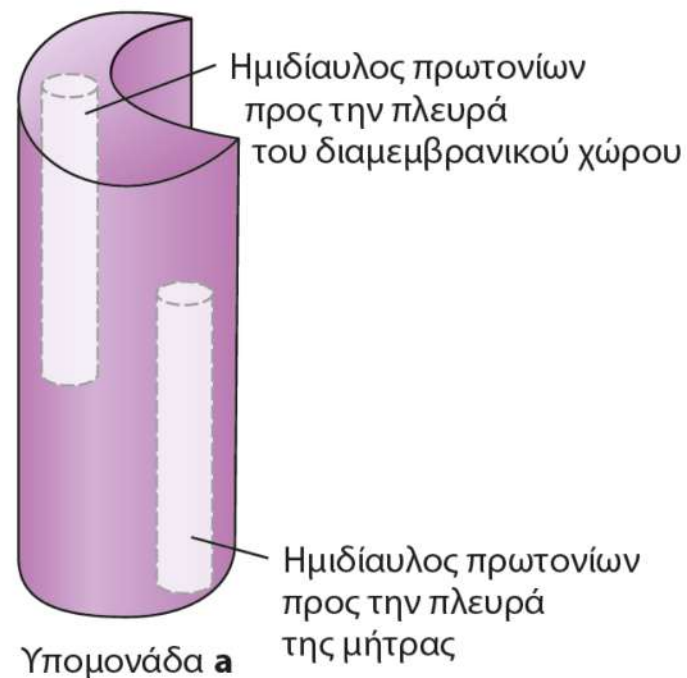
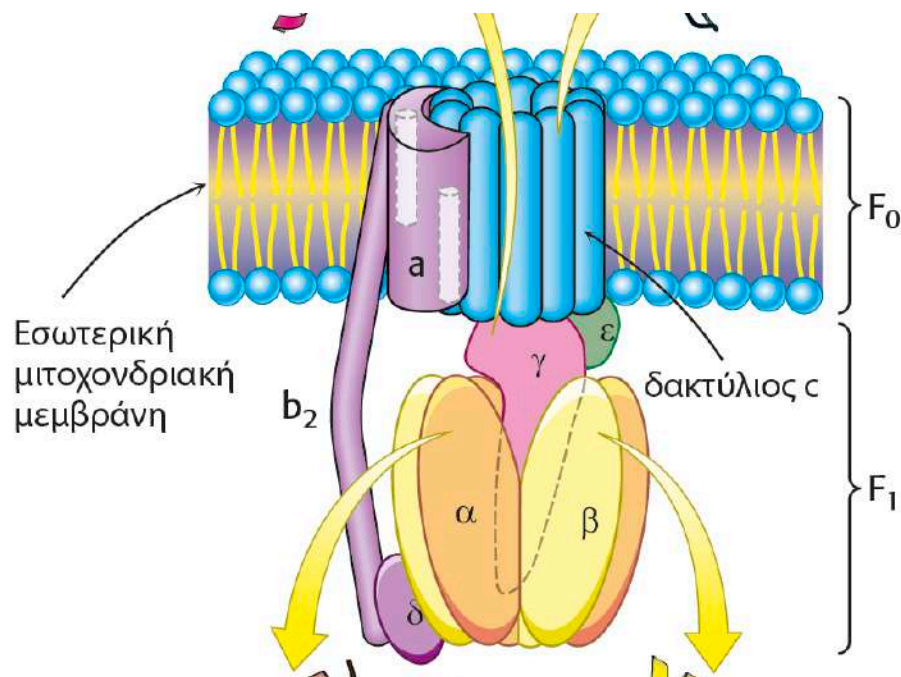
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Άμεση παρακολούθηση της ωθούμενης από ATP περιστροφής της συνθάσης της ATP

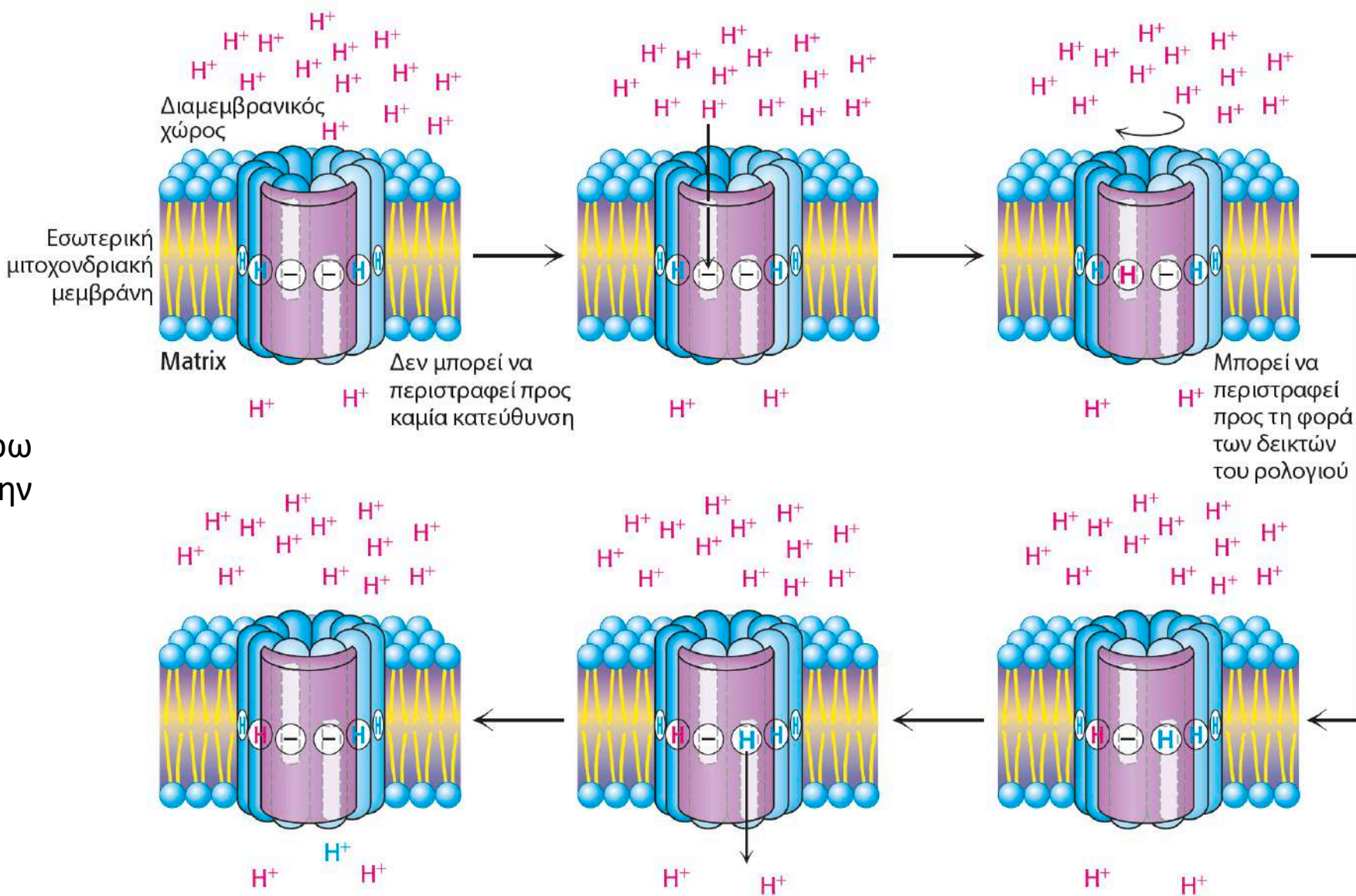


18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Συνιστώσες του πρωτονιοαγωγού μονάδας της συνθάσης της ATP



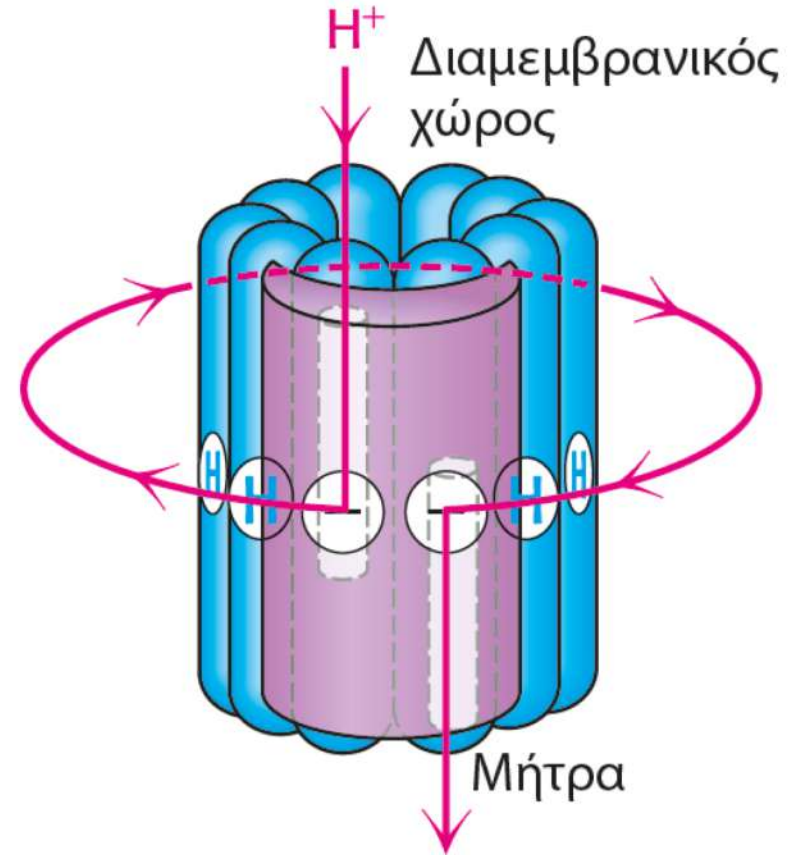
18.4



Η ροή των πρωτονίων γύρω από τον δακτύλιο c ωθεί την σύνθεση της ATP

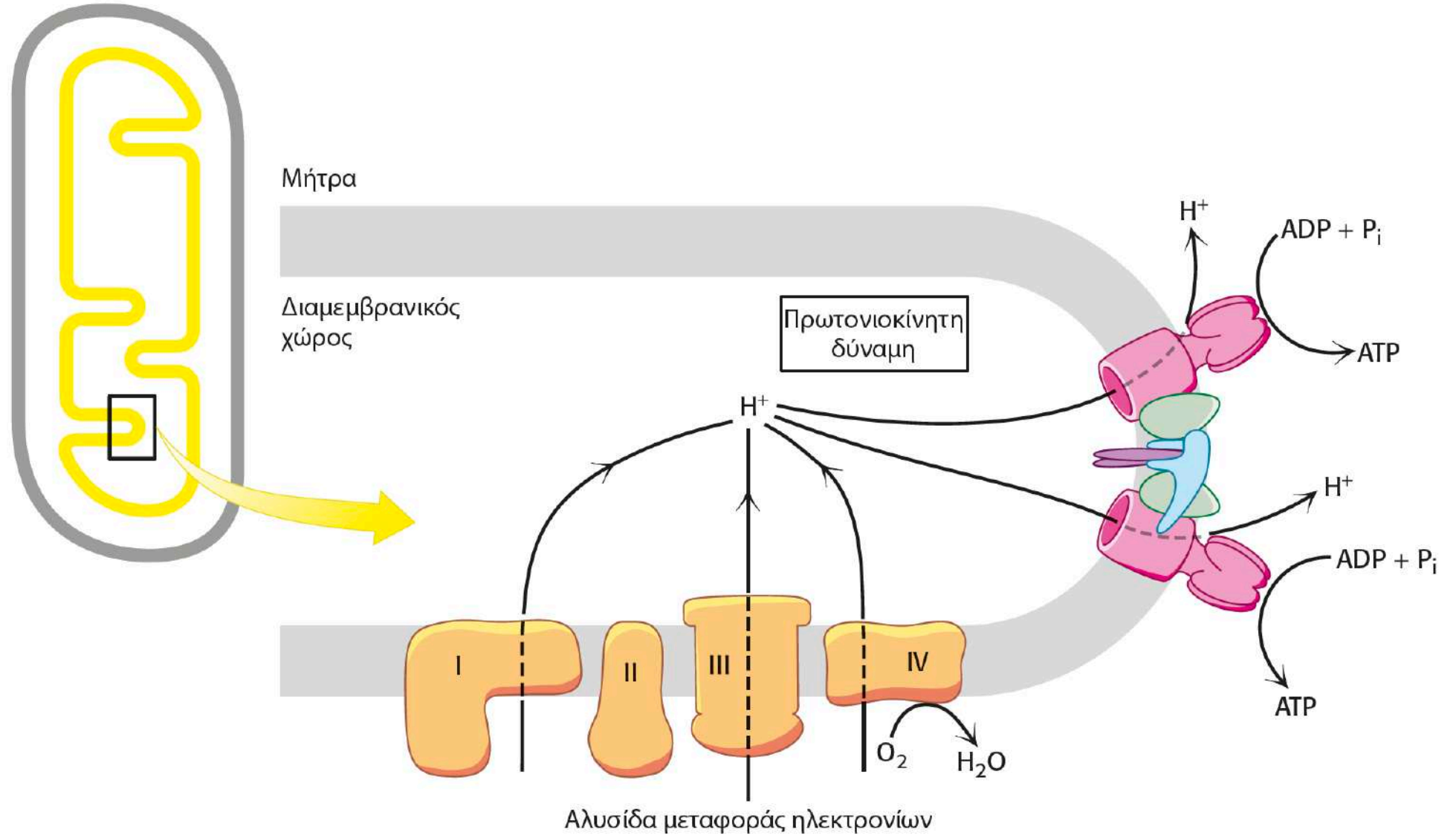
18.4 Η σύνθεση ATP ωθείται από την βαθμίδωση συγκέντρωσης πρωτονίων

Η πορεία του πρωτονίου διαμέσου της μεμβράνης



18.4

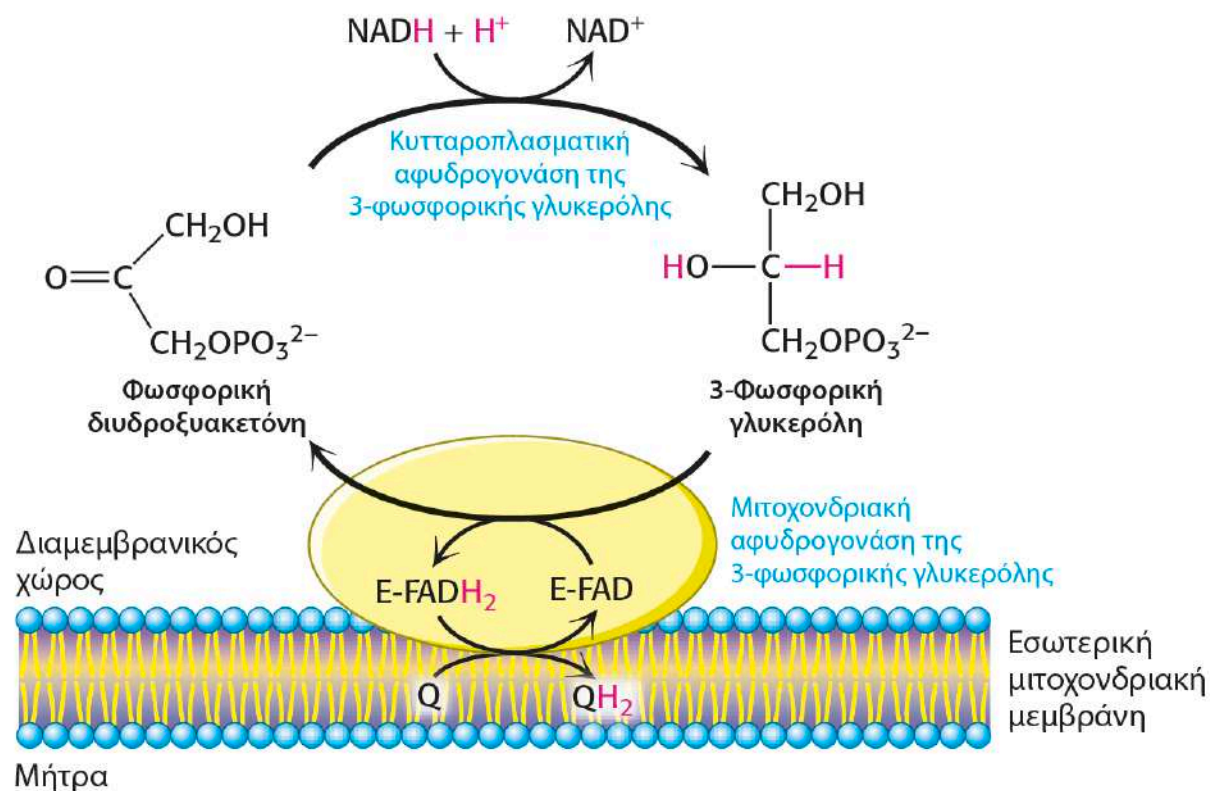
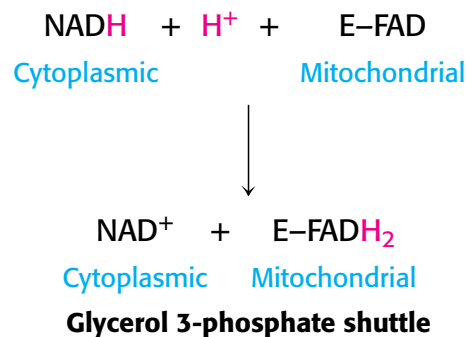
Εποπτική εικόνα
της οξειδωτικής
φωσφορυλίωσης



18.5 Πολλά συστήματα μεταφοράς επιτρέπουν τη μετακίνηση ουσιών διά μέσου των μιτοχονδριακών μεμβρανών

Τα ηλεκτρόνια του κυτταροπλασματικού NADH εισέρχονται στα μιτοχόνδρια με σύστημα μεταφοράς

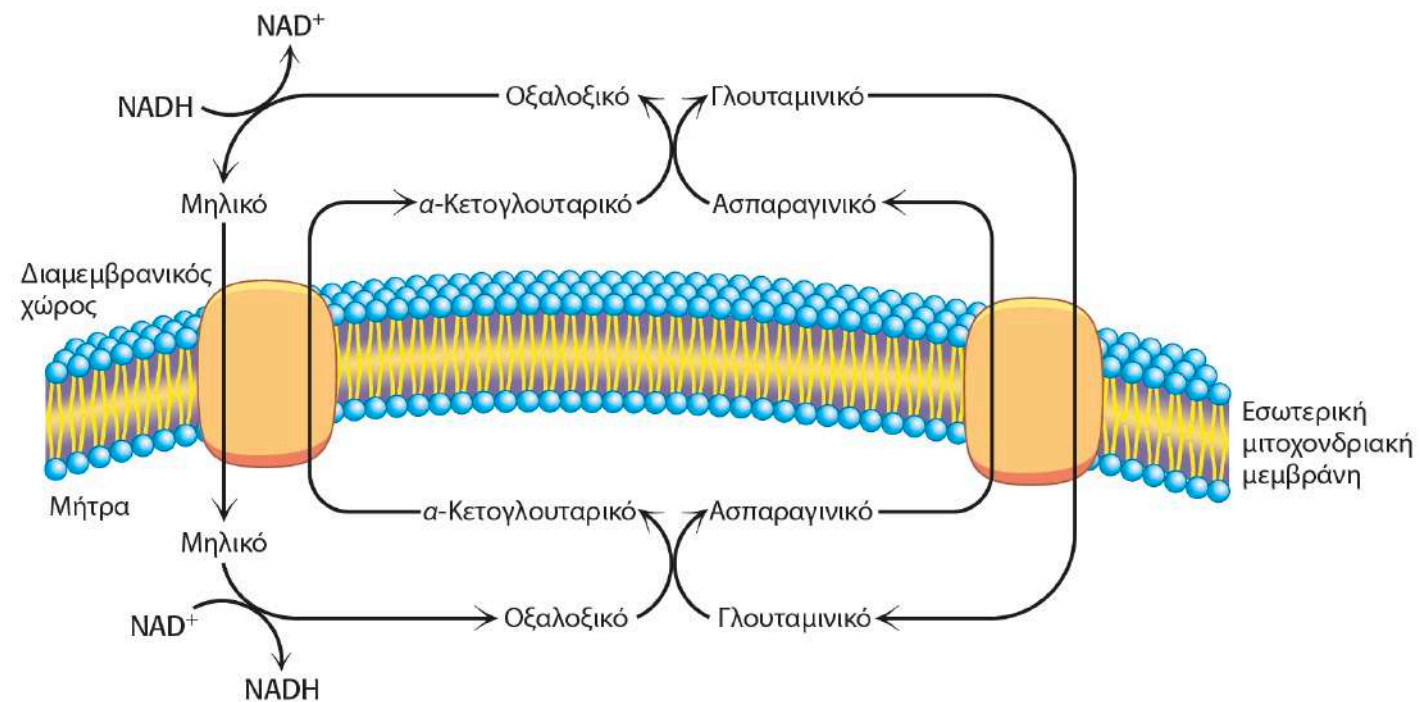
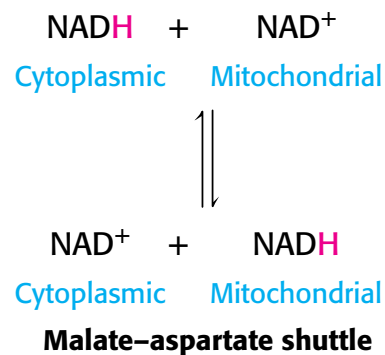
- Σύστημα μεταφοράς της 3-φωσφορικής γλυκερόλης



18.5 Πολλά συστήματα μεταφοράς επιτρέπουν τη μετακίνηση ουσιών διά μέσου των μιτοχονδριακών μεμβρανών

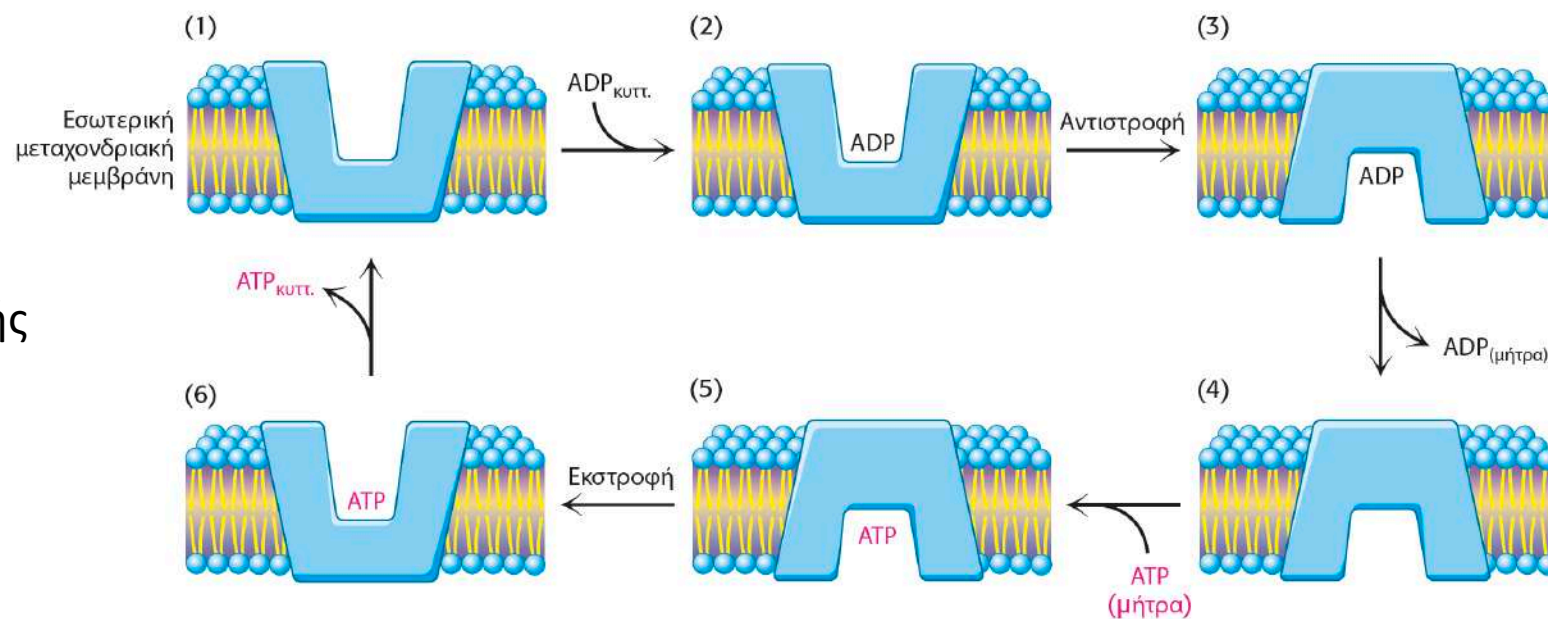
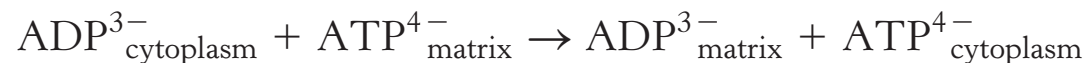
Τα ηλεκτρόνια του κυτταροπλασματικού NADH εισέρχονται στα μιτοχόνδρια με σύστημα μεταφοράς

- Σύστημα μεταφοράς μηλικού-ασπαραγινικού



18.5 Πολλά συστήματα μεταφοράς επιτρέπουν τη μετακίνηση ουσιών διά μέσου των μιτοχονδριακών μεμβρανών

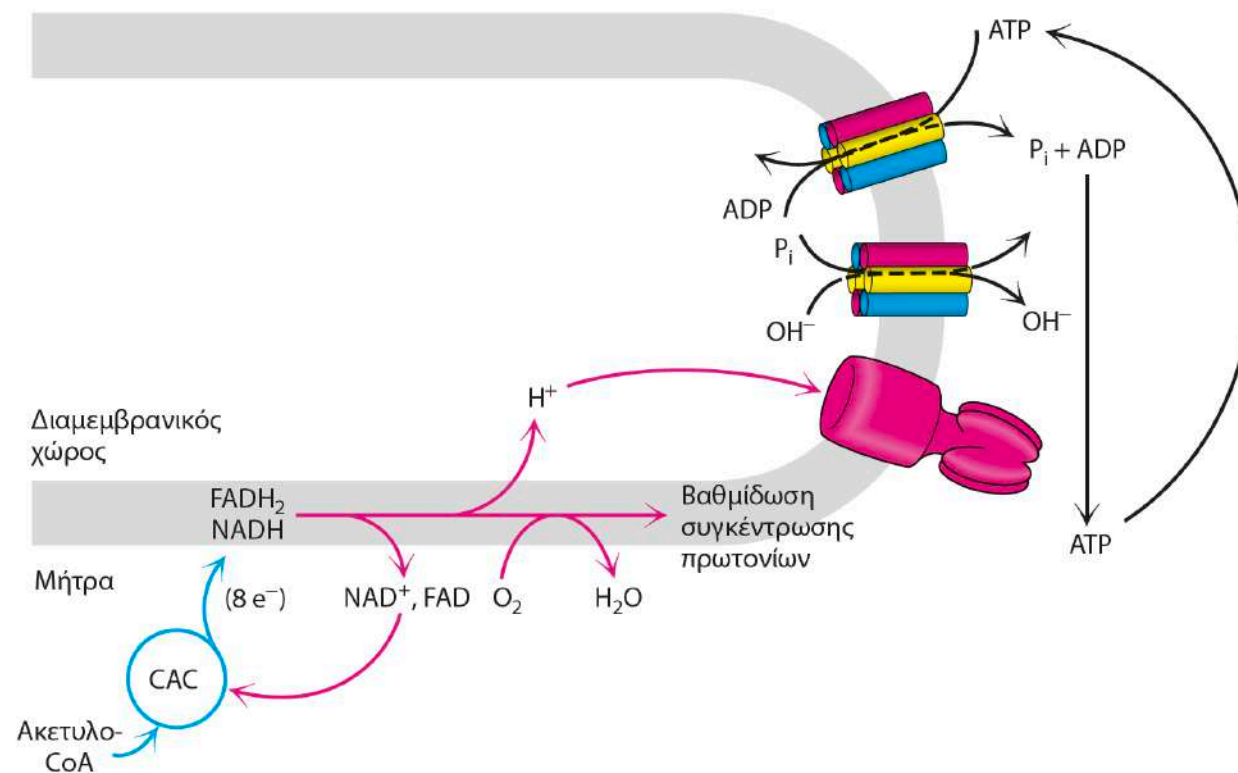
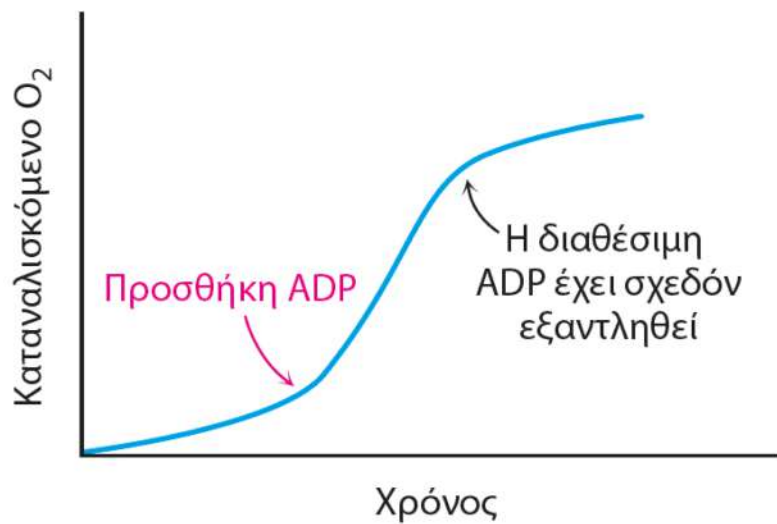
Η είσοδος της ADP στα μιτοχόνδρια είναι συζευγμένη με την έξοδο του ATP μέσω της μετατοπάσης ATP-ADP



Μηχανισμός της μιτοχονδριακής μετατοπάσης ATP-ADP

18.6 Η ρύθμιση της κυτταρικής αναπνοής καθορίζεται κυρίως από τις ανάγκες σε ATP

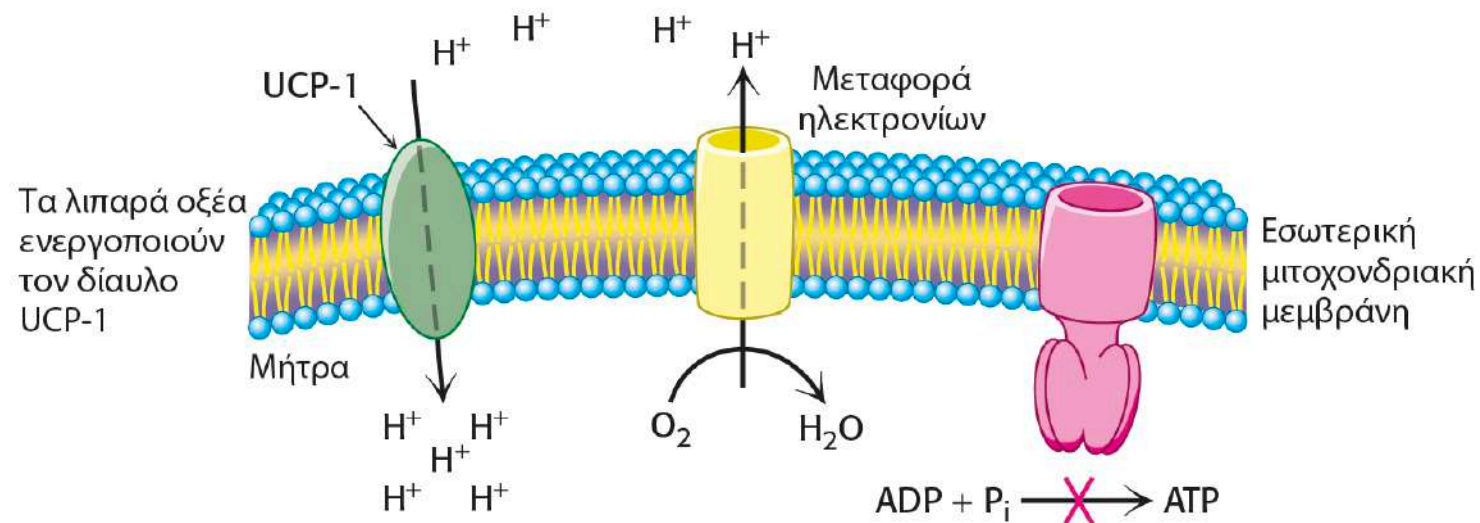
- Ο ρυθμός της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης καθορίζεται από τις ανάγκες σε ATP



18.6 Η ρύθμιση της κυτταρικής αναπνοής καθορίζεται κυρίως από τις ανάγκες σε ATP

- Η ρυθμιζόμενη αποσύζευξη και παραγωγή θερμότητας

Τέτοιου είδους αποσύζευξη είναι ένα μέσο για την παραγωγή θερμότητας ώστε να διατηρηθεί η θερμοκρασία του σώματος σε ζώα που βρίσκονται σε χειμερία νάρκη, σε ορισμένα νεογέννητα ζώα (συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου), καθώς και σε πολλά θηλαστικά, ιδίως στα προσαρμοσμένα στο ψύχος.

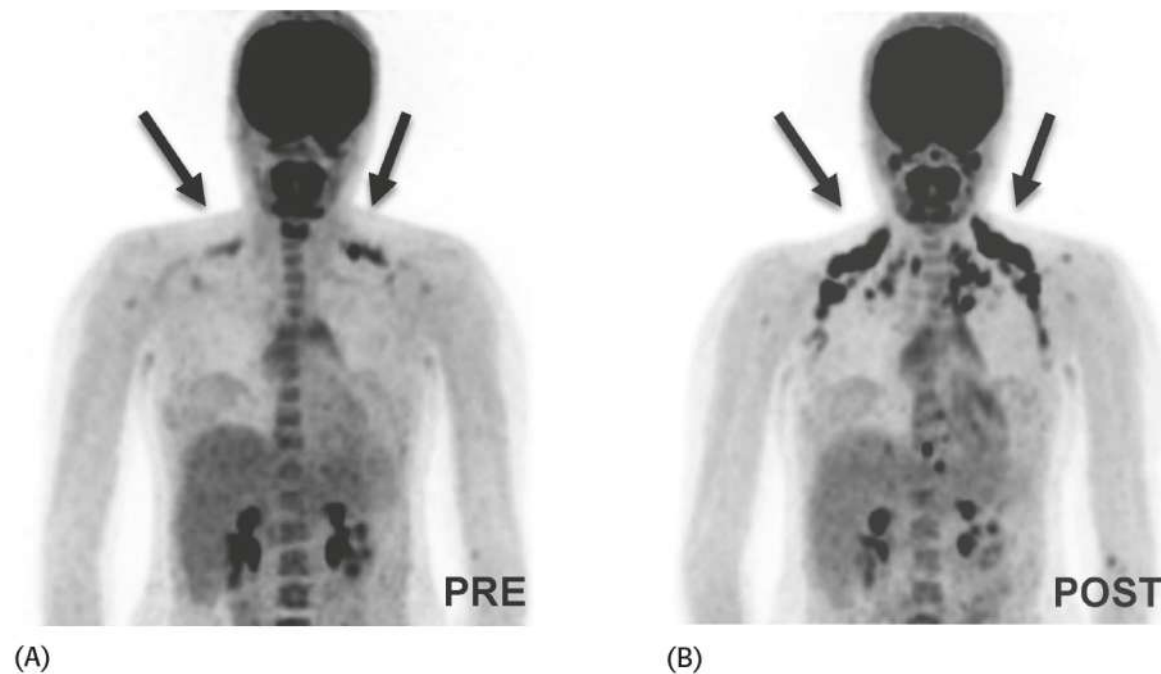


18.6 Η ρύθμιση της κυτταρικής αναπνοής καθορίζεται κυρίως από τις ανάγκες σε ATP

- Η ρυθμιζόμενη αποσύζευξη και παραγωγή θερμότητας

Ο καστανός λιπώδης ιστός είναι πολύ πλούσιος σε μιτοχόνδρια

Ο καστανός λιπώδης ιστός αποκαλύπτεται με την έκθεση στο κρύο



Αποτέλεσμα συνδυασμένης τομογραφίας εκπομπής ποζιτρονίων και αξονικής τομογραφίας (PETCT)

18.6 Η ρύθμιση της κυτταρικής αναπνοής καθορίζεται κυρίως από τις ανάγκες σε ATP

Η μεταφορά ενέργειας από βαθμιδώσεις συγκέντρωσης πρωτονίων: ένα κεντρικό θέμα της βιοενεργητικής

Στα βιολογικά συστήματα οι βαθμιδώσεις συγκέντρωσης πρωτονίων είναι ένα αλληλομετατροπόμενο νόμισμα ελεύθερης ενέργειας

