

CODEN: LUTFD2/(TFRT-5228)/1-84/(1979)

REGLERING AV ATP-SYNTESSEN I MITOKONDRIER

LARS NIELSEN

INSTITUTIONEN FÖR REGLERTEKNIK
LUNDS TEKNISKA HÖGSKOLA
1979

TILLHÖR REFERENSBIBLIOTEKET
UTLANAS EJ

REGLERING AV ATP-SYNTESSEN I MITOKONDRIER

Lars Nielsen

Examensarbete utfört 1979 vid Institutionen
för Reglerteknik, Lunds Tekniska Högskola.

Dokumentutgivare
Lund Institute of Technology
Handläggare Dept of Automatic Control
Per Hagander
Författare
Lars Nielsen

Dokumentnamn
REPORT
Utgivningsdatum
October 1979

Dokumentbeteckning
LUTFD2/(TFRT-5228)/1-84/(1979)
Ärendebeteckning

Dokumenttitel och undertitel

Reglering av ATP-syntesen i mitokondrier
(Control of the ATP-synthesis in mitochondria)

Referat (sammandrag)

The oxidation of NADH, with equilibrium constant $5 \cdot 10^{45}$, is the energy-source for ATP-synthesis in mitochondria. In order to study how control of such an irreversibel process can be managed a mathematical model is built. The model is based on the chemiosmotic theory, where the electro-static potential difference across the inner membrane of mitochondria is explicitly considered in the equations. The results imply that the control mechanism is different from what is usual in biological systems. Also an application of irreversible thermodynamics shows that this mechanism allows a high effectiveness.

Referat skrivet av
Author

Förslag till ytterligare nyckelord
Dynamical model

Klassifikationssystem och -klass(er)

5071

Indextermer (ange källa)

5271

Omfång
84 pages

Övriga bibliografiska uppgifter

5475

Språk
Swedish

Sekretessuppgifter

6076

ISSN

ISBN

Dokumentet kan erhållas från
Department of Automatic Control
Lund Institute of Technology
Box 725, S-220 07 Lund 7, Sweden

Mottagarens uppgifter

Pris
6675

Innehållsförteckning

1. INTRODUKTION	1
1.1 Mitokondrien i större sammanhang. Historik	1
1.2 Generella idéer	2
1.3 Utgångspunkter för arbetet	3
2. MODELLBYGGE FÖR JÄMVIKTSLÄGET	5
2.1 Begränsning av systemet	5
2.2 Elektrostatiska potentialskillnaden och dess referenstillstånd	7
2.3 Jämviktsekvationer	7
2.4 Sammanställning av ekvationerna	14
3. ANALYS AV JÄMVIKTSMODELLEN	16
3.1 Omgivningens inverkan	16
3.2 Känsliga parametrar	17
3.3 Kriterier på god modell	19
4. LÖSNING AV EKVATIONERNA	20
4.1 Inledning	20
4.2 Referenstillståndet	20
4.3 Modell 1	22
4.4 Modell 2	22
4.5 Slutsatser	25
5. NUMERISKA METODER	26
5.1 Biblioteksrutin	26
5.2 Numerisk kommentar	26
6. INLEDNING TILL STUDIET AV KINETIKEN	28
6.1 Allmänt	28
6.2 Stabilitet	29
7. MODELLBYGGE FÖR INSVÄNGNING TILL JÄMVIKT	30
7.1 Uppdelning i långsamma och snabba reaktioner	30
7.2 ATP-syntesen	30

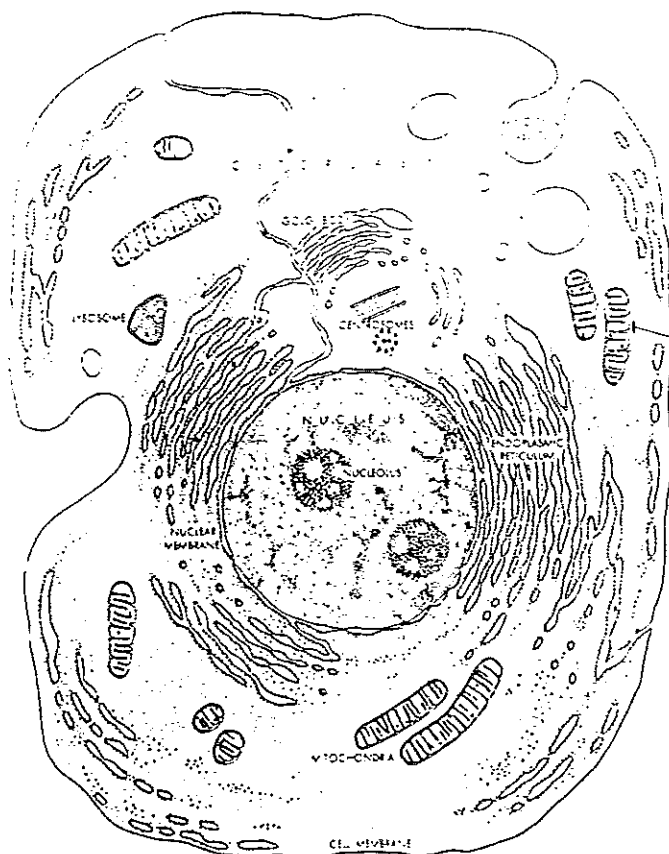
7.3	ATP-transport	32
7.4	Kinetiska ekvationer	33
7.5	Sammanställning av ekvationerna	34
7.6	Analys	35
8.	MODELLBYGGE VID BELASTNING	36
8.1	Inledning	36
8.2	Lasten	36
8.3	Steady-state-kurvan	37
8.4	Verkningsgraden som funktion av tillståndsvariablerna	37
9.	SIMULERINGSTEKNIK	40
9.1	Fasplan och tidskurvor	40
9.2	SIMNON	41
9.3	Speciella problem	41
9.4	Nogrannhet hos lösningen	42
10.	RESULTAT AV SIMULERINGARNA	43
10.1	Inledning	43
10.2	Fasplan med steady-state-kurvor	43
10.3	Jämförelse mellan steady-state och kvasi-steady-state	50
10.4	Reglermekanismens beroende av hastighetskonstanterna	51
10.5	Verkningsgradens beroende av tillståndsvariablerna	52
10.6	Insvängning till steady-state	53
11.	SLUTSATSER	56
12.	REFERENSER	57
	APPENDIX A - VÄRDEN PÅ KONSTANTER	58
	APPENDIX B - PROGRAM FÖR BERÄKNING AV JÄMVIKTSLÄGET	61
	APPENDIX C - ENTROPIPRODUKTION VID KEMISKA REAKTIONER	69
	APPENDIX D - EKVATIONEN FÖR $[H^+]_i$	72
	APPENDIX E - SIMNON-PROGRAM	75
	APPENDIX F - ÖKNINGEN AV pH INNE I MITOKONDRIEN	80

1. INTRODUKTION

1.1 Mitokondrien i större sammanhang. Historik

Maten vi äter bryts ner och dess energi lagras slutligen som ATP i den mänskliga cellen. Oavsett vilken typ av cell det rör sig om, är den energi som frigörs vid reaktionen $ATP \rightarrow ADP + HPO_4$ källan till all mänsklig aktivitet.

Det har länge varit känt att de slutliga transformationerna av födan varit lokaliserade till mitokondrierna (se figur). I de sista stegen i transformationen kunde man visa att citronsyrcykeln resulterar i NADH, och att



Mänsklig cell



Elektronmikroskop-
bild av mitokondrie

energiutvecklingen då NADH oxideras gör att mitokondrien kan syntetisera ATP ur ADP och HPO_4 .

Ett möjligt mellansteg i den processen är bildandet av en energirik intermediär förening, och många försök har gjorts för att isolera denna förening men alla har misslyckats. Efter att själv ha misslyckats ställde Peter Mitchell 1961 upp den *kemiosmotiska teorin*, som förklaras närmare i kapitel 2, men som i huvuddrag innebär att kopplingen mellan oxidationen av NADH och syntesen av ATP realiserar genom att en elektrokemisk potentialskillnad skapas över mitokondriens innermembran. Energin från oxidationen av NADH lagras alltså upp genom att jontransport över mitokondriemembranet skapar dels en elektrostatisk potentialskillnad och dels en koncentrationsskillnad för protoner mellan insida och utsida. För sitt arbete fick Mitchell nobelpris 1978.

1.2 Generella idéer

Det principiellt viktiga i mitokondriens funktion enligt kemiosmotiska hypotesen är att den har ett slutet membran-hölje som separerar insida och utsida, så att förflyttning av molekyler över membranet kan ge upphov till laddnings- och koncentrationsskillnader. Experimentellt har man lyckats slå hål i membranet [1] och det visar sig då att ingen ATP-syntes sker.

Intressant är att den kemiosmotiska teorin också kan förklara funktionssättet hos bakterier som *E. coli* och hos kloroplasterna där fotosyntesen sker [1]. Evolutionshistoriskt är mitokondrien troligen en bakterisläkting som invandrat i cellen och nu lever i symbios med denna.

Under laboratorieförhållanden är oxidationen av NADH med syre en starkt irreversibel process, och frågan uppstår

hur denna oxidation kontrolleras i den levande cellen så att bränsle vara används vid behov. För den i cellen alternativa energiproduktionen via den s k glykolysen, där socker förbränns anaerobt till mjölksyra, har man studerat regleringen i viss detalj. I det till glykolysen hörande enzym-systemet verkar en återkopplingsmekanism, som styr hastigheten i ett i princip irreversibelt reaktionssteg. En motsvarande analys av processerna i en mitokondrie finns ej genomförd och det är ett av huvudmålen med detta arbete att påvisa att reglermekanismen i mitokondrien är principiellt annorlunda och inbyggd i mitokondriens funktionssätt.

1.3 Utgångspunkter för arbetet

Den kemiosmotiska teorin är i sina huvuddrag accepterad, men det är ännu oklart hur de membranlokaliserade reaktionerna som diskuteras i 2.3 egentligen sker. Modern forskning har koncentrerats på att ur experiment dra slutsatser om dessa detaljer. Å andra sidan har det endast förts lösa resonemang om vad kopplingen mellan de olika reaktionerna resulterar i, och om detta totaluppförande i så fall är ett självreglerande funktionssätt. Orsaken kan vara att det inte tidigare gjorts några kvantitativa beräkningar där den elektrostatiska potentialskillnaden över mitokondriens membran och dess inverkan på jämviktsläget och det dynamiska uppförandet tagits med explicit i ekvationerna.

För att genomföra en diskussion, baserad på kvantitativa överväganden, av mitokondriens funktion måste man explicit analysera en sekvens av kopplade processer som leder från oxidation av NADH till det att ATP görs tillgängligt ute i cellen. I denna undersökning delas totalprocessen upp i ett knappt tiotal delsteg av vilka somliga karakteriseras av en uttalad icke-linearitet. Ett första mål är att finna de termodynamiska konsekvenserna av modellen. Speciellt effekten av den kraftiga olinjära kopplingen mellan

delprocesserna är av icke-trivial natur.

I kapitel 2 - 4 härleds och jämförs två olika modeller för det kemiska jämviktsläget. Baserat på dessa undersökningar byggs i kapitel 7 en kinetisk modell, vilken är nödvändig för att kunna beräkna verkningsgrader och olika uppföranden vid belastningar. Grunderna för detta härleds i kapitel 8, och i kapitel 10 presenteras samtliga resultat från studiet av de kinetiska ekvationerna. Arbetet avslutas därefter med några mer allmänna slutsatser.

2. MODELLBYGGE FÖR JÄMVIKTSLAGET

2.1 Begränsning av systemet

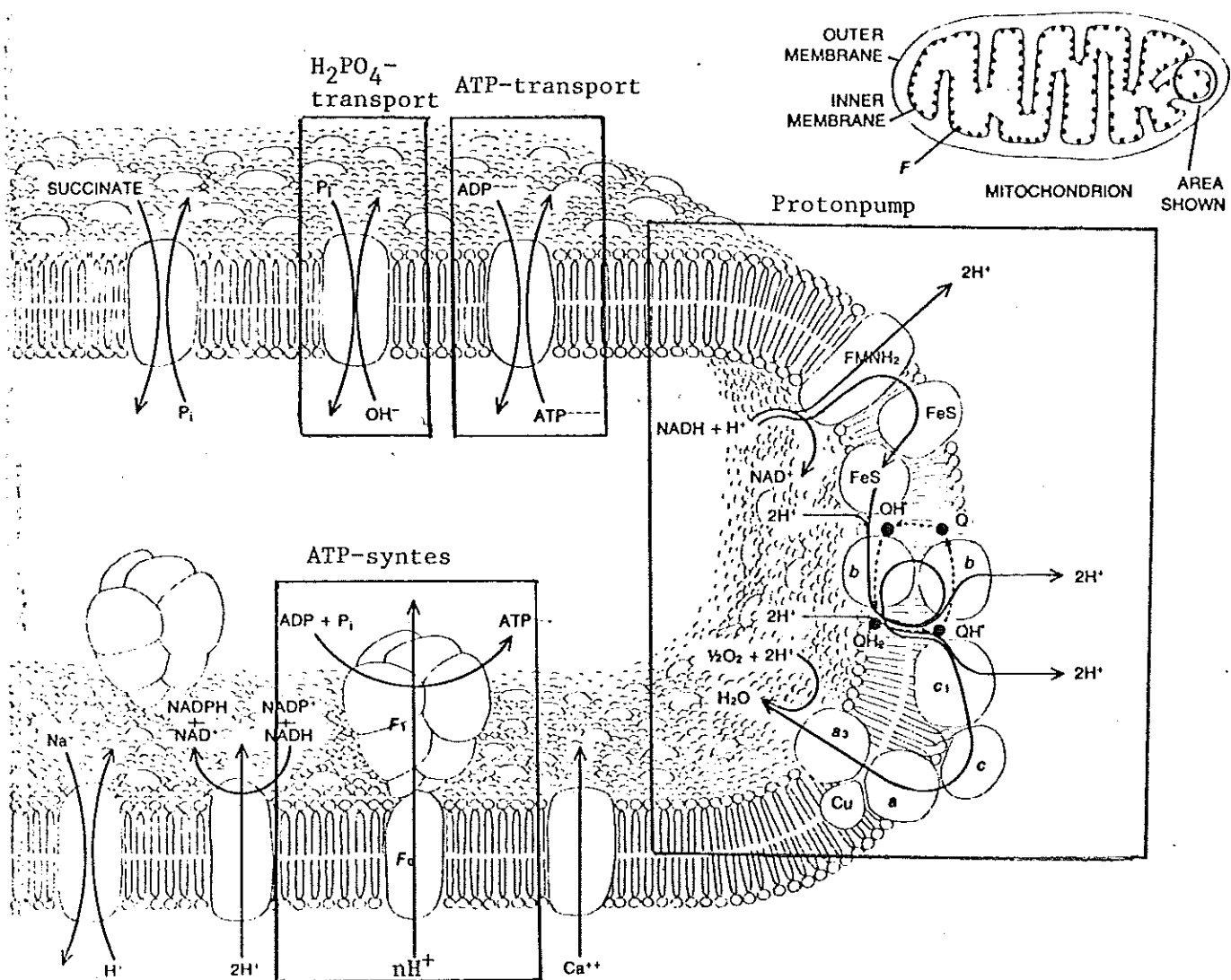
Modellbygget har begränsats till att studera den aktiva mitokondriens totala funktion från det att NADH oxideras till att den därvid frigjorda energin resulterat i att syntetiserat ATP finns tillgängligt ute i cellen.

De verksamma processerna är koncentrerade till aktiva centra i mitokondriens innermembran som visas i figur 2.1. I figuren namnges fyra processer och det är kring dessa modellen kommer att byggas.

För detaljer hur processerna sker, se [1]. Protonpumpen för ut 6 H^+ per oxiderat NADH och genererar på så sätt både en elektrostatisk potentialskillnad och en koncentrationsskillnad i H^+ mellan insida och utsida.

Den energivinst det då innebär att föra in H^+ utnyttjas av F_0-F_1 -komplexet för syntes av ATP [1]. Dagens forskning har inte kunnat bringa klarhet i hur många H^+ som förs in per syntetiserat ATP, så i modellbygget ansättes här två olika antal. Att frågan är av största betydelse visas i 2.3.2, 3.3 och 4.5. För att beskriva mitokondriens totala funktion måste man ta med transporten av ATP ut och för materialbalansen även intransporten av oorganiskt fosfat. Dessa transporter sker aktivt som förklaras i 2.3.3 och 2.3.4.

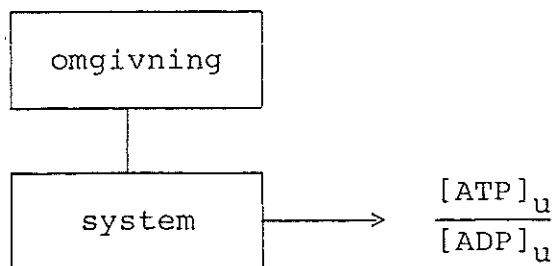
Inför konventionen att index i refererar till mitokondriens insida medan index u refererar till utsidan. Modellen formaliseras också i blockschemat figur 2.2, där omgivning och system närmare specificeras i 2.4.



MEMBRANE OF THE MITOCHONDRION has embedded in it the enzymes and other components of the respiratory chain. The arrangement of the molecules, however, is not yet certain, and the model presented here is somewhat conjectural. Respiration begins with NADH, which gives up two electrons and a proton to flavin mononucleotide (FMN); another proton is picked up from the internal medium, so that the reduced form of the molecule (FMNH₂) carries two complete hydrogen atoms. The protons are expelled and the electrons return through an iron-sulfur protein (FeS) to the inner surface of the membrane. There the two electrons are donated to two molecules of ubiquinone (Q), each of which acquires a proton to form the semiquinone (QH[•]). Unlike the other components of the respiratory chain the quinones probably migrate as molecules through the membrane (broken lines). The semiquinone takes on two more electrons

from cytochrome *b* and with two more protons from inside the mitochondrion is converted into the fully reduced hydroquinone (QH₂). Each hydroquinone gives up one electron to cytochrome *c*₁ and releases the corresponding proton outside. The remaining two electrons are then returned to the cycle through cytochrome *b* and the last two of six protons are released. Finally the two electrons deposited with cytochrome *c*₁ pass through cytochromes *c*, *a* and *a*₃ to oxygen, which is thereby reduced to water. The proton circuit is completed by the F₁-F₀ complex, where each two protons driven inward bring about the synthesis of one ATP molecule. Other processes are also powered by the proton gradient. They include the reduction of NADP⁺ by NADH, the transport of calcium (Ca⁺⁺) and sodium (Na⁺) ions and the exchange of ADP for ATP. The illustrations on this page and the next two pages are based on drawings made by Maija V. Hinkle.

Figur 2.1



Figur 2.2

2.2 Elektrostatiska potentialskillnaden och dess referenstillstånd

Potentialskillnaden ϕ definieras av

$$\phi = V_u - V_i$$

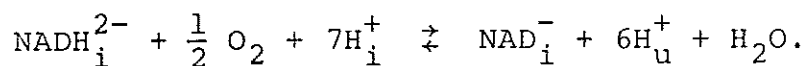
där V_u är potentialen på utsidan och V_i potentialen på insidan av mitokondriens innermembran.

Referenstillståndet, $\phi = 0$, definieras av det tillstånd då $\text{pH}_i = \text{pH}_u$ och koncentrationerna av alla ingående ämnen är lika på insida och utsida.

2.3 Jämviktsekvationer

2.3.1 Protonpumpen

Nedbrytningen av NADH till NAD sker i tre till membranet koncentrerade reaktioner. Totalreaktionen är dock [1]



Jämviktskonstanten definieras av

$$K_1 = \frac{[\text{NAD}]_i [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}]_i \cdot [\text{O}_2]^{1/2} \cdot [\text{H}^+]_i^7}.$$

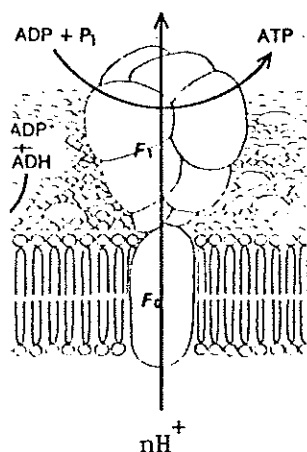
Eftersom reaktionen medför att sex plus-laddningen förs över membranet inifrån ut, så kommer K_1 att bero av potentialen ϕ enligt

$$K_1 = K_{10} \cdot e^{-6e\phi/kT},$$

där K_{10} är jämviktskonstanten då $\phi = 0$.

2.3.2 ATP-syntesen

Uppgifter om antalet protoner, n , som går utifrån in genom F_0 - F_1 -komplexet vid ATP-syntesen varierar i litteraturen.

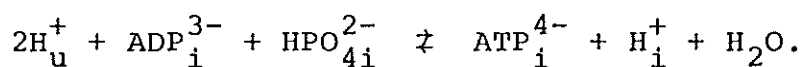


Figur 2.3

Som nämnts tidigare (2.1) studeras här två olika modeller, nämligen $n=2$ och $n=1$. Det förtjänar att påpekas att mitokondrien då som helhet tar in 3 resp 2 protoner p g a aktiv intransport av $H_2PO_4^-$ (se 2.3.4).

2.3.2.1 Modell 1 ($n=2$)

För $n=2$ blir totalreaktionen



Jämviktskonstanten definieras av

$$K_2 = \frac{[\text{ATP}]_i \cdot [\text{H}^+]_i}{[\text{H}^+]_u^2 \cdot [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i}.$$

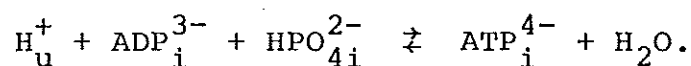
Eftersom reaktionen innebär att två plus-laddningar förs utifrån in blir

$$K_2 = K_{20} \cdot e^{2e\phi/kT},$$

där K_{20} är jämviktskonstanten då $\phi = 0$.

2.3.2.2 Modell 2 ($n=1$)

Totalreaktionen för $n=1$ är

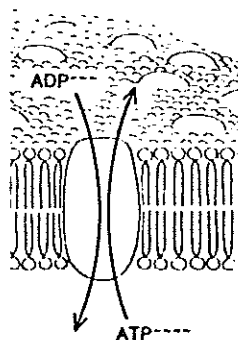


Nu förs bara en plus-laddning in, så jämviktsekvationen blir i detta fall

$$K_{20} e^{e\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_i}{[\text{H}^+]_u \cdot [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i}.$$

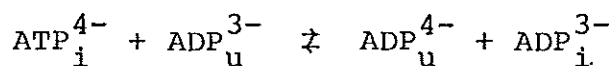
2.3.3 ATP-transporten

För att det syntetiserade ATP:et ska kunna tillgodosöras måste det transporteras ut.



Figur 2.4

Reaktionen



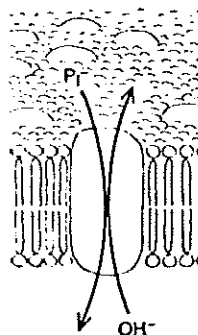
representerar en nettoinförsel av en plus-laddning. Jämviktsekvationen blir därför

$$e^{e\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_u \cdot [\text{ADP}]_i}{[\text{ATP}]_i \cdot [\text{ADP}]_u}$$

Eftersom $\phi > 0$, kommer denna transport att gynnas av potentialen. Transporten sker alltså aktivt, dvs p g a kopplingen till andra processer kommer transporten att gynnas. Om denna koppling sker till en kemisk reaktion eller till ett massflöde kallas det primär respektive sekundär aktiv transport. I detta fall sker kopplingen via potentialen, något som än så länge tycks sakna benämning.

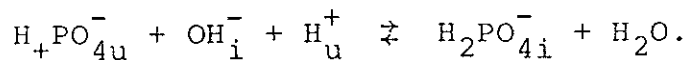
2.3.4 H_2PO_4^- -transporten

För att klara materialbalansen måste man också transportera in oorganiskt fosfat. Direkt transport av H_2PO_4^- skulle innebära att ta in en minusladdning, vilket missgynnas av potentialskillnaden ϕ . Genom att göra transporten sekundärt aktiv, dvs i det här fallet koppla införsel av H_2PO_4^- till simultan införsel av en H_u^+ eller utförsel av en OH^- , påverkas inte transporten av ϕ .



Figur 2.5

Oavsett om kopplingen sker till OH_i^- eller H_u^+ blir totalreaktionen



Då ϕ inte påverkar jämvikten blir ekvationen

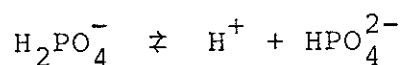
$$\frac{1}{K_w} = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]_i}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]_u \cdot [\text{OH}^-]_i \cdot [\text{H}^+]_u}$$

eller genom att $[\text{OH}^-]_i \cdot [\text{H}^+]_i = K_w$

$$1 = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]_i \cdot [\text{H}^+]_i}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]_u \cdot [\text{H}^+]_u}.$$

2.3.5 Övriga jämvikter

Nu återstår endast jämvikten mellan HPO_4^{2-} och H_2PO_4^- som både inne och ute ges av



med jämviktsekvation

$$K_p = \frac{[\text{HPO}_4^{2-}]_{i,u} \cdot [\text{H}^+]_{i,u}}{[\text{H}_2\text{PO}_4^-]_{i,u}}.$$

2.3.6 Totalmängdsrelationer

2.3.6.1

Eftersom transporten av ATP sker i utbyte mot ADP, kommer totala mängden adenosin vara konstant både inne i och utanför mitokondrien, dvs

$$[\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i = \text{SUMAI}$$

$$[\text{ATP}]_u + [\text{ADP}]_u = \text{SUMAU},$$

där SUMAI och SUMAU är den konstanta totalkoncentrationen inne respektive ute.

2.3.6.2

Oorganiskt fritt fosfat förekommer som HPO_4 , H_2PO_4 eller bundet i ATP, som har en H_2PO_4 mer än ADP.

Totalkoncentrationen fritt fosfat, SUMP, är känd och för att erhålla mängdrelationer införes förutom innervolymen även en yttre "effektiv" volym. Att totala mängden fosfat är konstant beskrivs då av

$$\begin{aligned} \text{Volym}_i \cdot \text{SUMP} + \text{Volym}_u \cdot \text{SUMP} &= \\ &= \text{Volym}_i \cdot ([\text{ATP}]_i + [\text{HPO}_4]_i + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i) + \\ &\quad + \text{Volym}_u \cdot ([\text{ATP}]_u + [\text{HPO}_4]_u + [\text{H}_2\text{PO}_4]_u). \end{aligned}$$

Inför

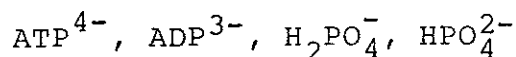
$$v = \frac{\text{Volym}_u}{\text{Volym}_i}.$$

Detta ger

$$\begin{aligned} (1+v) \text{ SUMP} &= [\text{ATP}]_i + v[\text{ATP}]_u + [\text{HPO}_4]_i + v[\text{HPO}_4]_u + \\ &\quad + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i + v[\text{H}_2\text{PO}_4]_u. \end{aligned}$$

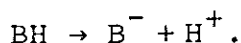
2.3.7 Elektrostatiska potentialskillnaden som funktion av koncentrationer

Vid referenstillståndet då laddningsneutralitet gäller, föreligger följande laddade partiklar inne i mitokondrien:



och en buffert BH.

Beroende på pH-värdet undergår bufferten reaktionen (titrering)



Ansätt

$$[B^-] - [B^-]_{\text{ref}} = \text{BUFF} \cdot \{\text{pH} - \text{pH}_{\text{ref}}\},$$

dvs att koncentrationen av ämnen som titrerar per pH-intervall är konstant = BUFF. Eftersom H^+ förekommer i så små koncentrationer, försummas dess inverkan på totalladdningen inne resp ute.

Antal utförda positiva laddningar vid ett godtyckligt tillstånd ges nu av

$$\begin{aligned} & \text{Volym}_i \cdot N_A \{ [B^-] - [B^-]_R + 4([ATP^{4-}]_i - [ATP^{4-}]_{iR}) + \\ & + 3([ADP^{3-}]_i - [ADP^{3-}]_{iR}) + 2([HPO_4^{2-}]_i - [HPO_4^{2-}]_{iR}) + \\ & + ([H_2PO_4^-]_i - [H_2PO_4^-]_{iR}) \} = [[ATP]_i + [ADP]_i =] = \\ & \qquad \qquad \qquad = \text{SUMAI} \\ & = \text{Volym}_i \cdot N_A \{ \text{BUFF} \cdot (\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [ATP]_i - [ATP]_{iR} + \\ & + 2([HPO_4]_i - [HPO_4]_{iR}) + [H_2PO_4]_i - [H_2PO_4]_{iR} \}, \end{aligned}$$

där N_A är Avogadras tal.

Detta ger med kapacitansen c och elementarladdningen e ,
.. potentialskillnaden

$$\begin{aligned} \phi = \frac{\text{Volym}_i}{c} \cdot e \cdot N_A \cdot \{ & \text{BUFF} (\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [ATP]_i - [ATP]_{iR} + \\ & + 2[HPO_4]_i - 2[HPO_4]_{iR} + [H_2PO_4]_i - [H_2PO_4]_{iR} \}. \end{aligned}$$

Inför beteckningen

$$\frac{\text{Volym}_i}{c} = \text{VIC}.$$

Laddade partiklar som Na^+ , K^+ och Ca^{2+} påverkar också potentialen, och hur detta kan tänkas inverka på sambandet ovan diskuteras i 3.2.3.

2.4 Sammanställning av ekvationerna

De två modellerna för jämvikt skiljer sig endast vad gäller ATP-syntesen där modell 1 (n=2) representeras av ekvation 2.A och modell 2 (n=1) av ekvation 2.B. Modellerna som helhet blir då

$$K_{10} e^{-6e\phi/kT} = \frac{[\text{NAD}]_i \cdot [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}]_i \cdot [\text{O}_2]^{1/2} \cdot [\text{H}^+]_i^7} \quad (1)$$

$$K_{20} e^{2e\phi/kT} = \frac{[\text{H}^+]_i \cdot [\text{ATP}]_i}{[\text{H}^+]_u^2 \cdot [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i} \quad (2.A)$$

$$K_{20} e^{e\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_i}{[\text{H}^2]_u \cdot [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i} \quad (2.B)$$

$$e^{e\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_u \cdot [\text{ADP}]_i}{[\text{ATP}]_i \cdot [\text{ADP}]_u} \quad (3)$$

$$l = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4]_i \cdot [\text{H}^+]_i}{[\text{H}_2\text{PO}_4]_u \cdot [\text{H}^+]_u} \quad (4)$$

$$K_p = \frac{[\text{HPO}_4] [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} \quad (i, u) \quad (5, 6)$$

$$(1+V) \text{ SUMP} = [\text{ATP}]_i + V[\text{ATP}]_u + [\text{HPO}_4]_i + V[\text{HPO}_4]_u + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i + V[\text{H}_2\text{PO}_4]_u \quad (7)$$

$$\text{SUMAI} = [\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i \quad (8)$$

$$\text{SUMAU} = [\text{ATP}]_u + [\text{ADP}]_u \quad (9)$$

$$\phi = \text{VIC} \cdot e \cdot N_A \cdot \{ \text{BUFF}(\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [\text{ATP}]_i - [\text{ATP}]_{iR} + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} + 2[\text{HPO}_4]_i - 2[\text{HPO}_4]_{iR} \}. \quad (10)$$

Obekanta är

$$\phi, [H^+]_i, [ATP]_i, [ADP]_i, [ATP]_u, [ADP]_u, [HPO_4]_i, \\ [H_2PO_4]_i, [HPO_4]_u, [H_2PO_4]_u.$$

Detta ger 10 obekanta eller tillståndsvariabler och 10 ekvationer, vilka i huvuddrag beskriver det system som definierades i 2.2.

Omgivningen till systemet kommer in i ekvationerna i form av kvoten

$$\frac{[NAD]_i}{[NADH]_i},$$

syrets partialtryck

$$[O_2]$$

och vätejonkoncentrationen utanför mitokondrien

$$[H^+]_u.$$

För uppskattningar av dessa, värden på termodynamiska storheter och totalkoncentrationer, se Appendix A.

3. ANALYS AV JÄMVIKTSMODELLEN

3.1 Omgivningens inverkan

Systemets regler tekniska omgivning är kvoten

$$\frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}]}$$

syrets partialtryck $[\text{O}_2]$ och $[\text{H}^+]_u$. Detta begrepp ska skiljas från omgivningen i rummet.

På $[\text{H}^+]_u$ har man goda mätdata, medan man för de båda andra har uppskattningar. Dessa uppskattningar ingår endast i ekvation 1, och följande räkning visar att fel i dem är av underordnad betydelse för jämviktsläget:

$$K_{10} e^{-6e_0\phi/kT} = \frac{[\text{NAD}] \cdot [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}] \cdot [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{[\text{H}^+]_i^7}$$

Logaritmering ger

$$\log [\text{H}^+]_i = \frac{1}{7} \log \left(\frac{[\text{NAD}] \cdot [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}] \cdot [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{K_{10}} \right) + \frac{6e_0 \log e}{7kT} \phi.$$

Med data från Appendix A

$$12.53 - \text{pH}_i = \frac{1}{7} \log \left(\frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}]} \cdot \frac{1}{[\text{O}_2]^{1/2}} \right) + 14.40 \cdot \phi.$$

Nu ger $\frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}]} = 4$ och $[\text{O}_2] = 0.01$ att

$$\frac{1}{7} \log \left(\frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}]} \cdot \frac{1}{[\text{O}_2]^{1/2}} \right) = 0.23.$$

Alltså

$$12.3 - \text{pH}_i = 14.14 \cdot \phi.$$

En så stor felaktig uppskattning som en tiopotens i nikotinamidkvoten eller två tiopotenser i syrets partialtryck skulle ge korrektionen $\frac{1}{7} = 0.14$ till konstanten 12.3, vilket är nära nog försumbart.

Den fysikaliska anledningen till att systemomgivningen endast svagt ändrar sambandet mellan pH_i och ϕ är att K_{10} är så stor som $5 \cdot 10^{45}$.

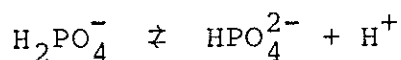
3.2 Känsliga parametrar

För alla parametrar, med undantag av tre, finns goda mätdata i litteraturen (Appendix A). Dessa tre uppskattade parametrar, deras fysikaliska tolkning och deras inverkan i ekvationerna diskuteras var för sig.

3.2.1 BUFF

Införandet av BUFF innebär att totala buffertkapaciteten, dvs koncentrationen av ämnen som undergår reaktionen $\text{BH} \rightarrow \text{B}^- + \text{H}^+$, delats upp i två delar som behandlas olika.

Dels den buffert som utgörs av oorganiskt fosfor, som föreligger i koncentrationen ca 10 mM. Denna behandlas exakt genom att reaktionen



är explicit medtagen i ekvationerna.

Dels övriga buffertar som föreligger i summakoncentrationen BUFF (ca 1 mM) per $\Delta\text{pH} = 1$. Denna approximation innebär att om pH_i ökar en enhet övergår ca 1 mM BH helt till B^- och H^+ , där alltså B^- kan vara olika ämnen för olika pH-värden.

Intuitivt inses att genom att den största bufferten är explicit medtagen kommer fel i uppskattningen av BUFF inte att vara kritiskt. Vid lösning av ekvationerna visar det sig också att i ekvation 10 kommer termerna

$$[\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} + [\text{HPO}_4]_i - [\text{HPO}_4]_{iR}$$

att dominera över

$$\text{BUFF} (\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}).$$

3.2.2 V

V, som är kvoten mellan den yttre volym mitokondrien växelverkar med och mitokondriens egen volym, antas ligga i storleksordningen 1 - 10. Dess inverkan på lösningen diskuteras i 4.4.

3.2.3 VIC

Problemet med denna parameter är att i

$$\frac{\text{Volym}_i}{c} = \text{VIC}$$

bestämna totala kapacitansen c. Denna får väsentliga bidrag både från membranets funktion som plattkondensator och från övriga kapacitiva effekter. Dessa effekter består huvudsakligen i att när de laddningar som ingår i systemekvationerna transporteras över membranet, så ökar ϕ .

Detta medför i sin tur att andra laddade partiklar som Na^+ , K^+ och Ca^{2+} kommer att vandra över membranet på så sätt att potentialskillnaden delvis jämnas ut.

Formaliserat

$$\begin{aligned} \phi = & \text{VIC} \cdot eN_A \{ \text{BUFF} (\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [\text{ATP}]_i - [\text{ATP}]_{iR} + \\ & + 2[\text{HPO}_4]_i - 2[\text{HPO}_4]_{iR} + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} \} + \\ & + \text{VIC} \cdot eN_A \{ [\text{NA}]_i - [\text{NA}]_{iR} + \dots \}. \end{aligned}$$

Sättes nu denna sista term proportionell mot potentialskillnaden erhålles

$$\begin{aligned} \phi = & \frac{\text{VIC} \cdot eN_A}{1 - K} \cdot \{ \text{BUFF} (\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [\text{ATP}]_i - [\text{ATP}]_{iR} + \\ & + 2[\text{HPO}_4]_i - 2[\text{HPO}_4]_{iR} + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} \}. \end{aligned}$$

Eftersom det i ekvation 10 endast ingår systemladdningar, bör alltså VIC modifieras med någon faktor. Genom att vid parameterintervalen låta VIC variera över ett stort område, blir dock den enda approximationen att totala kapacitansen ansätts som konstant.

3.3 Kriterier på god modell

Mitokondrien har troligen hög verkningsgrad [2] och arbetar alltså nära jämvikt (se 10.5). Lösningen till jämvikts-ekvationerna bör därför någorlunda stämma överens med vad som är experimentellt känt för en arbetande mitokondrie.

Mest etablerade fakta är

(i) Kvoten

$$\frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u}$$

utanför mitokondrien är av storleksordningen 1 [3]. Antagligen regleras många processer ute i cellen av just denna kvot [3].

(ii) pH-värdet inne i mitokondrien ökar till ca 9 (Appendix F).

Att modellen uppfyller generella termodynamiska krav är ekvivalent med att det existerar en lösning till jämvikts-ekvationerna.

4. LÖSNING AV EKVATIONERNA

4.1 Inledning

Ekvationslösandet har som mål för det första att studera ekvationsystemets egenskaper och för det andra att finna parametervärden så att kriterierna på god modell (se 3.3) uppfylls.

Första steget är att bestämma referensläget för potentialskillnaden. Observera att i dessa räkningar ingår inte någon av de tre känsliga parametrarna, och att referenstillståndet är det samma för både modell 1 och 2.

Andra steget är att lösa jämviktsekvationerna för att kunna jämföra de båda modellerna.

För olika fall varieras totala kapacitansen, dvs VIC, tills överensstämmelse med experimentella data erhållits. Den numeriska lösningsmetoden beskrivs i kapitel 5.

4.2 Referenstillståndet

Enligt 3.2 definieras referenstillståndet som det tillstånd då $\phi = 0$ och alla koncentrationer är lika stora både inne och ute. Tillståndet existerar och är inte något hypotetiskt standardtillstånd.

Den fysikaliska anledningen till att mitokondrien antar detta tillstånd är att protonpumpen stannar genom att nikotinamidkvoten $[NAD]/[NADH]$ blir stor eller att syrets partialtryck $[O_2]$ blir mycket litet. Detta motsvarar en strypning i energitillförseln i ena fallet i form av $[NADH]$ -strypning och i andra fallet i form av $[O_2]$ -strypning.

I ekvationerna motsvaras detta av att ekvationerna 1 och 10, som beskriver generering av ΔpH_i och ϕ , ersätts med ekvationerna $pH_i = pH_u$ och $\phi = 0$. Övriga ekvationer är oförändrade. Variabler väljs till

$$x = [ATP]_i = [ATP]_u$$

$$y = [HPO_4]_i = [HPO_4]_u.$$

Ekvationerna 3 och 4 är direkt uppfyllda, och insättning av ekvationerna 5, 6, 8 och 9 i 2 och 7 ger följande ekvationssystem

$$\begin{cases} K_{20} \cdot [H^+]_u = \frac{x}{(\text{SUMAI} - x) \cdot y} \\ (1+V) \text{ SUMP} = (1+V) x + (1+V) y + y \frac{[H^+]_i}{K_p} + y \frac{[H^+]_u}{K_p} V. \end{cases}$$

Förkortning med kritiska parametern $(1+V)$ ger

$$\begin{cases} K_{20} \cdot [H^+]_u = \frac{x}{(\text{SUMAI} - x) \cdot y} \\ \text{SUMP} = x + \left(1 + \frac{[H^+]_u}{K_p}\right) y. \end{cases}$$

Med data från Appendix A blir lösningen

$$x = 5.5834 \cdot 10^{-9} \text{ mM},$$

$$y = 7.6642 \text{ mM}.$$

Eftersom räkningarna endast grundar sig på relativt säkra parametrar, är referenstillståndet väl beskrivet av

$$\phi = 0$$

$$pH_{iR} = 7$$

$$[ATP]_{iR} = 5.5834 \cdot 10^{-9} \text{ mM}$$

$$[HPO_4]_{iR} = 7.6642 \text{ mM}.$$

4.3 Modell 1

Det tycks inte finnas någon realistisk parameteruppsättning som gör att lösningen till ekvationerna för modell 1 uppfyller kriterierna i 3.3.

Följande överslagsräkning kan motivera varför. Antag att $\text{pH}_i = 9$. Ekvation 1 ger då

$$e^{e\phi/kT} \approx 7 \cdot 10^3.$$

Ekvation 3 och 2.A ger direkt att

$$\begin{aligned} \frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u} &= e^{e\phi/kT} \frac{[\text{ATP}]_i}{[\text{ADP}]_i} = e^{e\phi/kT} K_{20} e^{2e\phi/kT} \frac{[\text{H}^+]_u^2}{[\text{H}^+]_i} \text{HPO}_4 \text{ i} \approx \\ &\approx 10^7 \cdot [\text{HPO}_4]_i. \end{aligned}$$

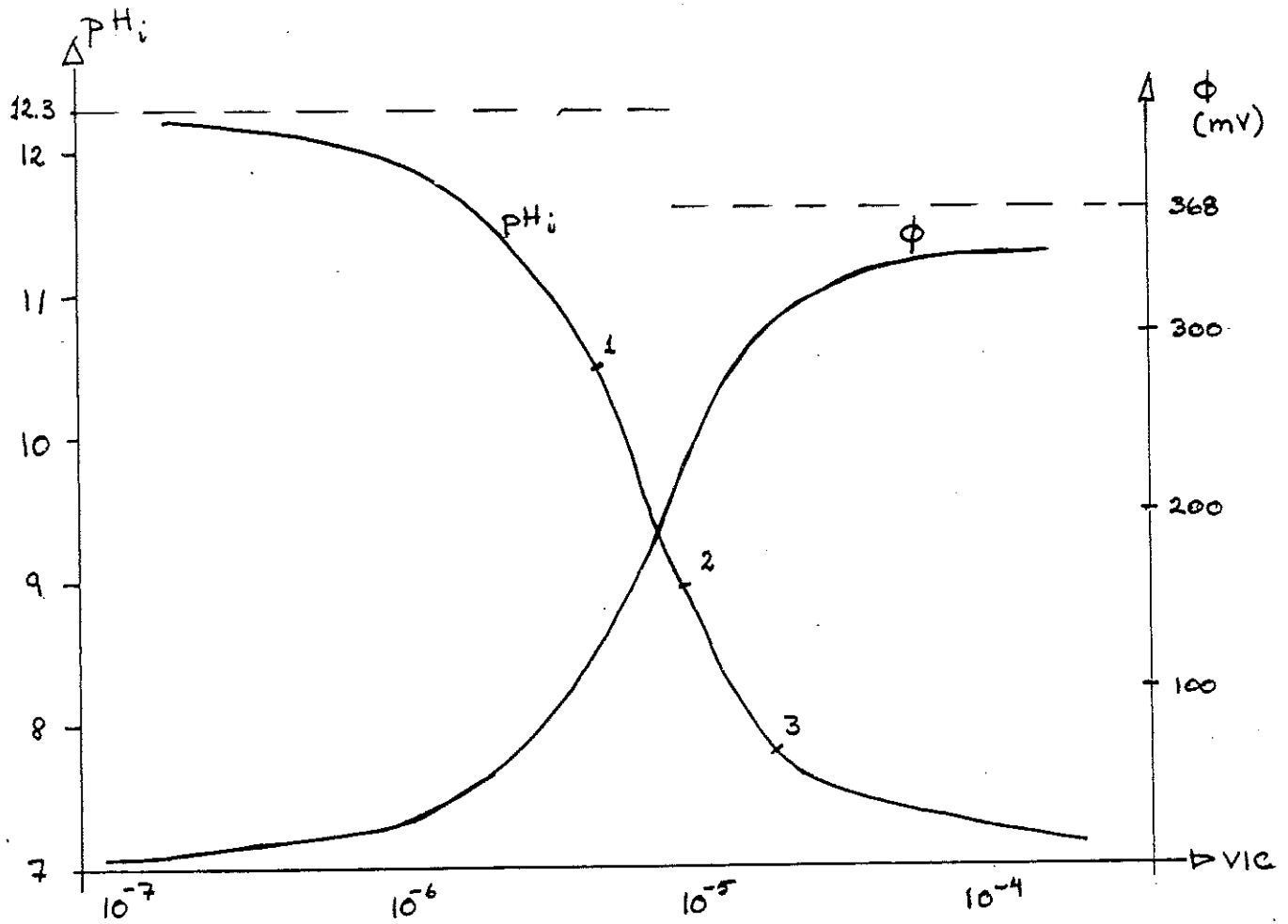
Eftersom $\text{HPO}_4 \text{ i}$ som minst kan tänkas vara 0.001 M, kan svårligen både kravet på $\text{pH}_i = 9$ och kravet på $[\text{ATP}]_u/[\text{ADP}]_u$ av storleksordning 1 samtidigt uppfyllas.

4.4 Modell 2

För modell 2 redovisas för två värden på V lösningens beroende av VIC i figur 4.1 och 4.2.

Balansen mellan pH_i och ϕ kan spåras direkt i ekvation 10 och 1. Om VIC är litet kommer ϕ att vara liten och den energi som frigörs i ekvation 1 lagras helt och hållet i en pH -gradient. Är VIC stort kommer hela energin i stället att lagras i potentialen. Det visade sig vid räkningarna att för det värde på VIC då pH_i är 9 uppfyller hela lösningen kriterierna på god modell. I stort sett translaterar värdet på V bara kurvan i sidled.

De parameterkombinationer som här visas ge goda modeller är (VIC, V) lika med $(10^{-5}, 10)$ eller $(7.7 \cdot 10^{-5}, 1)$.



$$V = 10$$

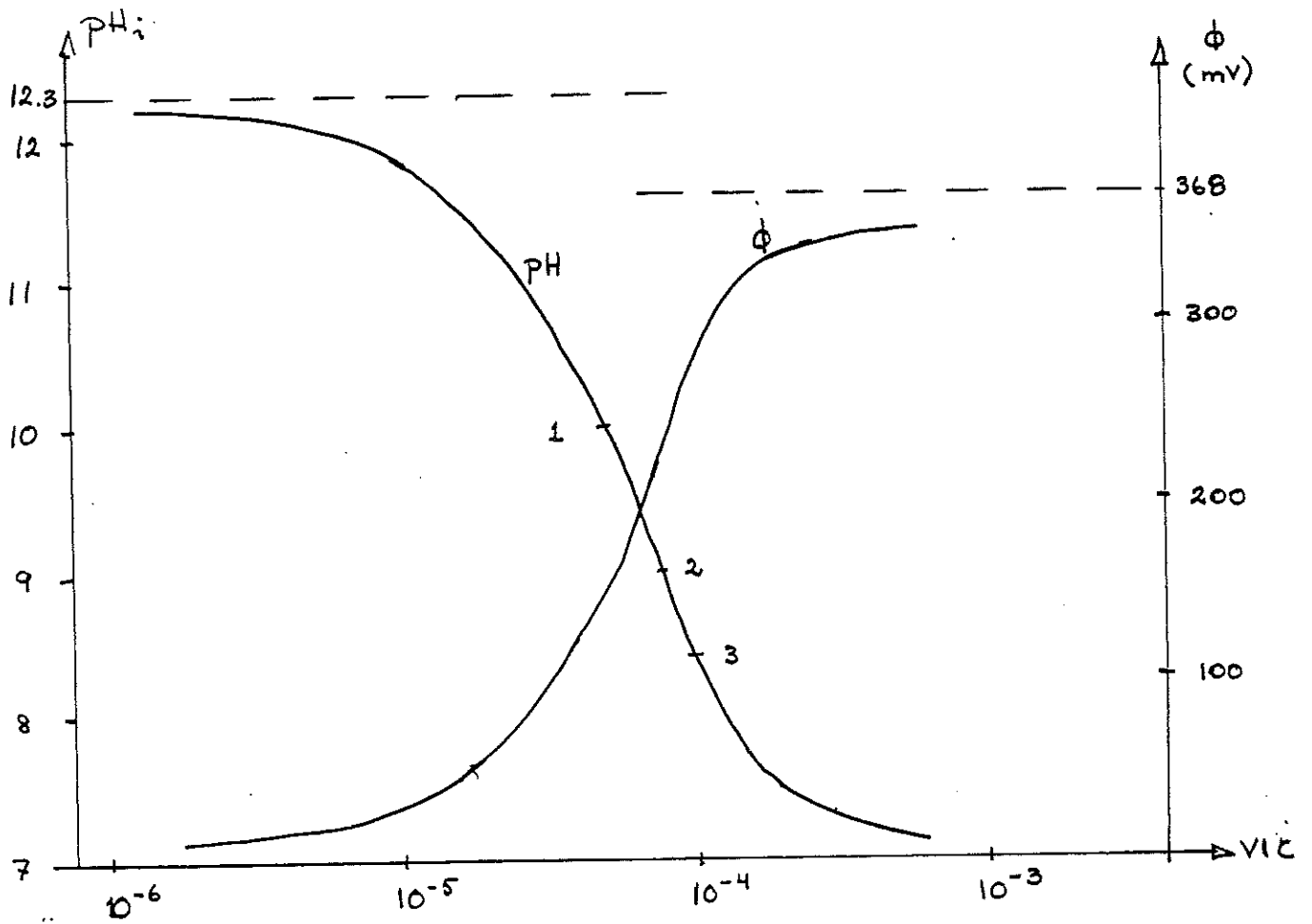
Modell 2

$$1 \quad \frac{[ATP]_u}{[ADP]_u} = 10^{-3}$$

$$2 \quad \frac{[ATP]_u}{[ADP]_u} = 2.5$$

$$3 \quad \frac{[ATP]_u}{[ADP]_u} = 10^3$$

Figur 4.1



$$V = 1$$

Modell 2

$$1 \quad \frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u} = 2.7 \cdot 10^{-4}$$

$$2 \quad \frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u} = 0.53$$

$$3 \quad \frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u} = 12$$

Figur 4.2

Övriga parametrar enligt Appendix A.

Även om det är en direkt följd av ekvation 1 kan det påpekas att för de goda lösningarna ligger ungefär lika mycket energi i pH-gradienten som i ϕ .

4.5 Slutsatser

Två invändningar kan möjligen göras mot resultaten. För det första att mitokondrien inte arbetar nära jämvikt, men gör den inte det blir verkningsgraden dålig, vilket kvantitativt visas i 10.5. För det andra att modellen är otillräckligt komplex.

I annat fall ger räkningarna som endast grundar sig på termodynamiska jämviktsresonemang att man bör tolka experiment som visar att mitokondrien tar in två eller flera protoner per syntetiserat ATP som att en proton går till syntesen, en till aktiv transport av H_2PO_4 och eventuella övriga till aktiv transport av någon av de joner som inte finns med i modellen exempelvis Ca^{2+} .

Det visar sig också att till och med i denna enkla modell kan kopplingen via potentialen ge jämviktslägen som har de egenskaper man förväntar sig. Tolkningen är att den elektrokemiska potentialen fungerar som motkraft (regulator) till NADH-oxidationen.

5. NUMERISKA METODER

5.1 Biblioteksrutin

I NAG-biblioteket ingår ett program, CO5NAE, för lösandet av n olinjära ekvationer, $R(x) = 0$, med n obekanta, $x = (x_1, \dots, x_n)^T$. Användaren specificerar funktionerna $R_i(x)$, varefter rutinen CO5NAE beräknar Jacobi-matrisen med hjälp av differensapproximationen

$$\frac{\partial R_i}{\partial x_j} \approx \frac{R_i(x + \text{DELTA} * \bar{e}_j) - R_i(x)}{\text{DELTA}}$$

Uppskattningen av denna matris och dess invers utnyttjas för att kombinera Newtons metod med steepest-descent-metoden, på så sätt att till en början används steepest-descent-metoden med små steg, för att sedan när man närmar sig lösningen öka konvergenshastigheten genom att använda Newtons metod med full steglängd. Iterationen avbryts då

$$\sum_j^n [R_i(x)]^2 \leq \text{FTOL},$$

där FTOL ges av användaren.

5.2 Numerisk kommentar

Lösandet av ekvationerna visade sig vara förknippat med numeriska svårigheter, om inte variabler och form på ekvationerna valdes på lämpligt sätt för varje parameteruppställning.

Konvergenshastigheten gynnades av följande åtgärder:

- På grund av stora numeriska konstanter logaritmeras ekvation 1. Detta ger även ett enkelt samband mellan pH_i och ϕ , vilket gör det möjligt att eliminera ϕ ur

ekvationerna om också ekvation 2 och 3 logaritmeras.

- Eliminera för hand ekvationer med enkel struktur.
- Skala variablerna så att de är av ungefär samma storlek.
- För koncentrationer som ingår i additiva samband, som t ex $[\text{ADP}]_u + [\text{ATP}]_u = \text{SUMAU}$, väljs som variabel den som är minst. Detta varierar kraftigt med parametervärdena och det krävs alltså olika program för att klara olika fall.

För beräkningarna som redovisas i nästa kapitel har följande variabler valts:

$$x_1 = \log [\text{H}^+]_i$$

$$x_2 = [\text{ATP}]_i$$

$$x_3 = [\text{ADP}]_u \text{ eller } [\text{ATP}]_u$$

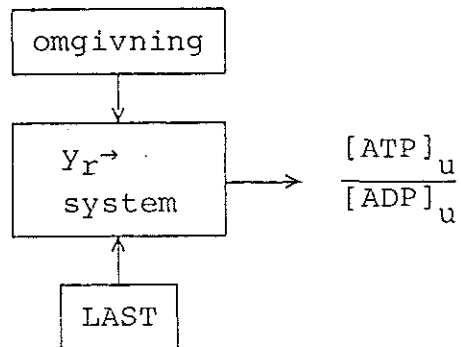
$$x_4 = [\text{HPO}_4]_u$$

Ekvationerna 1, 4-6, 8-9 elimineras genom insättning i ekvationerna 2, 3, 7, 10 som skrivs på formen $R_i(x) = 0$, $i = 1-4$. För detaljer och program se Appendix B.

6. INLEDNING TILL STUDIET AV KINETIKEN

6.1 Allmänt

Det system man nu vill studera dynamiken hos kan i block-schema beskrivas av:



Vill man återknyta till tanken om självreglering kan man betrakta

$$y_r = \left(\frac{[ATP]_u}{[ADP]_u} \right)_{jmv}$$

som ett inre referensvärde definierat av kemisk jämvikt dit systemet i så fall alltid strävar. LAST kan ses som en störning som vill ändra adenosinkvoten.

För att studera systemet studeras en kinetisk modell för de olika parameterkombinationer (VIC, V) som i 4.4 visade sig ge rimliga värden. Detta medger att man kan diskutera hur regleringen kan tänkas ske och hur verkningsgraden ändras med lastens storlek, fortfarande med elektrostatiska potentialen som den väsentliga kopplingen mellan reaktionerna.

Speciellt intressant är att räkningarna på verkningsgraden kommer att rättfärdiga påståendet om att arbetspunkten troligen ligger nära kemisk jämvikt.

6.2 Stabilitet

Mitokondrien är ett tidshierarkiskt system, dvs innehåller reaktioner med väldigt olika stora hastighetskonstanter. Detta anses vara stabilitetsfrämjande för system med irreversibla processer, men observera att kopplingen via ϕ har gjort att varje reaktion fungerar reversibelt, vilket illustreras i 10.2. Den riktiga vägen att visa stabilitet torde vara att använda Lyapunovteori med totala entropiproduktionen som Lyapunovfunktion.

7. MODELLBYGGE FÖR INSVÄNGNING TILL JÄMVIKT

7.1 Uppdelning i långsamma och snabba reaktioner

Experiment har gjort troligt vilka reaktioner i systemet (definierat i kap 2) som begränsar hastigheten med vilken syntetiserat ATP kan erhållas utanför mitokondrien. Förhoppningen är att genom att endast behandla de långsammaste reaktionerna dynamiskt ändå kunna belysa huvuddragen för reglering både vid belastning och insvängningsförlopp.

Modellbygget utförs i anslutning till figur 2.1 och de där namngivna processerna.

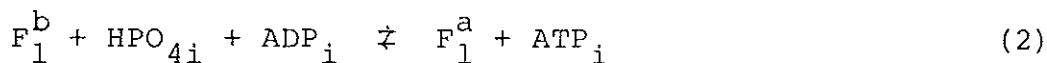
Till att börja med kan man konstatera att av jämviktsekvationerna är totalmängdsrelationerna och potentialens beroende av koncentrationerna momentana förlopp. Dessutom är jämvikten mellan HPO_4 och H_2PO_4 och antagligen transporten av den relativt lilla molekylen H_2PO_4 över membranet mycket snabba förlopp i det här sammanhanget. I litteraturen finns redovisat kinetiska experiment [4] som tyder på att protonpumpen är minst tio gånger snabbare än mitokondriens totalhastighet. Denna totalhastighet tycks begränsas av ATP-syntesen vid små potentialskillnader och av ATP-transporten då ϕ har växt upp [1].

En naturlig ansats blir nu att betrakta även protonpumpen som momentan och göra modellbygge för kinetiken i ATP-syntesen och ATP-transporten.

7.2 ATP-syntesen

I F_0 - F_1 -komplexet anses ATP-syntesen (se figur 2.3) ske i huvudsak enligt följande mekanism





vilket bygger på att protein F_1 har två olika konformationer. Intransporten av en proton används för omformning till en energirikare form av F_1 , där sedan den till F_1 lokaliserade syntesen kan utnyttja denna energi [1].

Antagligen är transporten av H^+ genom protein F_0 långsammare än andra steget så behandlingen av kinetiken blir att ansätta reaktion 1 som hastighetsbestämmande och att reaktion 2 befinner sig i jämvikt. Studium i elektronmikroskop ger enligt figur 2.1 att F_1 befinner sig inne i mitokondrien och att processer lokaliserade där därför troligen är potentialberoende. Om hela potentialberoendet läggs i den enda process som sker över membranet nämligen protontransporten och man beaktar att totalkoncentrationen av F_1 är konstant erhålles

$$\left\{ \begin{array}{l} v_2 = k_{210} e^{\alpha_{210}\phi} [\text{H}^+]_u \cdot [F_1^a] - k_{211} [F_1^b] \quad (i) \\ \frac{[F_1^a] \cdot [\text{ATP}]_i}{[F_1^b] \cdot [\text{HPO}_4]_i \cdot [\text{ADP}]_i} = K_{22} \quad (ii) \\ [F_1^a] + [F_1^b] = F_{1\text{TOT}} \quad (iii) \end{array} \right.$$

Elimination av $[F_1^a]$ och $[F_1^b]$ ger

$$v_2 = k_{210} e^{\alpha_{210}\phi} [\text{H}^+]_u F_{1\text{TOT}} \frac{K_{22} \cdot [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i}{[\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i \cdot K_{22}} - k_{211} F_{1\text{TOT}} \frac{[\text{ATP}]_i}{[\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i \cdot [\text{HPO}_4]_i \cdot K_{22}}$$

Termodynamiskt definieras jämvikt av att det inte sker någon nettoomsättning. Ekvationen $v_2 = 0$ ska alltså ge tillbaka jämviktsekvationen 2.B (se 2.3.2). Identifiering av koefficienter ger nu

$$\frac{k_{210}}{k_{211}} K_{22} e^{\alpha_{210}\phi} = K_{20} e^{e\phi/kT},$$

vilket medför villkoren

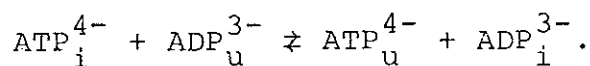
$$\begin{cases} \frac{k_{210}}{k_{211}} K_{22} = K_{20} \\ \alpha_{210} = \frac{e}{kT} \end{cases}$$

K_{20} är jämviktskonstanten definierad i 2.3.2.

7.3 ATP-transport

Utbytet av adenosinmolekyler över membranet sker som i

2.3.3 enligt reaktionen



Denna transport som enligt figur 2.4 är någorlunda symmetrisk med avseende på ϕ behandlas som en elementarreaktion med lika potentialberoende i fram- och återreaktionen.

Alltså

$$v_3 = k_{30} e^{\alpha_{30}\phi} [\text{ATP}]_i [\text{ADP}]_u - k_{31} e^{-\alpha_{31}\phi} [\text{ATP}]_u [\text{ADP}]_i.$$

Lika potentialberoende ger

$$\alpha_{30} = \alpha_{31}. \quad (\text{i})$$

Vid jämvikt är omsättningen noll, vilket vid jämförelse jämviktsekvation 3 (se 2.3.3) ger villkoren

$$\frac{k_{30}}{k_{31}} e^{(\alpha_{30} + \alpha_{31})\phi} = e^{\frac{e}{kT}\phi} \Rightarrow \begin{cases} k_{30} = k_{31} \\ \alpha_{30} + \alpha_{31} = \frac{e}{kT} \end{cases} \quad (\text{ii})$$

$$(\text{i}) \text{ och } (\text{ii}) \Rightarrow \alpha_{30} = \alpha_{31} = \frac{1}{2} \frac{e}{kT}.$$

7.4 Kinetiska ekvationer

Genom att summera bidragen från de båda dynamiska förloppen erhåller man de totala tidsderivatorna för $[ATP]_i$ och $[ATP]_u$. Värdet av övriga variabler bestäms sedan av jämviktsekvationerna för de snabba processerna.

Koncentrationen $[ATP]_u$ ändras bara av ATP-transporten, varför

$$\frac{d}{dt} [ATP]_u = v_3.$$

Detta är en mängdtransport, vilket gör att den bidrar till en V gånger större ändring av koncentrationen $[ATP]_i$, eftersom innervolymer är V gånger mindre än yttervolymer. Summeras detta med bidraget från ATP-syntesen inne i mitokondrien erhålles

$$\frac{d}{dt} [ATP]_i = v_2 - V \cdot v_3.$$

7.5 Sammanställning av ekvationerna

$$K_{10} e^{-6e\phi/kT} = \frac{[\text{NAD}] \cdot [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}] \cdot [\text{O}_2]^{1/2} \cdot [\text{H}^+]_i^7} \quad (1)$$

$$1 = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4]_i \cdot [\text{H}^+]_i}{[\text{H}_2\text{PO}_4]_u \cdot [\text{H}^+]_u} \quad (4)$$

$$K_P = \frac{[\text{HPO}_4] [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} \quad (5, 6)$$

$$(1+V)\text{SUMP} = [\text{ATP}]_i + V[\text{ATP}]_u + [\text{HPO}_4]_i + V[\text{HPO}_4]_u + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i + V[\text{H}_2\text{PO}_4]_u \quad (7)$$

$$\text{SUMAI} = [\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i \quad (8)$$

$$\text{SUMAU} = [\text{ATP}]_u + [\text{ADP}]_u \quad (9)$$

$$\phi = \text{VIC} e N_A \{ \text{BUFF}(\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [\text{ATP}]_i - [\text{ATP}]_{iR} + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} + 2[\text{HPO}_4]_i - 2[\text{HPO}_4]_{iR} \} \quad (10)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{ATP}]_i = v_2 - v \cdot v_3 \quad (2)$$

$$\frac{d}{dt} [\text{ATP}]_u = v_3 \quad (3)$$

$$\frac{k_{210}}{k_{211}} K_{22} = K_{20} \quad (\text{krav på } v_2)$$

$$k_{30} = k_{31} \quad (\text{krav på } v_3)$$

7.6 Analys

För att bygga modellen har det införts fem konstanter som det saknas experimentella värden för, nämligen

$$k_{210}, k_{211}, K_{22}, k_{30}, k_{31}.$$

Termodynamiskt blir antalet frihetsgrader bara tre genom relationerna

$$\frac{k_{210}}{k_{211}} K_{22} = K_{20} \quad \text{från } v_2$$

$$k_{30} = k_{31} \quad \text{från } v_3$$

där K_{20} är känt.

För $\phi = 0$ kommer för lämplig storlek på $k_{210} \cdot K_{22}$ relativt k_{30} att ge $v_2 < v_3$. Nu beror framåthastigheten i v_2 och v_3 som

$$k_{210} \cdot K_{22} \cdot e^{\frac{e\phi}{kT}} \quad \text{respektive} \quad k_{30} \cdot e^{\frac{1}{2} \cdot \frac{e\phi}{kT}}$$

av ϕ . Efterhand som potentialskillnaden växer kommer, vid lämplig matchning av konstanterna, relationen mellan omsättningshastigheterna att vara $v_2 > v_3$, eftersom v_2 växer snabbare med potentialen.

Vid ett enkelt modellbygge rakt på sak kommer alltså potentialens reglering av hastighetskonstanterna att beskriva det i 7.1 diskuterade förhållandet mellan vilka processer som begränsar totalhastigheten.

8. MODELLBYGGE VID BELASTNING

8.1 Inledning

För att studera det tillstånd som uppkommer efter belastning definieras steady-state-kurvan och verkningsgraden för systemet.

I samband med detta kan påpekas en skillnad mellan de språkbruk som normalt används inom reglerteknik respektive fysikalisk kemi. En reglertekniker benämner ett tillstånd med alla tidsderivator lika med noll som en stationär punkt eller ett jämviktstillstånd. En kemist begränsar oftast ordet jämvikt till att gälla för slutna system medan det stationära tillstånd som uppkommer efter belastning kallas steady-state. Här används den kemiska konventionen för att enklare skilja obelastade och belastade tillstånd.

8.2 Lasten

Den belastning som läggs på systemet är att någon kemisk reaktion ute i cellen börjar bryta ner ATP till ADP med en viss konstant hastighet. Detta konstanta bortflöde, LAST, har enheten mM per tidsenhet och kommer i den kinetiska modellen endast att ändra ekvationen för $[ATP]_u$:s totala tidsderivata. Denna derivata beskrivs av ekvation 3 som nu blir

$$\frac{d}{dt} [ATP]_u = v_3 - \text{LAST}.$$

Övriga ekvationer är oförändrade, och speciellt $[ATP]_u + [ADP]_u = \text{SUMAU}$, vilket innebär att det kemiska viktiga faktum att ADP återbildas i samma takt som ATP konsumeras finns med i modellen.

Sättet att införa belastningen är i princip bara giltig så länge mitokondrien klarar av att syntetisera ATP, beroende på att om $[ATP]_u$ går mot noll måste givetvis också konsumtionen gå mot noll.

8.3 Steady-state-kurvan

Ett steady-state-tillstånd definieras som tidigare i 8.1 av att alla tidsderivatorna är lika med noll. De ekvationer ur vilka man kan beräkna detta tillstånd ges alltså av

- De snabba ekvationerna i 7.5, nämligen 1 och 4 - 10.
 - Dessutom de två långsamma ekvationerna, men med derivatorna noll
- $$0 = v_2 - V \cdot v_3$$
- $$0 = v_3 - LAST.$$

Tillsammans tio ekvationer.

Orten för steady-state-värdena i ett diagram med $[ATP]_u$ som funktion av $[ADP]_u$ kallas i fortsättningen för steady-state-kurvan, och visar alltså hur arbetspunkten ändras vid ATP-nedbrytning ute i cellen. Se figur 10.1 - 10.6.

8.4 Verkningsgraden som funktion av tillståndsvariablerna

Makroskopiska verkningsgraden för systemet definieras som producerad fri energi i ATP_u dividerat med denna energi plus förlusterna. Förlusterna i en stationär punkt beräknas med hjälp av irreversibel termodynamik som förlusten av fri energi p g a entropiproduktionen i de irreversibla processerna (se Appendix C).

Definitionen innebär att vid jämvikt då systemet är obelastat är verkningsgraden ett medan den i ett belastat

steady-state minskar. Nyttig fri energi och förluster, i de reaktioner som inte p g a sin snabba kinetik ligger nära jämvikt, beräknas med hjälp av formlerna i Appendix C genom att relatera till affiniteten.

8.4.1 Förlusterna

De reaktioner som vid energiuttag inte längre sker vid jämvikt, dvs inte längre lyder sina jämviktsekvationer, är ATP-syntesen och -transporten. Förlusten i fri energi per tidsenhet och mol ges omedelbart för syntesen av

$$v_2 A_2 = \left\{ RT \ln \left[\left(\frac{[ATP]_i}{[ADP]_i [HPO_4]_i} \right)_{jmv} \left(\frac{[ADP]_i [HPO_4]_i}{[ATP]_i} \right) \right] + F (\phi - \phi_{jmv}) \right\} v_2$$

och för transporten av

$$A_3 v_3 = \left\{ RT \ln \left[\left(\frac{[ATP]_u [ADP]_i}{[ADP]_u [ATP]_i} \right)_{jmv} \left(\frac{[ADP]_u [ATP]_i}{[ATP]_u [ADP]_i} \right) \right] + F (\phi - \phi_{jmv}) \right\} v_3.$$

Observera att jämviktsvärdena här refererar till mitokondriens jämvikt, dvs till lösningen av ekvationssystemet i 2.4.

8.4.2 Nyttig fri energi

Den nyttiga fria energin är den som frigörs då ATP bryts ner ute i cellen. Eftersom denna reaktion inte sker över membranet utan i en homogen lösning, ska referenstillståndet för affiniteten vara den kemiska jämvikten

$$\frac{1}{K_{20}} = \frac{[H^+]_u [ADP] [HPO_4]}{[ATP]}$$

och alltså inte mitokondriens jämviktsekvation där potentialen ingår. Den energi som produceras per mol och tidsenhet ges nu av

$$A_4 \text{ LAST} = \left\{ \ln \frac{1}{K_{20}} \cdot \frac{1}{[\text{H}^+]_u} \cdot \frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u [\text{HPO}_4]_u} \right\} \text{ LAST}.$$

8.4.3 Verkningsgraden

Enligt definitionen i början av detta avsnitt blir verkningsgraden

$$\eta = \frac{A_4 \text{ LAST}}{A_4 \text{ LAST} + A_3 v_3 + A_2 v_2}.$$

I ett steady-state som enligt 8.3 karakteriseras av

$$\begin{cases} \text{LAST} = v_3 \\ v_2 = V \cdot v_3 \end{cases}$$

förenklas uttrycket genom förkortning till

$$\eta = \frac{A_4}{A_4 + A_3 + V \cdot A_2}$$

där A_2 , A_3 och A_4 beror av koncentrationer och därmed av LAST.

8.4.4 Kommentarer

De förluster som behandlas är inte värmeförluster eller läckprocesser utan orsakas av det irreversibla steg som LAST innebär. Förluster utanför systemet kan tillkomma. Då dessa orsakas av troligtvis snabba reaktioner kommer bidraget att vara litet. Detta medför ändå att den verkliga verkningsgraden kommer att vara något lägre än den här framräknade.

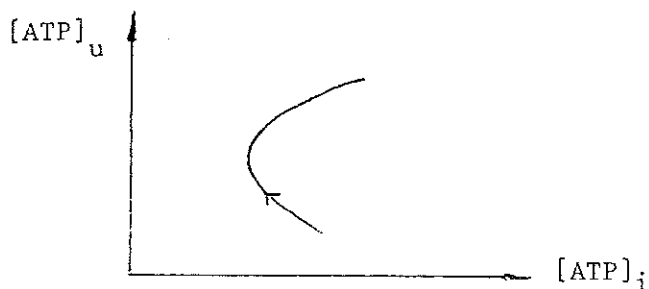
9. SIMULERINGSTEKNIK

9.1 Fasplan och tidskurvor

Ett fasplan illustrerar en tillståndsvariabel som funktion av en annan under insvängning till steady-state eller jämvikt efter en störning i startvärdena.

För undersökningarna i nästa kapitel används genomgående studium av $[ATP]_u$ som funktion av $[ATP]_i$, och ett exempel får illustrera sambandet mellan fasplan och tidskurvor.

I följande insvängning



ser man att $[ATP]_i$ först minskar för att sedan öka, medan $[ATP]_u$ ökar hela tiden. Tidskurvorna för förloppet är alltså:



Fördelen med fasplan är att man i samma figur kan lägga in olika insvängningar och på så sätt erhålla ett "porträtt" av differential-ekvationerna. Se kurvorna i kapitel 10.

9.2 SIMNON

SIMNON är ett programpaket för interaktiv simulering av olinjära differential-ekvationer. Kommunikationen med datamaskinen sker via grafisk terminal med ett speciellt enkelt kommandospråk, som bl a även medger sammankoppling av flera system. Integrationsrutinen som bygger på Hamming's prediktor-korrektor-metod förutsätter att differentialekvationerna skrivits på formen $\dot{x} = f(x)$.

9.3 Speciella problem

För att direkt kunna använda SIMNON på ekvationerna i 7.5 skulle man vilja lösa ut övriga tillståndsvariabler som funktioner av $[ATP]_u$ och $[ATP]_i$, för att kunna skriva ekvationerna på formen

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [ATP]_i \\ [ATP]_u \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} f_1([ATP]_i, [ATP]_u) \\ f_2([ATP]_i, [ATP]_u) \end{pmatrix}.$$

Detta har *inte* lyckats p g a den komplicerade strukturen hos ekvationerna.

Problemet har lösts genom att skriva ekvationerna på formen

$$\begin{cases} \frac{d}{dt} \begin{pmatrix} [ATP]_i \\ [ATP]_u \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} f_1([ATP]_i, [ATP]_u, [H^+]_i) \\ f_2([ATP]_i, [ATP]_u, [H^+]_i) \end{pmatrix} \\ g([ATP]_i, [ATP]_u, [H^+]_i) = 0. \end{cases}$$

Se Appendix D. Den sista ekvationen skrivs på lämplig form och löses iterativt i ett eget SIMNON-system parallellt med simuleringen. En parameter DT anger hur ofta ett nytt $[H^+]_i$ ska beräknas, och väljs till att börja med litet för att efterhand som insvängningen fortgår ökas.

Administrerandet av valen av dels steglängden för integrationsrutinen i SIMNON och dels DT, sköts behängigt genom införandet av en lämplig macroinstruktion. Programmen är dokumenterade i Appendix E.

9.4 Noggrannhet hos lösningen

På samma sätt som konvergenzkriteriet definieras för jämviktsekvationerna kan det införas här.

Måttet på avståndet till jämviktslösningen ges då av

$$F = \sum_1^n |R_i(x)|^2 = \left(\frac{d}{dt} [ATP]_i \right)^2 + \left(\frac{d}{dt} [ATP]_u \right)^2.$$

I kapitel 5 användes FTOL $\approx 10^{-6}$ medan vissa simuleringar resulterade i $F \approx 10^{-18}$.

Påpekas kan också att eftersom konvergensen i differentialekvationerna motsvaras av ett fysikaliskt insvängningsförlopp, underlättas en eventuell felsökning.

10. RESULTAT AV SIMULERINGARNA

10.1 Inledning

Som påpekats i 6.1 studeras den kinetiska modellen för olika sådana kombinationer av parameterparet (VIC, v) , som visat sig uppfylla kriterierna för en god jämviktsmodell. Eftersom experimentella data saknas för hastighetskonstanterna, varieras dessa över ett stort antal tiopotenser, för att få en uppfattning om hur regleringen kan tänkas ske i olika fall.

I 10.2 ges en koncentrerad presentation av ett urval resultat, och några kommentarer i anslutningen till dessa. Mera generella iakttagelser diskuteras i 10.3 - 10.6.

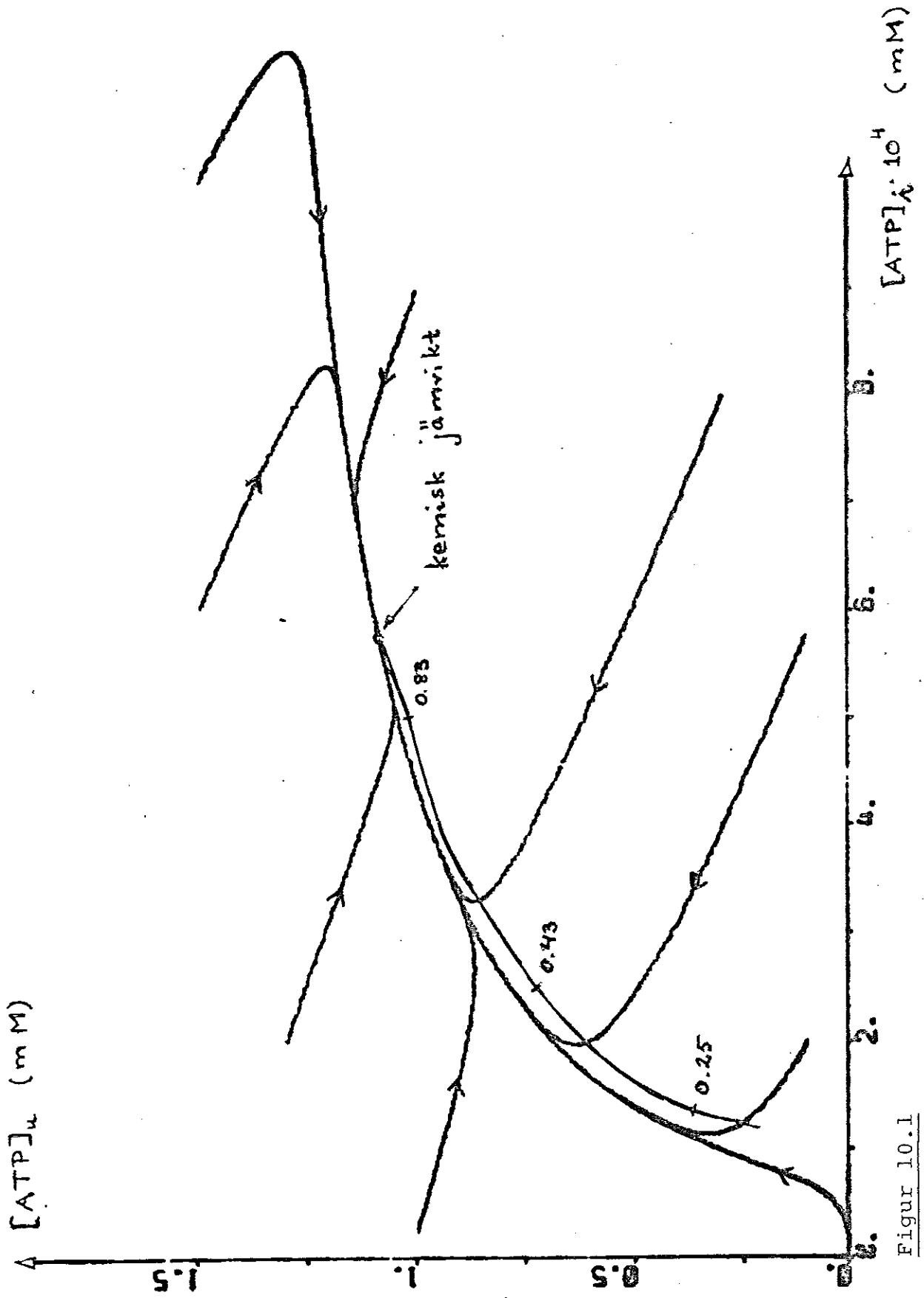
10.2 Fasplan med steady-state-kurvor

I figurerna 10.1 - 10.6 presenteras först tre fasplan för $(VIC, v) = (10^{-5}, 10)$ och därefter motsvarande tre för $(VIC, v) = (7.7 \cdot 10^{-5}, 1)$. Det som varierats inom varje grupp på tre är hastighetskonstanternas storlek.

I dessa fasplan för insvängning till jämvikt har också steady-state-kurvan lagts in. På denna har verkningsgraden markerats för några olika arbetspunkter.

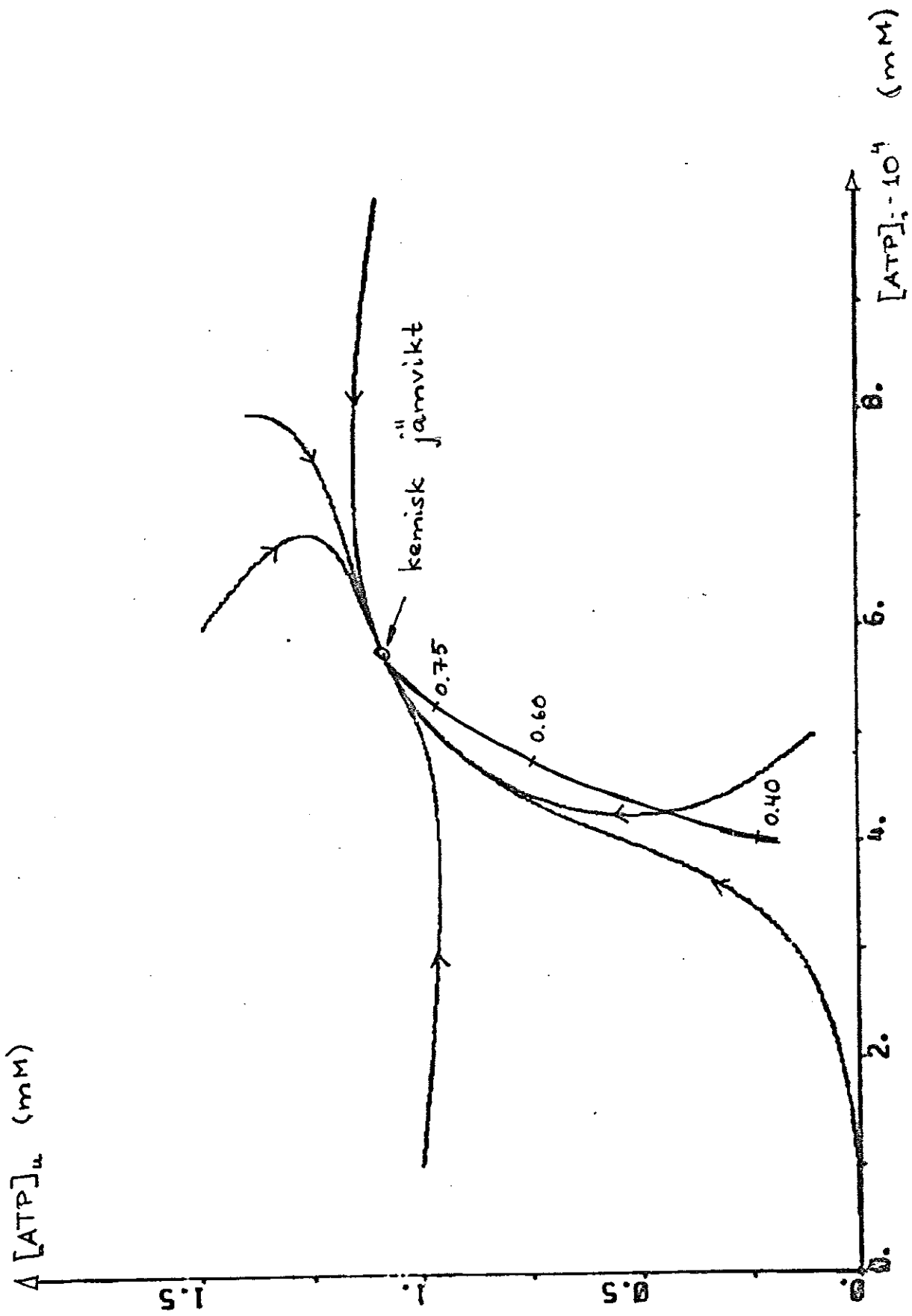
Man ser i figurerna att oavsett i vilken riktning en störning görs så svänger systemet in till jämvikt. Tolkningen är att potentialskillnadens modifiering av hastighets- och jämviktskonstanter har gjort systemets reaktioner reversibla.

PLOT Y(X)
 VIC=1.E-5 V=10. K210=100. K211=1. K30=1.



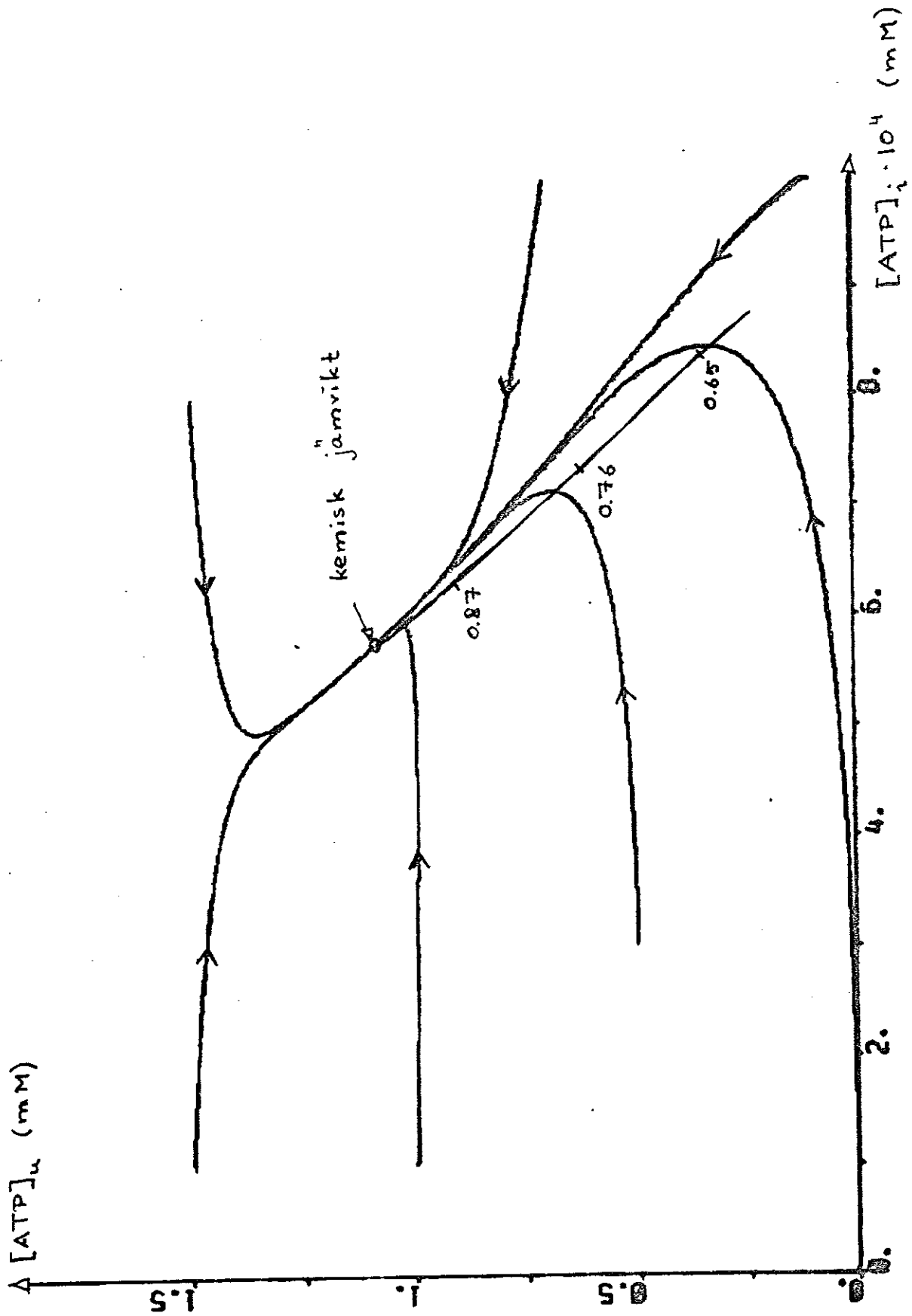
Figur 10.1

PLOT Y(X)
 VIC=1.E-5 V=10. K210=1000. K211=1. K30=1.



Figur 10.2

PLOT Y(X)
 VIC=1.E-5 V=10. K210=1000. K211=1. K30=0.1



Figur 10.3

PLOT Y(X)
 VIC=7.7E-6 V=1. K210=100. K211=1. K30=10.

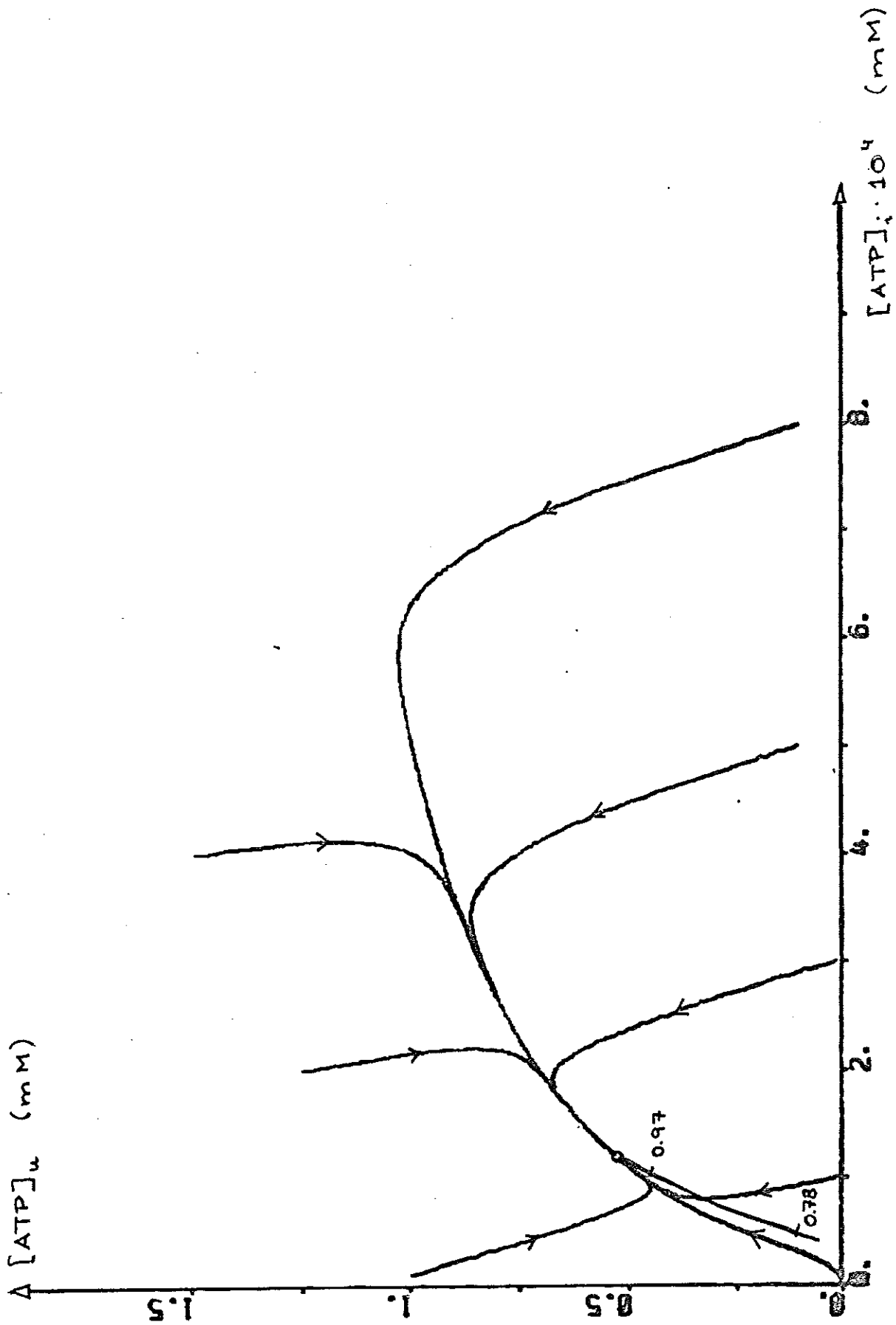


Figure 10.4

PLOT Y(X)
 VIC=7.7E-5 V=1. K210=1000. K211=1. K30=10.

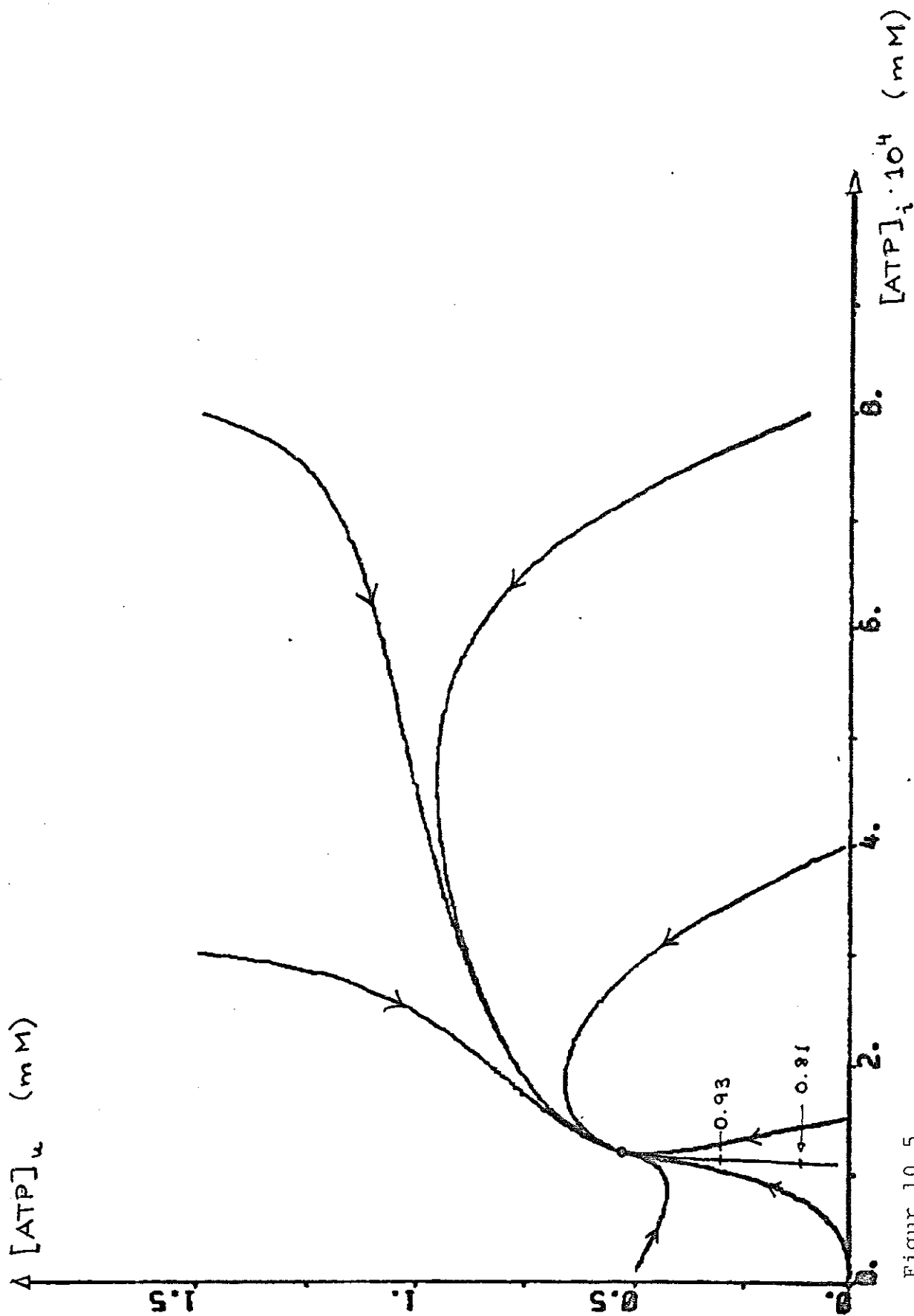
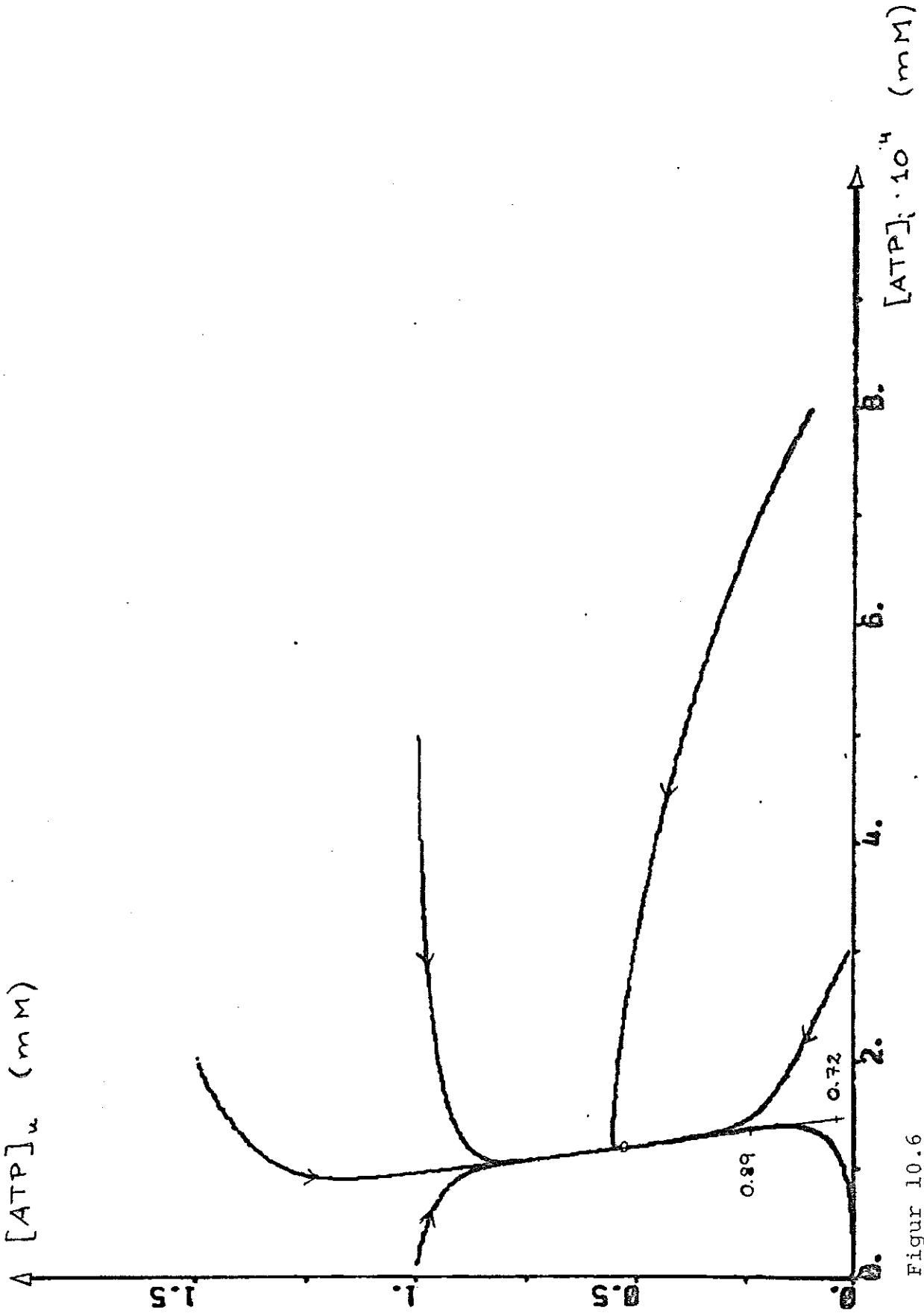


Figure 10.5

PLOT Y(X)
 VIC: 7.7E-6 V: 1. K210: 1000. K211: 1. K30: 1.



Figur 10.6

10.3 Jämförelse mellan steady-state och kvasi-steady-state

Man upptäcker omedelbart i exempelvis figur 10.1 att i de fall då det finns en utpräglad långsam mod i insvängningen ansluter den sig nära till steady-state-kurvan. Den långsamma moden benämns i den kemiska litteraturen kvasi-steady-state och om det rör sig om insvängning till jämvikt kvasi-jämvikt.

Denna iakttagelse att under vissa restriktioner på förhållandet mellan hastighetskonstanterna, så förflyttas steady-state nästan längs långsamma moden kan motiveras generellt genom att studera ett linjärt system.

Insvängning till kemisk jämvikt för ett linjärt system ges i matrisformulering av

$$\dot{x} = Ax.$$

Antag att A har egenvektorerna T_1, \dots, T_n med egenvärdena $\lambda_1, \dots, \lambda_n$, och vidare att $|\lambda_1| \ll |\lambda_i|, i \geq 2$, dvs att T_1 representerar en långsam mod. Förutsätt också att A är diagonaliserbar som $T^{-1}AT = \Lambda$ med $T = (T_1 \dots T_n)$ och

$$\Lambda = \begin{pmatrix} \lambda_1 & & 0 \\ & \ddots & \\ 0 & & \lambda_n \end{pmatrix}.$$

Belastas ny systemet med en konstant last

$$B = \sum_{i=1}^n b_i T_i$$

blir ekvationssystemet istället

$$\dot{x} = Ax + B.$$

Med det valda sättet att skriva B blir b_i alltså lastens komponent längs moden T_i . Inför också e_i genom

$$e_i^T = (0 \dots 0 \underset{\substack{\uparrow \\ \text{plats } i}}{1} 0 \dots 0).$$

Steady-state-punkten x_0 bestäms som tidigare av $\dot{x} = 0$, dvs

$$0 = Ax_0 + B.$$

Detta ger

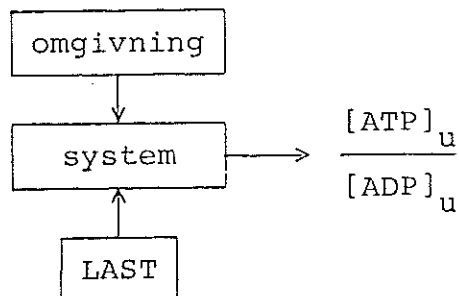
$$\begin{aligned} x_0 &= -A^{-1}B = -(T\Lambda T^{-1})^{-1}B = -T(\Lambda^{-1})T^{-1} \sum_{i=1}^n b_i T_i = \\ &= -T \left(\sum_{i=1}^n \frac{1}{\lambda_i} e_i e_i^T \right) T^{-1} \sum_{i=1}^n b_i T_i = \\ &= \sum_{i=1}^n -\frac{1}{\lambda_i} (T e_i) e_i^T T^{-1} \sum_{i=1}^n b_i T_i = \\ &= \sum_{i=1}^n -\frac{1}{\lambda_i} (T_i) \left\{ e_i^T T^{-1} \sum_{i=1}^n b_i T_i \right\} = \\ &= \sum_{i=1}^n -\frac{b_i}{\lambda_i} T_i. \end{aligned}$$

Vektorn x_0 kommer alltså att vara parallell med långsamma moden T_1 om lasten har någon komponent b_1 längs denna och om λ_1 är tillräckligt mycket mindre än övriga egenvärden.

Den fysikaliska tolkningen är att vid belastning är det den långsamma moden som har svårast att följa med.

10.4 Reglermekanismens beroende av hastighetskonstanterna

I anslutning till blockschemat



kan man med hjälp av fasplanen 10.1 - 10.6 diskutera olika funktionssätt för regleringen.

Den väsentliga skillnaden mellan systemets uppförande i olika fall vid belastning är dess förmåga att hålla kvoten

$$\frac{[\text{ATP}]_u}{[\text{ADP}]_u}$$

konstant. Eftersom $[\text{ADP}]_u = \text{SUMAU} - [\text{ATP}]_u$, är detta ekvivalent med att hålla $[\text{ATP}]_u$ konstant.

Relationerna mellan hastighetskonstanterna kommer som man ser i fasplanen att bestämma riktningen för långsamma moden och därmed också hur arbetspunkten ändras vid störningar.

Systemet 10.1 svarar vid ökande last med att minska $[\text{ATP}]_i$, dvs med att transportera ut ATP för att på så sätt hålla $[\text{ATP}]_u$ nära jämviktsvärdet. Systemet 10.5 representerar motsatta förhållandet att mitokondrien genom ATP-produktion håller $[\text{ATP}]_i$ konstant och låter $[\text{ATP}]_u$ minska.

Framtida experiment får utvisa hur avvägningen mellan dessa ytterligheter är gjord i verkligheten, där önskan att hålla $[\text{ATP}]_u$ konstant dikteras av hög lastberedskap. Å andra sidan regleras många cellmekanismer av storleken på $[\text{ATP}]_u / [\text{ADP}]_u$ så en viss känslighet i kvoten vid olika lastfall är också önskvärd.

10.5 Verkningsgradens beroende av tillståndsvariablerna

Beräkningarna av verkningsgraden redovisas i figurerna 10.1 - 10.6. I alla fallen gäller att en belastning som ändrar arbetspunkten från jämviktskoncentrationerna med bara tio procent orsakar en kraftig nedgång i verkningsgrad.

Innanför den modell som behandlas här gäller alltså att oavsett hur regleringen sker, dvs oavsett hur hastighetskonstanterna väljs, så kommer en arbetspunkt långt från

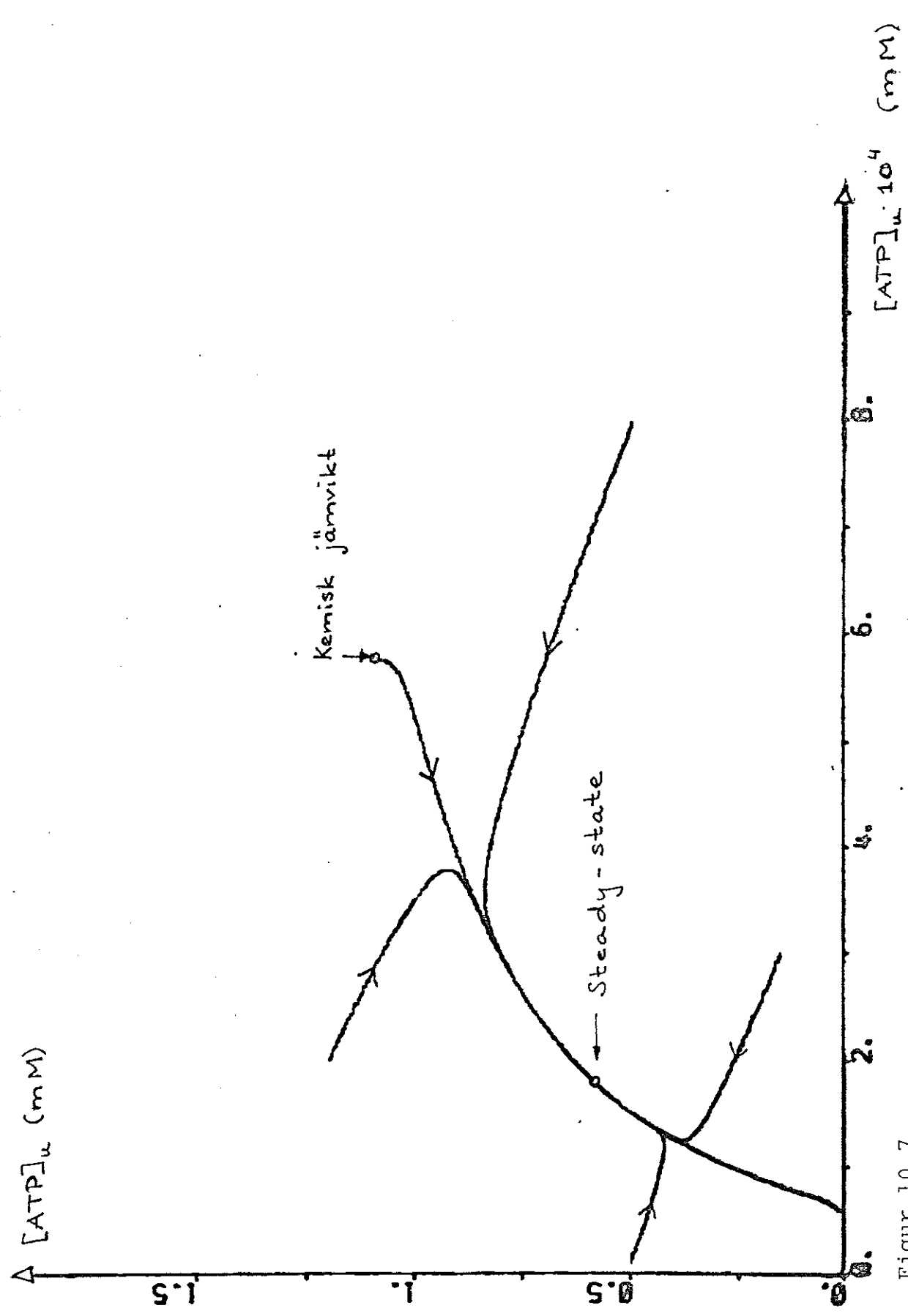
kemisk jämvikt att innebära en dålig verkningsgrad. Detta är ett viktigt resultat som rättfärdigar resonemanget i 3.3 och 4.5 där kriterierna på god modell behandlas.

10.6 Insvängning till steady-state

Steady-state-kurvorna i 10.2 visar stationära värdet efter belastning. I detta avsnitt visas ett exempel på insvängningsförloppet till steady-state för samma parametervärden som i figur 10.1. Insvängningen från jämviktsläget markeras speciellt i fasplanet och representeras också med tidskurvor.

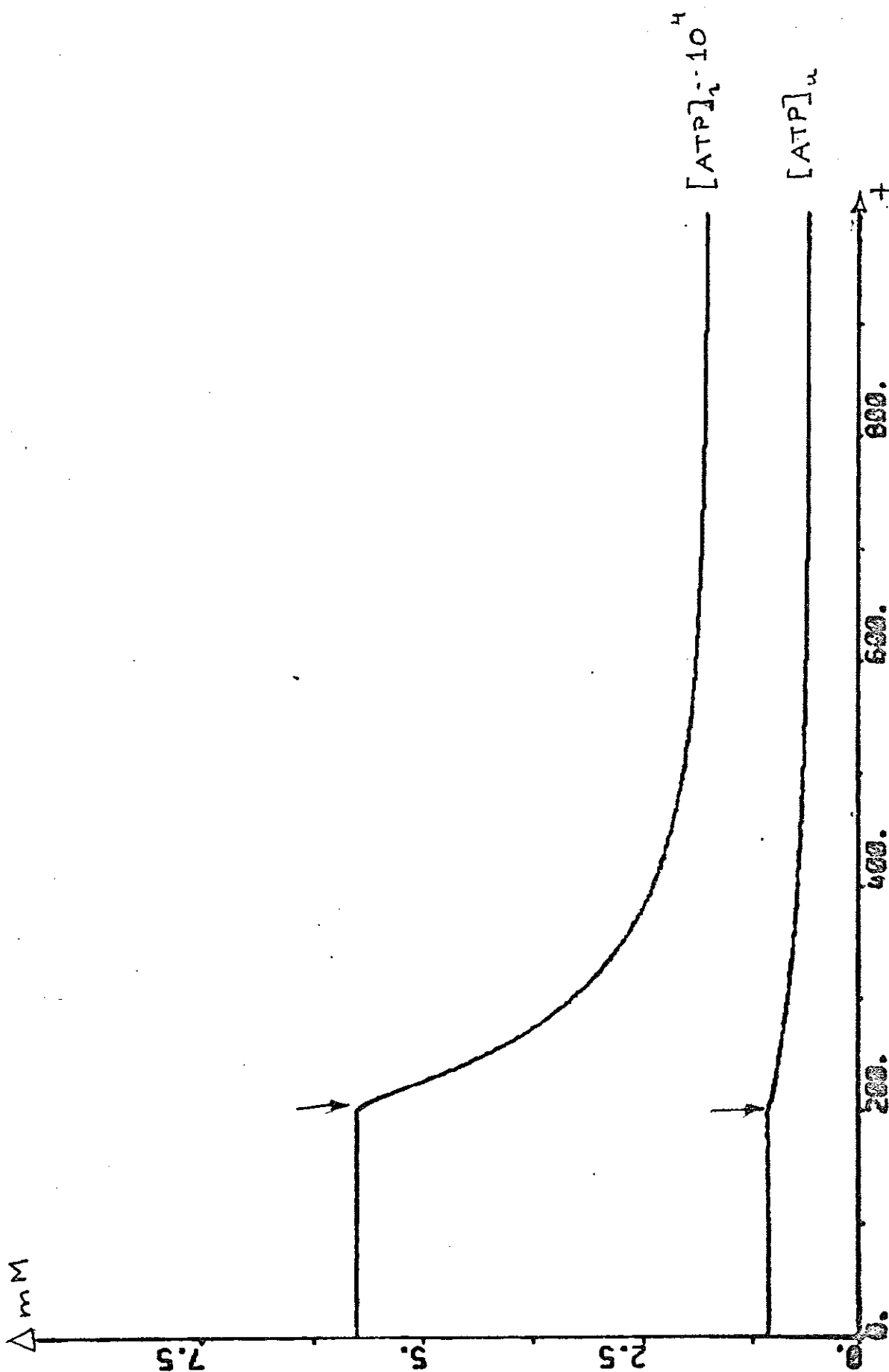
I övrigt får detta enda exempel visa hur lika fasplanen för insvängning till jämvikt respektive steady-state är. Detta har varit fallet för alla de parameteruppsättningar som undersökts. Fasplanet visas i figur 10.7 och i tidskurvorna i figur 10.8 har belastningen lagts på efter 200 tidsenheter.

PLOT Y(X)
VIC=1.E-5 V=10. K210=100. K211=1. K30=1.



Figur 10.7

PLOT Y X
VIC=1.E-5 V=10. K210=100. K211=1. K30=1.



Figur 10.8

11. SLUTSATSER

Den kemiosmotiska teorin har varit en stor inspirationskälla för forskningen, men har tidvis ifrågasatts på basis av att den inte skulle ge överensstämmelse med termodynamiska begränsningar.

Resultaten som presenterats visar dock att en enkel kvantifiering av huvudidéerna ger en modell som både överensstämmer med experimentella data och ger insikt i det dynamiska uppförandet hos en arbetande mitokondrie.

Just studiet av kinetiken är en illustration till att regleringen av ATP-syntesen kan tänkas ske på ett principiellt annorlunda sätt mot vad som vanligen sker i biologiska system. Speciellt ger den föreslagna reglermekanismen möjlighet att upprätthålla en hög verkningsgrad.

12. REFERENSER

- [1] Peter C Hinkle, Richard E McCarty: How cells make ATP. Scientific American, mars 1978.
- [2] Harold J Morowitz: Proton semiconductors and energy transduction in biological systems.
- [3] Daniel E Atkinson: Enzymes as control elements in metabolic regulation. Kapitel 9 i Paul D Boyer (ed), The Enzymes.
- [4] S Papa: Proton translocation reactions in the respiratory chains. Biochimica et Biophysica Acta 456 (1976) 39-84.

APPENDIX A - VÄRDEN PÅ KONSTANTER

Konstanten K_{10}

	$\Delta E'_0$
$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+ + 2\text{H}^+$	- 0.32 V
$\text{H}_2\text{O} \rightarrow \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+$	+ 0.82 V
$\text{NADH} + \text{H}^+ + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$	1.14 V

$$\begin{aligned} \Delta G^{0'} &= -n \cdot F \cdot \Delta E'_0 = -2 \cdot 23.062 \cdot 1.14 \text{ kcal/mol} = \\ &= -52.6 \text{ kcal/mol.} \end{aligned}$$

Ger

$$K'_{10} = e^{-\Delta G^{0'}/RT} = e^{52.6 \cdot 10^3 / 1.98 \cdot 298} = 5.0 \cdot 10^{38}.$$

Vid pH = 7 gäller

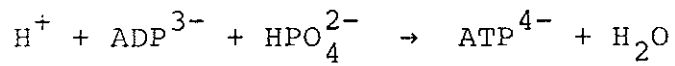
$$\begin{aligned} K'_{10} &= \frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}] [\text{O}_2]^{1/2}} = \frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}] [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{10^{-7}}{10^{-7}} = \\ &= \frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}] [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{10^{-7}}{[\text{H}^+]} = 10^{-7} \cdot K_{10}. \end{aligned}$$

$$\Rightarrow K_{10} = 10^7 \cdot K'_{10}$$

$$\Rightarrow K_{10} = 5.0 \cdot 10^{45}$$

Konstanten K_{20}

Alberty (1967) ger att



har $\Delta G_{298}^{0'}$ = 8600 vid pH = 7 och pMg = 2.

Ger

$$K'_{20} = e^{-8600/1.98 \cdot 298} = 4.7 \cdot 10^{-7}.$$

Vid pH = 7 gäller

$$\begin{aligned} K'_{20} &= \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}] [\text{HPO}_4]} = \frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}] [\text{HPO}_4]} \frac{10^{-7}}{10^{-7}} = \\ &= \frac{[\text{ADP}]}{[\text{ADP}] [\text{HPO}_4]} = \frac{10^{-7}}{[\text{H}^+]} = 10^{-7} \cdot K_{20} \end{aligned}$$

$$\Rightarrow K_{20} = 10^7 \cdot K'_{20}$$

$$\Rightarrow K_{20} = 4.7$$

Övriga konstanter

$$\text{SUMAI} = 1.55 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$\text{SUMAU} = 1.55 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$\text{SUMP} = 12.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$\text{pH}_u = 7$$

$$\text{BUFF} \approx 1 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

$$V \approx 1 - 10$$

$$\frac{[\text{NAD}]}{[\text{NADH}]} \approx 1 - 10$$

$$[\text{O}_2] = \frac{p\text{O}_2}{P_{\text{atm}}} = 0.01 - 0.1$$

$$K_p = 1.58 \cdot 10^{-7}$$

Kapacitans för mitokondriemembranet $\approx 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$

APPENDIX B - PROGRAM FÖR BERÄKNING AV JÄMVIKTSLÄGET

Modell 2

$$K_{10} e^{-6e\delta\phi/kT} = \frac{[\text{NAD}] [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}] [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{[\text{H}^+]_i^7} \quad (1)$$

$$K_{20} e^{e\delta\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_i}{[\text{H}^+]_u [\text{ADP}]_i [\text{HPO}_4]_i} \quad (2)$$

$$e^{e\delta\phi/kT} = \frac{[\text{ATP}]_u [\text{ADP}]_i}{[\text{ADP}]_u [\text{ATP}]_i} \quad (3)$$

$$1 = \frac{[\text{H}_2\text{PO}_4]_i [\text{H}^+]_i}{[\text{H}_2\text{PO}_4]_u [\text{H}^+]_u} \quad (4)$$

$$K_P = \frac{[\text{HPO}_4] [\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{PO}_4]} \quad (5)^a_b$$

$$(1+V) \text{SUMP} = [\text{ATP}]_i + V[\text{ATP}]_u + [\text{HPO}_4]_i + V[\text{HPO}_4]_u + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i + V[\text{H}_2\text{PO}_4]_u \quad (6)$$

$$\text{SUMAI} = [\text{ATP}]_i + [\text{ADP}]_i \quad (7)$$

$$\text{SUMAU} = [\text{ATP}]_u + [\text{ADP}]_u \quad (8)$$

$$\delta\phi = \frac{eVI}{C} N_A \{ \text{BUFF}(\text{pH}_i - \text{pH}_{iR}) + [\text{ATP}]_i - [\text{ATP}]_{iR} + \\ + [\text{H}_2\text{PO}_4]_i - [\text{H}_2\text{PO}_4]_{iR} + 2[\text{HPO}_4]_i - 2[\text{HPO}_4]_{iR} \} \quad (9)$$

Logaritmering ger

$$\log [H^+]_i^7 = \log \frac{[NAD] [H^+]_u^6}{[NADH] [O_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{K_{10}} + \log e^{6e\delta\phi/kT}$$

$$\log [H^+]_i = \frac{1}{7} \log \frac{[NAD] [H^+]_u^6}{[NADH] [O_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{K_{10}} + \frac{6(\log e) e}{7 \cdot kT} \cdot \delta\phi$$

$$x(1) = -C(1) + \frac{6}{7} A \delta\phi$$

Variabler:

$$x(1) = \log [H^+]_i$$

$$x(2) = [ATP]_i$$

$$x(3) = [ADP]_u$$

$$x(4) = [HPO_4]_u$$

$$x(1) + C(1) = \frac{6}{7} A \delta\phi \quad (1)$$

Ekvation (6) ger (m h a (5))

$$(1+V) \text{SUMP} = [ATP]_i + V(\text{SUMAU} - [ADP]_u) + [HPO_4]_i +$$

$$+ [HPO_4]_i \frac{[H^+]_i}{K_p} + V[HPO_4]_u + [HPO_4]_u \frac{[H^+]_u}{K_p} V$$

$$[HPO_4]_i = \frac{1}{1 + \frac{[H^+]_i}{K_p}} \left\{ (1+V) \text{SUMP} - [ATP]_i + V([ADP]_u - \text{SUMAU}) - \right.$$

$$\left. - V \left(\frac{[H^+]_u}{K_p} + 1 \right) [HPO_4]_u \right\}$$

$$\text{HPO4IL} = \log \left\{ (1+V) \text{SUMP} - x(2) + V(x(3) - \text{SUMAU}) - C(4) x(4) \right\} -$$

$$- \log \left\{ 1 + \frac{10^{x(1)}}{K_p} \right\} \quad (6)$$

Ekvation (2):

$$\log K_{20} [H^+]_u + A \delta\phi = \log \frac{[ATP]_i}{\text{SUMAI} - [ATP]_i} - \log [HPO_4]_i$$

$$C(2) + \frac{7}{6} C(1) + \frac{7}{6} X(1) = \log \frac{X(2)}{\text{SUMAI} - X(2)} - \text{HPO4IL} \quad (2)$$

Ekvation (3):

$$A \delta\phi = \log \frac{[ATP]_u}{[ADP]_u} - \log \frac{[ATP]_i}{[ADP]_i}$$

$$\frac{7}{6} [C(1) + X(1)] + \log \frac{X(3)}{\text{SUMAU} - X(3)} + \log \frac{X(2)}{\text{SUMAI} - X(2)} = 0 \quad (3)$$

Ekvation (4):

$$1 = \frac{[HPO_4]_i \frac{[H^+]_i}{K_p} [H^+]_i}{[HPO_4]_u \frac{[H^+]_u}{K_p} [H^+]_u} = \frac{[HPO_4]_i [H^+]^2}{[HPO_4]_u [H^+]^2_u}$$

$$\log [HPO_4]_i + 2 \log [H^+]_i - \log [HPO_4]_u - 2 \log [H^+]_u = 0$$

$$\text{HPO4IL} + 2X(1) - \log X(4) + C(3) = 0 \quad (4)$$

Ekvation (9) (och (1)):

$$\left\{ \begin{array}{l} \delta\phi = \frac{eV}{C} N_A \left\{ \text{BUFF} (pH_i - pH_{iR}) + X(2) - X_{\text{REF}}(2) + [HPO_4]_i \frac{[H^+]_i}{K_p} + \right. \\ \quad \left. + 2[HPO_4]_i - [HPO_4]_{iR} \frac{[H^+]_{iR}}{K_p} - 2[HPO_4]_{iR} \right\} \\ \delta\phi = \frac{7}{6A} [X(1) + C(1)] \end{array} \right.$$

$$\begin{aligned}
X(1) + C(1) = & C(5) \left\{ \text{BUFF} (-X(1) + X\text{REF}(1)) + X(2) - X\text{REF}(2) + \right. \\
& + 10^{\text{HPO4IL}} \left(2 + \frac{10^{X(1)}}{K_p} \right) - \\
& \left. - X\text{REF}(4) \left(2 + \frac{10^{X\text{REF}(1)}}{K_p} \right) \right\}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
X(1) + C(1) = & - \text{BUFF} C(5) X(1) + C(5) X(2) + \\
& + C(5) 10^{\text{HPO4IL}} \left(2 + \frac{10^{X(1)}}{K_p} \right) + \\
& + C(5) \left\{ \text{BUFF} X\text{REF}(1) - X\text{REF}(2) - \right. \\
& \left. - X\text{REF}(4) \left(2 + \frac{10^{X\text{REF}(1)}}{K_p} \right) \right\}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
C(1) + [1 + \text{BUFF} C(5)] X(1) - C(5) X(2) - \\
- C(5) 10^{\text{HPO4IL}} \left(2 + \frac{10^{X(1)}}{K_p} \right) - C(6) = 0
\end{aligned}$$

(9)

Räkna nu i mM på [A], [P], [BUFF].

$$C(1) = -\frac{1}{7} \log \frac{[\text{NAD}] [\text{H}^+]_u^6}{[\text{NADH}] [\text{O}_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{K_{10}}$$

$$C(2) = \log K_{20} [\text{H}^+]_u - 3$$

$$C(3) = -2 \log [\text{H}^+]_u$$

$$C(4) = v \left(1 + \frac{[\text{H}^+]_u}{K_p} \right)$$

$$C(5) = \frac{6}{7} \cdot \frac{e_0 \log e}{kT} \cdot \frac{e_0 v}{c} N_A \cdot 10^{-3}$$

$$C(6) = C(5) \left\{ \text{BUFF} \text{XREF}(1) - \text{XREF}(2) - \text{XREF}(4) \left(2 + \frac{10^{\text{XREF}(1)}}{K_p} \right) \right\}$$

Programmen som redovisas på följande sidor gäller det fall då $[\text{ADP}]_u$ valts till variabel i stället för $[\text{ATP}]_u$.

```

DIMENSION X(4),AJINV(3,3),R(4),W(52),BJINV(4,4)
REAL X02AAE,LOGK10,K20,KP,NAVNAH
COMMON C(6),SUMAI,SUMAU,SUMP,XREF(4),BUFF,KP,V,HP04IL,A(4)
EXTERNAL MITOKO,MONIT
DATA NOUT/6/
C *****
C INITIALIZATION
C *****
READ(5,200) LOGK10,K20,KP
READ(5,200) NAVNAH,HU,02,SUMP,SUMAI,SUMAU
READ(5,200) VOLUME,V,CAP,BUFF
WRITE(NOUT,100) LOGK10,K20,KP
WRITE(NOUT,101) NAVNAH,HU,02,SUMP,SUMAI,SUMAU
WRITE(NOUT,102) VOLUME,V,CAP,BUFF
C(1)=(LOGK10-ALOG10(NAVNAH)-6.*ALOG10(HU)+0.5*ALOG10(02))/7.
C(2)=ALOG10(K20)+1.*ALOG10(HU)-3.
C(3)=-2.*ALOG10(HU)
C(4)=V*(1.+HU/KP)
C(5)=1.40E+3*VOLUME/CAP
C WRITE(NOUT,103) (C(I),I=1,5)
C *****
C CALCULATION OF REFERENCE-VALUES WHEN FI=0
C *****
C N=3
C READ(5,200) (X(I),I=1,N)
C IA=3
C IW=N*(5+2*N)
C FTOL=10.0*X02AAE(RR)
C DELTA=SQRT(FTOL)
C READ(5,200) STEPMX,MAXCAL,IPRINT,IFAIL
C 500 WRITE(6,501) IW,FTOL,DELTA,STPEMX,MAXCAL
C 501 FORMAT(6X,I3,3E12.5,I4)
C CALL COSNAE(N,X,R,F,AJINV,IA,W,IW,FTOL,DELTA,STPEMX,
C * MONIT,MONIT,IPRINT,MAXCAL,IFAIL)
XREF(1)=-7.0
XREF(2)=5.5834E-9
XREF(3)=5.5834E-9
XREF(4)=7.6642
C WRITE(NOUT,110) F
C WRITE(NOUT,111) (XREF(I),I=1,N)
C WRITE(NOUT,112) (R(I),I=1,N)
C WRITE(NOUT,113) IFAIL
C(6)=C(5)*(BUFF*XREF(1)-XREF(2)-XREF(4)*(2.+10**XREF(1)/KP))
C WRITE(NOUT,103) C(6)
C WRITE(NOUT,111) (XREF(I),I=2,4)
C *****
C CALCULATION OF THE EQUILIBRIUM STATE
C *****
C N=4
C IA=4
C IW=N*(5+2*N)
C FTOL=10.0*X02AAE(RR)
C DELTA=SQRT(FTOL)
C READ(5,200) STEPMX,MAXCAL,IPRINT,IFAIL
C READ(5,200) (A(I),I=1,4)
C READ(5,200) (X(I),I=1,N)

```

```

CALL COSNAE(N,X,R,F,BJINV,IA,W,IW,FTOL,DELTA,STEPMX,
*           MITOKO,MONIT,IPRINT,MAXCAL,IFAIL)
WRITE(NOUT,120) F,IFAIL
HPO4I=10**HPO4IL
FI=68.98*(C(1)+X(1))
PHI=-X(1)
WRITE(NOUT,121) PHI,FI,((X(I),A(I)),I=2,4),HPO4I
STOP
100 FORMAT('1'/6X,24(1H*)/6X,'CONSTANTS AND PARAMETERS'/
*         6X,24(1H*)/6X,'EQUILIBRIUM CONSTANTS: '/
*         6X,'LOG(K10)='',E12.5,'K20='',E12.5,'KP='',E12.5)
101 FORMAT(6X,'NAD/NADH INSIDE THE MITOCHONDRION='',E12.5/
*         6X,'HYDROGEN-CONCENTRATION OUTSIDE THE MITOCHONDRION',E12.5
*         /6X,'OXYGEN-CONCENTRATION='',E12.5/
*         6X,'TOTAL CONCENTRATIONS OF: '/
*         6X,'PHOSPHATE='',E12.5/
*         6X,'ADENOSIN: INSIDE='',E12.5,3X,'OUTSIDE='',E12.5)
102 FORMAT(/6X,'VOLUME OF THE MITHOCHONDRION='',E12.5/
*         6X,'VOLU/VOLI='',E12.5/
*         6X,'CAPACITANCE='',E12.5/
*         6X,'BUFF='',E12.5)
103 FORMAT(1X,(5X,E12.5))
110 FORMAT(/6X,E12.5)
111 FORMAT(6X,27(1H*)/6X,'REFERENCE-VALUES WHEN FI=0: '/
*         6X,27(1H*)/6X,'AATP8 INSIDE='',E12.5/
*         6X,'OUTSIDE='',E12.5/
*         6X,'HPO4 INSIDE='',E12.5)
112 FORMAT(/6X,(E12.5,5X))
113 FORMAT(6X,I3)
120 FORMAT(/6X,E12.5,3X,I2)
121 FORMAT(6X,28(1H*)/6X,'VALUES AT EQUILIBRIUM STATE: '/
*         6X,28(1H*)/
*         6X,'PHI='',E12.5/
*         6X,'FI='',E12.5/
*         6X,'ATPI='',2E12.5/
*         6X,'ADPU='',2E12.5/
*         6X,'HPO4U='',2E12.5/
*         6X,'HPO4I='',E12.5)
200 FORMAT( )
END

```



```

SUBROUTINE MITOKO(N,XC,RC)
DIMENSION XC(4),RC(4)
REAL KP
COMMON C(6),SUMAI,SUMAU,SUMP,XREF(4),BUFF,KP,V,HPO4IL,A(4)
IF(N.EQ.3) GO TO 1
HPO4IL=ALOG10((1.+V)*SUMP-XC(2)*A(2)-V*(SUMAU-XC(3)*A(3))
* -XC(4)*A(4)*C(4))-ALOG10(1.+10.**XC(1)/KP)
RC(1)=C(2)+7./6.*C(1)+7./6.*XC(1)-ALOG10(XC(2)*A(2)/
* (SUMAI-XC(2)*A(2)))+HPO4IL
RC(2)=7./6.*(C(1)+XC(1))+ALOG10(XC(2)*A(2)/(SUMAI-XC(2)*A(2)))
* +ALOG10(XC(3)*A(3)/(SUMAU-XC(3)*A(3)))
RC(3)=C(3)+2.*XC(1)-ALOG10(XC(4)*A(4))+HPO4IL
RC(4)=C(1)+(1.+C(5)*BUFF)*XC(1)-C(5)*XC(2)*A(2)
* -C(5)*(2.+10**XC(1)/KP)*10**HPO4IL-C(6)
RETURN
1 CONTINUE
RETURN
END

```

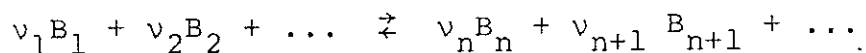
```

SUBROUTINE MONIT(N,XC,RC,FC,NCALL)
DIMENSION XC(4),RC(4)
DATA NOUT/6/
WRITE(NOUT,1) NCALL,FC
WRITE(NOUT,2) (XC(I),I=1,N)
WRITE(NOUT,3) (RC(I),I=1,N)
RETURN
1 FORMAT(' AFTER ',I4,' CALLS OF MITOKO THE SUM OF SQUARES IS ',E12.5)
2 FORMAT(' AT THE POINT ',4E12.5)
3 FORMAT(' RESIDS ',4E12.5)
END

```

APPENDIX C - ENTROPIPRODUKTION VID KEMISKA REAKTIONER

För en kemisk reaktion



kan man definiera en reaktionsgrad ξ så att en ändring $d\xi$ innebär att $v_1 d\xi$ mol B_1 och $v_2 d\xi$ mol B_2 går över i $v_n d\xi$ mol B_n och $v_{n+1} d\xi$ mol B_{n+1} osv. Generellt att

$$dn_i = v_i d\xi$$

där v_i är negativ för $i < n$ och positiv för $i \geq n$.

För Gibbs fria energi, $G = U + pV - TS + \sum_i \mu_i n_i$, gäller vid konstant T och p

$$dG = \sum_i \mu_i dn_i = \sum_i \mu_i v_i d\xi.$$

Denna infinitesimala minskning i G motsvaras av entropiökningen

$$ds = - \frac{dG}{T} = - \frac{d\xi}{T} \sum_i \mu_i v_i.$$

Definition: Affiniteten A för en kemisk reaktion definieras som

$$A = - \sum_i \mu_i v_i.$$

Man kan nu skriva

$$ds = \frac{A}{T} d\xi$$

och entropiökningen per tidsenhet, dvs entropiproduktionen, ges av

$$\frac{dS}{dt} = \frac{A}{T} \cdot \frac{d\xi}{dt} = \frac{A}{T} v,$$

där $v = d\xi/dt$ är omsättningshastigheten i reaktionen.

Uttrycket för affiniteten omformas enkelt med klassisk termodynamik

$$\begin{aligned} A &= - \sum_i v_i \mu_i = - \sum_i v_i (\mu_i^\ominus + RT \ln c_i) = \\ &= - \sum_i v_i \mu_i^\ominus - \sum_i v_i RT \ln c_i = \\ &= RT \ln K - RT \ln \left(\prod_i (c_i)^{v_i} \right). \end{aligned}$$

Här kan man göra paus och påpeka att eftersom

$$K = \prod_i (c_i^{j_{mv}})^{v_i},$$

så kommer A och $d\xi$ att skifta tecken samtidigt, vilket kommer att medföra att

$$\frac{dS}{dt} = \frac{A}{T} \cdot \frac{d\xi}{dt} \geq 0.$$

Den fortsatta omformningen av uttrycket slutar för en reaktion i homogen lösning alltså med

$$A = RT \ln \left[\prod_i \left(\frac{c_i^{j_{mv}}}{c_i} \right)^{v_i} \right].$$

För en reaktion där N stycken plusladdningar transporteras mot högre potential över ett membran med potentialskillnaden ϕ erhålles i stället

$$\begin{aligned} A &= RT \ln K - RT \ln \left(\prod_i (c_i)^{v_i} \right) = \\ &= RT \ln K_0 e^{Ne\phi/kT} - RT \ln \left(\prod_i (c_i)^{v_i} \right) = \\ &= RT \ln K_0 e^{Ne\phi_{jmv}/kT} + RT \ln e^{Ne/kT (\phi - \phi_{jmv})} - \\ &\quad - RT \ln \left(\prod_i (c_i)^{v_i} \right) = \\ &= RT \ln \left(\prod_i (c_i^{j_{mv}})^{v_i} \right) - RT \ln \left(\prod_i (c_i)^{v_i} \right) + \\ &\quad + N RT \frac{e}{kT} (\phi - \phi_{jmv}) = \end{aligned}$$

$$= RT \ln \left[\prod_i \left(\frac{c_i^{j_{mv}}}{c_i} \right)^{\nu_i} \right] + N F (\phi - \phi_{j_{mv}}).$$

F är Faradays konstant ($F = eN_A$).

APPENDIX D - EKVATIONEN FÖR $[H^+]_i$

Räkna i $-pH = X(1)$

$$(1) \quad K_{10} e^{-6e\delta\phi/kT} = \frac{[NAD] [H^+]_u^6}{[NADH] [O_2]^{1/2}} \cdot \frac{1}{[H^+]_i^7}$$

$$\Rightarrow C(1) - pH_i = \frac{6}{7} \cdot \frac{e (\log e)}{kT} \cdot \delta\phi$$

$$(10) \quad \delta\phi = \frac{eV}{C} N_A \left\{ \text{BUFF}(pH_i - pH_{iR}) + [ATP]_i - [ATP]_{iR} + \right. \\ \left. + [HPO_4]_i \left(2 + \frac{[H^+]_i}{K_p} \right) - [HPO_4]_{iR} \left(2 + \frac{[H^+]_{iR}}{K_p} \right) \right\}$$

$$(4) \circ (7) \Rightarrow [HPO_4]_i = \frac{(1+V) \text{SUMP} - [ATP]_i - V[ATP]_u}{\left(1 + \frac{[H^+]_i}{K_p} \right) + \left(\frac{1}{[H^+]_u^2} + \frac{1}{[H^+]_u K_p} \right) [H^+]_i^2}$$

Eliminera $\delta\phi$

$$C(1) - pH_i = \frac{6}{7} \cdot \frac{e (\log e)}{kT} \cdot \frac{eV}{C} N_A \left\{ \text{BUFF}(XREF(1) - X(1)) + [ATP]_i - \right. \\ \left. - [ATP]_{iR} + [HPO_4]_i \left(2 + \frac{[H^+]_i}{K_p} \right) - \right. \\ \left. - [HPO_4]_{iR} \left(2 + \frac{[H^+]_{iR}}{K_p} \right) \right\}$$

$$C(1) + X(1) = C(5) \left\{ \text{BUFF}(-X(1)) + X + [HPO_4]_i \left(2 + \frac{[H^+]_i}{K_p} \right) \right\} + C(6)$$

$$C(1) + (1 + C(5) \text{ BUFF}) X(1) - X - \left(2 + \frac{10^{X(1)}}{K_p}\right) [\text{HPO}_4]_i - C(6) = 0$$

dessutom gäller

$$[\text{HPO}_4]_i = \frac{(1 + V) \text{ SUMP} - X - V \cdot y}{1 + \frac{10^{X(1)}}{K_p} + \left(\frac{1}{[\text{H}^+]_u^2} + \frac{1}{[\text{H}^+]_u K_p}\right) 10^{2X(1)}} =$$

$$= \frac{(1 + V) \text{ SUMP} - X - V \cdot y}{1 + 10^{X(1) + 6.8} + 10^{2X(1) + 14.213}}$$

Ger

$$C(1) + (1 + C(5) \text{ BUFF}) X(1) - X -$$

$$- \left(2 + 10^{X(1) + 6.8}\right) \frac{(1 + V) \text{ SUMP} - X - V \cdot y}{1 + 10^{X(1) + 6.8} + 10^{2X(1) + 14.213}} - C(6) = 0.$$

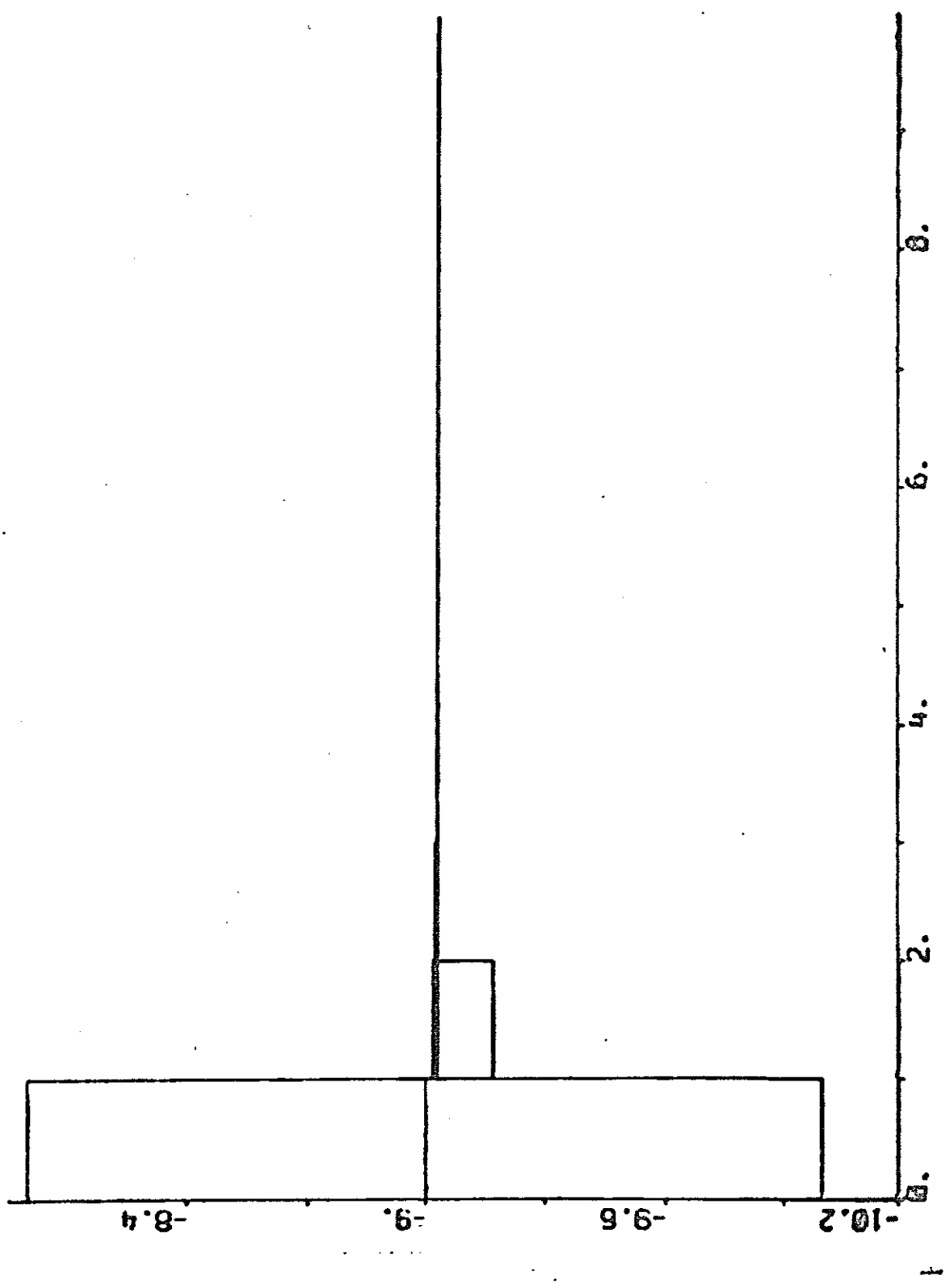
Med $x = [\text{ATP}]_i$ och $y = [\text{ATP}]_u$ kända ger detta ekvationen för $[\text{H}^+]_i$.

Efter omformningen

$$X(1) = \frac{1}{1 + C(5) \text{ BUFF}} \left\{ X + (2 + 10^{X(1) + 6.8}) \cdot \frac{(1 + V) \text{ SUMP} - X - V \cdot y}{1 + 10^{X(1) + 6.8} + 10^{2X(1) + 14.213}} + C(6) - C(1) \right\}$$

blir konvergensen mycket snabb, vilket visas i figur D.1.

PLOT MP = -pH_i



Figur D.1

APPENDIX E - SIMNON-PROGRAM

Programmen som indexerats 1 gäller fallet $(VIC, V) = (10^{-5}, 10)$
och index 2 avser fallet $(VIC, V) = (7.7 \cdot 10^{-5}, 1)$.


```

CONTINUOUS SYSTEM MIT1
TIME T
STATE X Y
DER DX DY
INPUT HP
INITIAL
G:1E-4
V:10
VAU=V
VIC:1E-5
BUFF:1
LAST:0
FRT:38.68
C55=96.49*VIC
XJ:5.76243
ADPIJ=1.55-XJ*G
YJ:1.08568
ADPUJ=1.55-YJ
HPJ:-9.01919
HP04J=((1+V)*12.5-XJ*G -V*YJ)/((1+10*(HPJ+6.8))+10*(2*HPJ+14.213))
FIJ=C55*(BUFF*(-HPJ-7)+XJ*G+HP04J*(2+10*(HPJ+6.8))-20.1642)
K210:100
K211:1
K22=K211/K210*4.7E-3
A210:38.68
K30:1
K31=K30
A30:19.34
A31:19.34
EFJ2=EXP(A210*FIJ)
EFJ30=EXP(A30*FIJ)
EFJ31=EXP(-A31*FIJ)
DYNAMICS
PH=-HP
ADPI=1.55-X*G
ADPU=1.55-Y
QAU=Y/ADPU
HP04I=((1+V)*12.5-X*G-V*Y)/((1+10*(HP+6.8))+10*(2*HP+14.213))
HP04U=HP04I*10*(2*HP+14)
FI=C55*(BUFF*(-HP-7)+X*G+HP04I*(2+10*(HP+6.8))-20.1642)
DFI=FI-FIJ
V2N=X*G+ADPI*HP04I*K22
V2TV=K210*EFJ2*EXP(A210*DFI)*ADPI*HP04I*K22*1E-7
V2TH=K211*X*G
V2=(V2TV-V2TH)/V2N
V3V=K30*EFJ30*EXP(A30*DFI)*X*G*ADPU
V3H=K31*EFJ31*EXP(-A31*DFI)*Y*ADPI
V3=V3V-V3H
DX=V2-VAU*V3
DY=V3-LAST
A2=LN(XJ/X)+LN(ADPI/ADPIJ)+LN(HP04I/HP04J)+FRT*(FI-FIJ)
A3=LN(YJ/Y)+LN(X/XJ)+LN(ADPIJ/ADPI)+LN(ADPU/ADPUJ)+FRT*(FI-FIJ)
A4=-LN(4.7E-10*ADPI*HP04I/(X*G))
VERK=A4/(A4+V*A2+A3)
END

```

```

DISCRETE SYSTEM HPIT1
STATE HP
NEW NHP
INPUT XI YI
TIME T
TSAMP TS
INITIAL
G:1E-4
VH:10
VICH:1E-5
BUFFH:1
C10:12.2996
C50=1.4E3*VICH
C60=C50*(-7*BUFFH-20.43312)
HP:-9.01919
DYNAMICS
TS=T+DT
DT:0.001
HPO4I=((1+VH)*12.5-XI*G-VH*YI)/(1+10*(HP+6.8)+10*(2*HP+14.213))
NHP=(C50*(XI*G+(2+10*(HP+6.8))*HPO4I)+C60-C10)/(1+C50*BUFFH)
END

```

```

CONNECTING SYSTEM MCH1
XI[HPIT1]=X[MIT1]
YI[HPIT1]=Y[MIT1]
HP[MIT1]=HP[HPIT1]
END

```

```

MACRO SIM X0 Y0
INIT X:X0
INIT Y:Y0
PAR DT:1
SIMU 0 10
PAR DT:5
SIMU 10 30-CONT
SIMU 30 50-CONT
PAR DT:10
SIMU 50 100-CONT
SIMU 100 200-CONT
SIMU 200 400-CONT
PAR DT:20
SIMU 400 600-CONT
END

```

```

CONTINUOUS SYSTEM MIT2
TIME T
STATE X Y
DER DX DY
INPUT HP
INITIL
G:1E-4
V:1
VAU=V
VIC:7.7E-5
BUFF:1
LAST:0
FRT:38.68
C55=96.49*VIC
XJ:1.18727
ADPIJ=1.55-XJ*G
YJ:0.525728
ADPUJ=1.55-YJ
HPJ:-9.02390
HP04J=((1+V)*12.5-XJ*G -V*YJ)/(1+10*(HPJ+6.8)+10*(2*HPJ+14.213))
FIJ=C55*(BUFF*(-HPJ-7)+XJ*G+HP04J*(2+10*(HPJ+6.8))-20.1642)
K210:100
K211:1
K22=K211/K210*4.7E-3
A210:38.68
K30:10
K31=K30
A30:19.34
A31:19.34
EFJ2=EXP(A210*FIJ)
EFJ30=EXP(A30*FIJ)
EFJ31=EXP(-A31*FIJ)
DYNAMICS
PH=-HP
ADPI=1.55-X*G
ADPU=1.55-Y
QAU=Y/ADPU
HP04I=((1+V)*12.5-X*G-V*Y)/(1+10*(HP+6.8)+10*(2*HP+14.213))
HP04U=HP04I*10*(2*HP+14)
FI=C55*(BUFF*(-HP-7)+X*G+HP04I*(2+10*(HP+6.8))-20.1642)
DFI=FI-FIJ
V2N=X*G+ADPI*HP04I*K22
V2TV=K210*EFJ2*EXP(A210*DFI)*ADPI*HP04I*K22*1E-7
V2TH=K211*X*G
V2=(V2TV-V2TH)/V2N
V3V=K30*EFJ30*EXP(A30*DFI)*X*G*ADPU
V3H=K31*EFJ31*EXP(-A31*DFI)*Y*ADPI
V3=V3V-V3H
DX=V2-VAU*V3
DY=V3-LAST
A2=LN(XJ/X)+LN(ADPI/ADPIJ)+LN(HP04I/HP04J)+FRT*(FI-FIJ)
A3=LN(YJ/Y)+LN(X/XJ)+LN(ADPIJ/ADPI)+LN(ADPU/ADPUJ)+FRT*(FI-FIJ)
A4=-LN(4.7E-10*ADPI*HP04I/(X*G))
VERK=A4/(A4+V*A2+A3)
END

```

DISCRETE SYSTEM HPIT2

STATE HP

NEW NHP

INPUT XI YI

TIME T

TSAMP TS

INITIAL

G:1E-4

VH:1

VICH:7.7E-5

BUFFH:1

C10:12.2996

C50=1.4E3*VICH

C60=C50*(-7*BUFFH-20.43312)

HP:-9.02390

DYNAMICS

TS=T+DT

DT:0.001

HPO4I=((1+VH)*12.5-XI*G-VH*YI)/(1+10*(HP+6.8)+10*(2*HP+14.213))

NHP=(C50*(XI*G+(2+10*(HP+6.8))*HPO4I)+C60-C10)/(1+C50*BUFFH)

END

CONNECTING SYSTEM MCH2

XI[HPIT2]=X[MIT2]

YI[HPIT2]=Y[MIT2]

HP[MIT2]=HP[HPIT2]

END

APPENDIX F - ÖKNINGEN AV pH INNE I MITOKONDRIEN

I litteraturen [1] anges oftast $\Delta\text{pH}_i \approx 1.4$. Detta värde har beräknats ur en elektromekisk potential på 230 mV †. Den här presenterade modellen ger enligt figur 4.1 elektrokemiska potentialer mellan

$$59 \cdot (12.3 - 7) = 313 \text{ mV}$$

och

$$368 \text{ mV.}$$

Värdet på ΔpH_i har därför räknats upp till ca 2.

† David G Nicholls: The influence of respiration and ATP hydrolysis on the proton-electrochemical gradient across the inner membrane. Eur J Biochem 50 (1974) 305-315.