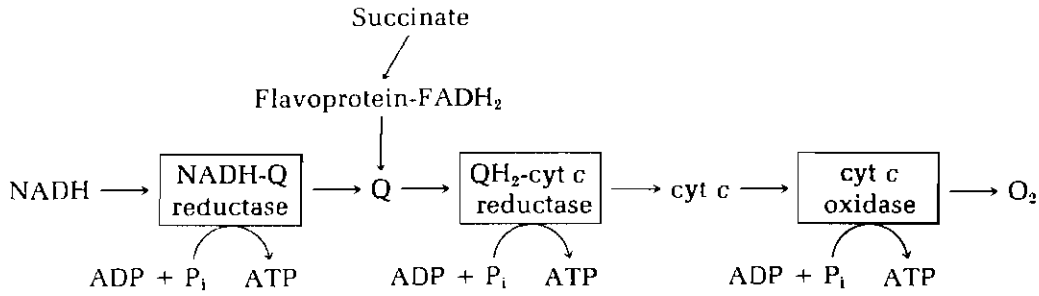
บทที่ 5
ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน

วัตถุประสงค์ เมื่อนักศึกษาเรียนจบบทนี้แล้ว ควรจะมีความสามารถในการ

1. เขียนคำจำกัดความคำว่าออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน พร้อมบอกแหล่งที่เกิดกระบวนการนี้
2. จำแนกประเภทเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจ และบอกด้วยว่าเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์แต่ละประเภทประกอบด้วยตัวพาอิเลคตรอนใดบ้าง
3. อธิบายศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐานและพลังงานอิสระ
4. บอกเหตุผลที่การส่งผ่านอิเลคตรอนเกิดควบคู่กับออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันเสมอ
5. อธิบาย coupling factor 1 หรือเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase
6. บอกแฟคเตอร์ที่มีผลควบคุมอัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน
7. เขียนกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล
8. แสดงการคิดพลังงานที่ได้จากการออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์

บทนำ

NADH และ $FADH_2$ ที่ได้จากวิถีไกลโคลัยซีส วัฏจักรเครับส์และกระบวนการเบต้าออกซิเดชันของกรดไขมันนั้น เป็นโมเลกุลที่มีพลังงานสูงเนื่องจากมีอิเลคตรอนคู่หนึ่งซึ่งพร้อมที่จะส่งผ่านไปให้โมเลกุลอื่น ถ้าอิเลคตรอนเหล่านั้นถูกส่งไปให้โมเลกุลออกซิเจน จะได้พลังงานออกมามากมายและเก็บรักษาไว้ที่พันธะฟอสโฟแอนฮัยดรายด์ของ ATP ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน (oxidative phosphorylation) เป็นกระบวนการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i โดยอาศัยพลังงานการส่งผ่านอิเลคตรอนจาก NADH หรือ $FADH_2$ ไปตามอนุกรมตัวพาอิเลคตรอนเพื่อไปยังโมเลกุลออกซิเจน เกิดขึ้นที่เยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย



รูปที่ 5-1 ลูกโซ่การส่งผ่านอิเลคตรอนและตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP

ลูกโซ่การส่งผ่านอิเลคตรอน (electron transport chain) อาจเรียกว่า ลูกโซ่การหายใจ (respiratory chain) เป็นการออกซิไดซ์ NADH หรือ $FADH_2$ เกิดขึ้นควบคู่กันเสมอกับการฟอสฟอริเลชันหรือการสร้าง ATP (รูปที่ 5-1) การออกซิไดซ์หนึ่งโมลของ NADH จะให้พลังงาน 3 ATP การออกซิไดซ์หนึ่งโมลของ $FADH_2$ จะให้พลังงานเพียง 2 ATP $FADH_2$ส่งผ่านอิเลคตรอนเข้าทางโคเอ็นไซม์ Q จึงผ่านตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP เพียงสองแห่งเท่านั้น NADHส่งผ่านอิเลคตรอนเข้าทาง NADH-Q reductase ซึ่งอยู่ดอนต้น จึงผ่านตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP ทั้งสามแห่ง กระบวนการนี้เป็นแหล่งให้ ATP ที่สำคัญมากสำหรับพวกที่ใช้ออกซิเจน (aerobes) ตัวอย่างเช่น การออกซิไดซ์กลูโคสไปเป็น CO_2 และ H_2O กระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันจะให้พลังงานถึง 90% ของพลังงานที่ได้ทั้งหมด 36-38 ATP

5.1 ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันเกิดขึ้นในไมโตคอนเดรีย

ไมโตคอนเดรียเป็นออร์กาเนลล์ (organell) รูปไข่ มีอยู่ในยูคาริโอทเซลล์ทุกเซลล์ที่

ใช้ออกซิเจน โครงสร้างประกอบด้วยเยื่อบุสองชั้น (รูปที่ 5-2) เยื่อบุชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งยอมให้ไอออนและโมเลกุลเล็ก ๆ ผ่าน และเยื่อบุชั้นใน (inner membrande) ที่สารต่าง ๆ ผ่านไปได้ยาก เยื่อบุชั้นในจะคตงอและโค้งไปมาเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวเรียกว่าคริสตี (cristae) มีช่องว่างระหว่างเยื่อบุทั้งสองชั้น (intermembrane space) เยื่อบุชั้นในจะห่อหุ้มส่วนที่เรียกว่ามาทริกซ์ (matrix) เอาไว้

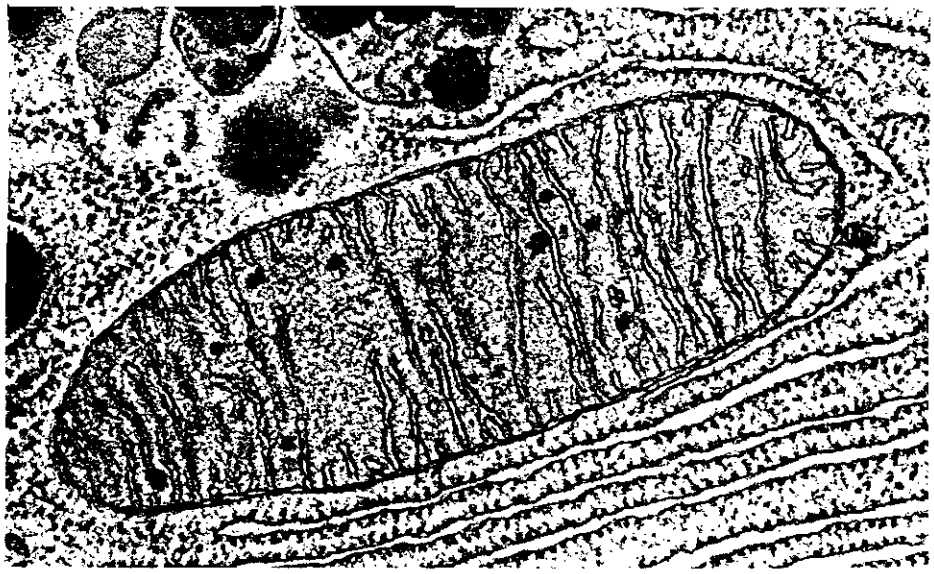
โปรตีนในลูกโซ่การหายใจและโปรตีนที่ใช้ในการฟอสฟอริเลชันต่างก็ยึดติดอยู่กับเยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย การหายใจจึงเป็นแอคติวิตีของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับเยื่อบุชั้นใน อัตราเร็วการหายใจจะขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวหรือจำนวนคริสตีด้วย ตัวอย่างเช่น เซลล์กล้ามเนื้อหัวใจซึ่งมีอัตราเร็วการหายใจสูงจะมีจำนวนคริสตีมากและอัดกันแน่น ส่วนเซลล์ตับมีอัตราเร็วการหายใจต่ำกว่ามากจะมีจำนวนคริสตีน้อย ภายในมาทริกซ์มีเอ็นไซม์ที่สำคัญคือเอ็นไซม์ในวัฏจักรเคร็บส์ (ยกเว้นเอ็นไซม์ succinate dehydrogenase ซึ่งยึดติดอยู่กับเยื่อบุชั้นใน) และเอ็นไซม์ในกระบวนการเบต้าออกซิเดชันของกรดไขมัน ตรงช่องว่างระหว่างเยื่อบุทั้งสองมีเอ็นไซม์อยู่น้อยมากเป็นบริเวณที่ไม่ค่อยมีแอคติวิตีเท่าใดนัก

5.2 ตัวพาอิเลคตรอนและเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจ

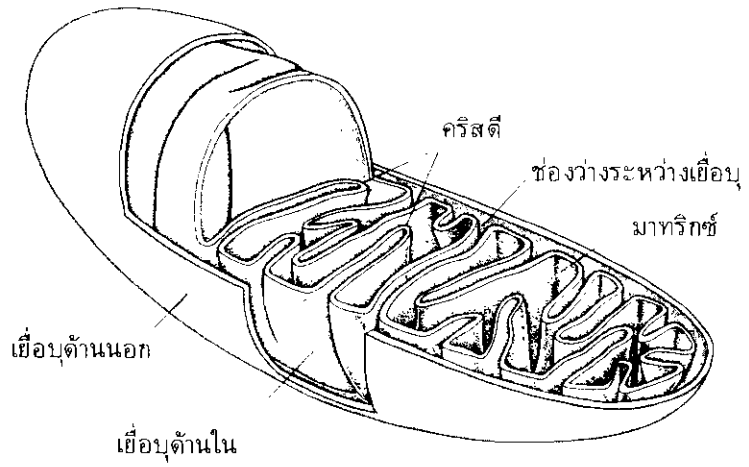
ตัวพาอิเลคตรอนที่สำคัญได้แก่ NAD^+, ฟลาวินโคเอ็นไซม์ทั้งหลาย, โคเอ็นไซม์ Q, FeS โปรตีน (iron-sulphur protein หรือ nonheme iron protein), ไซโตโครม (cytochromes), และ Cu(II) สำหรับตัวพาอิเลคตรอนสามตัวหลังสามารถรับได้ทีละหนึ่งอิเลคตรอน ในขณะที่ตัวพาอิเลคตรอนตัวอื่น ๆ รับได้ทีละสองอิเลคตรอนในการออกซิไดซ์แต่ละครั้ง ตัวพาอิเลคตรอนต่าง ๆ เหล่านี้จะเป็นส่วนหนึ่งของเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจ

เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจแบ่งออกเป็น 4 ชนิด (รูปที่ 5-3) คือ NADH-Q reductase (คอมเพล็กซ์ I), succinate-Q reductase (คอมเพล็กซ์ II), QH_2-cytochrome C reductase (คอมเพล็กซ์ III) และ cytochrome C oxidase (คอมเพล็กซ์ IV)

ก)



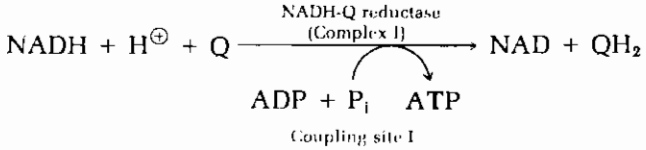
ข)



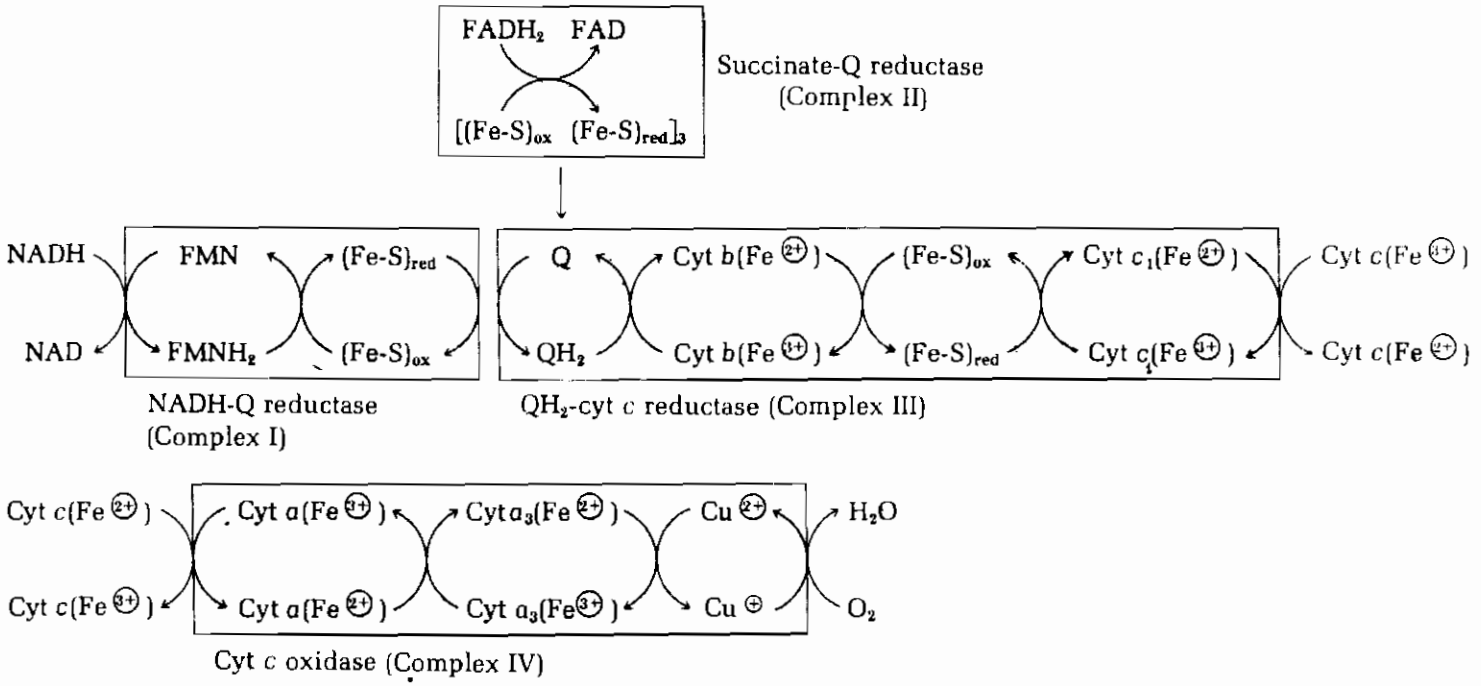
รูปที่ 5-2 ก) ภาพอิเลคตรอนไมโครกราฟของไมโตคอนเดรียจากอะซินาเซลล์(acinar cell) ของตับอ่อน
ข) แผนภาพของไมโตคอนเดรีย

1. NADH-Q reductase (**คอมเพล็กซ์1**) **ตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP แห่งที่หนึ่ง**

NADH-Q reductase จะทำการโยกย้ายอิเลคตรอนจาก NADH ไปให้โคเอ็นไซม์ Q พร้อมกับมีการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i

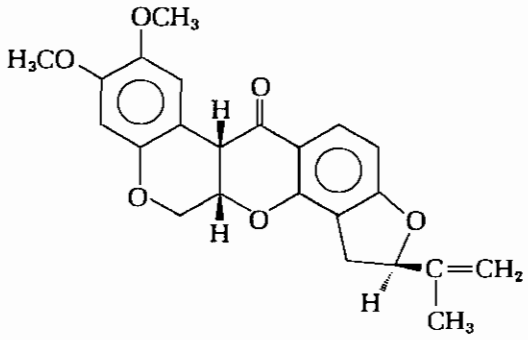


NADH-Q reductase ประกอบด้วย FMN (flavine mononucleotide) FeS โปรตีน โคเอ็นไซม์ Q และลิปิด ขั้นตอนแรก NADH ไปรีดิวซ์ FMN เป็น $FMNH_2$ จากนั้น $FMNH_2$ จึงไปรีดิวซ์ FeS โปรตีนอีกต่อหนึ่ง

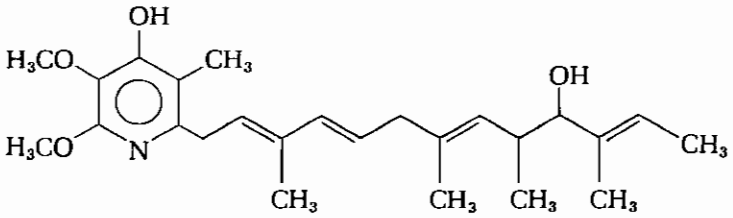


รูปที่ 5-3 เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจ

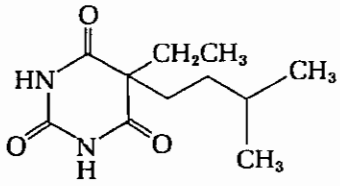
คอมเพล็กซ์ I ถูกยับยั้งโดยสารโรติโนน (rotenone) อะมัยทาล (amytal) และเพียริซิดิน A (piericidin A) ทำให้การส่งผ่านอิเลคตรอนจาก NADH ไปยังโคเอ็นไซม์ Q เกิดขึ้นไม่ได้



Rotenone



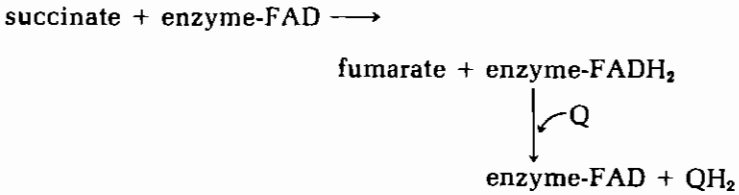
Piericidin A



Amytal

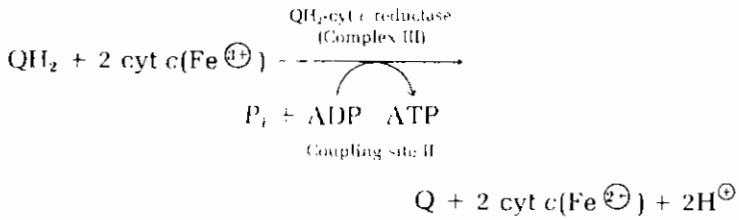
2. Succinate-Q reductase (คอมเพล็กซ์II)

คอมเพล็กซ์ II ทำการโยกย้ายอิเลคตรอนจากซัคซิเนทไปยัง FAD (flavine adenine dinucleotide) และจาก FAD ไปยังโคเอ็นไซม์ Q การส่งผ่านอิเลคตรอนขั้นตอนนี้ให้พลังงานออกมาไม่พอเพียงที่จะสร้าง ATP



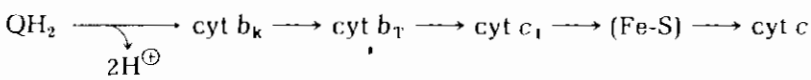
คอมเพล็กซ์ II ประกอบด้วยเอ็นไซม์ succinate dehydrogenase ไซโตโครม b และ FeS โปรตีน

3. QH_2-Cytochrome c reductase (คอมเพล็กซ์ III) ตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP แห่งที่สอง

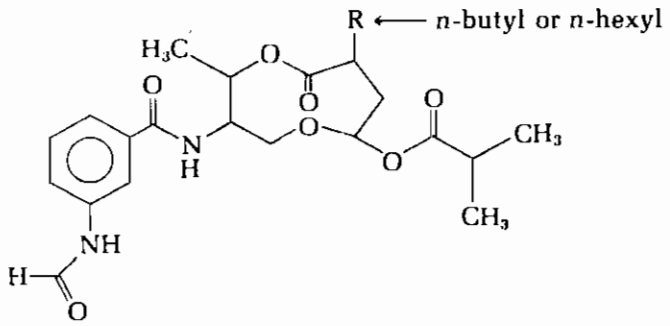


คอมเพล็กซ์ III จะเร่งปฏิกิริยาการโยกย้ายอิเลคตรอนจากโคเอ็นไซม์ Q ไปยังไซโตโครม c ให้พลังงานออกมามากพอที่จะสร้าง ATP จาก ADP และ P_i

QH_2-Cytochrome c reductase เป็นเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ที่ประกอบด้วยไซโตโครม b ไซโตโครม c_1 FeS โปรตีน โคเอ็นไซม์ Q และลิปิด สำหรับไซโตโครม c มิได้จัดอยู่ในคอมเพล็กซ์ III เพียงแต่รับอิเลคตรอนแล้วส่งต่อไปให้คอมเพล็กซ์ IV การส่งผ่านอิเลคตรอนของคอมเพล็กซ์ III เป็นไปตามขั้นตอนข้างล่าง cyt b_k คือ cyt b_{560} cyt b_T คือ cyt b_{562}



แอนติ้มัยซิน A (Antimycin A) ยาปฏิชีวนะจากเชื้อ *Streptomyces* สามารถยับยั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนจากโคเอ็นไซม์ Q ไปยังไซโตโครม c



Antimycin A

4. Cytochrome c oxidase (คอมเพล็กซ์ IV) ตำแหน่งที่มีการสร้าง ATP แห่งที่สาม

Cytochrome c oxidase คอมเพล็กซ์สุดท้ายในลูกโซ่การหายใจเร่งปฏิกิริยาการรีดิวซ์โมเลกุลออกซิเจนเป็นน้ำ เกิดควบคู่กันไปกับการสร้าง ATP

$$O_2 + 4H^{\oplus} + 4\,e \xrightarrow[\text{(Complex IV)}]{\text{Cyt c oxidase}} 2H_2O$$

$$ADP + P_i \quad ATP$$

Coupling site III

Cytochrome c oxidase เป็นโปรตีนที่สำคัญของเยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย ประกอบด้วยไซโตโครม a ไซโตโครม a_3 และ cu(II) การส่งผ่านอิเลคตรอนของคอมเพล็กซ์ IV เป็นไปตามขั้นตอนเช่นกัน

$$\text{cyt } c\ (Fe^{2+}) \longrightarrow \text{cyt } a \longrightarrow \text{cyt } a_3 \longrightarrow Cu^{2+} \longrightarrow O_2$$

คอมเพล็กซ์ IV ถูกยับยั้งได้โดยสารไซยาไนด์ (cyanide) เอซายด์ (azide) และคาร์บอนมอนนอกไซด์ (carbon monoxide)

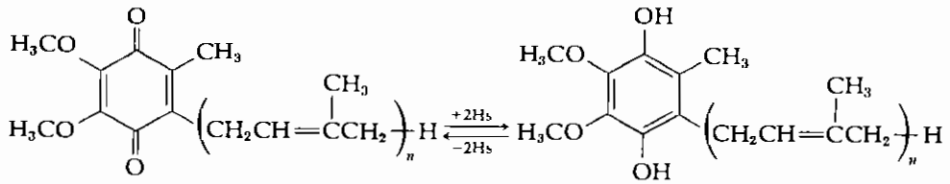
การส่งผ่านอิเลคตรอนจาก NADH ไปตามลูกโซ่การหายใจ จะต้องผ่านคอมเพล็กซ์ I คอมเพล็กซ์ III และคอมเพล็กซ์ IV ตามลำดับ ได้พลังงาน 3 ATP ต่อออกซิเจนอะตอมที่ถูกรีดิวซ์ หรืออัตราส่วน P/O มีค่าเท่ากับ 3 นั่นเอง ถ้าการส่งผ่านอิเลคตรอนเริ่มจาก $FADH_2$

จะต้องผ่านคอมเพล็กซ์ II คอมเพล็กซ์ III และคอมเพล็กซ์ IV ได้พลังงานแค่ 2 ATP ต่อออกซิเจนอะตอมที่ถูกรีดิวซ์ หรืออัตราส่วน P/O มีค่าเท่ากับ 2 ทั้งนี้เพราะขั้นตอนของคอมเพล็กซ์ II ไม่สามารถสร้าง ATP ได้

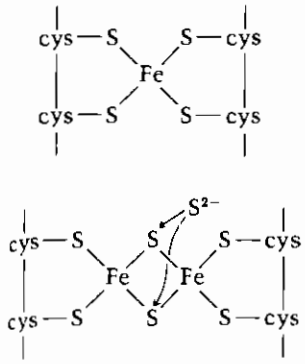
ตารางที่ 5-1 ส่วนประกอบของเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ทั้งสี่ในลูกโซ่การหายใจ พร้อมตำแหน่งการรวมตัวกับซับสเตรทที่เยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย

เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์	นน.โมเลกุล (กิโลดาลตัน)	หมู่พรอสเธติค	ตำแหน่งการรวมตัว ด้านมาทริกซ์	ตรงกลาง	ด้านไซโตปลาสซึม
NADH-Q reductase (คอมเพล็กซ์ I)	850	FMN FeS	NADH	Q	
Succinate-Q reductase (คอมเพล็กซ์ II)	97	FAD FeS	succinate	Q	
QH_2-Cytochrome c reductase (คอมเพล็กซ์ III)	280	heme b heme c_1 FeS		Q	cyt c
Cytochrome c oxidase (คอมเพล็กซ์ IV)	200	heme a heme a_3 Cu	O_2		cyt c

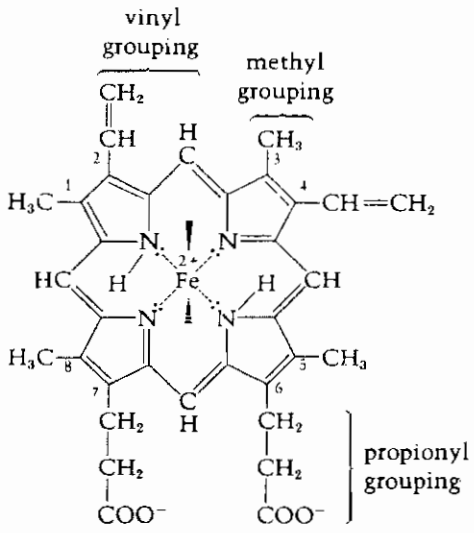
โคเอ็นไซม์ Q เป็นตัวพาอิเลคตรอนที่มีโซ่ข้างเป็นไอโซปรีน (isoprene) เดิมเรียกกันว่า ubiquinone เพราะเป็นควิโนน (quinone) ที่พบได้ทั่วไป (ubiquitous) ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โคเอ็นไซม์ Q มีจำนวนไอโซปรีนต่างกันออกไป โคเอ็นไซม์ Q ของจุลินทรีย์บางชนิดมีจำนวนไอโซปรีน 6 หน่วย เขียนแบบย่อได้เป็น CoQ_6 โคเอ็นไซม์ Q ในไมโตคอนเดรียของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีจำนวนไอโซปรีน 10 หน่วย เขียนย่อเป็น CoQ_{10} ดังนั้นจึงเขียนรวมเป็น CoQ_n เมื่อ n เป็นจำนวนของหน่วยไอโซปรีน



FeS โปรตีน เป็นตัวพาอิเลคตรอนที่เป็นโปรตีน มีเหล็กและกำมะถันในอัตราส่วน 1:1 กำมะถันจะกลายเป็นก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ได้ ถ้าปรับสภาพสารละลายโปรตีนให้เป็นกรด (pH 1) เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า nonheme iron protein FeS โปรตีนตัวแรกที่ค้นพบคือ เฟอริดอกซิน (ferredoxin) FeS โปรตีนมีอยู่ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์เช่นกัน อะตอมของเหล็กจะมีการเปลี่ยนไปมาระหว่าง Fe(II)-Fe(III) FeS โปรตีนมีความสำคัญมากในกระบวนการส่งผ่านอิเลคตรอน ถึงแม้ว่ายังไม่ทราบหน้าที่ ตำแหน่งที่อยู่ รายละเอียดปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชันที่แน่นอนก็ตาม โครงสร้างข้างล่างเป็นการจัดตัวสองแบบในหลาย ๆ แบบของ FeS โปรตีน



ไซโตโครม (cytochrome) เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติในการพาอิเลคตรอน พบได้ที่เยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรียของเซลล์ที่ใช้ออกซิเจนทุกชนิด อาจพบที่เอ็นโดพลาสมิคเรติคูลัม (endoplasmic reticulum) ด้วย ไซโตโครมทุกตัวเป็นฮีโมโปรตีน มีฮีมเป็นหมู่พรอสเธติค ไซโตโครมมีวิวัฒนาการสัมพันธ์กับไมโอกลอบินและโมโนเมอร์ของฮีโมกลอบิน จะต่างกันก็ตรงที่ไซโตโครมมิได้ทำหน้าที่พาออกซิเจนเหมือนไมโอกลอบินและฮีโมกลอบิน อะตอมของเหล็กในหมู่ฮีมของไซโตโครมจะทำหน้าที่รับส่งอิเลคตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชัน-รีดักชัน กลับไปมา



รูปที่ 5-4 ฮีมของไซโตโครมb เป็นชนิดเดียวกันกับฮีมของไมโอกลอบิน ฮีโมกลอบิน และเอ็นไซม์ catalase

ตารางที่ 5-2 การเปรียบเทียบโซ่ข้างของฮีมในไซโตโครมa ไซโตโครมc กับฮีมในไซโตโครมb (รูปที่ 5-4)

ตำแหน่ง	ไซโตโครมa	ไซโตโครมc
1	เหมือนกัน	เหมือนกัน
2	$-\underset{\text{OH}}{\underset{\vert}{\text{CH}}}\text{CH}_2\underset{\text{CH}_3}{\underset{\vert}{\text{CH}}}(\text{CH}_2)_3\underset{\text{CH}_3}{\underset{\vert}{\text{CH}}}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	$-\underset{\text{S}-\text{โปรตีน}}{\underset{\vert}{\text{CH}}}\text{CH}_3$
3	เหมือนกัน	เหมือนกัน
4	เหมือนกัน	$-\underset{\text{S}-\text{โปรตีน}}{\underset{\vert}{\text{CH}}}\text{CH}_3$
5	H (ไฮโดรเจน)	เหมือนกัน
6	เหมือนกัน	เหมือนกัน
7	เหมือนกัน	เหมือนกัน
8	$-\underset{\text{H}}{\underset{\vert}{\text{C}}}=\text{O}$ (หมู่ฟอร์มิล)	เหมือนกัน

ระหว่าง Fe(II) และ Fe(III) ไซโตโครมในธรรมชาติมีประมาณ 25-30 ชนิด แต่ละชนิดมีโครงสร้างและคุณสมบัติในการดูดกลืนแสงต่างกัน จำแนกเป็นไซโตโครมหมู่ a หรือหมู่ b หรือหมู่ c ไซโตโครม a ไซโตโครม b ไซโตโครม c เหล่านี้มีโซ่ข้างของวงเดทตระไพรอล (tetrapyrrole) ในส่วนของฮีมต่างกัน (รูปที่ 5-4 และตาราง 5.2) ไซโตโครมแต่ละหมู่เองก็ยังแบ่งย่อยออกไปอีก เนื่องจากดูดกลืนแสงได้ต่างกัน เช่น ไซโตโครม b, b_1, b_2, b_3 ฯลฯ เป็นต้น โครงสร้างไซโตโครมมีการแปรเปลี่ยนได้ที่สายโซ่ข้างของวงเดทตระไพรอลของหมู่ฮีม การแปรเปลี่ยนที่ส่วนประกอบของสายโพลีเปปไทด์ การแปรเปลี่ยนทีวิธีการจับกันระหว่างโพลีเปปไทด์กับหมู่ฮีม การแปรเปลี่ยนเหล่านี้ทำให้มีไซโตโครมหลายชนิด

โมเลกุลไซโตโครมที่ถูกรีดิวซ์แล้วจะให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเป็นสามแถบ แถบ α แถบ β และแถบ γ ไซโตโครมรูปแบบออกซิไดซ์จะไม่ให้ค่าการดูดกลืนแสงแถบต่าง ๆ เหล่านี้ ไซโตโครมแต่ละตัวให้ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (standard reduction potential) แตกต่างกันออกไป

ในลูกโซ่การหายใจจะพบไซโตโครมห้าตัวคือ ไซโตโครม b, c_1, c, a และ a_3 ไซโตโครม a และ a_3 รวมตัวกันอยู่ แยกออกจากกันได้ยาก ไซโตโครม a_3 มี Cu(II) ซึ่งจำเป็นมากต่อแอคติวิตีไซโตโครม aa_3 และ Cu รวมเรียกว่า cytochrome c oxidase เป็นคอมเพล็กซ์ IV ซึ่งเป็นคอมเพล็กซ์สุดท้ายในลูกโซ่การหายใจ เป็นไซโตโครมที่จะไปรีดิวซ์โมเลกุลออกซิเจนโดยตรง การส่งผ่านอิเลคตรอนแต่ละครั้งเกี่ยวข้องทั้ง Fe(II) $\rightleftharpoons$ Fe(III) และ Cu(I) $\rightleftharpoons$ Cu(II)

5.3 ศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐานและพลังงานอิสระที่เกิดขึ้น

ในทางเคมีไฟฟ้า (electrochemistry) สารใดก็ตามที่ให้ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์ (redox potential) เป็นค่าลบ หมายถึงว่าสารนั้นมีสัมพรรคภาพต่ำ (lower affinity) ต่ออิเลคตรอน สารใดให้ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์เป็นค่าบวก สารนั้นมีสัมพรรคภาพสูง (higher affinity) ต่ออิเลคตรอน ทั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับตัวมาตรฐานคือไฮโดรเจน ในลูกโซ่การหายใจ NADH เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดี ให้ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์เป็นลบ ขณะเดียวกันโมเลกุลออกซิเจนเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี ให้ค่าศักย์-ไฟฟ้ารีดอกซ์เป็นบวก

ตารางที่ 5-3 ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (standard reduction potential, E'_0) ของบางปฏิกิริยา ที่ pH 7.0, 25°C เมื่อ n เป็นจำนวนอิเลคตรอนที่เคลื่อนย้าย

Oxidant	Reductant	n	E'_0(V)
α-Ketoglutarate	Succinate + CO_2	2	−0.67
Acetate	Acetaldehyde	2	−0.60
Ferredoxin (oxidized)	Ferredoxin (reduced)	1	−0.43
$2\ H^+$	H_2	2	−0.42
NAD^+	$NADH + H^+$	2	−0.32
$NADP^+$	$NADPH + H^+$	2	−0.32
Lipoate (oxidized)	Lipoate (reduced)	2	−0.29
Glutathione (oxidized)	Glutathione (reduced)	2	−0.23
Acetaldehyde	Ethanol	2	−0.20
Pyruvate	Lactate	2	−0.19
Fumarate	Succinate	2	0.03
Cytochrome b (+3)	Cytochrome b (+2)	1	0.07
Dehydroascorbate	Ascorbate	2	0.08
Ubiquinone (oxidized)	Ubiquinone (reduced)	2	0.10
Cytochrome c (+3)	Cytochrome c (+2)	1	0.22
Fe (+3)	Fe (+2)	1	0.77
$\frac{1}{2}O_2 + 2\ H^+$	H_2O	2	0.82

ปฏิกิริยาต่าง ๆ และค่า E'_0 ในตาราง 5.3 สามารถไปคำนวณหาค่าพลังงานอิสระที่เปลี่ยนไปได้ ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาการรีดิวซ์ไพรูเวทด้วย NADH

(ก) $\text{Pyruvate} + \text{NADH} + H^+ \rightleftharpoons \text{lactate} + NAD^+$

ศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์ของ NAD^+ : NADH เท่ากับ −0.32 โวลท์ ค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์ของไพรูเวท: แลคเตทเท่ากับ −0.19 โวลท์ จะเขียนแยกเป็นแต่ละครึ่งบปฏิกิริยาตามแบบ: ตัว

ออกซิไดซ์+ อิเลคตรอน ⟶ ตัวรีดิวซ์ ได้ดังนี้คือ

(ข) $\text{Pyruvate} + 2\ H^+ + 2\ e^- \longrightarrow \text{lactate}$ $\quad E_o' = -0.19\ V$

(ค) $NAD^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH$ $\quad E_o' = -0.32\ V$

สมการ (ข)– (ค) ได้ปฏิกิริยา (ก) ตามต้องการ ให้ค่า $\Delta E_o'$ เท่ากับ +0.13 โวลท์ นำไปคำนวณหาค่าพลังงานอิสระของการเกิดที่สภาวะมาตรฐาน (standard free energy change) ได้จากสูตร

$$\Delta G^{o\prime} = -nF\Delta E_o'$$

เมื่อ n เป็นจำนวนอิเลคตรอนที่เคลื่อนย้าย F เป็นค่า faraday เท่ากับ 23.062 กิโลแคลอรีต่อโวลท์ต่อโมล $\Delta E_o'$ หน่วยเป็นโวลท์ ในการรีดิวซ์ไพรูเวท ค่า n = 2

$$\Delta G^{o\prime} = -2(23.062\ \frac{\text{กิโลแคลอรี}}{\text{โวลท์ โมล}})(0.13\ \text{โวลท์})$$

$$= -5.99\ \text{กิโลแคลอรี/โมล}$$

$$= -6\ \text{กิโลแคลอรี/โมล}$$

ปฏิกิริยาใดให้ค่า $\Delta E_o'$ เป็นบวกจะเป็นปฏิกิริยาที่คายพลังงาน (exergonic reaction) ที่สภาวะมาตรฐาน

อีกตัวอย่างหนึ่งคือการคิดพลังงานที่ได้จากลูกโซ่การหายใจ พลังงานนี้ช่วยผลักดันให้เกิดกระบวนการออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันขึ้น เป็นพลังงานที่ได้จาก NADH หรือ $FADH_2$ ไปรีดิวซ์โมเลกุลออกซิเจนเป็นน้ำ จากสมการครึ่งปฏิกิริยาทั้งสองเขียนได้ว่า

(ก) $\frac{1}{2}O_2 + 2\ H^+ + 2\ e^- \rightleftharpoons H_2O$ $\quad E_o' = +0.82\ V$

(ข) $NAD^+ + H^+ + 2\ e^- \rightleftharpoons NADH$ $\quad E_o' = -0.32\ V$

สมการ (ก)– (ข) จะได้ปฏิกิริยา (ค) ให้ค่า $\Delta E_o' = +1.14$ โวลท์

(ค) $\frac{1}{2}O_2 + NADH + H^+ \rightleftharpoons H_2O + NAD^+$

พลังงานอิสระที่ได้จากปฏิกิริยานี้คือ

$$\Delta G^{o\prime} = -nF\Delta E_o'$$

$$= -2(23.062\ \frac{\text{กิโลแคลอรี}}{\text{โวลท์ โมล}})(1.14\ \text{โวลท์})$$

$$= -52.6\ \text{กิโลแคลอรี/โมล}$$

$$= -53\ \text{กิโลแคลอรี/โมล}$$

5.4 ออกซิเดชันและฟอสฟอริเลชันเกิดควบคู่กันได้อย่างไร

พลังงานที่ได้จากการส่งผ่านอิเลคตรอนจาก NADH ไปยังโมเลกุลออกซิเจนมีค่าเท่ากับ −53 กิโลแคลอรี/โมล

$$NADH + \frac{1}{2}O_2 + H^+ \rightleftharpoons H_2O + NAD^+$$

พลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์ ATP เท่ากับ 7.3 กิโลแคลอรี/โมล โดยเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase ที่เยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรีย ที่เรียกชื่อเอ็นไซม์เช่นนี้เพราะตอนแรกที่มีการค้นพบ เอ็นไซม์นี้ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ ATP

$$ADP + P_i + H^+ \rightleftharpoons ATP + H_2O$$

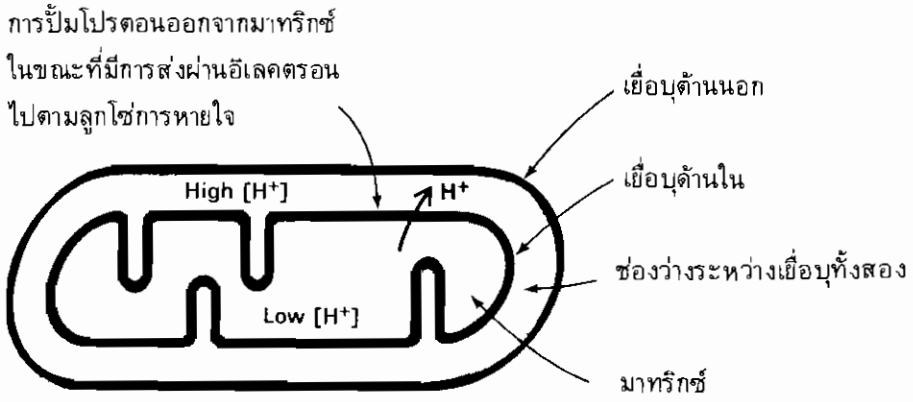
การออกซิไดซ์ NADH เกิดควบคู่กับการฟอสฟอริเลชันของ $ADP + P_i$ ไปเป็น ATP ได้อย่างไรนั้น มีการอธิบายโดยใช้สมมุติฐานต่าง ๆ คือ

1. **สมมุติฐาน** chemical-coupling กล่าวว่าในการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนจากตัวพาอิเลคตรอนหนึ่งไปยังตัวพาอิเลคตรอนถัดไปนั้น จะให้อินเตอร์มิเดียทที่มีพลังงานสูง (พลังงานอิสระการไฮโดรไลซ์เป็นค่าลบมาก ๆ) อินเตอร์มิเดียทนี้จะเป็นตัวให้พลังงานแก่ปฏิกิริยา $ADP + P_i \rightleftharpoons ATP$ จากการวิจัยกว่ายี่สิบปีที่ผ่านมายังไม่ปรากฏว่ามีการค้นพบอินเตอร์มิเดียทพลังงานสูงนี้แต่อย่างใด

2. **สมมุติฐาน** conformation-coupling กล่าวว่าในการส่งผ่านอิเลคตรอนไปตามลูกโซ่การหายใจจะให้พลังงานออกมา พลังงานนี้ไปมีผลต่อพันธะอย่างอ่อน เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงไฮโดรโฟบิค ฯลฯ ยังผลให้คอนฟอร์เมชันของโปรตีนที่เป็นตัวพาอิเลคตรอน หรือของเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase เปลี่ยนแปลงไป พลังงานที่แฝงอยู่ในโมเลกุลเหล่านี้จะถูกใช้ในการสร้าง ATP จาก $ADP + P_i$ พร้อม ๆ กับที่มีการใช้พลังงาน คอนฟอร์เมชันของโปรตีนต่าง ๆ จะกลับสู่สภาพที่มีพลังงานต่ำอย่างเดิม สมมุติฐานนี้เน้นไปที่พันธะนอน-โควาเลนท์ซึ่งเป็นพันธะอย่างอ่อนจำนวนมาก เป็นตัวส่งผ่านพลังงานให้แก่การสังเคราะห์ ATP ในขณะที่สมมุติฐาน chemical-coupling เน้นไปที่พันธะโควาเลนท์พันธะเดียวในอินเตอร์มิเดียทพลังงานสูง เป็นตัวถ่ายทอดพลังงานให้แก่การสังเคราะห์ ATP

3. **สมมุติฐาน** chemiosmotic-coupling P.Mitchell ตั้งสมมุติฐานนี้ขึ้นมาในปี ค.ศ. 1961 โดยไม่เกี่ยวข้องกับอินเตอร์มิเดียทพลังงานสูงหรือการกระตุ้นโปรตีนแต่อย่างใด มีหลักฐานสนับสนุนสมมุติฐานนี้หลายประการด้วยกัน

สมมุติฐาน chemiosmotic-coupling กล่าวว่าการส่งผ่านอิเลคตรอนและการสังเคราะห์ ATP เกิดขึ้นในขณะที่มีโปรตอนเกรเดียนต์ (proton gradient) หรือความแตกต่างของปริมาณโปรตอนระหว่างสองข้างของเยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรีย (รูปที่ 5.5) เนื่องจากในขณะที่มีการส่งผ่านอิเลคตรอนไปตามลูกโซ่การหายใจ จะมีการปั๊มเอาโปรตอนออกจากมาทริกซ์ (M-side) ไปยังด้านไซโตซอล (C-side) ของเยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรีย ทำให้ความเข้มข้นของโปรตอนทางด้านไซโตซอลของเยื่อบุค่อนข้างสูง ศักย์ไฟฟ้ามีค่าเป็นบวก เมื่อโปรตอนเคลื่อนกลับมายังด้านมาทริกซ์โดยผ่าน Proton channel (หรือ F_o channel) ทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ขึ้น มีผู้เสนอความเห็นว่าการเคลื่อนกลับของโปรตอนทาง proton channel นั้นผ่าน ATPase อาจจะเปลี่ยนแปลงคอนฟอร์เมชันของ ATPase ไปในทางที่กระตุ้นให้มีการสังเคราะห์ ATP หรืออาจจะเกิดปฏิกิริยาโดยตรงระหว่าง ADP, P_i และ H^+ ก็เป็นได้ ยังไม่ทราบแน่ชัดแต่มีหลักฐานยืนยันและสนับสนุนว่าโปรตอนเกรเดียนต์ทำให้เกิดการสังเคราะห์ ATP ได้แน่นอน และถ้าสลับเกรเดียนต์ให้ด้านไซโตซอลของเยื่อบุด้านในเป็นด่างกว่าด้านมาทริกซ์บ้าง จะเกิดการไฮโดรไลซ์ ATP แทนที่จะเป็นการสังเคราะห์ ATP



รูปที่ 5-5 โปรตอนเกรเดียนต์ที่เกิดขึ้นระหว่างสองข้างของเยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรีย ในขณะที่มีการส่งผ่านอิเลคตรอนไปตามลูกโซ่การหายใจ

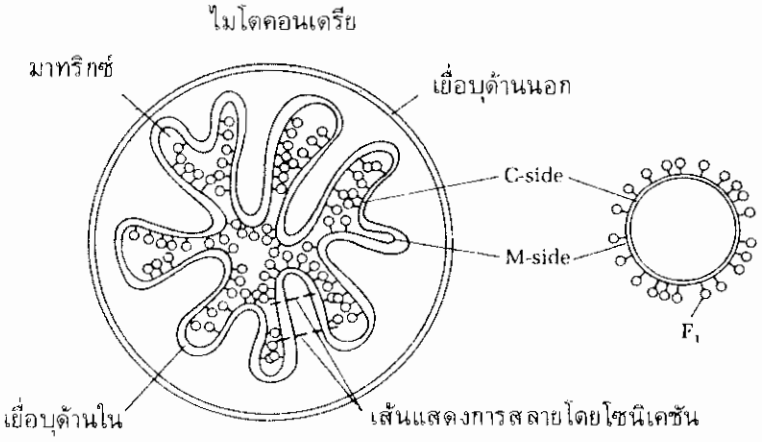
Uncouplers เป็นโมเลกุลสารจำเพาะที่มีผลยับยั้งเฉพาะปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชัน โดยการส่งผ่านอิเลคตรอนยังเป็นไปตามปรกติ สารเหล่านั้นได้แก่ 2,4-dinitrophenol, dicoumarol, carbonylcyanide, phenylhydrazones, salicylanilides, arsenate ส่วนตัวยับยั้งที่มีผลยับยั้งทั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนและปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันนั้นได้แก่ oligomycin rutamycin, aurovertin, triethyltin

5.5 เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase หรือ coupling factor 1

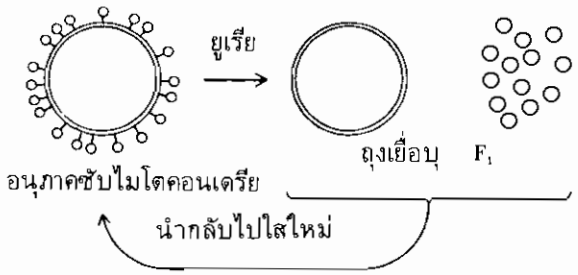
ถ้านำไมโตคอนเดรียไปผ่านกระบวนการโซนิเคชัน (sonication) โดยใช้คลื่นอุลตราโซนิค (ultrasonic waves) จะให้อนุภาคซับไมโตคอนเดรีย (submitochondrial particles) ลักษณะเป็นถุงเล็ก ๆ (รูปที่ 5.6 และ 5.7) เยื่อบุด้านในของไมโตคอนเดรียกลับด้านหัน M-side ออกนอก และ C-side อยู่ข้างใน M-side ของอนุภาคซับไมโตคอนเดรียมีก้านยาวยื่นออกไปแล้วมีตุ่มกลม ๆ อยู่ตรงปลายเต็มไปหมด ตุ่มกลม ๆ นี้มีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 85 อังสตรอม เมื่อใช้ยูเรียไปขจัดตุ่มกลมทั้งหลายออกจากอนุภาค อนุภาคเหล่านั้นจะยังคงส่งผ่านอิเลคตรอนได้แต่เกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันไม่ได้ แสดงว่าตุ่มกลมนี้มีหน้าที่สังเคราะห์ ATP เมื่อนำตุ่มกลมนี้กลับไปใส่ให้อนุภาค ปรากฏว่าอนุภาคซับไมโตคอนเดรียนั้นเกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันได้ใหม่ ยิ่งเป็นการสนับสนุนว่าตุ่มกลมนี้มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์ ATP เมื่อแรกที่ค้นพบเอ็นไซม์นี้ทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ ATP จึงเรียกว่าเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase หรืออีกชื่อหนึ่งว่า coupling factor 1 จากสมมุติฐาน chemiosmotic-coupling พบว่า coupling factor 1 จะสังเคราะห์ ATP เวลาที่มีโปรตอนเกรเดียนต์เกิดขึ้น และทำหน้าที่ไฮโดรไลซ์ ATP เวลาที่ไม่เกิดโปรตอนเกรเดียนต์

coupling factor 1 หรือเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase ประกอบด้วยส่วนที่เป็น F_1 มีบริเวณเร่งสำหรับสังเคราะห์ ATP อยู่ในตุ่มกลมทางด้านมาทริกซ์ ส่วนที่เป็น F_0 ทำหน้าที่เป็น proton channel อยู่ในตัวเยื่อบุด้านใน ระหว่าง F_1 และ F_0 เป็นก้านยาวต่อถึงกัน ภายในมีโปรตีนหลายชนิด

ก)

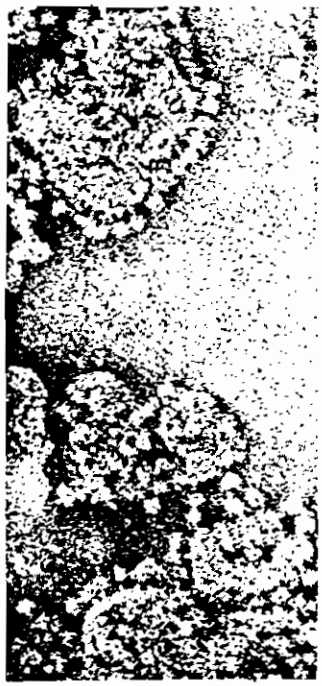


ข)



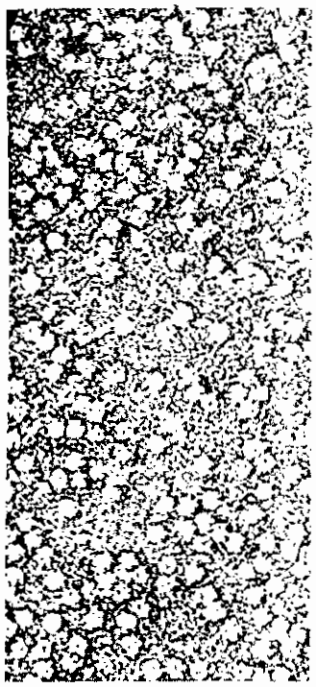
รูปที่ 5-6 ก) การสลายไมโตคอนเดรียเป็นอนุภาคซับไมโตคอนเดรียด้วยวิธีการโซนิเคชัน
ข) ยูเรียขจัด F_1 ออกจากอนุภาคดังกล่าว ทำให้ปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันเกิดขึ้นไม่ได้ แต่เมื่อนำ F_1 กลับไปใส่ให้อนุภาคใหม่ก็สามารถสังเคราะห์ ATP ได้ดังเดิม

ก)



ข)

ค)



ง)

รูปที่ 5-7 ภาพอิเลคตรอนไมโครกราฟของ

ก) อนุภาคซับไมโตคอนเดรีย

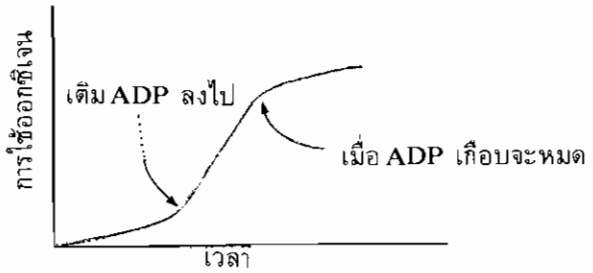
ข) อนุภาคที่ขจัดตุ่มกลมหรือ F_1 ออกแล้ว

ค) ตุ่มกลม F_1 ที่แยกออกมา

ง) อนุภาคที่ใส่ F_1 กลับเข้าไปใหม่

5.6 อัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน

การส่งผ่านอิเลคตรอนหรือการออกซิไดซ์เกิดควบคู่กับปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันเสมอ ถ้าหาก ADP ไม่เกิดฟอสฟอริเลชันไปเป็น ATP ก็จะไม่มีการส่งผ่านอิเลคตรอนไปตามลูกโซ่การหายใจ แฟคเตอร์ที่สำคัญที่สุดในการวัดอัตราเร็วของปฏิกิริยาคือปริมาณ ADP การใช้ออกซิเจนของเนื้อเยื่อจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อปริมาณ ADP เพิ่มขึ้น และกลับเข้าสู่ปรกติเมื่อ ADP ถูกเปลี่ยนไปเป็น ATP (รูปที่ 5-8)



รูปที่ 5-8 การควบคุมการหายใจ การส่งผ่านอิเลคตรอนไปยังออกซิเจนจะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อ ADP เกิดฟอสฟอริเลชันไปเป็น ATP

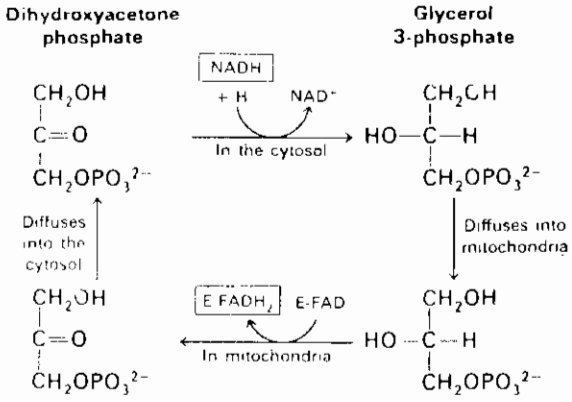
การควบคุมอัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันโดยปริมาณ ADP นี้เรียกว่า การควบคุมการหายใจ (respiratory control) ในทางสรีรวิทยาเมื่อมีการใช้พลังงานหรือ ATP มาก ปริมาณ ATP ลดต่ำลงในขณะที่ปริมาณ ADP เพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันจึงเกิดควบคู่ไปกับการใช้ ATP จะไม่มีการเคลื่อนย้ายอิเลคตรอนออกจากโมเลกุลสารต่าง ๆ และไม่มีการส่งผ่านอิเลคตรอนเหล่านั้นไปตามลูกโซ่การหายใจจนกว่าจะมีความต้องการ ATP เกิดขึ้น

ADP และ ATP เป็นโมเลกุลที่มีประจุ ไม่สามารถผ่านเข้าออกเยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเตรียได้โดยเสรี ต้องอาศัยตัวพาจำเพาะคือ ATP-ADP translocase เป็นการขนส่งโมเลกุลแบบ facilitated exchange diffusion ในขณะที่พา ADP เข้าก็ต้องพา ATP ออกจากมาทริกซ์ (หรือในทางตรงข้าม) โปรตอนเกรเดียนต์ที่เกิดขึ้นจะช่วยผลักดันการขนส่งโมเลกุล ADP ควบคู่กับ ATP ของ translocase ATP-ADP translocase ถูกยับยั้งโดย atractyloside ซึ่งเป็นไกลโคไซด์จากพืช และโดย bongkrekic acid ยาปฏิชีวนะจากเชื้อรา ตัวยับยั้งเหล่านี้จึงสามารถมีผลยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันด้วย เพราะ ADP ผ่านเข้าไปในไมโตคอนเดรียไม่ได้

5.7 อิเลคตรอนจาก NADH ในไซโตปลาสซึมเข้าสู่ไมโตคอนเดรียโดยทางกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล (glycerol phosphate shuttle)

NADH ในไซโตปลาสซึมได้มาจากการออกซิไดซ์กลูโคสโดยวิถีไกลโคลัยซีส อิเลคตรอนของโมเลกุล NADH นี้เข้าไมโตคอนเดรียโดยตรงไม่ได้ ต้องอาศัยกลีเซอรอลฟอสเฟตเป็นตัวพา (รูปที่ 5-9) ปฏิกิริยาแรกในชัตเติลเอ็นไซม์ glycerol-3-phosphate dehydrogenase ในไซโตซอลทำการโยกย้ายอิเลคตรอนจาก NADH ไปยังไดไฮดรอกซีอะซีโดนฟอสเฟต (dihydroxyacetone

phosphate, DHAP) เพื่อเปลี่ยนเป็นกลีเซอรอล-3-ฟอสเฟต โมเลกุลกลีเซอรอล-3-ฟอสเฟตนี้สามารถผ่านเยื่อบุไมโตคอนเดรียได้ และถูกออกซิไดซ์กลับไปเป็น DHAP ใหม่โดยเอ็นไซม์ glycerol-3-phosphate dehydrogenase ในไมโตคอนเดรีย ใช้ FAD เป็นโคเอ็นไซม์ ดังนั้นอิเลคตรอนจาก NADH ในไซโตซอลจึงอยู่ที่โมเลกุล $FADH_2$ ในไมโตคอนเตรีย DHAP ผ่านเยื่อบุของไมโตคอนเดรียออกสู่ไซโตซอลได้ ทำให้ชัตเติลนี้ครบวงจร



รูปที่ 5-9 กลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล

$FADH_2$ ในไมโตคอนเตรียส่งผ่านอิเลคตรอนเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจตรงโคเอ็นไซม์ Q เพื่อไปยังโมเลกุลออกซิเจนต่อไป ผ่านตำแหน่งที่มีการสังเคราะห์ ATP เพียงสองแห่ง ดังนั้น 1 โมลของ NADH จากไซโตซอลจะให้ ATP เพียง 2 โมลสำหรับกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล ชัตเติลนี้พบในกล้ามเนื้อสำหรับบิน (flight muscle) ของพวกแมลง

สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมมีมาเลท-แอสพาเตทชัตเติล (maiate-aspartate shuttle) ซึ่งซับซ้อนและประสิทธิภาพสูงกว่ากลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล เพราะ 1 โมลของ NADH จากไซโตซอลจะให้ ATP 3 โมล การส่งผ่านอิเลคตรอนผ่านชัตเติลนี้จะเกิดขึ้นเมื่ออัตราส่วนของ $NADH/NAD^+$ ในไซโตซอลสูงกว่าอัตราส่วน $NADH/NAD^+$ ในมาทริกซ์ของไมโตคอนเตรียเท่านั้น จะไม่ขอกล่าวรายละเอียดของมาเลท-แอสพาเตทชัตเติลไว้ในที่นี้

5.8 การคิดพลังงานที่ได้จากการออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์

การออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์นั้นนับรวมกระบวนการต่อไปนี้คือ

1. การเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวทที่สภาวะไม่ใช้ออกซิเจนในไซโตซอล (วิถีไกลโคลัยซีส)
2. ไพรูเวทเข้าสู่ไมโตคอนเดรียซึ่งเป็นสภาวะที่มีออกซิเจน แล้วเปลี่ยนเป็นอะเซทิลโคเอ

3. อะเซทิลโคเอเข้าวัฏจักรเคร็บส์

4. NADH ในไซโตซอลที่ได้จากข้อ 1) NADH และ $FADH_2$ ในไมโตคอนเดรียที่ได้จากข้อ 2) และข้อ 3) ส่งผ่านอิเลคตรอนเข้าสู่ลูกโซ่การหายใจ

ปฏิกิริยาสุทธิการออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์ได้พลังงานทั้งหมด 36-38 ATP (ตารางที่ 5-4)

การออกซิไดซ์กลูโคสอย่างสมบูรณ์ภายใต้สภาวะมาตรฐานให้พลังงาน 686 กิโลแคลอรี ดังสมการข้างล่าง

$$\text{Glucose} + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

การที่เก็บสะสมพลังงานได้ 38 ATP ก็นับว่าประสิทธิภาพสูงพอควร เพราะพลังงานอิสระการไฮโดรไลซ์ ATP เท่ากับ −7.3 กิโลแคลอรี จึงคิดเป็นการเก็บได้ 38 (−7.3) เท่ากับ 277 กิโลแคลอรี คิดเป็นพลังงานที่เก็บไว้ได้ $\frac{277 \times 100}{686}$ = 40% ของพลังงานทั้งหมด

ตารางที่ 5-4 พลังงานที่ได้ทั้งหมดจากการออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์

ปฏิกิริยาเรียงตามลำดับขั้นตอน		ATP/โมลกลูโคส
1. **วิถีไกลโคลัยซีส** กลูโคส → ไพรูเวท (ในไซโตซอล)		
กลูโคส → กลูโคส-6-ฟอสเฟต		−1
ฟรุคโตส-6-ฟอสเฟต → ฟรุคโตส-1, 6-ไดฟอสเฟต		−1
2[1, 3-ไดฟอสโฟกลีเซอเรท ⇌ 3-ฟอสโฟกลีเซอเรท]		+2
2[ฟอสโฟอินอลไพรูเวท → ไพรูเวท]		+2
จากปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ glyceraldehyde-3-phosphate DH ให้ 2 NADH		
2. **ไพรูเวท → อะเซทิลโคเอ** (ในไมโตคอนเดรีย)		
จากปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ pyruvate DH complex ให้ 2 NADH		
3. **อะเซทิลโคเอเข้าวัฏจักรเคร็บส์** (ในไมโตคอนเดรีย)		
2[ไอโซซิเตรท → α-คีโตกลูตาเรท]	ให้ 2 NADH	
2[α-คีโตกลูตาเรท → ซัคซินิลโคเอ]	ให้ 2 NADH	
2[ซัคซินิลโคเอ → ซัคซิเนท]	ให้ 2 GTP	+2

2[ซัคซิเนท → ฟิวมาเรท] ให้ 2 $FADH_2$

2[มาเลท → ออกซาโลอะซิเตท] ให้ 2 NADH

รวม 6 NADH และ 2 $FADH_2$

4. **ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน** (ลูกโซ่การหายใจในไมโตคอนเดรีย)

2 NADH จากข้อ 1) เข้าลูกโซ่การหายใจทางกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล	+4
{ ถ้าเข้าทางมาเลท-แอสพาเตทชัตเติล	+6}
2 NADH จากข้อ 2) เข้าลูกโซ่การหายใจ	+6
6 NADH จากข้อ 3) เข้าลูกโซ่การหายใจ	+18
2 $FADH_2$ จากข้อ 3) เข้าลูกโซ่การหายใจ	+4

รวมพลังงานที่ได้ทั้งหมด 36 ATP/โมลกลูโคส ถ้าผ่านกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล*

รวมพลังงานที่ได้ทั้งหมด 38 ATP/โมลกลูโคส ถ้าผ่านมาเลท-แอสพาเตทชัตเติล**

บทสรุป

ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันเป็นกระบวนการสร้าง ATP จาก ADP และ P_i โดยอาศัยพลังงานการส่งผ่านอิเลคตรอน จาก NADH หรือ $FADH_2$ ไปยังโมเลกุลออกซิเจนในลูกโซ่การหายใจ เกิดขึ้นที่เยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย การออกซิไดซ์ NADH ให้พลังงาน 3 ATP การออกซิไดซ์ $FADH_2$ ให้พลังงาน 2 ATP เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจมี 4 ชนิด คือ NADH-Q reductase (คอมเพล็กซ์ I) ประกอบด้วย FMN, Fes โปรตีน, โคเอ็นไซม์ Q และลิปิด ถูกยับยั้งโดยสารโรติโนน อะมัยทาล และเพียริซิดิน A Succinate-Q reductase (คอมเพล็กซ์ II) ประกอบด้วย FAD, FeS โปรตีน และไซโตโครม b QH_2-Cytochrome c reductase (คอมเพล็กซ์ III) ประกอบด้วยไซโตโครม b ไซโตโครม c_1 FeS โปรตีน โคเอ็นไซม์ Q และลิปิด ถูกยับยั้งโดยยาปฏิชีวนะแอนติ้มัยซิน A Cytochrome c oxidase (คอมเพล็กซ์ IV) ประกอบด้วยไซโตโครม aa_3 และ Cu(II) ถูกยับยั้งโดยไซยาไนด์ เอซายด์ และคาร์บอนมอนนอกไซด์ การทำงานของเอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ I, III และ IV ให้พลังงานออกมามากพอที่จะสังเคราะห์ ATP ได้ ไซโตโครมซึ่งเป็นตัวพาอิเลคตรอนที่เป็นโปรตีนมีในธรรมชาติหลายชนิด แต่ละชนิดต่างกันที่โครงสร้างและการดูดกลืนแสง ในลูกโซ่การหายใจจะพบเพียงไซโตโครม b ไซโตโครม c_1 ไซโตโครม c ไซโตโครม aa_3

ตัวพาอิเลคตรอนต่าง ๆ มีค่าศักย์ไฟฟ้ารีดักชันมาตรฐาน (E_o') แตกต่างกันออกไป ในการส่งผ่านอิเลคตรอนแต่ละครั้งถ้ารู้ค่า $\Delta E_o'$ รู้จำนวนอิเลคตรอนที่เคลื่อนย้าย สามารถคำนวณหาค่าพลังงานอิสระของการเกิดที่สภาวะมาตรฐานได้จากสูตร $\Delta G^{o'} = -nF\Delta E_o'$ การส่งผ่านอิเลคตรอนทำให้เกิดปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชันควบคู่ไปด้วย ทั้งนี้ถ้าอธิบายตามสมมุติฐาน chemical-coupling การส่งผ่านอิเลคตรอนจะได้พลังงานเก็บสะสมไว้ที่พันธะโควาเลนท์ของอินเตอร์มิเดียทพลังงานสูง แล้วจึงถ่ายทอดพลังงานต่อไปให้การสังเคราะห์ ATP การอธิบายตามสมมุติฐาน Conformational-coupling การส่งผ่านอิเลคตรอนจะให้พลังงานเก็บสะสมไว้ที่พันธะนอน-โควาเลนท์จำนวนมากในโมเลกุลโปรตีน จากนั้นจึงถ่ายทอดพลังงานให้การสังเคราะห์ ATP ส่วนสมมุติฐาน chemiosmotic-coupling อธิบายว่าการส่งผ่านอิเลคตรอนและการสังเคราะห์ ATP เกิดขึ้นในขณะที่มีโปรตีนเกรเดียนต์ มีการปั๊มโปรตอนจากด้านมาทริกซ์ไปสู่ด้านไซโตซอลของเยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย และเมื่อโปรตอนเคลื่อนกลับมายังด้านมาทริกซ์โดยผ่าน F_o channel จะเกิดการสังเคราะห์ ATP ขึ้น สมมุติฐานนี้มีหลักฐานสนับสนุนหลายประการ uncoupler เช่น 2, 4-dinitrophenol มีผลยับยั้งเฉพาะปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชัน ตัวยับยั้ง เช่น oligomycin มีผลยับยั้งทั้งการส่งผ่านอิเลคตรอนและปฏิกิริยาฟอสฟอริเลชัน

เอ็นไซม์ คอมเพล็กซ์ ATPase หรือ coupling factor 1 ประกอบด้วย F_1 ซึ่งเป็นตุ่มกลมอยู่ด้านมาทริกซ์ มีบริเวณเร่งสำหรับสังเคราะห์ATP F_0 เป็น proton channel อยู่ที่ตัวเยื่อบุชั้นใน ระหว่าง F_1 และ F_0 เป็นก้านยาวต่อถึงกันภายในมีโปรตีนหลายชนิด coupling factor 1 จะสังเคราะห์ ATP เวลาเกิดโปรตอนเกรเดียนต์ และไฮโดรไลซ์ ATP เวลาไม่มีโปรตอนเกรเดียนต์ ปริมาณ ADP จะเป็นตัวควบคุมอัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชัน การเข้าของ ADP หรือการออกของ ATP ที่เยื่อบุชั้นในของไมโตคอนเดรีย อาศัยตัวพาจำเพาะ ATP-ADP translocase เป็นการขนส่งโมเลกุลแบบ facilitated exchange diffusion อาศัยแรงผลักดันจากโปรตอนเกรเดียนต์ที่เกิดขึ้น การขนส่งถูกยับยั้งโดย atractyloside และ bongkrekic acid

อิเลคตรอนในไซโตซอลเข้าสู่ไมโตคอนเดรียได้สองทางคือ ทางกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติลซึ่งพบในพวกแมลง และมาเลท-แอสพาเตทชัตเติลในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม กลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติลนั้น DHAP จะรับอิเลคตรอนจาก NADH ในไซโตซอลกลายเป็นกลีเซอรอลฟอสเฟตเข้าสู่ไมโตคอนเดรีย ได้พลังงานแค่ 2 ATP/NADH ส่วนมาเลท-แอสพาเตทชัตเติลให้พลังงาน 3 ATP/NADH การออกซิไดซ์กลูโคสโดยสมบูรณ์นับตั้งแต่ต้นกระบวนการไกลโคลัยซีสไปจนกระทั่งการส่งผ่านอิเลคตรอนเข้าลูกโซ่การหายใจ ได้พลังงาน 36 ATP/โมลกลูโคสถ้า NADH ในไซโตซอลเข้าไมโตคอนเดรียทางกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล และจะได้พลังงาน 38 ATP/โมลกลูโคสถ้า NADH ในไซโตซอลเข้าไมโตคอนเดรียทางมาเลท-แอสพาเตทชัตเติล

คำถามท้ายบท

1. ออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันคืออะไร เกิดขึ้นที่ไหนภายในเซลล์
2. ลูกโซ่การหายใจหรือลูกโซ่การส่งผ่านอิเลคตรอนคืออะไร สัมพันธ์กับออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันอย่างไร
3. เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ในลูกโซ่การหายใจแบ่งเป็นกี่ชนิด อะไรบ้าง แต่ละชนิดทำหน้าที่อะไร ถูกยับยั้งด้วยสารใดได้บ้าง
4. อธิบายระบบไซโตโครมที่พบในลูกโซ่การหายใจ
5. จงบอกสูตรที่ใช้หาค่าพลังงานอิสระของการเกิดที่สภาวะมาตรฐาน
6. สารที่เป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีต้องมีค่าศักย์ไฟฟ้ารีดอกซ์เป็นอย่างไร
7. สมมุติฐานที่ใช้อธิบายการเกิดออกซิเดชันควบคู่ฟอสฟอริเลชันมีอะไรบ้าง แต่ละสมมุติฐานอธิบายโดยใช้หลักการใด สมมุติฐานข้อไหนมีหลักฐานสนับสนุนค่อนข้างมาก
8. เอ็นไซม์คอมเพล็กซ์ ATPase หรือ coupling factor 1 มีความสำคัญอย่างไร
9. อัตราเร็วปฏิกิริยาออกซิเดทีฟฟอสฟอริเลชันขึ้นอยู่กับอะไร
10. อิเลคตรอนจาก NADH ในไซโตปลาสซึมเข้าสู่ไมโตคอนเตรียได้กี่ทาง ทางใดบ้าง ทางไหนมีประสิทธิภาพสูงกว่ากัน บอกเหตุผลประกอบ
11. คิดพลังงานที่ได้จากการเผาผลาญโมเลกุลกลูโคสโดยสมบูรณ์ เปรียบเทียบกันระหว่างมาเลท-แอสพาเตทชัตเติลกับกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล
12. เขียนกลีเซอรอลฟอสเฟตชัตเติล