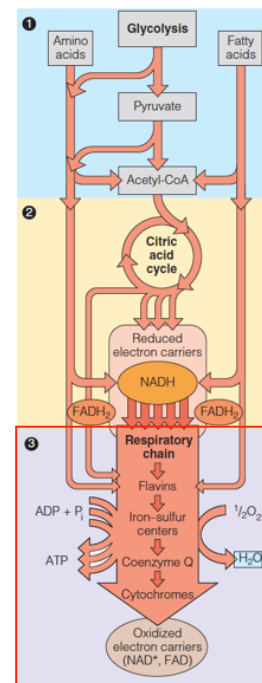


| | |
|--|--------------------|
| 主題：CH15 Electron Transport and Oxidative Phosphorylation | |
| 教師：洪錦堂 | 日期：2014/04/15（星期二） |
| 撰稿組：士軒、文儒、沛庭、冠輔 | 審稿組：慕雲、致凱、家瑋、祥元 |

一、前言

前面章節介紹糖解作用、檸檬酸循環製造出電子攜帶者 NADH 和 FADH₂，這章節介紹如何將 NADH 和 FADH₂ 中的還原力轉化成能量，並儲存於 ATP 的高能磷酸鍵。

電子傳遞鏈、氧化磷酸化都是在膜上進行。因原核生物沒有胞器，所以細菌的電子傳遞鏈、氧化磷酸化反應都是在細胞膜上進行。動物的這兩種反應是在粒線體內膜上進行，植物的葉綠體在白天也可進行這兩種反應。



二、粒線體簡介

1. 粒線體的功能

- A、檸檬酸循環 TCA cycle
- B、脂肪酸氧化 Fatty Acid Oxidation
- C、電子傳遞鏈 Electron Transport
- D、氧化磷酸化 Oxidative Phosphorylation

（以下部分上課時沒有說明）

2. 粒線體外膜：

具通透性，因為膜上有一種穿孔蛋白 Porin 繞成一圈形成通道，分子量 5000 以下的物質可自由進出

3. 粒線體膜間腔 Intermembrane space(IMS)

在內膜與外膜之間，和細胞質環境相似，具高濃度氫離子，低 pH 值。

4. 粒線體內膜

沒有 Porin 構造，對於大部分的小分子不具通透性(包含氫離子)，物質的運輸只能靠 transporter。是電子傳遞鏈之所在。

5. 基質(Matrix)

檸檬酸循環、脂質、胺基酸部分代謝的場所，具低濃度氫離子。

6 粒線體基質中的 DNA 可以轉譯 37 個基因，其中 13 個是電子傳遞鏈的酵素，但粒線體中至少要有數十種酵素，其他不足的酵素由細胞核 DNA 轉錄、細胞質中轉譯再運送到粒線體。

三、還原物質 NADH 及 FADH₂ 來源：

在有氧環境下，一 mole 葡萄糖可轉換成 10 mole NADH 及 2 mole FADH₂，分別來自以下六個脫氫步驟（Dehydrogenation Step）：

→ Step 6 of Glycolysis (2 NADH)

→ Conversion of Pyruvate to Acetyl-CoA (1 NADH x 2)

→ Step 3,4,8 of TCA Cycle (3 NADH x2)

→ Step 6 of TCA Cycle (1 FADH₂ x2)

} x 2 的原因：
1 Glucose 可產生 2 Pyruvate

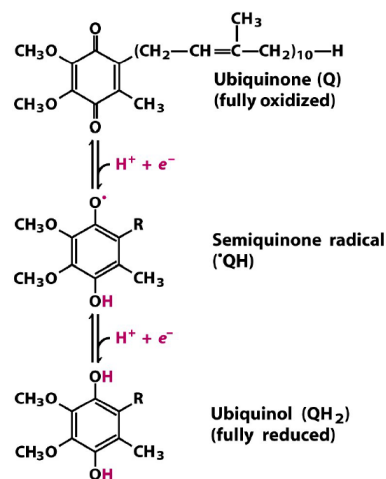
四、電子傳遞鏈：

電子傳遞者(electron carrier)分以下四種，電子傳遞鏈中每個複合體都含多個電子傳遞者。

◆ Flavoprotein：分為 FAD 和 FMN 兩種，皆含有 flavin 以接受、放出 e⁻和 H⁺，一個分子可接受/放出一個或兩個 e⁻或 H⁺(看是在什麼部位決定)，是 Complex I 和 II 初始電子接受者。

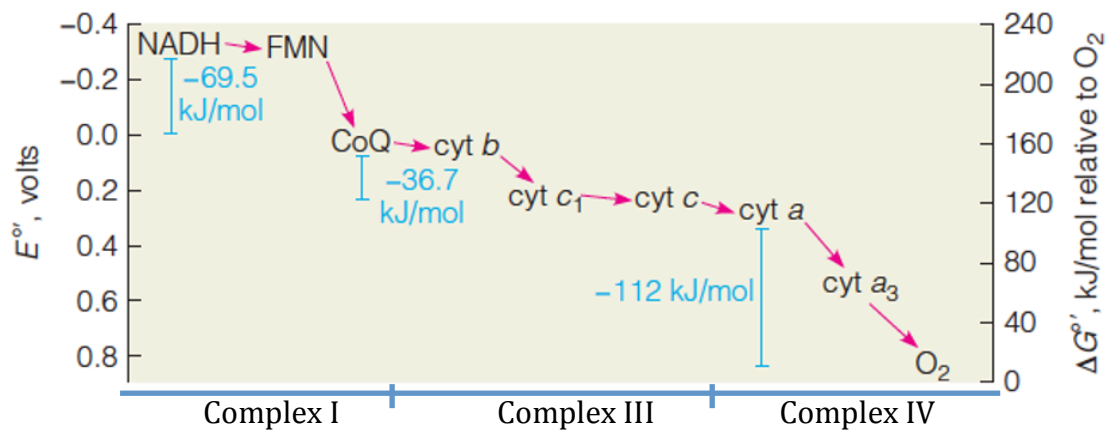
◆ Iron-sulfur proteins：鐵硫蛋白，有很多種類，比方說 NADH：Ubiquinone oxidoreductase。中心為鐵和周圍蛋白質的 Cys 的硫原子相連接，具同數目的 S 和 Fe 原子。一個分子可以接受/放出一個 e⁻，藉 $\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{e}^-$ 攜帶電子。

◆ Coenzyme Q：又稱 Ubiquinone，簡寫 Co Q 或 Q。為脂溶性小分子，所以可以在粒線體內膜中自由移動，進行電子輸送，他將 complex I, II 的電子傳送到 III。和 Flavoprotein 一樣，一個分子可以接受或放出一個或兩個 e⁻或 H⁺。接收兩電子後，形成醇類 ubiquinol，如下圖。



◆ Cytochromes：細胞色素，以鐵離子+porphyrin 進行電子攜帶，因為環上所接 heme 不同，分為 a、b、c 三種，有不同的可見光吸收光譜，並可藉由吸收光譜判斷其為氧化態或還原態。一個分子可接受/放出一個 e⁻。在粒線體內移動。

五、電子傳遞者的標準還原電位：



1. 電子傳遞由還原電位低的地方到還原電位高的地方
2. Complex II 不釋能，故無還原電位變化

六、電子傳遞鏈 (Electron Transport Chain, ETC)

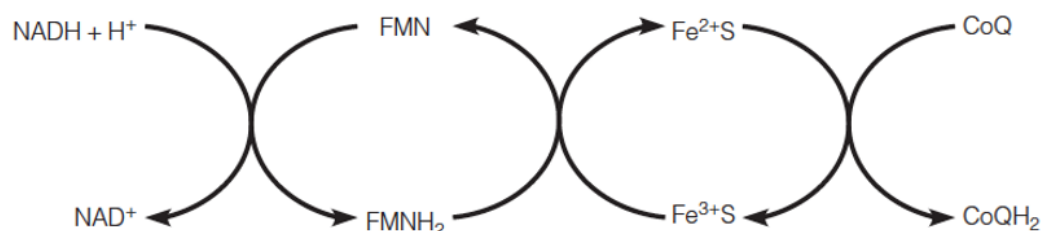
1.意義：將糖解作用、TCA Cycle 等反應產生的 NADH 及 $FADH_2$ 的還原力轉換成能量，儲存於 ATP 的高能磷酸鍵。NADH 及 $FADH_2$ 會使粒線體內膜的酵素將 H^+ 打入膜間腔，而膜間腔的 H^+ 要回到粒線體基質時，便會啟動 ATP Synthase，製造出 ATP。

2.四種酵素複合體與其電子傳遞方向

- (1) Complex I : $NADH \rightarrow CoQ$
- (2) Complex II : Succinate、 $FADH_2 \rightarrow CoQ$
- (3) Complex III : $CoQ \rightarrow cyt\ c$
- (4) Complex IV : $cyt\ c \rightarrow O_2$

3.Complex I (NADH dehydrogenase, NADH-CoQ reductase)

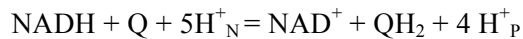
- (1) Complex I 由 FMN 和 Fe-S cluster 組成，包含 45 種 polypeptides。
- (2) Complex I 内部的電子傳遞路徑是 $NADH \rightarrow FMN \rightarrow Fe-S \rightarrow Co\ enzyme$



(3) N side 表示 negative 的 matrix

P side 表示 positive 的 intermembrane space

(4) $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$ 可以傳遞兩個電子，每兩個電子經過 Complex I，就有四個 H^+ 由 N side 打入 P side (注意 Fe-S 一次只能傳送 1 個電子)



(5) $\text{I} \rightarrow \text{III} \rightarrow \text{IV}$ 路徑：

Co-Q 可以將電子由 Complex I 傳遞到 Complex III，再由 cyt c 傳遞到 Complex IV

4. Complex II (Succinate dehydrogenase, Succinate-CoQ reductase)

(1) Complex II 由 FAD 和 Fe-S cluster 組成

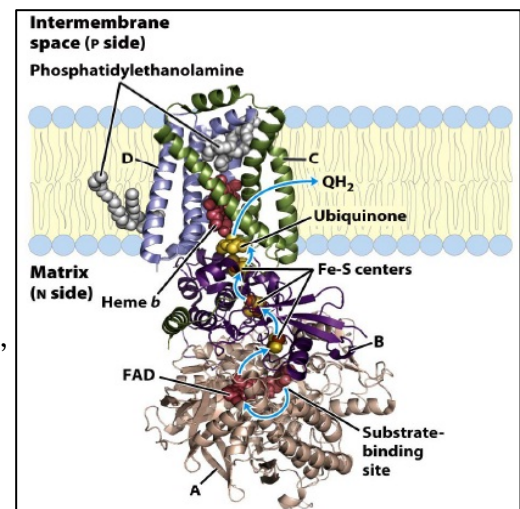
(2) Complex II 內部的電子傳遞路徑是



(succinate 丟掉電子變成 fumarate)

(3) 可以傳遞四個電子，但是因為沒有能量產生，所以沒有 H^+ 被打出

(4) Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 以及 Fatty acyl-CoA dehydrogenase 和 Complex II 很相似，是 electron-transferring flavoprotein (ETF)，傳遞路徑都是 $\text{FAD} \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{Co-Q}$ ，沒有 H^+ 打出，亦無能量生成

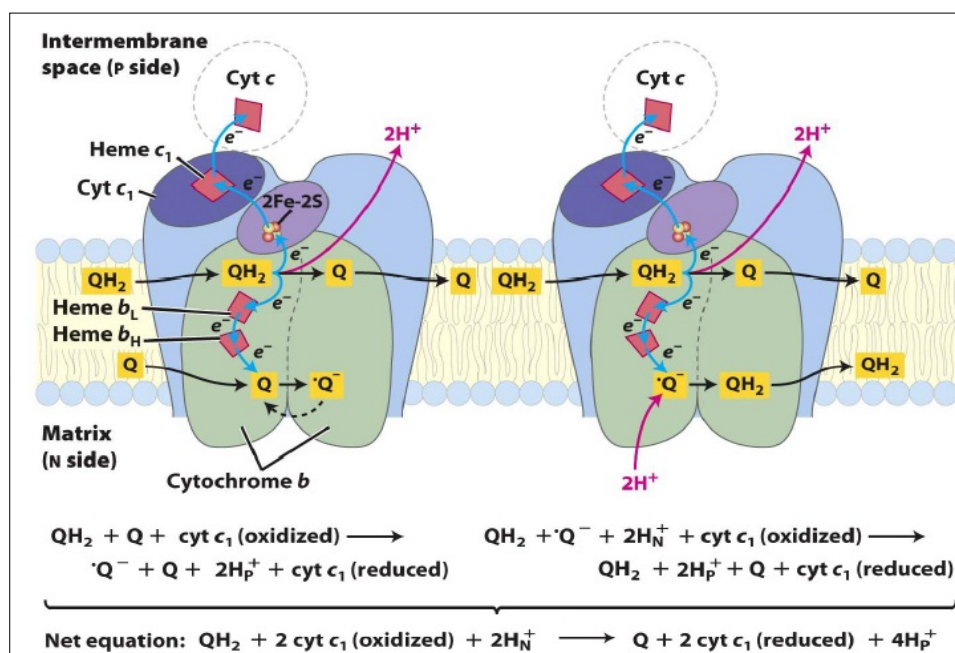


(5) 位於真核細胞粒線體內膜上，同時參與 TCA Cycle (Step 6°) 與電子傳遞鏈。

(6) $\text{II} \rightarrow \text{III} \rightarrow \text{IV}$ 路徑：

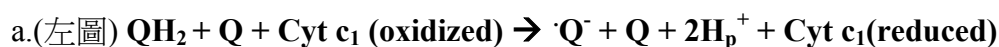
Co-Q 可以將電子由 Complex II 傳遞到 Complex III 再由 cyt c 傳遞到 Complex IV

5. Complex III (Coenzyme Q-Cytochrome c reductase) (上課時僅簡單帶過)



(1)Complex III 由 Fe-S cluster、Cyt b、Cyt c(吸收峰為波長 400nm，成紅色)組成，其中 Cyt b 位電位高低分成 b_L 和 b_H

(2)Complex III 內部的電子傳遞過程有個 Q cycle，由兩個半反應組成：



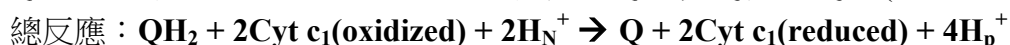
QH_2 上的一個電子轉移到 Fe-S 在轉移到 Cyt c_1 ，打出兩個 H^+

QH_2 上另外一個電子經由 b_L 到 b_H 路徑傳回 Q，使 Q 變成 Q^-



QH_2 上的一個電子轉移到 Fe-S 在轉移到 Cyt c_1 ，打出兩個 H^+

QH_2 上另外一個電子經由 b_L 到 b_H 路徑傳回 Q^- ，使 Q^- 成為 QH_2 (rereduced)

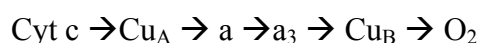


(3)Complex III 共傳遞出去兩個電子，四個 H^+ 從 N side 打出到 P side

6.Complex IV (Cytochrome c oxidase)

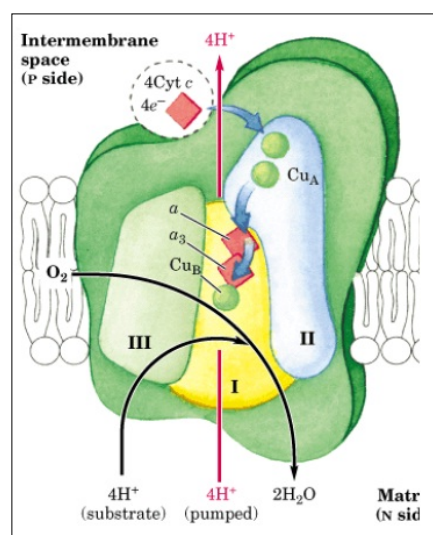
(1)由兩個 heme(a 和 a_3)和兩個 Cu(Cu_A 和 Cu_B)組成

(2)Complex IV 的電子傳遞過程：

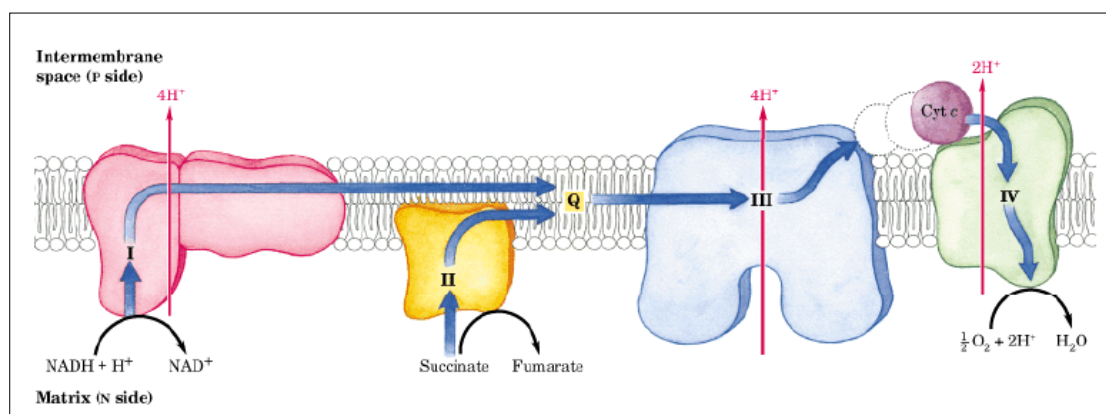


(3)Complex IV 共傳遞出兩個電子，打出兩個 H^+ (圖中是為了讓 O_2 變成整數，所以是原本的兩倍)

(4)四個電子和四個 H^+ (從基質來)用來還原一個 O_2 形成兩個 H_2O



7.Summary

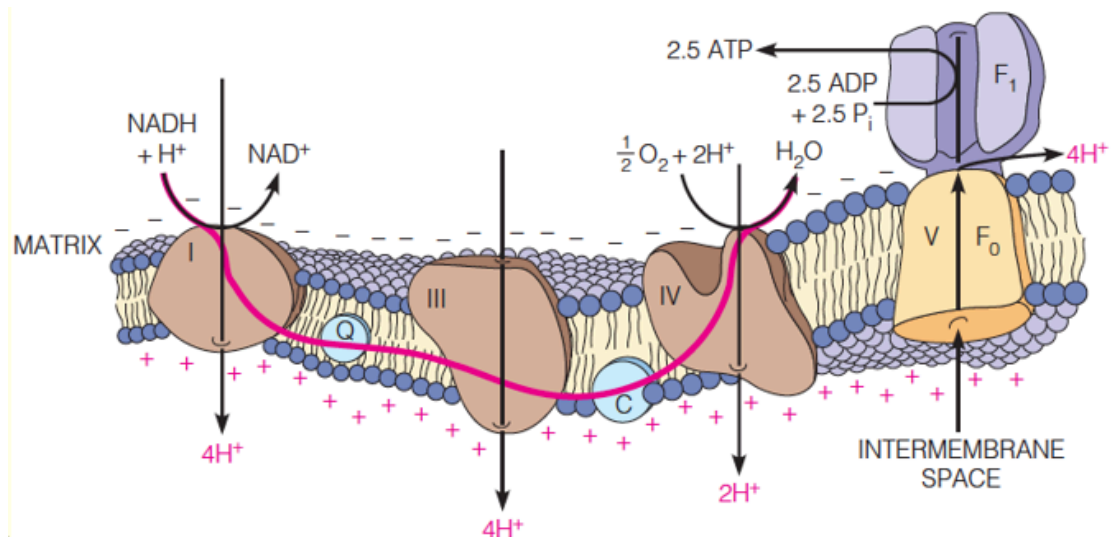


| Complex | I | II | III | IV |
|---------|------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 傳遞電子 | $NADH \rightarrow CoQ$ | $Succinate \rightarrow CoQ$ | $CoQ \rightarrow Cyt\ c$ | $Cyt\ c \rightarrow O_2$ |
| 阻斷 | Rotenone | - | Antimycin A | CN, CO |

七、ATP 的合成

I. Chemiosmotic coupling

1. 電子傳遞鏈建立了質子梯度，而此質子驅動力（proton-motive force, pmf）可促使 ATP 的合成。

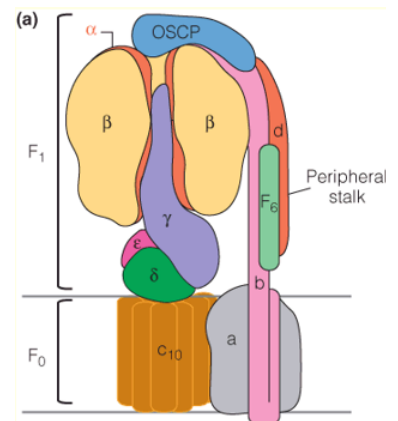


2. NADH 和 Succinate 可以輸出的 H^+ 數量不同:
若電子從 NADH 開始傳，最後可運輸 10 個 H^+ 進入粒腺體膜間腔
(Complex I \rightarrow III \rightarrow IV, $4+4+2=10$)
從電子從 Succinate 開始，最後可運輸 6 個 H^+ 進入粒腺體膜間腔
(Complex II \rightarrow III \rightarrow IV, $0+4+2=6$)
3. 製造一個 ATP 需要 4 個 H^+ $\left\{ \begin{array}{l} \text{運輸 ADP} \rightarrow 1 H^+ \text{ (將 } H_2PO_4^- \text{ 運輸進基質)} \\ \text{合成 ATP} \rightarrow 3 H^+ \end{array} \right.$
4. 一個氧氣分子接受一對電子對
5. P/O 比：電子傳遞鏈中所傳遞的每對電子所能產生的 ATP 數。
6. $P/O = \text{可以運輸多少 } H^+ \text{ 進入膜間腔} / \text{生成一個 ATP 需要 4 個 } H^+$
 $\left\{ \begin{array}{ll} \text{NADH} & \rightarrow 10/4=2.5 \\ \text{Succinate} & \rightarrow 6/4=1.5 \end{array} \right.$

II. Complex V (ATP Synthase) (F₀F₁ Complex)

1. ATP 合成酶由兩部分組成---- F₁ 和 F₀ (此處 o 表示 oligomycin)

$$\begin{cases} F_1 \rightarrow 3(\alpha+\beta)+\gamma+\delta+\epsilon, \text{ 合成 ATP } (\gamma: \text{rotor}) \\ F_0 \rightarrow a+b_2+c_{10-12}, \text{ H}^+ \text{ 在粒線體內膜上的通道 } (b: \text{stator}) \end{cases}$$



2. Binding change mechanism (O,T,L conformation)

三個 β 次單元在不同位置，構形會不一樣，因而功能也不相同。質子驅動力驅使 ATP 合成酶 F₁ 的 γ 轉動，連帶著連接於其上的 $\alpha\beta$ pair 也跟著轉動，因此當 $\alpha\beta$ pair 和 δ 擠壓到時， $\alpha\beta$ pair 就會發生構形的改變。而 β 的構形改變的過程就能趨使 ADP 和 P_i 合成為 ATP。

Loose(L) : $\alpha\beta$ pair 接 ADP + P_i

Tight (T) : $\alpha\beta$ pair 接 ATP

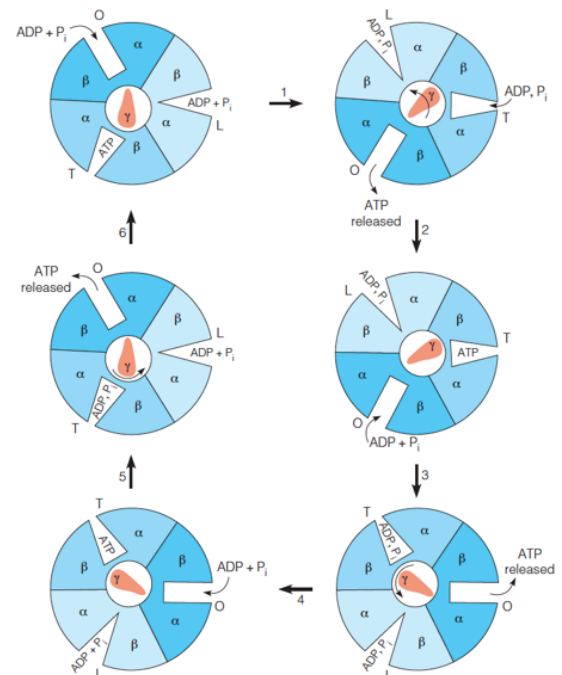
Open (O) : $\alpha\beta$ pair 接 nothing

Step 1 3 5 : Subunit 逆時針轉 120°，三個 Dimer 構型改變

$$\begin{cases} T \rightarrow O : \text{ATP release} \\ O \rightarrow L : \text{bind ADP + P}_i \end{cases}$$

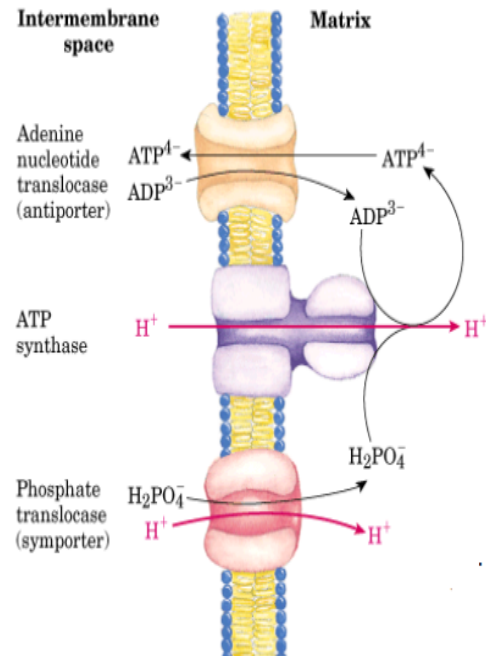
Step 2 4 6 :

L \rightarrow T : ATP formation



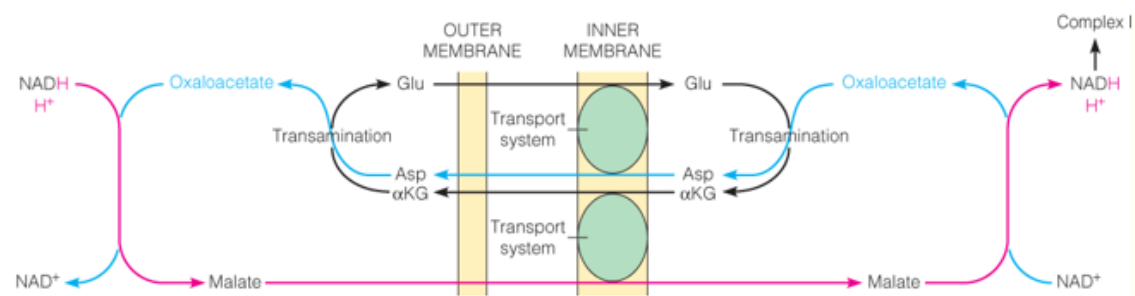
III. Major Inner Membrane Transport System

1. Adenine nucleotide translocase: 同時將一個 ATP^{4-} 運輸進膜間腔、 ADP^{3-} 運輸進基質(此為一個自發反應，由於膜外帶正電，四個負電向外三個負電向內，可平衡電位差。)
2. Adenine nucleotide translocase 將四個負電荷帶出基質，但是只帶進三個負電荷
= 淨運出一負電荷
= 淨運進一個 H^+
3. 質子驅動力使基質中帶很多負電，所以驅使 Adenine nucleotide translocase 運作
4. Phosphate translocase 將 H_2PO_4^- 和 H^+ 同時運輸進粒線體基質， H_2PO_4^- 的磷酸根可作為將ADP合成ATP的材料。
(ATP合成會消耗4個 H^+ ，真正用在合成ATP的只有三個 H^+ ，另外一個 H^+ 就是用來將 H_2PO_4^- 運輸進基質的。)

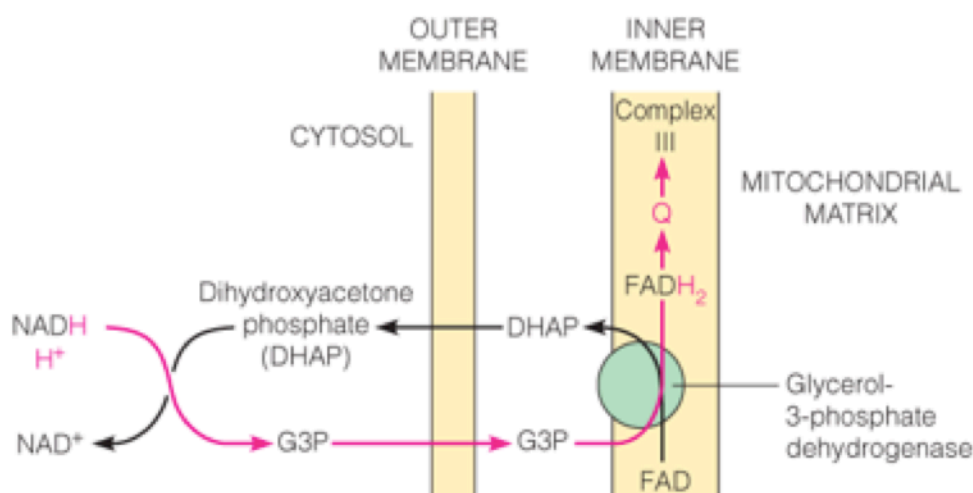


八、Shuttle System (上課只簡單說明種類與結果，分子機轉為補充內容)

1. 在細胞質中產生的NADH無法直接通過粒線體的內膜，故需要一運送系統達成此一目的，經由一連串反應，使粒線體內產生對應的還原態物質。
2. 即細胞質中的還原物質 (NADH) 藉由G3P shuttle、Malate shuttle傳遞 H^+ ，使得粒線體基質產生對應的還原物質 (NADH 、 FADH_2)
3. 在肝臟、心臟中主要是 Malate/Aspartate shuttle:
 - (a) 在細胞質中的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 將兩個H傳給OAA形成Malate，Malate擴散到粒線體內基質後，再將H傳給 NAD^+ ，成為 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 。
 - (b) NADH 進入電子傳遞鏈後可產生 2.5ATP。



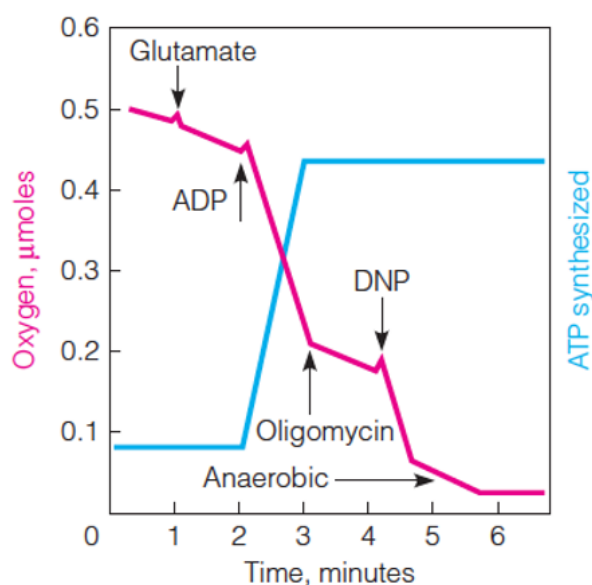
4. 在腦、肌肉中主要是Glycerol-3-phosphate(G3P) shuttle:
- 在細胞質中的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 將兩個H傳給Dihydroxyacetone phosphate而形成Glycerol-3-phosphate，Glycerol-3-phosphate擴散到粒線體內基質後，再將H傳給FAD，成為 FADH_2 。
 - FADH_2 進入電子傳遞鏈後可產生 1.5ATP。



| 步驟 | 移動位置 | 運送系統 |
|----|----------------|--------------------------------------|
| 1 | 細胞質 → 粒線體基質 | G3P shuttle(腦,肌)、Malate shuttle(肝,心) |
| 2 | 粒線體基質 → 粒線體膜間腔 | Complex I+II+III+IV |
| 3 | 粒線體膜間腔 → 粒線體基質 | F_0 、 F_1 |

九、Uncoupling （解偶聯機制）

- 目的：使得電子傳遞鏈正常進行，氫離子也可流入基質，但ATP無法合成。
- Uncoupler位於粒腺體內膜上，可以將膜間腔內濃度很高的 H^+ 運輸進基質中，並產生熱能，而不經過ATP合成酶 → 質子濃度梯度直接轉換成熱能。



Uncoupler 如 2,4-Dinitrophenol(DNP)、FCCP使得磷酸化反應與電子傳遞解偶聯。

| 加入\結果 | 氧氣消耗 | ATP合成 |
|------------|------|-------|
| Oligomycin | 減少 | 終止 |
| DNP | 增加 | 終止 |

十、氧化磷酸化的調控機轉

1. 與受質有關：

ADP/P_i的存在會影響氧化磷酸化是否進行（可視ADP為氧化磷酸化的調控者）。

----- 當ADP+P_i的量變為兩倍時，氧氣消耗也變兩倍 → stoichiometric
[ATP]/[ADP][P_i]的比值稱為mass-action ratio，通常這個比值很大（4-10倍），代表ATP-ADP是被充分氧化的，但細胞耗能時這個比值就會下降，促使ATP合成。亦即，ATP是在需要的時候才會被合成的。

2. Inhibitor of F₁（上課未提）

在低氧環境時防止ATP的水解，因低氧無法進行電子傳遞製造ATP。

3. 抑制氧化磷酸化導致NADH堆積，造成負向回饋抑制糖解作用的PFK-1。（上課未提）