

OKSIDACIJSKA FOSFORILACIJA

Sinteza ATP

B. Mildner & M. Kekez
2012.

1. Što od navedenog **nije** dio Mitchellove kemiosmotske hipoteze?
 - a) Dio energije koji se dobiva transportom elektrona koristi se za dobivanje proton-motorne sile, koja se zatim koristi kao energija za sintezu ATP.
 - b) Kako bi se dobila energija za sintezu ATP, prijenos elektrona mora se provoditi na intaktnim membranama.
 - c) Energijom bogati fosforilirani međuprodukti koji služe kao donori fosfata za ADP, sintetiziraju se kao rezultat reakcija prijenosa elektrona.

2. Što od navedenog opisuje smjer kretanja protona u odnosu na prijenos elektrona i fosforilaciju?
 - a) Sustav za prijenos elektrona pumpa protone iz matriksa. Kada se elektroni ponovno transportiraju u matriks, kroz ATP sintazu, u matriksu nastaje ATP.
 - b) Sustav za prijenos elektrona pumpa protone u matriks. Kada protoni napuštaju matriks kroz ATP sintazu, na suprotnoj strani membrane nastaje ATP.
 - c) Sustav za prijenos elektrona pumpa elektrone u matriks. Kada protoni napuste matriks kroz ATP sintazu, u matriksu nastaje ATP.

3. Protok protona kroz ATP sintazu:

- a) Daje energiju kako bi se vezao fosfat za ADP te nastao ATP.
- b) Rezultira otpuštanjem ATP iz stanja u kojem je čvrsto vezan za aktivno mjesto.
- c) Stvara lokalnu promjenu u pH u aktivnom mjestu koja mijenja konstantu ravnoteže reakcije.

4. Proces glikolize odvija se u citoplazmi. Elektroni s NADH, koji nastaje u glikolizi:

- a) ulaze u mitohondrijski elektronski lanac direktno budući da NADH slobodno ulazi u mitohondrije;
- b) ne mogu se koristiti u mitohondrijskom lancu prijenosa elektrona budući da se NADH ne može prenositi iz citoplazme u mitohondrij.
- c) mogu se koristiti u mitohondrijskom lancu prijenosa elektrona ili kao NADH ili $FADH_2$, ovisno o sustavu transportera kojim se ubacuju u mitohondrij.

5. Koji opis najbolje opisuje funkciju koju provodi kompleks V?

- a) Kompleks V najbolje se opisuje kao mitohondrijska ATPaza budući da je glavna funkcija kompleksa V hidroliza ATP;
- b) Kompleks V najbolje se opisuje kao VDAC (voltage dependent anion channel – anionski kanal ovisan o naponu);
- c) Kompleks V najbolje se opisuje kao mitohondrijska ATP sintaza budući da je njegova glavna funkcija sinteza ATP iz ADP i P_i .

6. Koja se tvrdnja **ne odnosi** na mehanizam sinteze ATP?

- a) pH gradijent uzrokuje protoniranje niza histidinskih ostataka, a to onda dovodi do rotacije proteinskog kompleksa i otpuštanja ATP.
- b) pH gradijent uzrokuje protoniranje aspartata, što onda omogućava rotaciju transmembranske podjedinice **c**, ATP sintaze.
- c) F_o podjedinica ATP sintaze proteže se kroz unutarnju mitohondrijsku membranu a F_1 podjedinica se nalazi u matriksu mitohondrija.

7. Koliko se molekula ATP dobije tijekom reoksidacije NADH i FADH₂ u mitohondrijskom transportnom lancu elektrona?

- a) Nastaje točno 3 ATP za svaki nastali NAD⁺ a točno 2 ATP nastaju za svaki novonastali FAD.
- b) Nastaje točno 1,5 ATP za svaki NAD⁺ i točno 2,5 ATP za svaki nastali FAD.
- c) Nastaje oko 2,5 ATP za svaki nastali NAD⁺ i do 1,5 ATP za svaki nastali FAD.

8. Koji su najčešći uzroci mitohondrijskih bolesti?

- a) mutacije u ATP-ADP translokazi;
- b) mutacije u kompleksu I;
- c) mutacije u termogeninu.

9. Dinitrofenol (DNP) sprječava sintezu ATP ali omogućava prijenos elektrona budući da:

- a) DNP omogućava transport protona kroz membranu a time narušava gradijent protona;
- b) DNP sprječava stvaranje gradijenta protona time što mijenja kompleks prijenosa elektrona te tako onemogućava kompleksu pumpanje protona;
- c) DNP se veže za ATP sintazu i djeluje kao inhibitor enzima.

10. Proteini koji prekidaju transport elektrona omogućavaju da se _____ energije mitohondrijskog sustava za prijenos elektrona, koristi za sintezu ATP, a da se _____ energije koristi za proizvodnju topline.

- a) više, manje;
- b) manje, više;
- c) maksimum (sva), minimum (nula)

Zadatak 1.

Koliko se molekula ATP-a dobiva u homogenatu mitohondrija sisavaca kada se svaki od narednih supstrata u potpunosti oksidira do CO_2 ?

- a) Piruvat
- b) Laktat
- c) Fruktioza-1,6-bisfosfat
- d) Fosfoenolpiruvat
- e) Dihidroksiacetonfosfat

Rješenje zadatka 1.

- a) 12,5
- b) 15
- c) 32
- d) 13,5
- e) 17

Napomena: pretpostavka je da se NADH prenosi iz citoplazme malat-aspartatnim transporterom.

Zadatak 2.

Kako će navedeni inhibitori utjecati na prenositelje elektrona odnosno na sintezu ATP?

- a) Azid
- b) Atraktilozid
- c) Rotenon
- d) DNP
- e) Ugljik monoksid
- f) Antimicin A

Rješenje zadatka 2.

- a) Azid inhibira protok elektrona i pumpu protona na kompleksu IV;
- b) Atraktilozid je inhibitor ADP-ATP translokaze te time inhibira prijenos elektrona i sintezu ATP;
- c) Rotenon inhibira transport elektrona i protonsku pumpu na kompleksu I;
- d) DNP ne blokira prijenos elektrona, ali narušava gradijent protona te je zbog toga sinteza ATP onemogućena;
- e) CO inhibira prijenos elektrona i protonsku pumpu na kompleksu IV;
- f) Antimicin A inhibira transport elektrona i protonsku pumpu na kompleksu III.

Zadatak 3.

Oksidacijska fosforilacija u mitohondijima eksperimentalno se često mjeri kao utrošak kisika. Kada se oksidacijska fosforilacija brzo provodi utrošak kisika je velik.

Dobili ste suspenziju čistih mitohondrija a u uputama vam stoji da dodajete otopine tvari i to redosljedom od a-h. Dodatkom, prethodne tvari ostaju u otopini. Predvidite utrošak kisika za svaku dodanu tvar!

- | | |
|-------------------------|-----------------|
| a) glukoza | e) sukcinat |
| b) ADP + P _i | f) dinitrofenol |
| c) citrat | g) rotenon |
| d) oligomicin | h) cijanid |

Rješenje zadatka 3.

- a) Nema efekta jer mitohondriji ne metaboliziraju glukozu;
- b) Nema efekta jer nema “goriva” kojim bi se pokrenula sinteza ATP;
- c) Povećava se utrošak kisika jer je citrat supstrat i sinteza ATP može početi;
- d) Potrošnja kisika prestaje jer je oligomicin inhibitor ATP sintaze;
- e) Ne mijenja se potrošnja kisika budući da je inhibirana sinteza ATP;
- f) Dodatkom DNP raste utrošak kisika jer se odvaja prijenos elektrona od sinteze ATP, te se NADH oksidira.
- g) Utrošak kisika se malo povećava jer je rotenon inhibitor kompleksa I, ali sukcinat u otopini omogućava da elektroni ulaze kroz kompleks II;
- h) Utrošak kisika se ne mijenja jer cijanid inhibira kompleks IV, te je prijenos elektrona na kisik inhibiran.

Zadatak 4.

Provođenje protona u F_0 podjedinici ATP sintaze može se inhibirati ako se bočni ogranak jedne aminokiseline modificira s dicikloheksilkarbodiimidom. Ovaj reagens uglavnom reagira sa slobodnim karboksilnim skupinama. Koje su najvjerojatnije mete ovog reagensa i kako možete genetičkim tehnikama odrediti koja je aminokiselina ključna za provođenje protona?

Rješenje zadatka 4.

Dicikloheksilkarbodiimid uglavnom reagira s karboksilnim skupinama, pa su mete bočni lanci aspartata i glutamata. U F_0 *E. coli*, ovaj reagens specifično modificira Asp 61 u **c** podjedinici. Mutacijom Asp 61 u neku drugu aminokiselinu, npr. asparagin (Asn) dolazi do inhibicije protoka protona.

Zadatak 5.

Zbog čega izolirana F_1 podjedinica ATP sintaze ima ATPaznu aktivnost, a nema aktivnost kao ATP sintaza?

Rješenje zadatka 5.

Enzimi provode reakcije u oba smjera. Hidroliza ATP je egzergona reakcija te će izolirana ATP sintaza provoditi pretvorbu ATP u stabilniji produkt, tj. u ADP. ATP sintaza samo u *in vivo* provodi sintezu ATP-a budući da se energija koja se dobiva gradijentom protona koristi za sintezu ATP te dobivena energija iz gradijenta protona nadvladava hidrolizu ATP-a.

Zadatak 6.

Navedite primjer za što se, osim za sintezu ATP, koristi proton-motorna sila.

Rješenje zadatka 6.

Proton-motorna sila koristi se za transport ATP-a iz matriksa, ili za unos fosfata u matriks.

Zadatak 7.

Koji utjecaj ima inhibicija ATP/ADP translokaze na provođenje citratnog ciklusa, a koji na aerobnu glikolizu?

Rješenje zadatka 7.

Ukoliko ADP ne može ući u mitohondrije, lančani prijenos elektrona prestat će funkcionirati jer se elektroni neće moći prihvaćati (neće biti NAD^+). NADH će se akumulirati u matriksu, a kako je NADH inhibitor za neke enzime citratnog ciklusa, citratni ciklus će se usporavati. Isto tako, NAD^+ (kojeg neće biti) supstrat je za neke enzime citratnog ciklusa.

Glikoliza će se prestati odvijati aerobno, ali će se nastaviti odvijati anaerobno kako bi se NADH mogao reoksidirati u NAD^+ pomoću laktat dehidrogenaze.

Zadatak 8.

Brzina utroška kisika naglo se povećava kada se u otopinu mitohondrija doda ADP, a dostigne početnu razinu kada se sav ADP pretvorio u ATP. Zbog čega se smanjuje brzina utroška kisika?

Rješenje zadatka 8.

Kada se utrošio sav raspoloživ ADP, ATP sintaza prestaje s radom. To dovodi do povećanja gradijenta protona, a kako se protoni ne troše, to energija u transportu elektrona više nije dovoljna da se nadvlada gradijent protona. Zbog toga se smanjuje prijenos elektrona, a prema tome i utrošak kisika.

Zadatak 9.

Prisjetite se da je broj c podjedinica u c prstenu iznosi između 10 i 14. Ovaj broj je značajan jer određuje broj protona koji se moraju transportirati kako bi se sintetizirala jedna molekula ATP. Svakom rotacijom γ -podjedinice za 360° dolazi do sinteze i otpuštanja tri molekule ATP. Ako je u prstenu 10 c podjedinica, za sintezu jednog ATP biti će potrebno $10/3 = 3,33$ protona. Koliko će se molekula ATP sintetizirati ako je u prstenu 12 c , odnosno 14 c podjedinica.

Rješenje zadatka 9.

Za 12c podjedinica $12/3 = 4$ elektrona za 1 ATP;

Za 14c = $14/3 = 4,7$ ATP = 4,7 elektrona za 1 ATP

Zadatak 10.

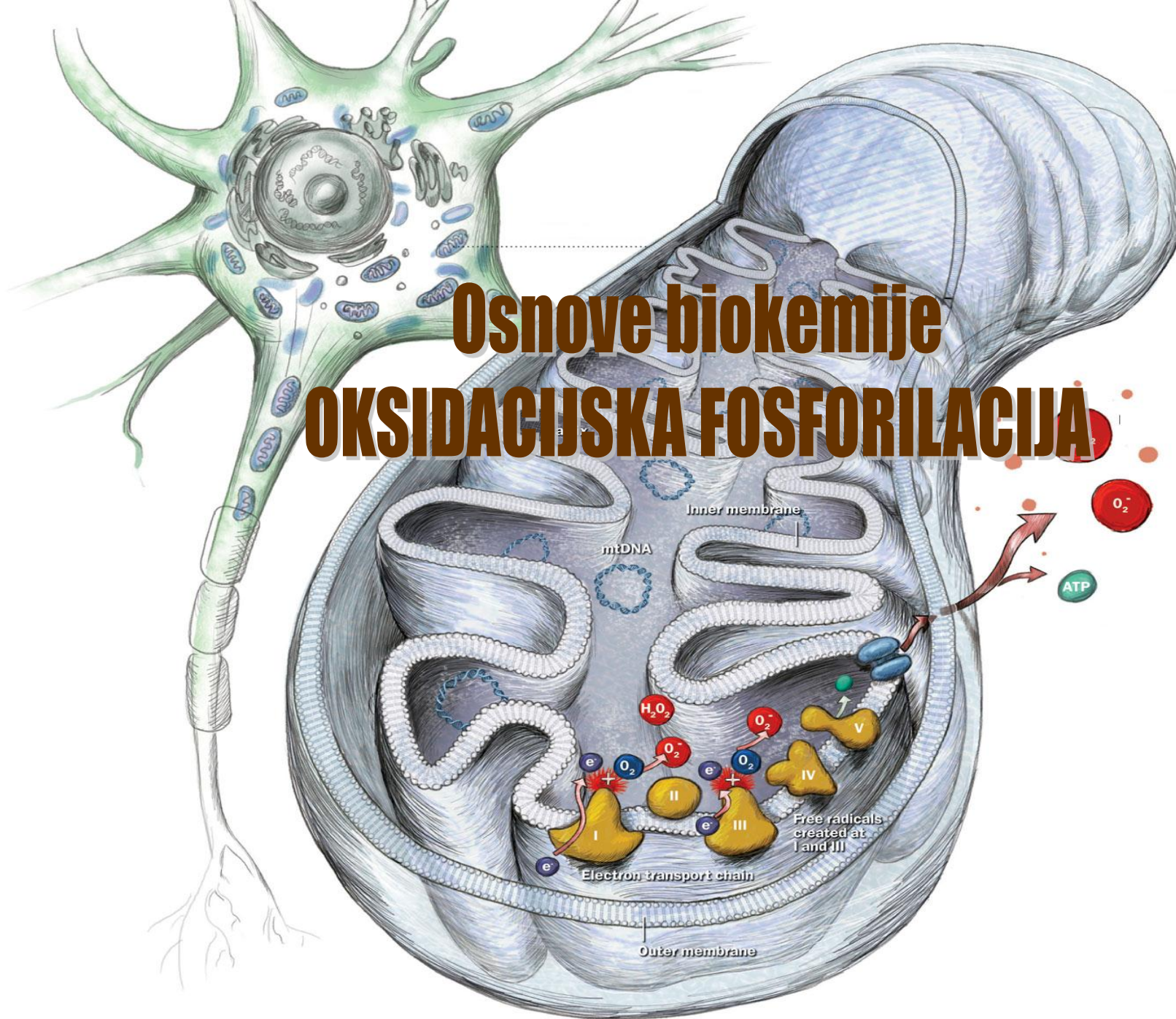
Najčešći oblik disfunkcije mitohondrija opaža se kao laktička acidoza. Zbog čega?

Rješenje zadatka 10.

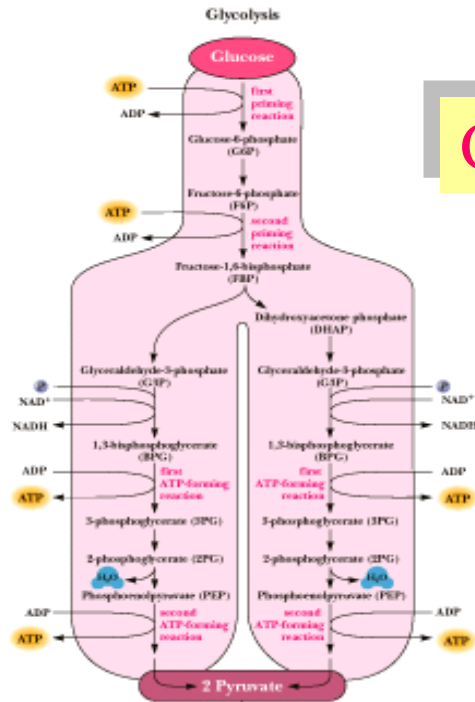
Ako postoji disfunkcija mitohondrija dolazi do anaerobne glikolize te se velike količine laktata prenose krvotokom u jetra. Velike količine laktatata u krvotoku dovode do laktične acidoze.

Osnove biokemije

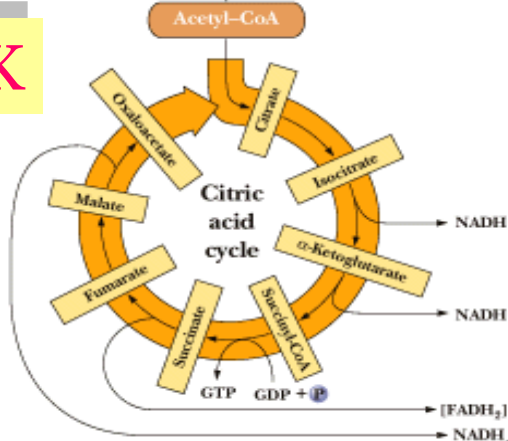
OKSIDACIJSKA FOSFORILACIJA



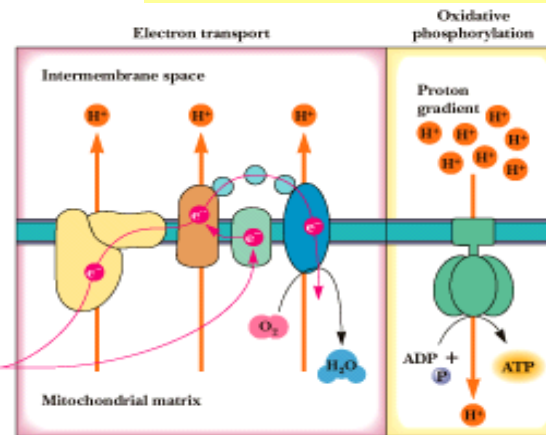
Glikoliza

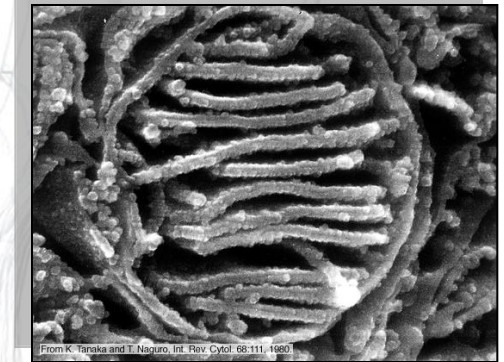
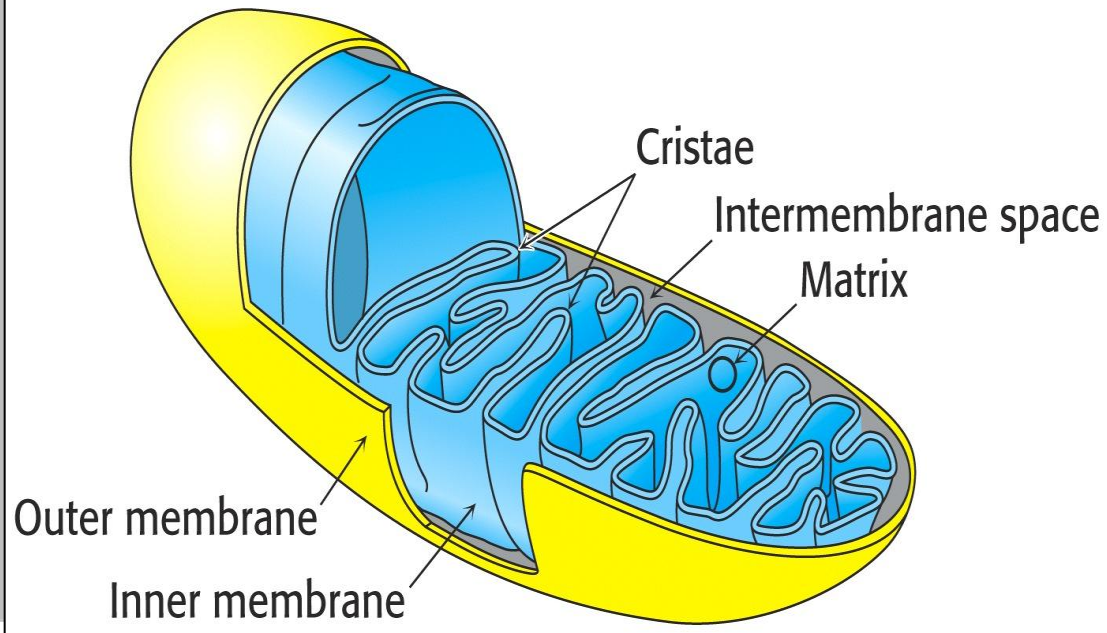


CLK



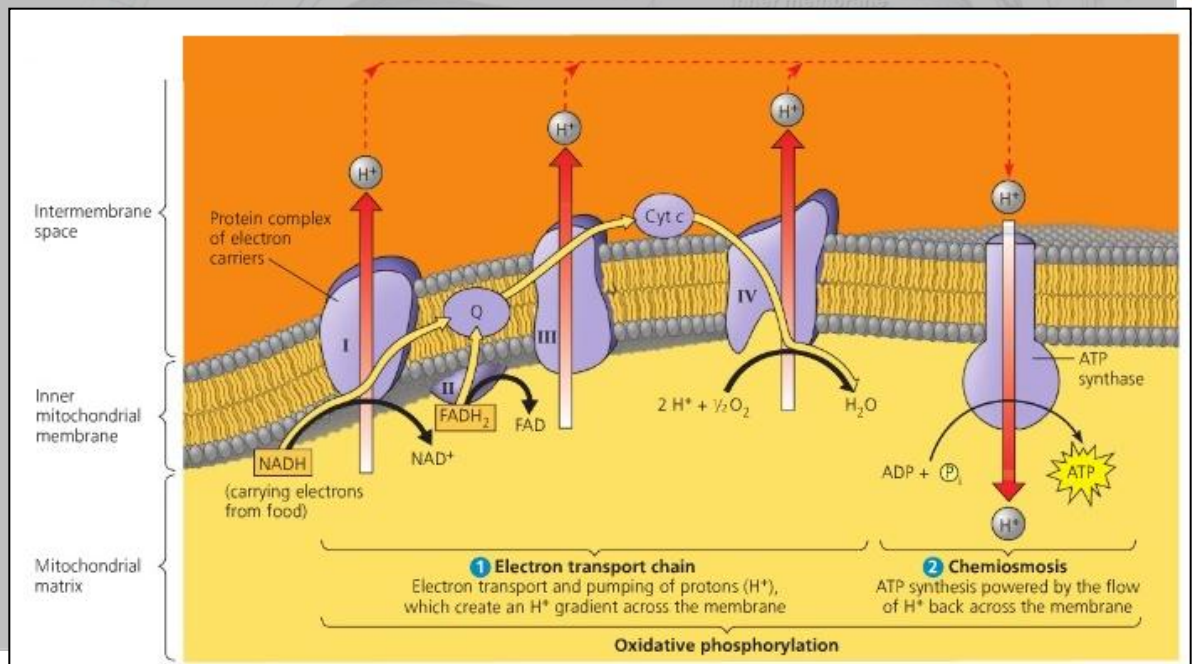
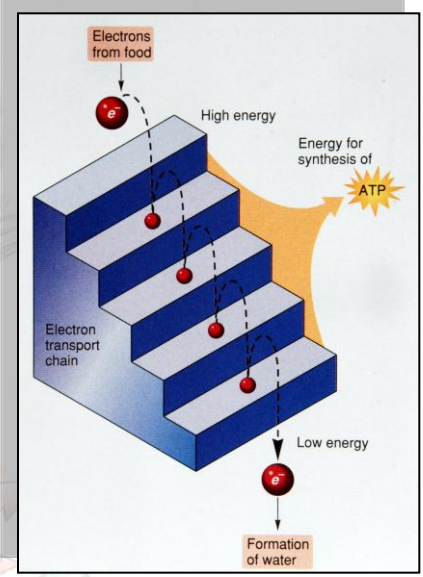
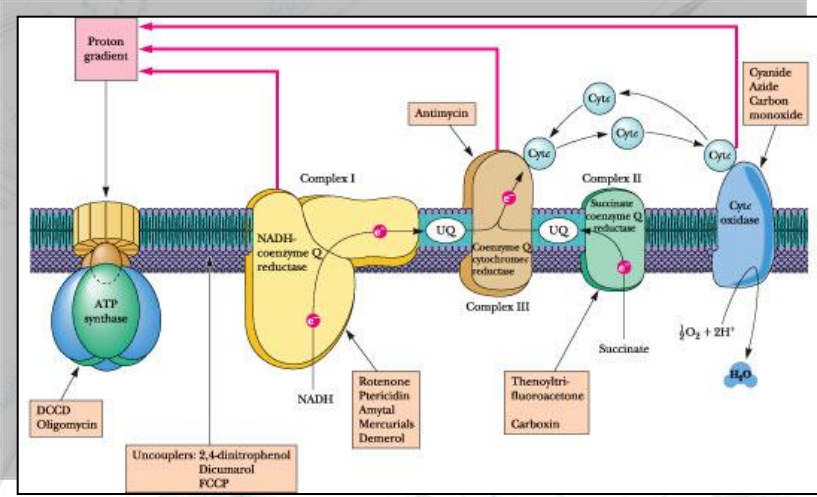
Oksidativna fosforilacija





Oksidativna fosforilacija se odvija na unutarnjoj membrani mitohondrija.

Ova membrana je gotovo nepropusna za ione i polarizirane molekule.



$FADH_2 = 1.5 \text{ ATP}$

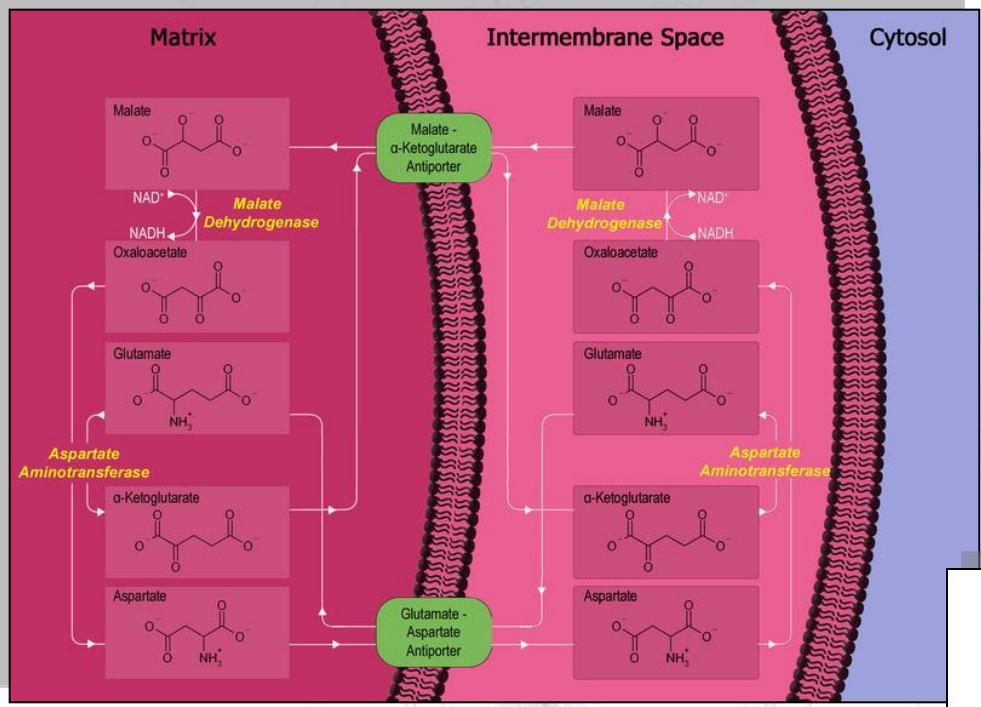
$NADH = 2.5 \text{ ATP}$
 citoplazmatski $NADH =$
 1.5 ATP (G-3-P prijenos)
 2.5 ATP (aspartat-malat prijenos)

1 mol glukoze

FAZE RESPIRACIJE	ATP (nastao direktno)	KOENZIMI	ATP (OX-FOS)
GLIKOLIZA	2 ATP	2 NADH + H ⁺	5 ATP (3 ATP)
PIRUVAT do A-CoA		2 NADH + H ⁺	5 ATP
CLK (2 piruvata = 2 okreta CLK)	2 ATP	6 NADH + H ⁺ 2 FADH ₂	15 ATP 3 ATP
Σ	4 ATP		28 ATP 26 ATP

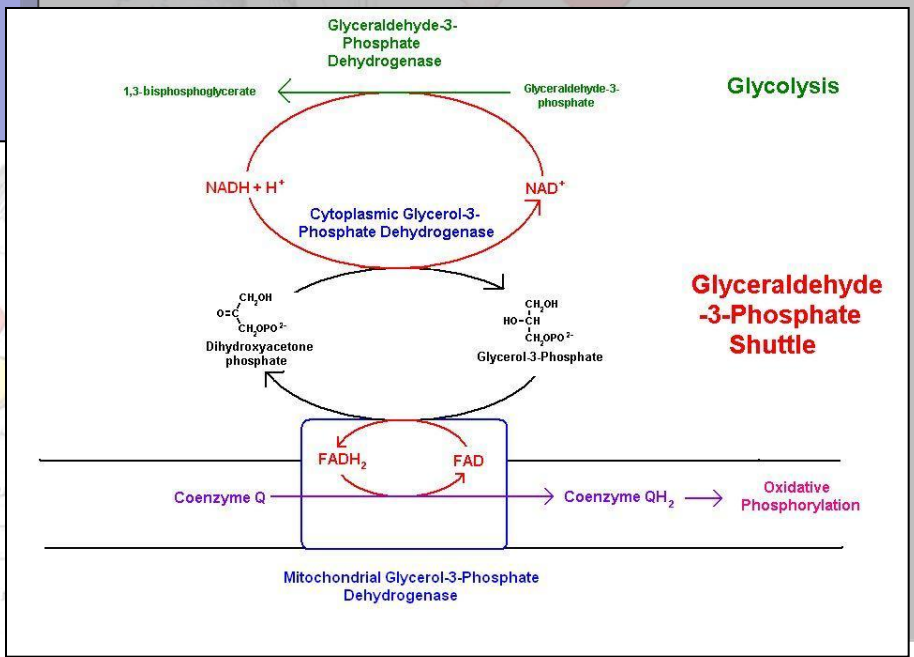
Σ = 30 ATP ili 32 ATP

Outer membrane



Malat-aspartat prijenos

Glicerol-3-fosfat prijenos



REDOX reakcije

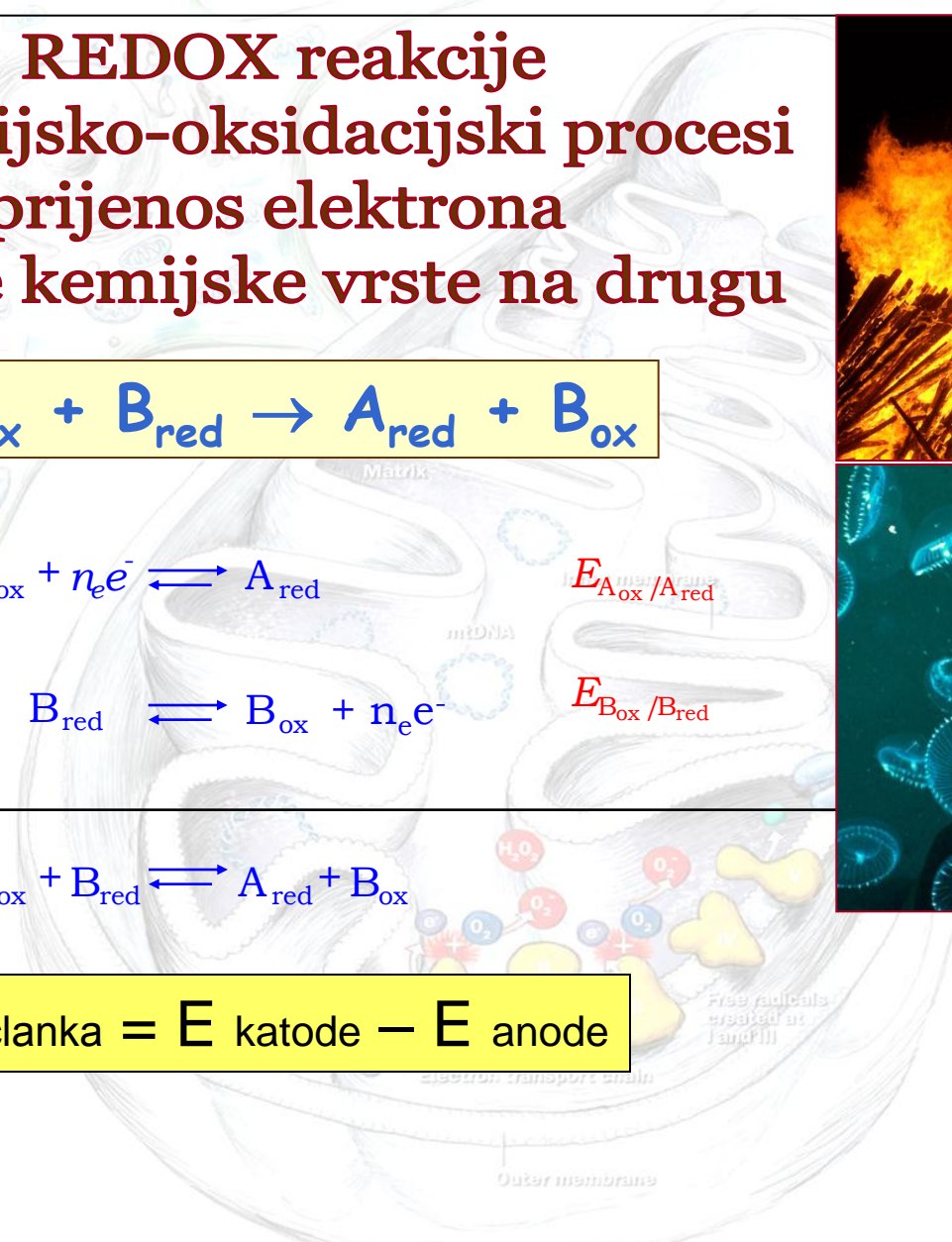
redukcijsko-oksidacijski procesi

prijenos elektrona

s jedne kemijske vrste na drugu



$$\Delta E \text{ članka} = E \text{ katode} - E \text{ anode}$$



E^\ominus - standardni redukcijski potencijal:

Razlika električnog potencijala zadanog polučlanka i standardne vodikove elektrode pri standardnim uvjetima.

Polureakcije se pišu *u smjeru redukcije*.

Primjer: kemijska vrsta A, $n_e=2$



$$E^\ominus_{A_{\text{ox}}/A_{\text{red}}}$$

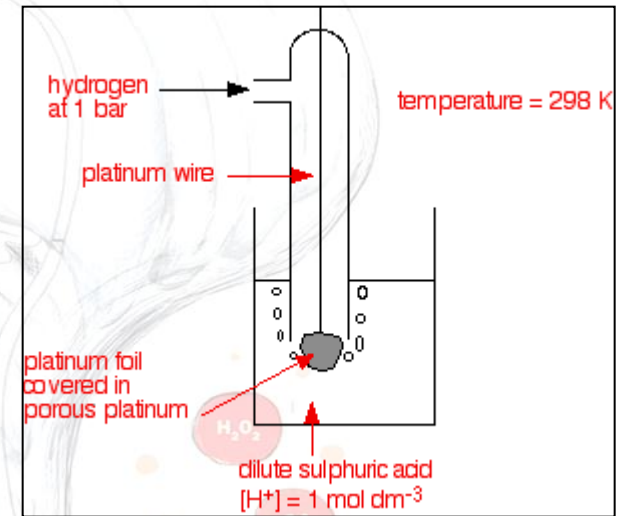
$$E^\ominus_{2H^+/H_2} = 0$$

Konvencija: E^\ominus
standardne vodikove
elektrode jednak je nuli

$$\Delta E = E^\ominus_{A_{\text{ox}}/A_{\text{red}}} - E^\ominus_{2H^+/H_2}$$

Definicija: E^\ominus redoks-polučlanka jednak je razlici potencijala između tog polučlanka pri standardnim uvjetima i standardne vodikove elektrode.

Polureakcija (polučlanak)		E ^{o'} (V)
Vrh tablice:		
slabi oksidansi		
acetat + CO ₂ + 2 H ⁺ + 2e ⁻	→	piruvat + H ₂ O -0.70
sukcinat + CO ₂ + 2 H ⁺ + 2e ⁻	→	α-ketoglutarat + H ₂ O -0.67
acetat ⁻ + 3H ⁺ + e ⁻	→	acetaldehid + H ₂ O -0.58
H ⁺ + e ⁻	→	½ H ₂ -0.42
acetoacetat ⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	β-hidroksibutirat -0.35
cistin + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	2 cistein -0.34
NADP ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻	→	NADPH -0.32
NAD ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻	→	NADH -0.32
lipoat + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	dihidrolipoat -0.29
S + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	H ₂ S -0.23
FAD + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	FADH ₂ (slobodni koenzim) -0.22
acetaldehid + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	etanol -0.20
piruvat ⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	laktat ⁻ -0.18
oksaloacetat ⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	malat ⁻ -0.17
FAD + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	FADH ₂ (u flavoproteinima) ≈ 0
2 H ⁺	→	H ₂ =0.00
fumarat ⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	sukcinat ⁻ 0.03
ubikinon + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	ubikinol 0.05
citokrom b (Fe ³⁺) + e ⁻	→	citokrom b (Fe ²⁺) (mitoh.) 0.08
citokrom c ₁ (Fe ³⁺) + e ⁻	→	citokrom c ₁ (Fe ²⁺) 0.22
citokrom c (Fe ³⁺) + e ⁻	→	citokrom c (Fe ²⁺) 0.24
citokrom a (Fe ³⁺) + e ⁻	→	citokrom a (Fe ²⁺) 0.29
O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	H ₂ O ₂ 0.30
citokrom a ₃ (Fe ³⁺) + e ⁻	→	citokrom a ₃ (Fe ²⁺) 0.39
NO ₃ ⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	NO ₂ ⁻ + H ₂ O 0.42
SO ₄ ²⁻ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	SO ₃ ²⁻ + H ₂ O 0.48
½ O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻	→	H ₂ O 0.82
Dno tablice:		
jaki oksidansi		



Free radicals created at I and III

Veza između standardnih elektrodnih potencijala i ΔG :

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln K$$

$$\Delta G = -nF\Delta E$$

n – broj e^- koji se prenose sa
reducensa na oksidans
 F – Faradayeva konstanta
96485 C mol⁻¹ (J V⁻¹ mol⁻¹)

Dijeljenjem gornjeg izraza s ($-nF$) dobivamo:

Nernstovu jednadžbu:

$$\Delta E = \Delta E^{\circ'} - \frac{RT}{nF} \ln K$$

za reakciju:



$$\Delta E = \Delta E^{\circ'} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[A_{\text{red}}][B_{\text{ox}}]}{[A_{\text{ox}}][B_{\text{red}}]}$$

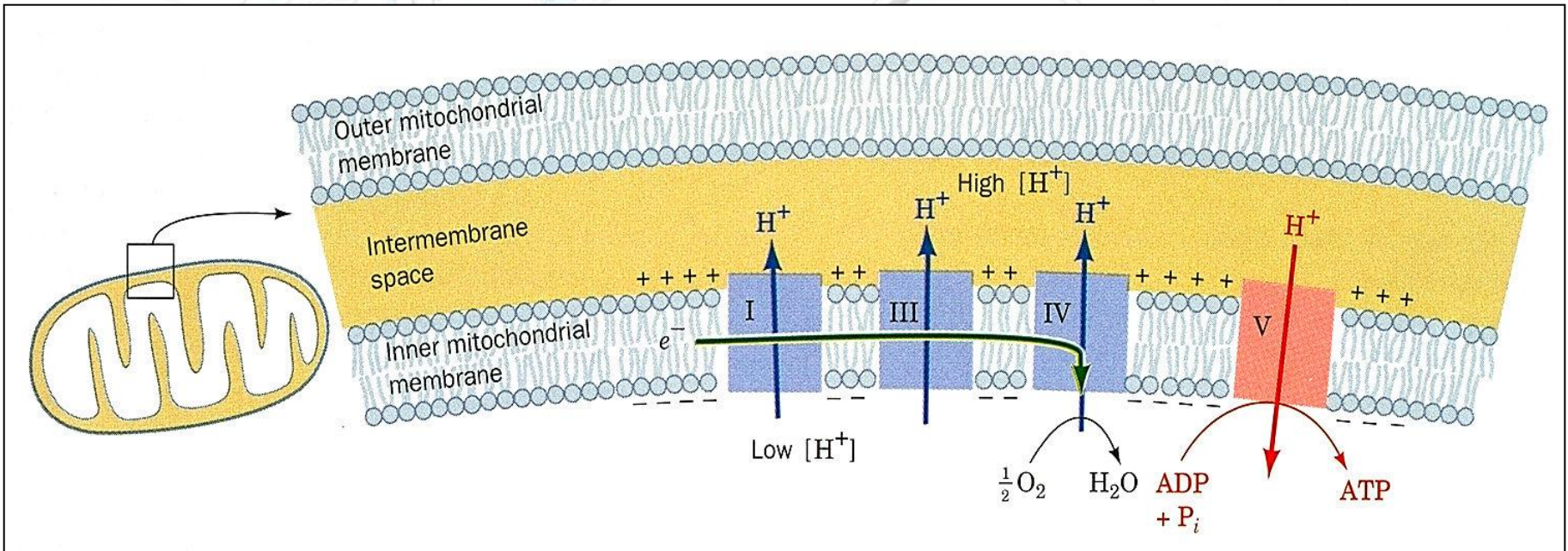
$$\Delta E^{\circ'} = E^{\circ'}_{\text{(akceptor e-)}} - E^{\circ'}_{\text{(donor e-)}}$$

$$\Delta E^{\circ'} = E^{\circ'}_{\text{katode}} - E^{\circ'}_{\text{anode}}$$

Free radicals
created at
Complex I

Electron transport chain

Outer membrane



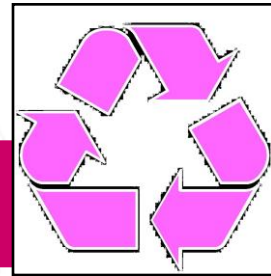
Prijenos tvari niz / uz elektrokemijski gradijent:

$$\Delta G = RT \ln \frac{c_2}{c_1} + \Delta G^{\wedge}$$

$$\Delta G^{\wedge} = zF\Delta\Psi$$

$$\Delta G = RT \ln \frac{c_2}{c_1} + zF\Delta\Psi$$

- c_1 – koncentracija čestica na polaznoj strani
- c_2 – koncentracija čestica na odredišnoj strani
- z – naboj čestice
- ψ – transmembranski potencijal

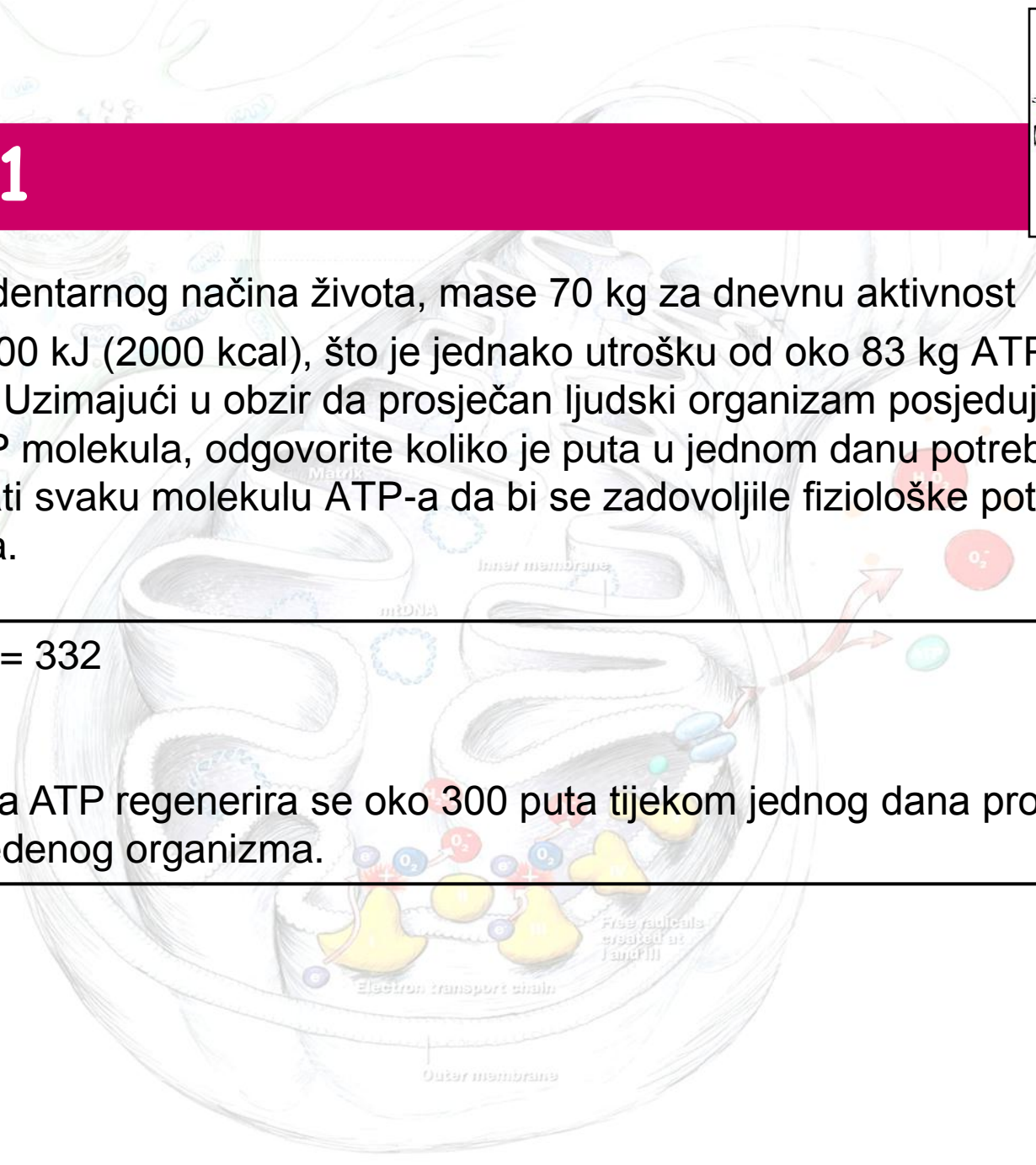


Zadatak 1

Muškarac sedentarnog načina života, mase 70 kg za dnevnu aktivnost treba oko 8 400 kJ (2000 kcal), što je jednako utrošku od oko 83 kg ATP molekula. Uzimajući u obzir da prosječan ljudski organizam posjeduje oko 250 g ATP molekula, odgovorite koliko je puta u jednom danu potrebno regenerirati svaku molekulu ATP-a da bi se zadovoljile fiziološke potrebe organizma.

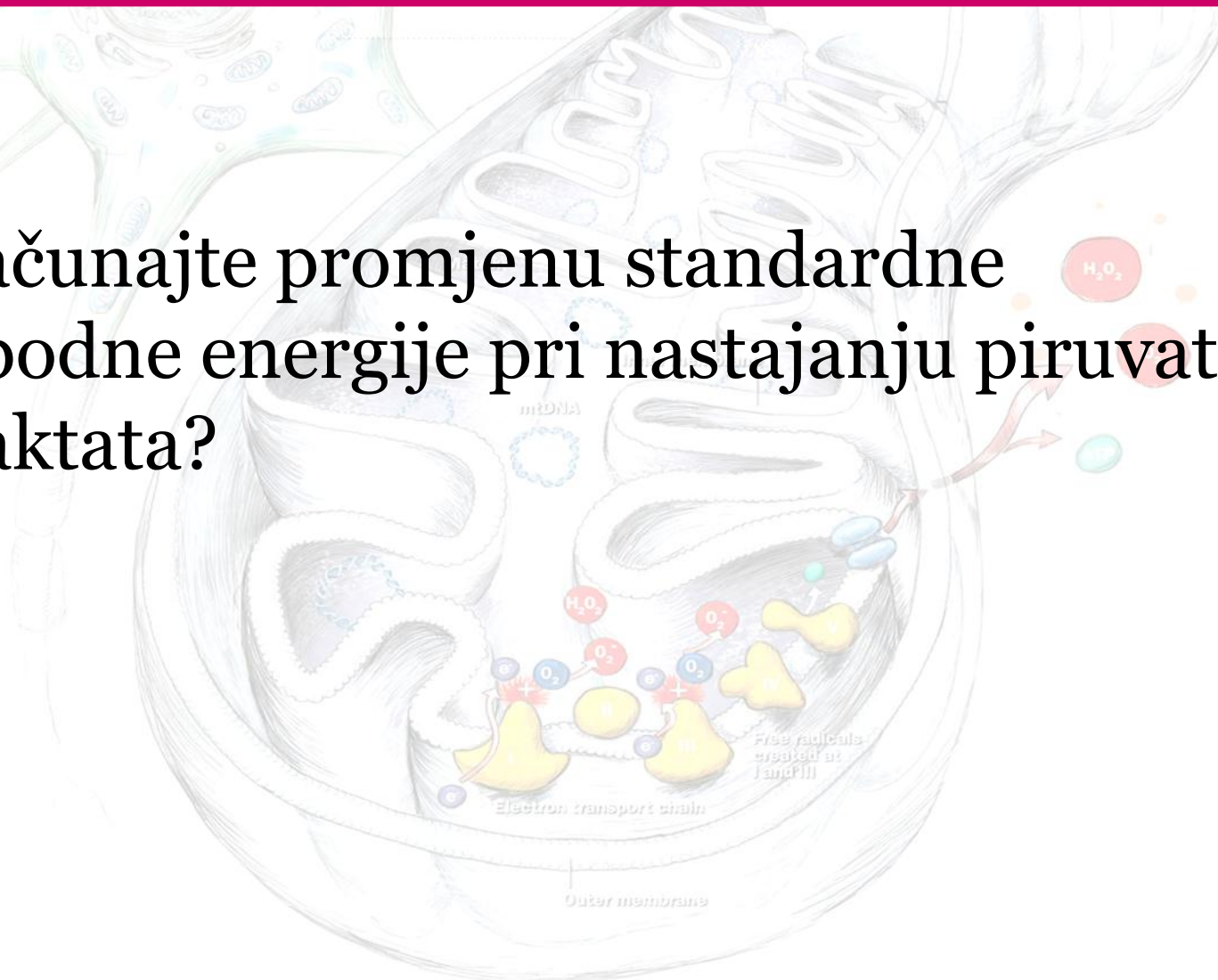
$$83 \text{ kg} / 0,25\text{kg} = 332$$

Svaka molekula ATP regenerira se oko 300 puta tijekom jednog dana prosječne aktivnosti navedenog organizma.



Zadatak 2

Izračunajte promjenu standardne slobodne energije pri nastajanju piruvata iz laktata?

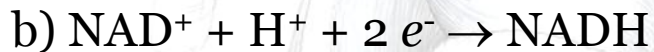


Rješenje zadatka 2:

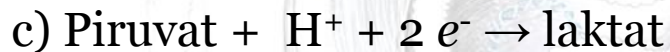


Redukcijski potencijal $\text{NAD}^+:\text{NADH}$ para iznosi $-0,32 \text{ V}$, a piruvat:laktat para $-0,18 \text{ V}$.

Redukcijski potencijali odnose se na parcijalne reakcije napisane kao redukcije: oksidans + $e^- \rightarrow$ reducens



$$E^{o'} = -0,32 \text{ V}$$



$$E^{o'} = -0,18 \text{ V}$$

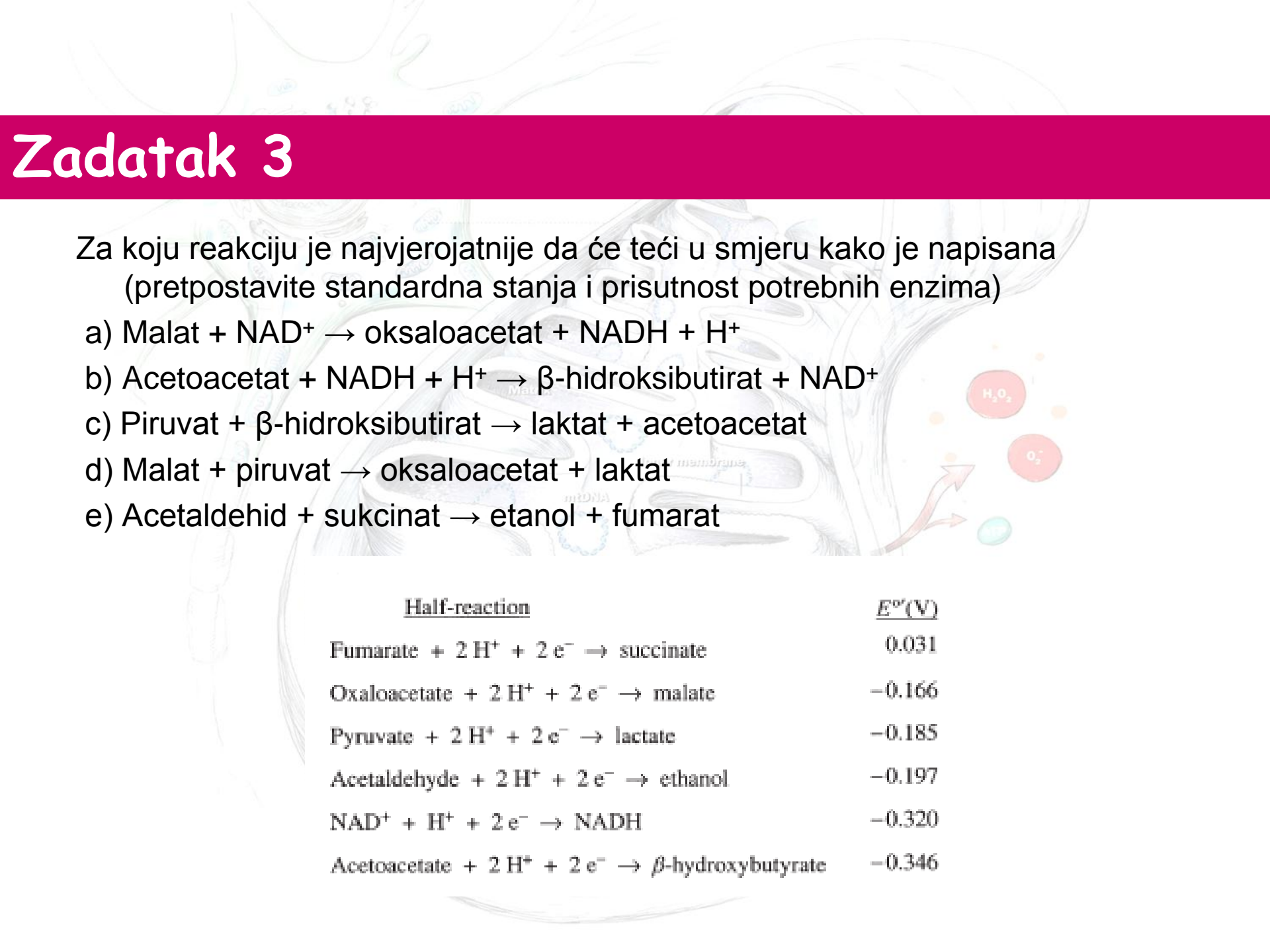
$$E^{o'}_{\text{članka}} = E^{o'}_{\text{katode}} - E^{o'}_{\text{anode}} = -0,18 \text{ V} - (-0,32 \text{ V}) = \Delta E^{o'} = 0,14 \text{ V}$$

$$\Delta G^{o'} = -nF\Delta E^{o'} = -2 \times 96,5 \text{ kJ V}^{-1}\text{mol}^{-1} \times (0,14 \text{ V}) = -27,02 \text{ kJ / mol}$$

Zadatak 3

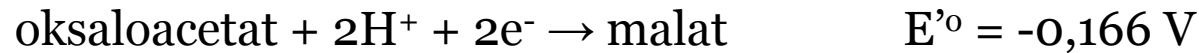
Za koju reakciju je najvjerojatnije da će teći u smjeru kako je napisana (pretpostavite standardna stanja i prisutnost potrebnih enzima)

- a) Malat + NAD⁺ → oksaloacetat + NADH + H⁺
- b) Acetoacetat + NADH + H⁺ → β-hidroksibutirat + NAD⁺
- c) Piruvat + β-hidroksibutirat → laktat + acetoacetat
- d) Malat + piruvat → oksaloacetat + laktat
- e) Acetaldehid + sukcinat → etanol + fumarat



<u>Half-reaction</u>	<u>E°(V)</u>
Fumarate + 2 H ⁺ + 2 e ⁻ → succinate	0.031
Oxaloacetate + 2 H ⁺ + 2 e ⁻ → malate	-0.166
Pyruvate + 2 H ⁺ + 2 e ⁻ → lactate	-0.185
Acetaldehyde + 2 H ⁺ + 2 e ⁻ → ethanol	-0.197
NAD ⁺ + H ⁺ + 2 e ⁻ → NADH	-0.320
Acetoacetate + 2 H ⁺ + 2 e ⁻ → β-hydroxybutyrate	-0.346

Rješenje zadatka 3



$$\Delta E'^{\circ} = -0,166 - (-0,320) = -0,154 \text{ V}$$

$$\Delta G'^{\circ} = -nF \Delta E'^{\circ} = -2 \times 96,5 \times (-0,154) = 29,7 \text{ kJ/mol}$$

b) $\Delta G'^{\circ} = 5,0 \text{ kJ/mol}$

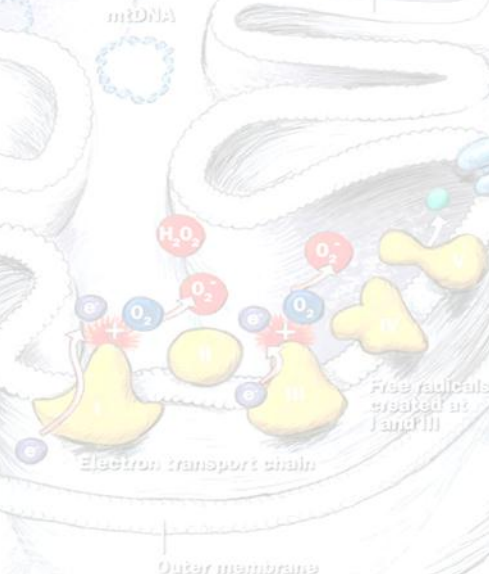
c) $\Delta G'^{\circ} = -31,1 \text{ kJ/mol}$

d) $\Delta G'^{\circ} = 3,7 \text{ kJ/mol}$

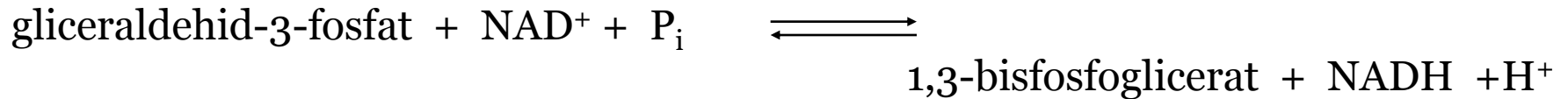
e) $\Delta G'^{\circ} = 44,0 \text{ kJ/mol}$

Zadatak 4

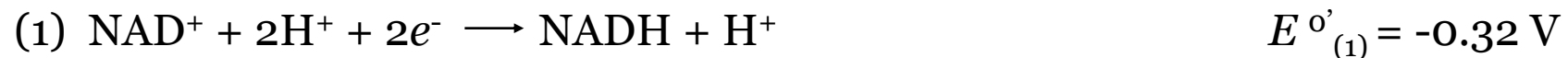
Izračunajte ΔE° i ΔG° za reakciju koju katalizira enzim gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza.



Reakcija koju katalizira gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza je



Ovu reakciju rastavimo na dvije polureakcije - dva **redoks-polučlanka** - koje pišemo u smjeru redukcije:



$$\Delta E^{\circ'} = E^{\circ'}_{(1)} - E^{\circ'}_{(2)} = -0.32 \text{ V} - (-0.29 \text{ V}) = -0.03 \text{ V}$$

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

$$= -2 \times 96500 \text{ J V}^{-1} \text{ mol}^{-1} \times (-0.03 \text{ V})$$

$$\Delta G^{\circ'} = +5.8 \text{ kJ mol}^{-1}$$

Reakcija je endergona pri standardnim uvjetima.

Primjedba: ΔG i ΔE imaju suprotan predznak: Egzergona reakcija ima negativan ΔG i pozitivan ΔE .

Zadatak 5

pH u citosolu stanica jetara normalno iznosi 7.25, a u mitohondriju 8.0. Uz pretpostavku da je $t = 37^\circ\text{C}$,

- a)** Izračunajte ΔG za prijenos H^+ iz citosola u matriks uz pretpostavku da transportnom prirastu Gibbsove energije pridonosi samo razlika u koncentraciji H^+ . Koliko najmanje iona H^+ mora ući u matriks za sintezu jednog ATP pri fiziološkim uvjetima

($\Delta G_{\text{(hidroliza ATP)}} = -58 \text{ kJ mol}^{-1}$)?

Rješenje:

Prijenos koji promatramo je



Zadano je

$$\text{pH}_{(\text{citosol})} = 7.25 \Rightarrow [\text{H}^+]_{\text{citosol}} = 10^{-7.25} \text{ mol dm}^{-3}$$

$$\text{pH}_{(\text{matriks})} = 8.0 \Rightarrow [\text{H}^+]_{\text{matriks}} = 10^{-8.0} \text{ mol dm}^{-3}$$

Prijenos se zbiva kroz *unutarnju* mitohondrijsku membranu, odnosno iz *međumembranskog prostora* mitohondrija u matriks. No, kako je vanjska mitohondrijska membrana propusna za ione i male molekule, njezin ionski sastav (pa tako i pH) jednak je ionskom sastavu citosola.

Rješenje:

Uz (krivu) pretpostavku da transportnom prirastu Gibbsove energije pridonosi samo razlika u koncentraciji H^+ :

$$\begin{aligned}\Delta_t G &= RT \ln \frac{[H^+]_{matriks}}{[H^+]_{citosol}} \\ &= 8.314 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot 310 \text{ K} \cdot \ln \frac{10^{-8.0}}{10^{-7.25}} \\ &= -4.45 \text{ kJ mol}^{-1}\end{aligned}$$

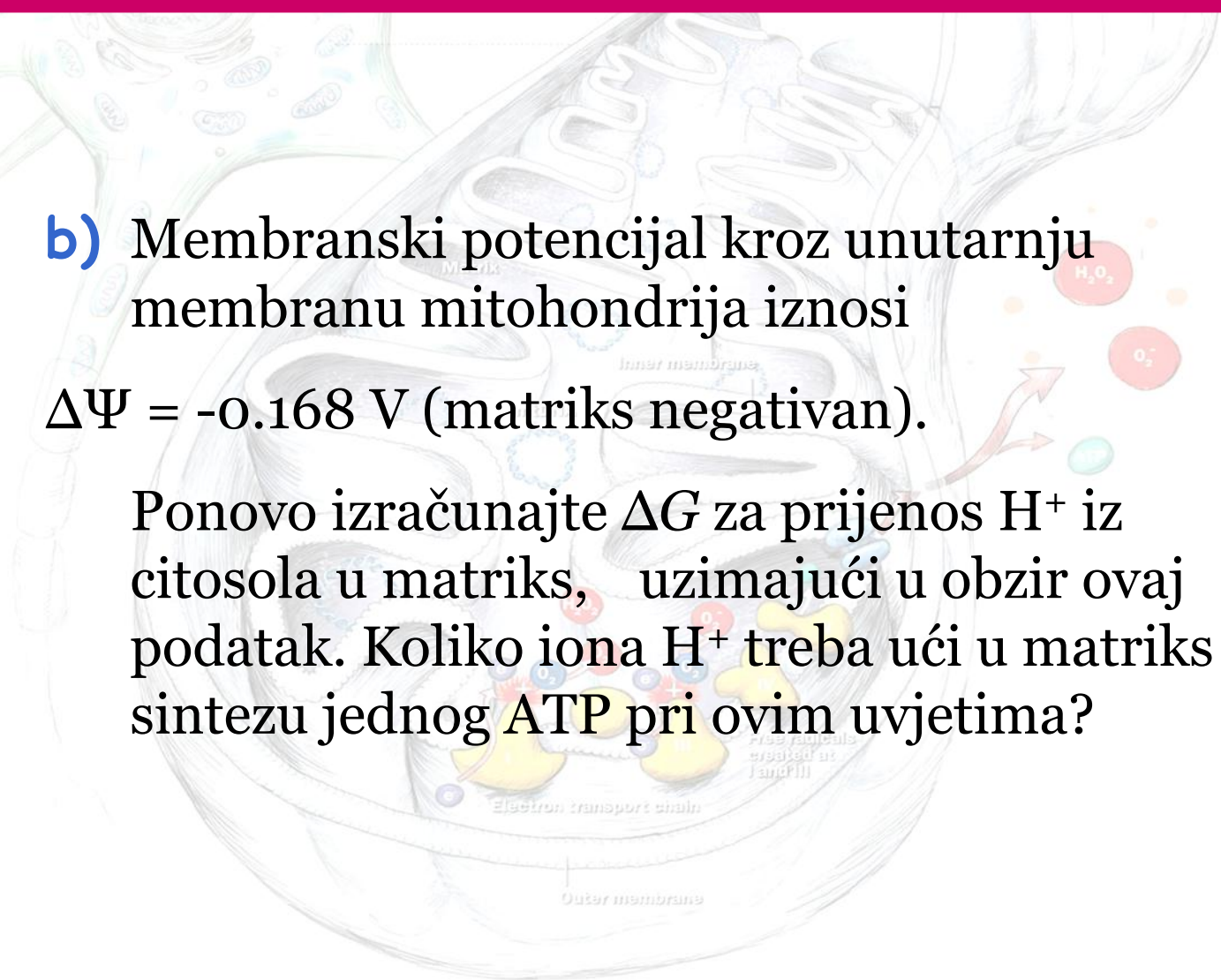
Budući da je za sintezu ATP u fiziološkim uvjetima potrebno namaknuti 58 kJ mol^{-1} , a u ovakvim bi se uvjetima prijenosom $1 \text{ mol } H^+$ dobilo maksimalno 4.45 kJ , računamo $58 / 4.45 = 13.04$ iona: pri pretpostavljenim uvjetima sinteza ATP iz ADP i P_i bit će egzergona spregne li se s ulaskom najmanje **13 iona H^+** iz citosola u matriks

Zadatak 5

b) Membranski potencijal kroz unutarnju membranu mitohondrija iznosi

$$\Delta\Psi = -0.168 \text{ V (matriks negativan).}$$

Ponovo izračunajte ΔG za prijenos H^+ iz citosola u matriks, uzimajući u obzir ovaj podatak. Koliko iona H^+ treba ući u matriks za sintezu jednog ATP pri ovim uvjetima?



Uzmemo li u obzir i postojanje membranskog potencijala na unutarnjoj mitohondrijskoj membrani (koji nastaje elektroženim pumpanjem H^+ iz matriksa u međumembranski prostor tijekom elektronskog transporta), računamo

$$\begin{aligned}\Delta_t G &= RT \ln \frac{[H^+]_{matriks}}{[H^+]_{citosol}} + zF\Delta\Psi \\ &= -4.45 \text{ kJ mol}^{-1} + 1 \cdot 96500 \text{ J V}^{-1} \text{ mol}^{-1} \cdot (-0.168 \text{ V}) \\ &= -4.45 \text{ kJ mol}^{-1} - 16.2 \text{ kJ mol}^{-1} \\ &= \mathbf{-20.7 \text{ kJ mol}^{-1}}\end{aligned}$$

U ovom slučaju za sintezu jednog ATP u matriks trebaju ući najmanje $58 / 20.7 = \mathbf{3 \text{ iona } H^+}$

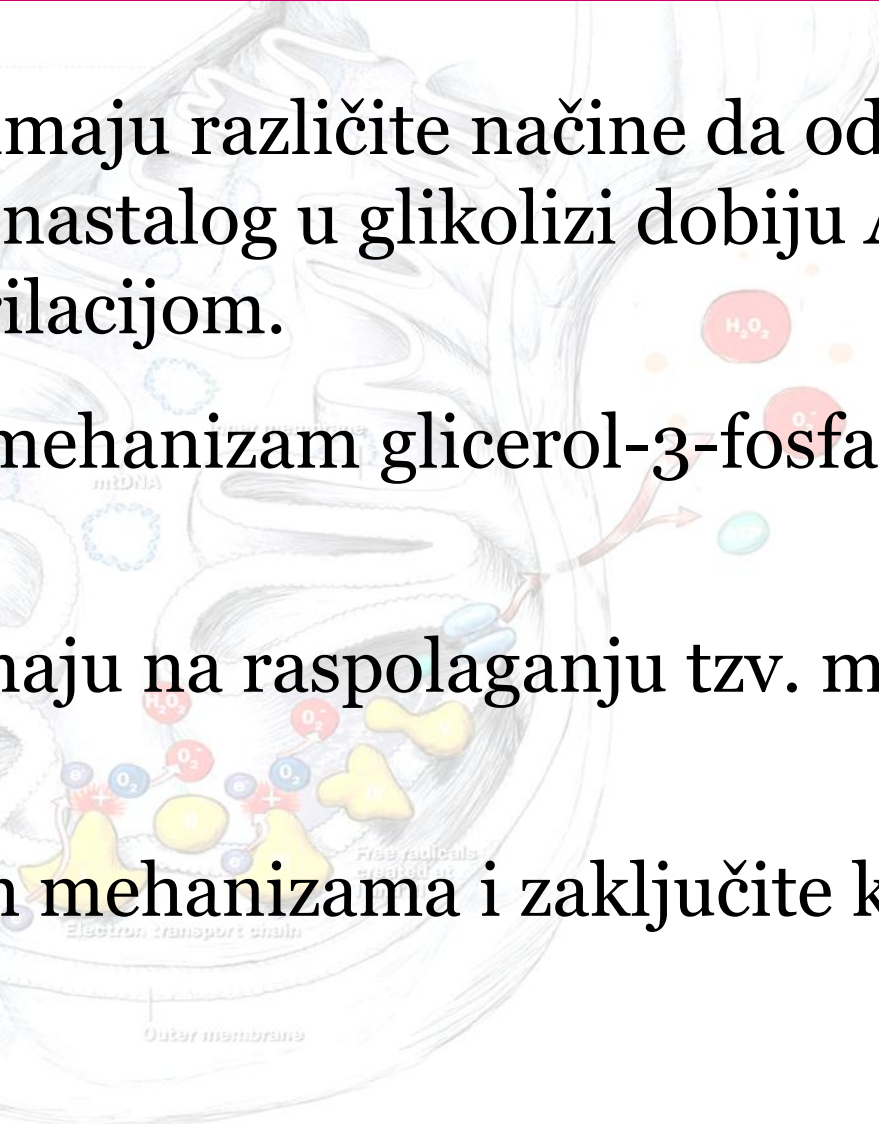
Zaključak: Sama razlika u koncentraciji H^+ kroz unutarnju mitohondrijsku membranu *nije dovoljna za sintezu ATP* pomoću ATP-sintaze. Postojanje membranskog potencijala neophodno je da bi se na samoj ATP-sintazi lokalno formirala povećana koncentracija H^+ (uslijed elektrostatskog privlačenja s negativno nabijene strane matriksa).

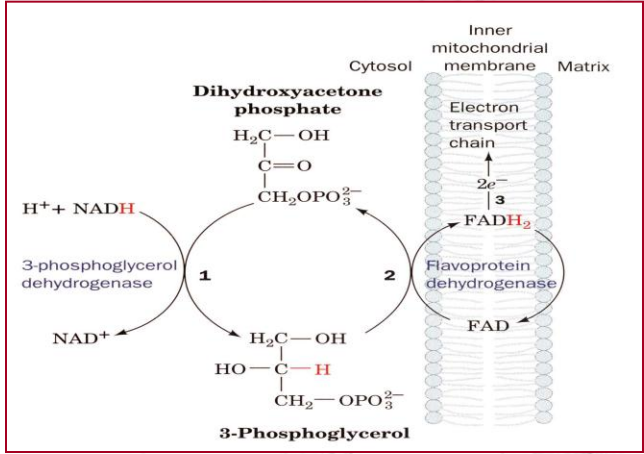
Zadatak 6

Različiti organizmi imaju različite načine da od reduciranog NADH nastalog u glikolizi dobiju ATP oksidativnom fosforilacijom.

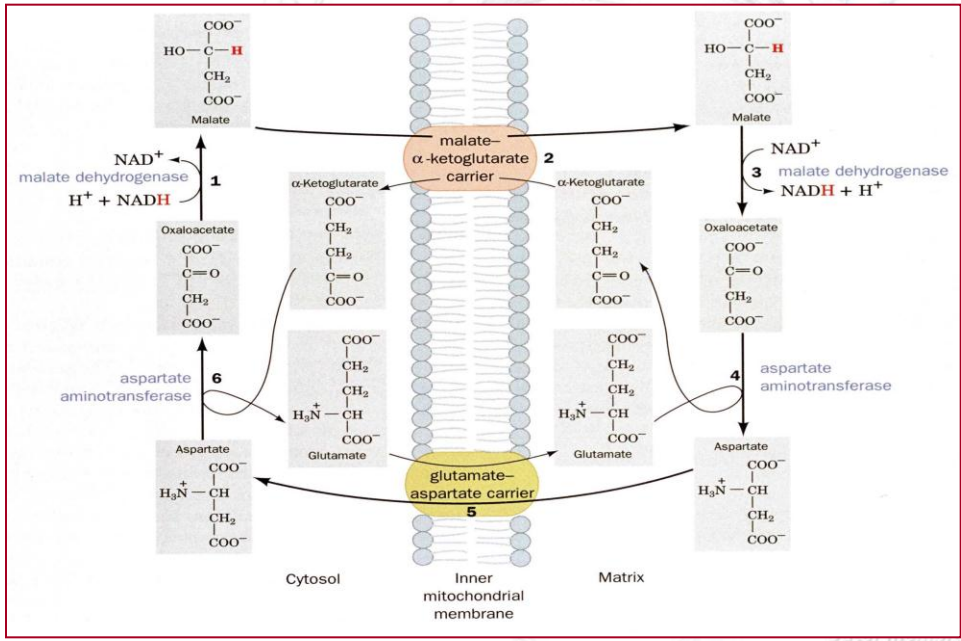
- kukci koriste mehanizam glicerol-3-fosfat prijenosa
- sisavci, pak, imaju na raspolaganju tzv. malat-aspartat prijenos

Ispišite reakcije ovih mehanizama i zaključite koji je od njih učinkovitiji.





Prvi mehanizam: je manje učinkovit jer za svaki NADH utrošen u citoplazmi daje jedan FADH₂ (1.5ATP).



Drugi mehanizam: jedan NADH utrošen u citoplazmi daje jedan NADH nastao u mitohondriju (2.5ATP)

<http://www.nature.com/nrg/journal/v6/n9/full/nrg1700.html>

http://www.sciencenews.org/view/feature/id/40762/title/Mitochondria_Gone_Bad

