

Aerob och anaerob elektrontransport (Alberts kap. 14 och Madigan kap. 17)

Introduktion

Med respiration menas en elektrontransportfosforylering driven av kemisk energi (alltså inte fotosyntes eller jäsningar). Dessa organismer kan ofta använda jäsningar som komplement eller alternativ till respiration, men här ska bara respirationen behandlas. Den fria energi som utvinns vid elektrontransporten används för att skapa en protongradient, som i sin tur används till ATP-syntes, driva transporter, rotera bakterieflageller m.m.

Mitokondrien

Finns i nästan alla eukaryota celler. De få encelliga grupper av eukaryoter som saknar mitokondrier är hänvisade till att få ATP enbart från jäsning. Det finns många grunder till att tro att mitokondrien har uppstått ur en endosymbiontisk bakterie (ur gruppen Proteobakterier). En bakteriecell ska ju kunna leva och föröka sig självständigt, men en nutida mitokondrie klarar inte det. Den har egen kromosom och proteinsyntes, men de flesta av generna för dess funktioner finns nu i cellkärnan. Den har alltså blivit kraftigt specialiserad på att försörja den eukaryota cellen med ATP.

Mitokondriens uppbyggnad visas bra i figur Alberts 14-3. Mitokondrien har två membraner i sitt ytterhölje. Det yttre membranet har poriner, proteiner som släpper igenom molekyler upp till 5000 i molekylvikt. Alla de molekyler som vi diskuterar i energimetabolismen är tillräckligt små för att gå igenom. För de processer som vi kommer att diskutera här har alltså det yttre membranet egentligen ingen större betydelse. Däremot håller det kvar en rad enzymer för processer som kräver mycket energi, och som därför gynnas av att ligga intill ATP-produktionen. Det inre membranet, däremot, är mycket tätt för joner och de flesta molekyler, utom i de fall där det finns specifika transportproteiner (se t.ex. Alberts fig. 14-5). Detta membranet är det mest proteinrika av den eukaryota cellens membraner, och de flesta proteinerna är associerade med elektrontransportkedjan och ATP-syntesen. Inermembranet har också invaginationer, *cristae*, som är till för att öka membranytan utan att öka organellens volym.

Mitokondrier kan vara i form och storlek som

bakterier, men kan också förekomma i form av nätverk i cellen (Alberts fig. 14-2). De ändrar också form och storlek och position i cellen. (En bra illustration av detta finns i en filmsnutt på den CD som ska följa med Alberts). Mitokondrieantalet kan också variera med cellens energibehov.

Energimetabolismen i mitokondrien sker dels innanför det inre membranet, i matrix, där oxidationen av pyruvat till acetyl-CoA, fettsyraoxidationen och citronsyracykeln sker, dels i det inre membranet där elektrontransporten och den ATP-produktion som drivs av denna sker.

Respirationens elektrontransportkedja

I eukaryota celler sker respirationen i mitokondriens innermembran. Elektrontransportkedjan får elektroner från NADH och FADH₂, som kommer från citronsyracykeln och fettsyraoxidationen som också sker i mitokondrien. Dessutom kommer elektroner från den NADH som bildas i glykolysen ute i cytoplasman. Denna NADH (från glykolysen) kan inte transporteras genom det inre mitokondriemembranet, utan den reducerar andra ämnen i cytosolen. Dessa transporteras sedan in i mitokondrien och där i sin tur vanligen reducerar FAD till FADH₂ istället för NAD⁺ till NADH. Detta är anledningen till att den NADH som bildas i glykolysen utanför mitokondrien oftast ger lägre ATP-utbyte än den NADH som bildas inuti mitokondrien (se förklaring nästa sida). För en sammanställning av vad som bildas i glykolys, citronsyracykel och fettsyraoxidation, se tabell 14-1. Obs. att i denna har författarna glömt att det acetyl-CoA som kommer från fettsyraoxidation också bildar GTP när det går igenom citronsyracykeln. Del B av tabell 14-1 ska alltså se ut så här (korrigering i röd fetstil):

B. Net products from oxidation of one molecule of palmitoyl CoA (activated form of palmitate, a fatty acid)

In mitochondrion (fatty acid oxidation and citric acid cycle)

palmitoyl CoA → 8 acetyl CoA + 7 NADH + 7 FADH₂

8 acetyl CoA → 24 NADH + 8 FADH₂ + **8 GTP**

Net result in mitochondrion

palmitoyl CoA → 31 NADH + 15 FADH₂ + **8 GTP**

Om man tittar i olika läroböcker så kan man se olika uppgifter på hur många ATP man kan få av en glukosmolekyl. Alberts har en låg siffra (30 ATP / glukos), medan många andra böcker (t.ex. Madigan) säger upp till 38 ATP / glukos. Varför kan man få så olika uppgifter i böcker som behandlar samma ämne och är skrivna ungefär samtidigt? Det finns olika anledningar till detta. En anledning är att den protongradient som bildas används även till andra saker än ATP-syntes, t.ex. transport av ämnen genom membranet (se fig. 14-16). Alla protoner som pumpas ut används därför inte till ATP-syntes. Det är dessutom svårt att på ett fullständigt säkert sätt mäta experimentellt hur många protoner som pumpas ut vid elektrontransporten eller som måste passera genom ATP-syntaset för att en ATP ska syntetiseras. När man preparerar fram mitokondrier eller bakterier på ett sätt som gör det möjligt att undersöka detta, så påverkas de av processen. Det är därför viktigt att tänka på att de modeller för dessa processer som visas i böckerna är rekonstruktioner av en modell som baseras på en sammanställning och tolkning av en mängd individuella undersökningar, där man erhållit mer eller mindre lättolkade, och ibland motsägande, resultat. Alberts siffra på c:a 30 ATP är nog ”modernare” än Madigans.

Elektrontransportkedjan transporterar elektroner från en elektrondonator (i mitokondrien NADH eller FADH₂) via ett antal mellansteg till en elektronacceptor (i mitokondrien O₂). Vad som egentligen händer är att det första ämnet i elektrontransportkedjan reduceras av NADH, som i sin tur då oxideras till NAD⁺. Elektrontransportkedjans första komponent reducerar i sin tur nästa komponent i kedjan och oxideras då själv tillbaka till oxiderad form, och kan nu åter reduceras av nästa NADH. Elektrontransportkedjan ska alltså inte ses som ett ”rör” som elektronen rinner i, utan som en serie redoxreaktioner. Det som bestämmer i vilken ordning de olika komponenterna sitter i elektrontransportkedjan är deras redoxpotential, d.v.s. deras tendens att lämna ifrån sig elektroner till ett annat ämne. Ett ämne med låg redoxpotential har större tendens att lämna ifrån sig elektroner än ett ämne med högre redoxpotential. NADH har låg redoxpotential och syre har hög redoxpotential. Elektronerna kommer alltså att gå från NADH till syre.

En modell för hur detta kan se ut visas i Alberts fig. 14-10. Där kan man se att elektrontransportkedjan från NADH till syre dels består av tre större komplex som är relativt orörliga i membra-

net, dels av några mindre komponenter som är relativt lättörliga (ubikinon och cytokrom c). Elektrontransportkedjans större komplex ligger egentligen inte snyggt på rad som i bilden, utan är utströdda i membranet och elektronerna transporteras mellan dem med hjälp av ubikinon och cytokrom c. Det är inte heller ett 1:1 förhållande mellan de olika komponenterna, eftersom ett komplex som har snabbare reaktionshastighet inte behöver finnas i lika stort antal som de andra. I vart och ett av de stora komplexen ingår flera elektrontransportkomponenter, som sitter placerade så att de lätt kan lämna elektroner till nästa steg.

I de tre större komplexen är redoxprocesserna kopplade till en utpumpning av protoner från mitokondriens insida (matrix) till intermembranutrymmet. Anledningen till att FADH₂ ger färre ATP än NADH är att den (vilket inte sägs i Alberts) lämnar sina elektroner efter det första komplexet, och därmed ger ett mindre bidrag till protongradienten. Hur protonpumpningen sker är inte helt klarlagt, men i det första och det sista komplexet sker det troligen enligt den princip som visas i Alberts fig. 14-27. För det mellersta komplexet är det troligen så att ubikinon tar upp två protoner på insidan (matrix) när det reduceras vid det första komplexet. När det sedan lämnar sina elektroner till det mellersta komplexet så sker det vid membranets utsida, och då lämnas även protonerna där.

Det sista komplexet i en aerob respiration är cytokromoxidaset. Det har en central roll, eftersom det måste hantera syre, utan att det bildas skadliga syrederivat. Cytokromoxidas tar emot en elektron åt gången, vilket egentligen är det sämsta sättet att reducera syre, eftersom man då lätt får olika skadliga syrederivat, som t.ex. väteperoxid eller det oerhört reaktiva ämnet superoxid. Alla aeroba organismer—även om de har väl fungerande cytokromoxidas—har också ett skyddsenzym, superoxiddismutas, som tar hand om superoxid. Hur farligt superoxid är visas av det faktum att om en organism saknar detta enzym, så blir den strikt anaerob och dör om den hamnar i en syremiljö. I cytokromoxidaset hålls emellertid O₂-molekylen fast tills den är fullt reducerad.

Bakteriell aerob respiration

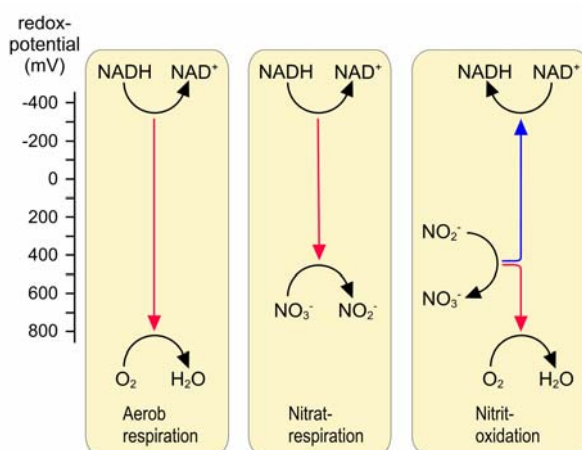
Denna liknar hos de flesta aeroba bakterier i stort respirationen i mitokondrien (med en del undantag, som t.ex. hos kemolitotrofer, se nedan). Vis-

sa skillnader i detaljer kan finnas, och det visar sig vid undersökningar att många bakterier förefaller få ut mindre protongradient per elektron transporterad jämfört med mitokondrien. Det exempel på en bakteriell aerob elektrontransportkedja som visas i Madigan figur 5.20 har dock nästan samma utbyte. Denna visar elektrontransportkedjans komponenter hos *Paracoccus denitrificans*, en bakterie som är relativt nära släkt med våra mitokondrier. De tre komplexen som motsvarar de vi sett i mitokondrien är numrerade I, III och IV, vilket är ett vanligt sätt att numrera dessa. Vad är då komplex II? Detta (som också finns i mitokondrien, men inte finns med i Alberts bilder) är det (icke protonpumpande) komplex dit FADH_2 lämnar sina elektroner. Komplex II lämnar i sin tur elektronerna vidare till Q, som i sin tur lämnar dem till komplex III.

Anaerob respiration

Med anaerob respiration menas en respiration med något annat än syre som elektronacceptor. Som elektronondonator kan organismen ha NADH eller FADH_2 precis som aeroba respirerare, men många har också enklare organiska (eller i några fall också oorganiska) föreningar. Hur den elektrontransporten ser ut kan variera en hel del, från att vara väldigt lik den aeroba (som hos nitratrespirerare), till mer speciella, (som t.ex. metanbildare) men den leder alltid till skapande av en protongradient (eller hos några få faktiskt en natriumgradient som också används för ATP-syntes i deras speciella ATP-syntas).

Flera av de kväve- och svavelföreningar som används som elektronacceptorer används också som byggmaterial för biosyntes. Det som byggs in är nästan alltid den mest reducerade formen (S^{2-} eller NH_3), och om organismerna inte har tillgång till dessa, måste de ta mer oxiderade former (t.ex. nitrat och sulfat) och sedan reducera dem. Detta ger ju samma omvandling av kvävet eller svavlet som den anaeroba respirationen åstadkommer och kan till synes se ut att vara samma sak. Det finns emellertid flera skillnader. När ämnet används för biosyntes (assimilation) så tas endast den mängd som behövs för biosyntesen upp, och den kommer att kvarhållas i cellen som organiska kväve- eller svavelföreningar. Reduktionen är energikrävande och regleras av biosyntesbehov. När kväve eller svavel reduceras vid en anaerob respiration (för energiutvinning) kallas det dissimilation. Mängden som omsätts är vanli-



Figur 1. Jämförelse mellan protongradientskapande elektrontransport (röda pilar) vid aerob respiration, anaerob respiration med nitrat och kemolitotrof respiration med nitrit som elektron-donator. Observera skillnaden i redoxpotential mellan elektrondonator och elektronacceptor. Kemolitotrofen har också en omvänd elektrontransport (blå pil) där en mindre andel av elektronerna går till NAD^+ under förbrukning av protongradient.

gen mycket mer än vad organismen behöver för biosyntes, och den reducerade formen av ämnet släpps ut som en avfallsprodukt. Det sköts också av andra enzymer än vid den assimilativa omsättningen, och regleras av tillgången på elektronacceptorer och energibehovet.

Nitratrespiration

Nitrat är ett av de effektivaste alternativen till O_2 som elektronacceptor i respiration. Detta beror på att de andra alternativen nästan alltid har en lägre redoxpotential än nitrat (Madigan figur 17.35). Nitrat är också lättlösligt. Många bakterier har förmågan att använda nitrat för att ta upp två elektroner från elektrontransportkedjan. Då bildas nitrit. (I naturliga system omvandlas detta sedan ofta till ammonium, men detta senare steg sker oftast utan att vara inblandat i energimetabolismen). De bakterier som kan göra detta är vanligen sådana som också kan använda syre (och hellre gör det om det finns). Nitratrespiration brukar hämmas av syre. En syrefri miljö är dock inte tillräckligt för att organismen ska skapa en nitratrespirationskedja, utan det krävs också närvaro av nitrat.

Ett exempel är världens mest välundersökta organism, *Escherichia coli*, vars aeroba och anaeroba, nitratutnyttjande elektrontransportkedja visas i Madigan figur 17.37 (a och b). Som kan ses i figuren så liknar de två elektrontransportkedjorna

varandra mycket. Det som skiljer är den del som har kontakt med elektronacceptorn. Detta är naturligt, eftersom ett enzym måste ha en specifik kontaktyta med sitt substrat. Den övriga delen av elektrontransportkedjan och den övriga energimetabolismen fungerar dock på precis samma sätt vare sig bakterien har syre eller nitrat som elektronacceptor. En viktig effekt är emellertid att det inte finns lika många protonpumpande steg i elektrontransportkedjan, och ATP-utbytet per elektron blir därför något mindre.

I Madigan figur 17.37c visas ett annat alternativ vad gäller nitratespiration. Denna variant, som leder till gasformiga slutprodukter från nitraten, främst kvävgas, kallas denitrifikation. Dessa har alltid också aerob respiration, men byter vid syrebrist ut sista delen av elektrontransportkedjan. Här kan elektronerna dock lämnas till flera olika kväveföreningar, som alla har sitt ursprung i nitraten. I figuren ser man inte att det också kan gå elektroner till N_2O -reduktas (vilket det måste om N_2O ska reduceras till kvävgas). Detta innebär att en nitrattmolekyl kan ta upp fem elektroner, istället för två som i det första fallet. Det är alltså en fördel om det är brist på nitrat, vilket det ofta är i naturliga syrefria miljöer. Denna respiration har stor betydelse ekologiskt, eftersom den innebär en omvandling av lättillgängligt kväve, nitrat, till en svåränvänd, kvävgas. Det har negativa konsekvenser t.ex. i jordbruket, där det innebär att en del kvävegödsel avgår som kvävgas. Vi utnyttjar den å andra sidan i reningsverk för att ta bort kväve, för att minska övergödning i vattendrag. Denna process är anledningen till att vi idag har så mycket kvävgas i atmosfären.

Sulfatreduktion

Denna respiration, där sulfat eller andra reducerade svavelföreningar används som elektronacceptor, skulle kanske striktare kallas för svavelreduktion, men eftersom sulfat är det ojämförligt viktigaste ämnet för denna process så kallas den vanligen för sulfatreduktion. Eftersom sulfat har en klart lägre redoxpotential än nitrat, så ger denna respiration ett mindre energiutbyte. Figur 17.39 i Madigan visar också ett exempel där en del av protongradienten skapas genom att vätgas diffunderar till utsidan av cellmembranet, och där oxideras till H^+ . Det är alltså inte H^+ som transporteras över membranet, men detta leder ändå till att en protongradient skapas.

Sulfatreducerande bakterier är nästan alltid strikta anaerobes, och processen förekommer därför endast i syrefria (anoxiska) miljöer. Tabell

17.3 visar både olika svavelföreningars oxidationsgrad och några vanliga elektrondonatorer för svavelreducerare. Denna process är mycket betydelsefull i havet, eftersom havsvatten innehåller stora mängder sulfat. Där förekommer den framför allt nere i sedimenten, där det ofta är syrefritt bara man kommer någon centimeter ned. Vissa sulfatreducerare kan också leva autotroft, och fixerar då koldioxid via acetyl-CoA-vägen.

Metanbildning

Metanbildare är strikt anaeroba Archaea. De kan använda sig av dels koldioxid (eller metylgrupper från enkla föreningar) som elektronacceptor, och vätgas som elektrondonator (Madigan figur 17.44), dels av enkla organiska föreningar som kan fungera som både elektrondonator och elektronacceptor, som t.ex. metanol eller acetat (Madigan figur 17.45). Detta används för att skapa en protongradient. Figuren innehåller mycket information om aktiva grupper, s.k. cofaktorer, som kolatomen är bunden till under reduktionen, men det väsentliga är vad som händer med kolet, som till slut reduceras till metan, CH_4 . De viktigaste substraten i naturen är $\text{H}_2 + \text{CO}_2$ och acetat. Metanbildare kan alltså bara använda enkla substrat, och är i naturen beroende av att andra, jäsnande, bakterier omvandlar mer komplexa organiska ämnen till enklare. Alberts har också en figur som visar en metanbildare, *Methanococcus jannaschii* (figur 14-45), och som det nog är lättare att se huvudlinjerna i. Denna visar också att energimetabolismen också är kopplad till fixeringen av koldioxid som denna och de flesta andra metanbildare kan utföra. Denna sker via acetyl-CoA-vägen.

Acetogenes (acetatbildning)

Bakterier som använder acetyl-CoA-vägen, där elektroner från vätgas används för att reducera koldioxid till acetat. Som kan ses i Madigan figur 17.41, så skapas ATP dels från substratnivåfosforylering (steget acetyl-CoA till acetat), dels från en proton- eller natriumgradient. Om en natriumgradient bildas så har organismen också ett natriumberoende ATP-syntas.

Kemolitotrofer

Med kemolitotrofer menas sådana som har en oorganisk elektrondonator. Dessa har vanligen syre som elektronacceptor, men kan i vissa fall (utom nitrifikationsbakterier) också använda nitrat eller andra elektronacceptorer. I Madigan

tabell 17.1 visas energiutbytet för olika kemolitotrofer. Det är ofta lågt, och dessa tvingas därför att omsätta stora mängder av sina substrat för att få ut tillräckligt med energi. Trots detta växer de ofta långsamt.

Kemolitotrofer är ofta helt eller delvis autotrofa, d.v.s. använder koldioxid för att bygga cellmaterial. De är ofta dåliga på att ta upp och använda organiska ämnen från omgivningen. Koldioxidfixeringen sker nästan alltid hos kemolitotrofer via Calvencykeln, dvs samma mekanism som högre växter använder. Koldioxidfixeringen är en mycket energikrävande process, och det behövs både ATP och NAD(P)H. Det ATP som behövs fås från respirationen, men NAD(P)H kan ju hos litotrofer inte fås från oxidering av organiska ämnen, utan måste ordnas genom att NAD⁺ reduceras med elektroner från den oorganiska elektronondonatorn. Vätgas har så låg redoxpotential att den kan reducera NAD⁺ direkt, men för de andra kemolitotroferna, som har elektronondonatorer med högre redoxpotential går inte detta. Detta löses genom *omvänd elektrontransport*. I denna drivs elektronerna mot en *lägre* redoxpotential i en elektrontransportkedja. Eftersom det frigörs energi om elektronerna går mot en högre redoxpotential, så måste det alltså krävas att man tillför energi om redoxpotentialen ska sänkas. Denna energi fås från protongradienten som skapas på vanligt sätt. Hos dessa organismer kan elektronerna från elektronondonatorn alltså gå två vägar, *antingen* mot en ökande redoxpotential, producera en protongradient och till slut tas upp av syre (eller en annan elektronacceptor), *eller* gå mot en lägre redoxpotential (omvänd elektrontransport) under förbrukande av protongradient, och till slut användas för att reducera NAD(P)⁺ till NAD(P)H. Den NAD(P)H som bildas används till allra största delen till kolfixering.

Vätgasbakterier

Vätgas är en utmärkt elektronondonator, eftersom den har lägre redoxpotential än NAD⁺/NADH. Många vätgasbakterier kan direkt reducera NAD⁺ till NADH, medan andra vätgasbakterier och alla de övriga kemolitotrofgrupperna måste använda omvänd elektrontransport för detta. När dessa bakterier växer litotroft fixerar de också koldioxid. Vätgas finns ofta endast i mycket låga halter, framför allt i oxiska miljöer, och därför är vätgasbakterier ofta bra på att även kunna växa som kemoorganotrofer, och ta upp organiskt material från omgivningen om vätgas saknas.

Nitrifikationsbakterier

Består egentligen av två grupper av bakterier, ammoniumoxiderare och nitritoxiderare. Dessa är strikta aerobes. Ammoniumoxiderare oxiderar ammonium till nitrit, och nitritoxiderare oxiderar nitrit till nitrat. Det tog flera decennier innan man insåg att det var två grupper av bakterier, eftersom de nästan alltid finns tillsammans i naturen, och man då ser att ammonium försvinner och det bildas nitrat. Därför grupperas de fortfarande tillsammans under namnet nitrifikationsbakterier. Kombinationen av att vara autotrofer, och att ha en elektronondonator som har en hög redoxpotential (dvs ger litet ATP-utbyte per elektron transporterad) gör att nitrifikationsbakterierna har låg tillväxthastighet — i bästa fall runt tio timmars generationstid. Detta kan jämföras med *E. coli*, som man kan få att dela sig var 20:e minut.

Nitrifikationsbakterier gör att en stor del av den ammonium som bildas vid nedbrytningen av organiska kväveföreningar kommer att omvandlas till nitrat. Detta gör i sin tur att det kan omvandlas till kvävgas via denitrifikation. Ammoniumoxiderande bakterier bidrar också till försurning genom att de bildar syra när de omvandlar ammonium till nitrit.

Svaveloxidation

Detta finns spritt hos både Bacteria och Archaea, och svavel har antagligen varit en av de ursprungliga substraten för elektrontransportkedjor. Dessa organismer oxiderar reducerade svavelföreningar till fr.a. sulfat. Om det finns mycket sulfid så kan bakterierna välja att bara oxidera sulfiden en del, till svavel (S⁰). Detta kan ses i mikroskop i organismerna som svavelkorn. Detta är ett sätt att lagra upp näringen — svavelkorn är inte osmotiskt aktiva eftersom svavlet inte är löst. Senare kan svavlet oxideras vidare till sulfat.

Svaveloxidation har stor betydelse i t.ex. marina sediment, där sulfatreducerande bakterier nere i sedimentet bildar stora mängder sulfid. Denna oxideras i allmänhet av svaveloxiderande bakterier i sedimentets ytlager, utan att komma ut i vattnet. Svaveloxidationen leder till en försurning genom att svavelsyra bildas. Detta kan skapa lokala problem där en hög svaveloxidation förekommer, t.ex. vid högar med sulfidhaltiga malmer. På sådana platser kan lakvatten från malm och slagghögar ofta vara starkt surt på grund av svaveloxidation.

Fred Sörensson 2006