**BIOCHEMIE HOOFDSTUK 19: Oxidatieve fosforylering**

0. Inleiding

* Oxidatieve fosforylering
  + = EN huishouding/ metabolisme in aerobe organismen
  + = fixt de effectieve vorming van ATP via ATP synthase in mitochondriale matrix
  + Voorkomen: in mitochondrion (mitochondriaal binnenmembraan)
    - En betrekt eiwitcomplexen ingebed in mitochondriaal binnenmembraan
  + Essentie: langs complexen stromen e- en p+
    - P+ leveren de energie / gradiënt voor vorming ATP in ATP synthase complex
    - ⬄ fotofosforylering in chloroplasten
    - => zie chemiosmotische theorie
* Chemiosmotische theorie
  + = transmembraan verschillen in p+ concentratie leveren energie voor ATP synthese
    - Transmembraan ∆[H+] => ATP synthese
  + = er zijn e-donors, e-carriers en e- acceptors (ook de carriers)
  + Mechanisme van ox. Fosforylering heeft 4 componenten
    - 1) e- donors (gereduceerde substraten) doneren e-
    - 2) e- bewegen door keten van membraangebonden e- carriers => naar e-acceptor (O2)
    - 3) energie van e- beweging is opgeslagen in een elektrochemische potentiaal
      * Bij het doorgeven van e-donor naar e-carrier pompen de e- carriers H+ uit matrix naar intermembranaire ruimte
    - 4) ATP synthase gebruikt de elektrochemische potentiaal / H+ gradiënt om ATP te synthetiseren

1. De mitochondriale respiratieketen

1.1 Structuur

* Mitochondria structuur
  + Structuur mitochondria essentieel voor elektronentransport
  + Buitenste membraan
    - = Permeabel voor kleine moleculen & ionen
  + Binnenste membraan
    - = Impermeabel voor kleine moleculen en ionen waaronder H+
      * => H+ ondoorlaatbaar!!
      * Reden: anders geen mogelijkheid tot vorming conc gradient
    - Bevat: respiratieketen elektronen carriers (complexen I-IV), ATP synthase (F0,F1), ADP-ATP translocase
    - Bevat veel invaginaties => vergroten oppervlakte => vergoot de activiteit
  + Matrix
    - Bevat: pyruvaat dehydrogenase complex, citroenzuurcyclus enzymen, β vetzuur oxidatie enzymen, aminozuur oxidatie enzymen, DNA, ribosomen, ATP, ADP, Pi, Mg2+, CA2+, K+, etc.
  + Cristae = instulpingen die oppervlakte vergroten
* Mitochondrion komen veel voor in spierweefsel (zie ppt foto)

1.2 Elektronen worden naar universele elektronenacceptors gesluisd

* **Universele elektronenacceptors** 
  + Hiernaar worden elektronen gebracht => zorgen voor oxidatie e-acceptor
* Respiratieketen / oxidatieve fosforylering
  + e- worden overgedragen van eiwit naar eiwit
    - MAAR de eiwitstructuur zelf is zelden de e- overdrager / carrier
      * => de groepen van AZ zijn niet de e- carriers in eiwitcomplexen
      * => dus niet de AZ die e- transporteren
    - WEL de e- donors en e- acceptors zijn e- carriers / e- overdragers
* 1) NAD(P)H
  + = nicotinamide dinucleotide
  + = e- acceptor / e-carrier
  + Meeste dehydrogenasen specifiek voor NAD+ als e-acceptor
  + Reductie van NAD(P) + naar NADP(H)
    - Door transfer van 2e- en 2 H+ atomen
      * 1 hydride ion naar NAD+
      * 1 H+ ion vrijgesteld in medium
  + Kenmerken
    - Heeft een reversibele associatie met enzym (dehydrogenase)
    - is wateroplosbaar
    - NAD+ en NADP+ gescheiden in de cel
      * Niet echt fysisch gescheiden
      * Maar gescheiden naar concentratie en specificiteit vh enzyme
        + => functies zijn gescheiden
    - Verschillende absorptie in geoxideerde en gereduceerde vorm
      * => te detecteren
  + Zie eerder H
* 2) Flavoproteïnen
  + = e- acceptor / e- carrier
  + Bevatten een hechte, soms covalent gebonden flavine nucleotide (FMN of FAD)
  + Reductie FAD+ naar FADH of FADH2
    - Door transfer van 1 of 2 e- transfer
      * 1e-, 1H+ accepteren => semiquinon tussenvorm
      * 2e-, 2H+ accept. => volledig gereduceerde vorm FADH2
    - Flavoproteinen zijn intermediairen in reacties doordat ze kunnen deelnemen aan 1 of 2e- transfers
    - Transfer door hogere reduxpotentiaal dan geoxideerde component
      * Reductiepotentiaal = relatieve maat voor opnemen elektronen
  + Redoxpotentiaal varieert door eiwit (de associatie)
    - Flavineproteine heeft hogere redox potentiaal dan de component geoxideerd
      * Gevolg: hierdoor ku e- transfers plaatsvinden
    - Door interactie met zijgroepen verstoort elektronorbitalen flavine
      * => allemaal versch zijgroepen => verschillende potentiaal

1.3 Elektronen passeren via een reeks membraangebonden carriers

* **Respiratieketen**
  + = een sequentie van elektronendragers / keten van elektronendragers
    - = integrale proteïnen met prothetische groep die 1 of 2 elektronen kan accepteren of doneren
  + = reeks membraangebonden carriers waarlangs e- passeren
  + Drie types van e- overdracht in ox. Fosforylatie:
    - directe reducties (e.g. Fe3+ -> Fe2+)
    - transfer van een waterstofatoom (H+ + e-)
    - transfer van een ‘hydride ion’ (:H-, H+ + 2e-)
  + Reductie equivalent = als 1 enkel e- overgedragen w in oxidatie-reductie reactie
* Elektronen dragers / e- carriers
  + => allemaal rol in de respiratie
  + = NAD(P)H, flavoproteïnen, ubiquinon, cytochroom, Fe-S proteinen
* Ubiquinon
  + = e- carrier
  + = coenzyme Q = Q
  + = een lipideoplosbaar benzoquinon
    - ≈ plastoquinon in planten
    - ≈ menaquinon in bacteriën
  + Structuur
    - Benzoquinon = quinonachtige ring => hydrofiel
    - 10x C keten (zie ppt) => zeer hydrofobe molecule!
    - Conclusie: apolaire molecule met polaire kop ~ lipideachtig
  + Overdracht van 1 of 2 e-
    - Als 1 e-, 1H+ opname => reductie tot semiquinon radicaal
      * ~ flavoproteinen
      * Puntlading stabiel door resonantie
    - Als nog eens 1e-, 1H+ opname => reductie tot ubiquinol
  + Kenmerk: klein + hydrofoob lipofiele molecule
    - => kan vrij diffunderen tussen lipidendubbellaag vh binnenste mitochondriaal membraan
    - => kan dienen als e- shuttle tussen minder mobiele carriers
    - Conclusie: het is mobiel in het membraan
  + Het staat in voor **zowe**l transfer van e- **als** van H+ (**én**)
    - => speelt dus rol in koppeling van e- flow met H+ beweging
* Cytochromen
  + = e- carrier
  + = eiwitten met gebonden heem groep met Fe
  + Structuur:
    - Heem groep
      * = porfirine ring + Fe
      * = 4 heterocyclische N basen in porfirine ring met Fe
    - Structuur zorgt dat Fe in centrum gecoördineerd w
      * => hierdoor w Fe gestabiliseerd => kan oxideren/ reduc
      * => Fe in heme-groep van cytochroom = dus e- overdrager
    - Conclusie: Fe kan ox/red reacties katalyseren
  + Verschillende types cytochromen (a,b, c, ...)
    - Reden: er zijn verschillende types Heme groepen: Heme a, b, c..
      * Verschillen in zijgroepen
  + Redoxpotentiaal afhankelijk van associatie molecule met eiwit
  + Absorptiespectra
    - Slide 5: absorptiespectra gebruiken om oxidatietoestand NADH te meten bij 350nm => kan ook bij cytochromen
    - Gereduceerde & geoxideerde vorm cytochroom
    - Α, β, γ banden
    - => in α band: grootste verschil tussen gereduceerde & geoxideerde vorm
      * Bij 550 nm kunnen we de oxidatietoestand volgen
  + a, b en bepaalde c integrale proteïnen
    - oplosbaar cytochroom c geassocieerd door elektrostatische reacties aan membraan
* Fe-S proteïnen
  + = e- carrier
  + = proteinen met Fe en S
    - Fe in associatie met anorganische S of S afkomstig van Cys (of His)
    - S kan Fe coordineren
    - => associaties kunne complex worden vb roosterassociatie
  + Rieske Fe-S eiwit
    - = Fe-S eiwit waarbij Fe gecoordineerd wordt door His
  + Redoxpotentiaal afhankelijk van eiwitassociatie

1.4 Elektronen dragers functioneren in multi-enzym complexen

* Elektronen carriers in mitochondrion (en chloroplasten)
  + = georganiseerd in multi-enzym complexen
  + Foto: extract maken
    - Mitochondrion zuiveren => breken door osmose => zodanig breken dat de structuur van complexen behouden blijft => w opgelost zonder complex-eiwit associatie af te breken
    - => detergent behandeling => complexen scheiden => preparaten maken
  + Tabel: vb I
    - 43 versch subeenheden => in oplossing rsico dat eiwitten uit elkaar vallen
  + Examen: werking respiratieketen volledig of 1 complex gedetailleerd
* Opmerking
  + Kijk naar oriëntatie structuren!! In matrix uitstekend etc
    - Belangrijk zodat de netto H+ transport ≠ 0
* **Complex I = NADH:ubiquinon oxidoreductase:** NADH -> ubiquinon
  + **= NADH dehydrogenase:**
  + = eiwitgroep in mitochondriaal membraan (binnenmembraan)
  + Structuur
    - L-vormig eiwitcomplex met: 42 polypeptiden, FMN (flavine bevattend eiwit), 6 Fe-S eiwitten
    - 1 arm in membraan, andere uitstekend in matrix
  + katalyseert 2 gekoppelde reacties:
    - 1 - exergone transfer van :H- (NADH) + H+(matrix) naar Q -> QH2
    - 2 - exergone transfer van 4H+ van matrix naar intermembrananaire ruimte
      * => Complex I = protonenpomp gedreven door energie vd elektronentransfer
  + Proces
    - 1) gereduceerde NADH => w geoxideerd => 2e- doorgegeven via FMN en via FeS proteinen => naar ubiquinon => ubiquinon Q reduceert => ubiquinol QH2
      * Voor reductie ubiquinon Q => ubiquinol QH2 ook H+ nodig
      * => Er worden 2H+ gebonden aan Q uit matrix
    - 2) het e-transport is downhill van de neg redoxpot naar meer pos redoxpot
      * => dwz de EN die vrijkomt bij e- verplaatsing => gebruikt door complex 1 om H+ tansport van N side (matrix) naar P side (intermembranaire ruimte)
      * => bijdrage H+ gradient over binnenmembraan (4H+ pijlen)
* **Complex II = succinaat dehydrogenase**: succinaat -> ubiquinon
  + Structuur
    - 4 eiwitten (A,B,C,D), 5 prosthetische groepen, een bindingsplaats voor Q
    - Heem b groep, 3 Fe-S centers, FAD gebonden, bindingssite substraat (succinate), fosfatidylethanolamine
    - Uitstekend in matrix
  + E- van andere routes komen in de respiratieketen via Q
  + Proces
    - 1) Oxidatie succinaat => e- doorgegeven aan FAD => reductie tot FADH2
      * ~ citroenzuurcyclus
    - 2) e- doorgegeven aan Fe-S centra => uiteindelijk aan ubiquinon Q
      * Ubiquinon neemt ook H+ op voor reductie => 2e-,2H+ => ubiquinol QH2
  + Cytochroom Heme b
    - Cytochroom = heme groep associatie met eiwit
    - Cytochroom KAN e- opnemen maar doet dit NIET
      * Enkel als te weinig ubiquinon is => dan zullen e- naar Heme b van cytochroom b gaan => Heme reduceert => kan e- doorgeven aan O2 => O2 radicalen ontstaan
      * = soort redox buffer
  + Fosfatidylethanolamine
    - = zeer sterk geaossocieert met het eiwit
    - Functie: helpt in verankering vh complex in binnenmembraan
* **Complex III = cytochrome bc 1 complex**: ubiquinon -> cytochroom c
  + Structuur
    - Cytochroom b (Heme bL, bH), cytochroom c1 (Heme c1), Rieske Fe-S proteine
    - Cytochroom c = oplosbaar eiwit
  + Heme bL, bH
    - Low, High redoxpotentiaal => want redoxpot varieert met associatie
    - Gevolg: thermodynamische e- transport gunstig
  + Proces
    - Op CIII vindt de verwerking van QH2 plaats
    - 1) Transport van e- van QH2 naar Cyt c
      * QH2 bindt met CIII => oxidatie QH2 tot Q => e- doorgegeven aan cytochroom c
      * = de Q cyclus
  + **Q cyclus** 
    - = oplossing voor een probleem
    - = de koppeling van 2e- carrier (QH2) aan 1e- carrier (cytochroom)
    - Probleem
      * QH2 ontstond door reductie 2e- en 2H+
      * Maar cytochroom c => Fe neemt maar 1e- op => dus CIII moet oplossing vinden op feit dat er 2e- en 2H+ beschikbaar zijn en maar 1e- aan cyt c kan w doorgegeven
    - Oplossing: de Q cyclus
      * 1)QH2 bindt aan eiwit => geoxideerd => 2e- en 2H+ afstaan
        + Volledige oxidatie tot Q
      * 2) 2H+ vrijgegeven aan P side => H+ gradient bijdrage
      * 3) 1e- w doorgegeven aan Fe-S centra => Fe-S centra geeft e- door aan cyt c1 => cyt c1 geeft e- door aan cyt c
        + Reductie cytochroom c
        + E- w ovegedragen aan heme c in ander cytochroomm c dat wel oplosbaar is
      * 4) ander 1e- => reduceert heme bL in cytochroom b => Fe in heme bindt dat e- van QH2 => Fe reductie => e- doorgeven aan andere heme bH => e- doorgegeven naar Q
        + Als Q met 1e- gereduceerd w => ontstaat semiquinon vorm => semiquinon verplaatst naar Q binding site (=Qn)
      * 5) foto rechts fase 2: QH2 oxidatie tot Q=> 1e- naar cyt c
        + In totaal 2 cyt c gereduceerd
        + 2H+ vrijgegeven aan P side => H+ gradient bijdrage
      * 6) ander 1e- => gaat naar heme b => naar semiquinon => reductie door ook 2H+ opname en 1e- => QH2 vorming
  + Resultaat nettoreactie:
    - 2 ubiquinol QH2 w geoxideerd
      * => krijt terug 1 gereduceerde ubiquinol
      * => dus 1 netto geoxideerde ubiquinol => 2e- door oxidatie van 1 ubiquinol doorgegeven aan 2 cyt c
    - Transport H+: opname 2H+ uit matrix N side & afgifte 4H+ aan P side
  + Conclusie: wat doet CIII?
    - Bewerkt overgang van en 2e- donor/ acceptor naar een 1e- donor/ acceptor (carrier)
    - Er kan maar 1 e- tegelijk naar cyt c => dus 1e- geparkeerd in semiquinon & ander e- wordt doorgegeven
* **Complex IV = cytochroom oxidase:** cytochroom c -> O2
  + Structuur
    - 13 subeenheden
      * Met Cu-Fe complex
      * Cyt a, Cyt a3
      * Methionine & histidine geven coordinatie aan ionen voor e-tranport
  + Essentie
    - Oxidatie **4cyt c** (afkomstig van CIII) => **4e-** doorgegeven aan O2
    - e- van Cytc -> CuA -> Cyt a -> Cyt a3 -> CuB -> O2
  + Proces
    - 1) oxidative cyt c => **e-** doorgeven aan Cu in subeenheid II => e- doorgeven aan Fe-Cu complex
      * Fe-Cu complex met Heme a geassocieerd
    - 2) via heme a in Fe-Cu complex => e- doorgeven aan ander Cu atom in subeenheid I => e- doorgeven aan O2
    - 3) O2 reductie tot H2O
      * O2 = e-acceptor
        + indien ≠ O2 => ≠ respiratieketen => anaerobe respiratie
      * **4e- nodig van 4 individuele cyt c**
      * **2H+ gerecupereerd uit matrix => gebonden aan H2O**
        + Draagt bij aan H+ gradient want deze H+ is gebonden en niet vrij => daardoor verhoogt de concentratie van vrije H+ aan P side
    - 4) 2H+ gepompt naar P side bij ox.van cyt c => bijdrage H+ gradient
  + Vorming van actieve O2 moleculen (ROS radicalen)
    - Reden: O2 naar H2O heeft 4e- nodig => als dit proces intermediair onderbroken wordt => partieel gereduceerde O2 = radicaal ROS

1.5 De energie van elektronen transfer wordt efficiënt in een proton gradiënt geconserveerd

* Proton-motive force
  + = chemische potentiaal ([H+]) + elektrische potentiaal (ladingsscheiding)
  + = elektrochemische potentiaal over mitochondriaal binnenmembraan
  + => draagt bij aan de ATP synthese: ADP -> ATP in ATP synthase complex
* Efficiëntie
  + Verschillende ingangen: via NADH of succinaat (FADH2)
  + Als via NADH oxidatie e- in systeem komt => 4H+ extra getransporteerd
  + Als via FADH2 oxidatie e- in systeem komt => geen 4H+
    - In totaal minder H+ over membraan getransporteerd
    - Gevolg: oxidatie van succ naar fumarate / FADH2 is energetisch niet zo efficiënt als oxidatie van NADH
  + -> ~ 200 kJ/”mol” e
    - ΔG = RTln(C2/C1) + ZFΔψ
      * C1 en C2 concentraties aan beide zeiden membraan
      * Δψ = transmembraanverschil
      * Ln(C2/C1) = 2.3 ΔpH
    - ΔG = 2.3RTΔpH+ ZFΔψ = 200 kJ/mol e
      * ΔpH = 0.75
      * Δψ = 0.20
  + groot deel energie opgeslagen in concentratie en separatie lading protonenµ

1.6 Tijdens de oxidatieve fosforylering worden reactieve zuurstofmoleculen gevormd

* Reactieve zuurstofmoleculen (ROS)
  + Reductie van O2 door °Q- => °O2- (radicalen)
  + Vorming
    - 1) door partiële reductie O2 => ROS vorming
    - 2) of als ubiquinol onvoldoende geoxideerd w door cyt c => vorming °Q- => opstapelen in membraan => O2 radicalen gevormd
  + Proces
    - 1) °Q- ox => e- doorgeven aan O2 => reductie O2 tot °O2-
      * Hierbij ontstaat OH- radicaal & superoxide
    - 2) Superoxide => via superoxide dismutase enzym => H2O2
    - 3) Oxidatie glutathion via glutathion peroxidase
      * H2O2 gerecupereerd => H2O en O
      * Glutathion 2GSH => GSSG
    - 4) Glutathion reductase gebruikt NADPH (uit pentosecyclus vb) om GSSG te reduceren naar 2GSH (recuperatie)
* Regeneratie GSH door NADPH
  + GSH belangrijk in regulatie activiteit van eznymen
  + => enzym komt in geox of gereduc vorm voor op thiolgroepen
* Tegengaan schade ROS
  + Superoxide dismutase: reductie °O2- -> H2O2
  + Glutathion peroxidase: reductie van H2O2 -> H2O
  + Glutathion reductase: GSSG -> 2GSH

2. ATP synthese

* Chemiosmotische theorie (Peter Mitchell),
  + Legt het biochemisch mechanisme van ATP synthese uit
  + = ATP synthese ‘ **gekoppeld** ’ aan ‘passief’ terugvloeien van H+
  + = idee dat de proton motive force de ATP synthese drijft
    - 1) H+ willen naar matrix door conc gradient verschl
    - 2) ATP synthase gebruikt deze H+ stroom voor synthese van ATP

2.1 Het chemiosmotisch model zijn oxidatie en fosforylering obligaat gekoppeld

* **Chemiosmotisch model** 
  + => e-transportketen/ H+ gradient (oxidatie) en ATP synthase (fosforylering) zijn obligaat gekoppeld!!!!
    - Geen van beide kan zonder de andere doorgaan
    - Bewijs via experimenten zie grafieken
* Grafiek 1
  + X-as Time, y-as O2 consumed en ATP synthetisized
  + Weergave wat in mitochondriaal preparaat gebeurt als je verschillende zaken toevoegt
  + Verwachte uitkomsten
  + 1) Toevoeging ADP + Pi aan preparaat
    - Geen O2 verbruik en geen ATP synthese
    - Reden: **geen substraat** => geen e-transport gestimuleerd => geen O2 verbruik en geen H+ gradient dus geen ATP synthese
  + 2) Toevoegen Succinaat (= substraat)
    - O2 verbruik (naar H2O) & ATP synthese
    - Reden: **wel substraat:** succ geoxideerd => e- naar ubiquinol => reductie O2 naar H2O en vorming H gradient dus synthese ATP
  + 3) Toevoegen CN-
    - = e-transport remmer
    - Geen O2 verbruik EN geen ATP synthese
    - Reden: **CN- werkt in op C4** => remming e-transport => geen O2 reductie & geen H+ gradient dus geen ATP synthese
  + Samenvatting grafiek 1: koppeling
    - Geen ADP => geen ATP synthese
    - Geen succinate => geen bron voor e-transport => geen bron voor ATP synthese
    - Als ATP synthase niet werkt en wel S voor e-transportketen => dan werkt e-transportketen ook niet
* Grafiek 2
  + Onverwachte uitkomsten
  + 1) toevoegen succinaat **eerst**
    - Geen O2 verbruik en geen ATP synthese
      * = vreemd
      * E- naar Q -> QH2 -> H+ gradient vorming
    - Reden: **geen ADP + Pi (geen substraat** voor ATP synthese)
  + 2) Toevoegen ADP + Pi **tweedes** 
    - Toename O2 verbruik en ATP synthese
    - Reden: er is **substraat** voor ATP synthase & voor e-transport (succ)
      * Dus H+ gradient is er & kan ATP maken
  + 3) toevoegen venturicidin of oligomycin
    - = remmers/ inhibitors specifiek voor de ATP synthese
    - Geen O2 verbruik EN geen ATP synthese
      * Inhibitie van ATP synthase remt ATP synthese EN O2 verbruik
      * Door inhibitie van ATP synthase werkt ook de e-transportketen niet, ook al is er wel substraat voor de e-transportketen
      * = vreemd
    - Reden: eerst 4) bespreken
  + 4) Toevoegen DNP
    - Toename O2 verbruik, maar ATP synthese bijft geremd
    - Reden:
      * DNP kan geprotoneerd of ongeprotoneerd voorkomen
        + Geprotoneerd: meer membraan permeabel
        + Ongeprotoneerd: niet permeabel door lading
      * DNP toevoegen in intermembranaire ruimte => zure omgeving => dus DNP in geprotoneerde vorm voorkomen => permeabel => gaat door membraan naar matrix kant
        + Aan matrix kant: pH hoger en pka is zodanig dat DNP gedeprotoneerd & geladen w
        + => DNP geladen => impermeabel => ‘getrapped’
      * Bij transport DNP naar matrix zijn dus ook H+ getransporteerd naar matrix
        + DNP heft de proton gradient dus op
      * Conclusie: toevoegen DNP
        + Verhindert / heft de H+ gradient vorming op
        + => geen opbouw H+ gradient => **ontkoppeling** e-transportketen & ATP synthase
        + => kan dus wel reductie O2 optreden naar H2O, maar zonder H+ gradient geen ATP synthese
  + Samenvatting graf 2: koppeling
    - Door toevoegen van DNP bewijs voor 3) gefixt
    - DNP: e-transport & ATP synthase ontkoppelt => H+ gradient bouwt niet op => dan wel e-transport
    - Venturicidin/ oligomycin: als ATP synthase geremd => door remming opbouw van heel sterke H+ gradient => geen e-transportketen
      * Inihibitie e- transportketen door sterke H+ gradient

2.2 ATP synthase heeft twee functionele domeinen, F0 en F1

* **ATP synthase**
  + = complex V
  + = TM eiwit complex in mitochondriaal binnenmembraan
  + = een **F-type ATPase**
    - synthese ATP uit ADP en Pi gedreven door H+ transport van P naar N side
  + werking
    - H+ transport van P naar N side via ATP synthase => complex beweegt/draait bij dit H+ transport => vorming ATP uit ADP+Pi
      * EN van de gradient mechanisch gebruikt voor aandrijving ATP synthase
  + F1 deel
    - = essentieel voor ATP synthese / ATPase activiteit
    - = ATP synthase
      * Als loskoppeling vd rest dan is F0 een ATPase => afbraak
      * Enkel in associatie met derest is het een ATP synthase
    - Perifeer aan membraan
    - Protonporie nodig om ATP te hydrolyseren
      * Katalyseert hydrolyse ATP als los van F0 aanwezig -> F1 ATPase
  + F0 deel
    - “o” voor oligomycine gevoeligheid
      * => oligomycin = remmer voor ATP synthase => bindt op F0 deel
    - Integraal aan membraan
    - Heeft een H+ porie
      * Verwijderen F1
        + Dan heb je nog altijd het F0 deel & de e-transportketen
        + => kan wel O2 reduceren tot H2O
        + => kan geen protonengradient opbouwen

Reden: F0 heeft H+ porie die even snel H+ lekt dan dat er H+ gepompt wordt door e-transport

* + Reactie: ADP + Pi + nH+P -> ATP + H2O + nH+ N

2.3 De protongradiënt bewerkstelligt het vrijstellen van ATP vh enzymoppervlak

* Reactiemechanisme zie ppt
  + Hoe werkt het ATP synthase katalytisch?
  + Typical enzyme: E+ S -> ES -> P
  + ATP synthase
    - X3 EN barrières
    - 1) ∆G voor EADP complex
    - 2) ∆G voor EATP complex
    - 3) enorme ∆G / EN barrière
      * Reden: Hechte binding van ATP aan E
      * => wordt overwonnen door de H+ gradient
      * => H+ gebruikt voor vrijstellen ATP uit het EATP complex (dissociatie)

2.4 Subeenheden α, β, γ

* Elke α, β subunit in ATP synthase kan 3 conformaties aannemen:
  + 1) Lege conformatie (geen substraat)
  + 2) ADP gebonden conformatie
  + 2) ATP gebonden conformatie
* Reactiemechanisme
  + Rotatie van γ- subeenheid => verandert de conformaties
  + Gedreven door de H+ gradient
    - 3H+ van pos (intermembranaire ruimte) naar neg( matrix) kant doorheen F0 deel vh ATP synthase => H+ gradient veroorzaakt rotatie γ subeenheid => verandert conformaties
* Visualisatie van rotatieactiviteit
  + Voorstelling vd reactie
  + Als aan ATP synthase een reporter proteine (actine) w gehangen => fluorescentie => dan draaiing molecule zien

2.5 De proton-motive force levert energie voor actief transport

* Proton motive force / H+ gradient
  + Primaire rol: ATP synthese
  + Secundaire rol: Toevoer van ADP3- en Pi
    - => energie leveren voor actief transport
    - => transport van veel belangrijke moleculen voor oxidatieve fosforylatie
* Toevoer van ADP3- en Pi
  + 1) Adenine nucleotide translocase (antiporter) bindt ADP3- => transporteert ADP3\_ naar de matix met uitwisseling van ATP4- naar de intermembranaire ruimte
    - Actief transport ondersteund door **ladingsgradiënt** 
      * 4 neg. ladingen uit , 3 neg ladingen in matrix => dus gedreven door de ladingsgradient (neg kant in matrix) (????)
  + 2) Fosfaat translocase (symporter)
    - Brengt vrij fosfaat Pi (H2PO4-) samen met H+ in de matrix
    - Actief transport ondersteund door **H+ gradient**
* Conclusie: H+ gradient levert EN aan ATP synthase, maar ook een bijdrage van EN aan andere katalytische reacties