

Биоэнергетика

Макроэргические соединения.
Биологическое окисление.
Митохондриальная цепь переноса электронов. АТФ-синтаза.
Регуляция окислительного фосфорилирования. Общий путь катаболизма, его связь со специфическими путями катаболизма и окислительным фосфорилированием. Регуляция общего пути катаболизма.

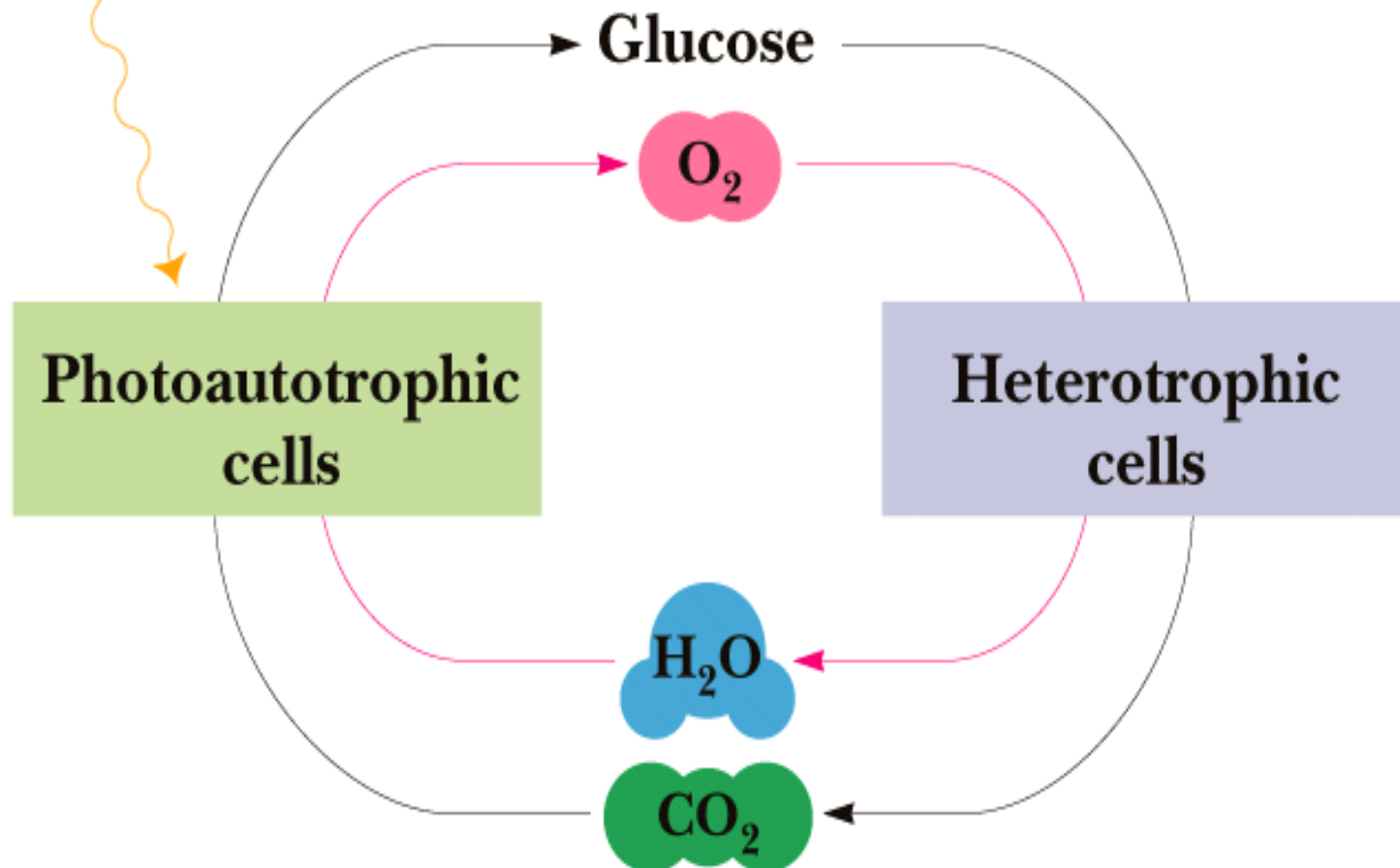
Доцент Гончарова Л.В.

План

1. Цепь переноса электронов и окислительное фосфорилирование;
 - Окислительно-восстановительный потенциал;
 - Переносчики электронов дыхательной цепи
2. Сопряжение окисления и фосфорилирования
3. Ингибирование окислительного фосфорилирования
4. Разобщение окислительного фосфорилирования
5. Бурая жировая ткань
6. Активные формы кислорода

Figure 18.3

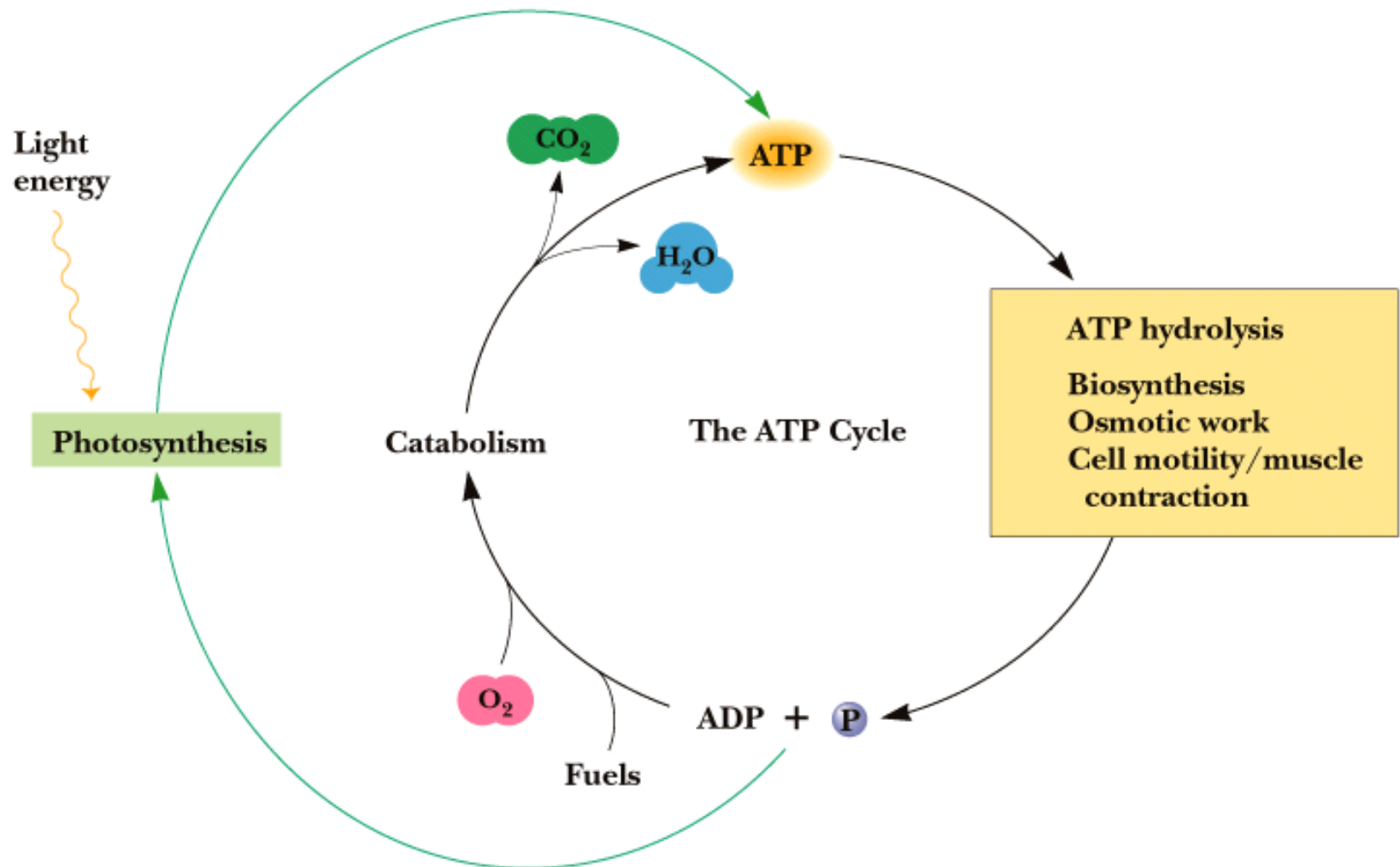
**Solar
energy**



Цикл превращений АТФ

- АТФ универсальный переносчик энергии для клеток;
- автотрофы трансформируют энергию солнечного света в энергию химических связей органических веществ;
- катаболизм органических веществ в клетках гетеротрофов приводит к освобождению энергии и запасанию её в виде АТФ;
- АТФ используется клетками для различных процессов, требующих энергии.

Figure 18.8



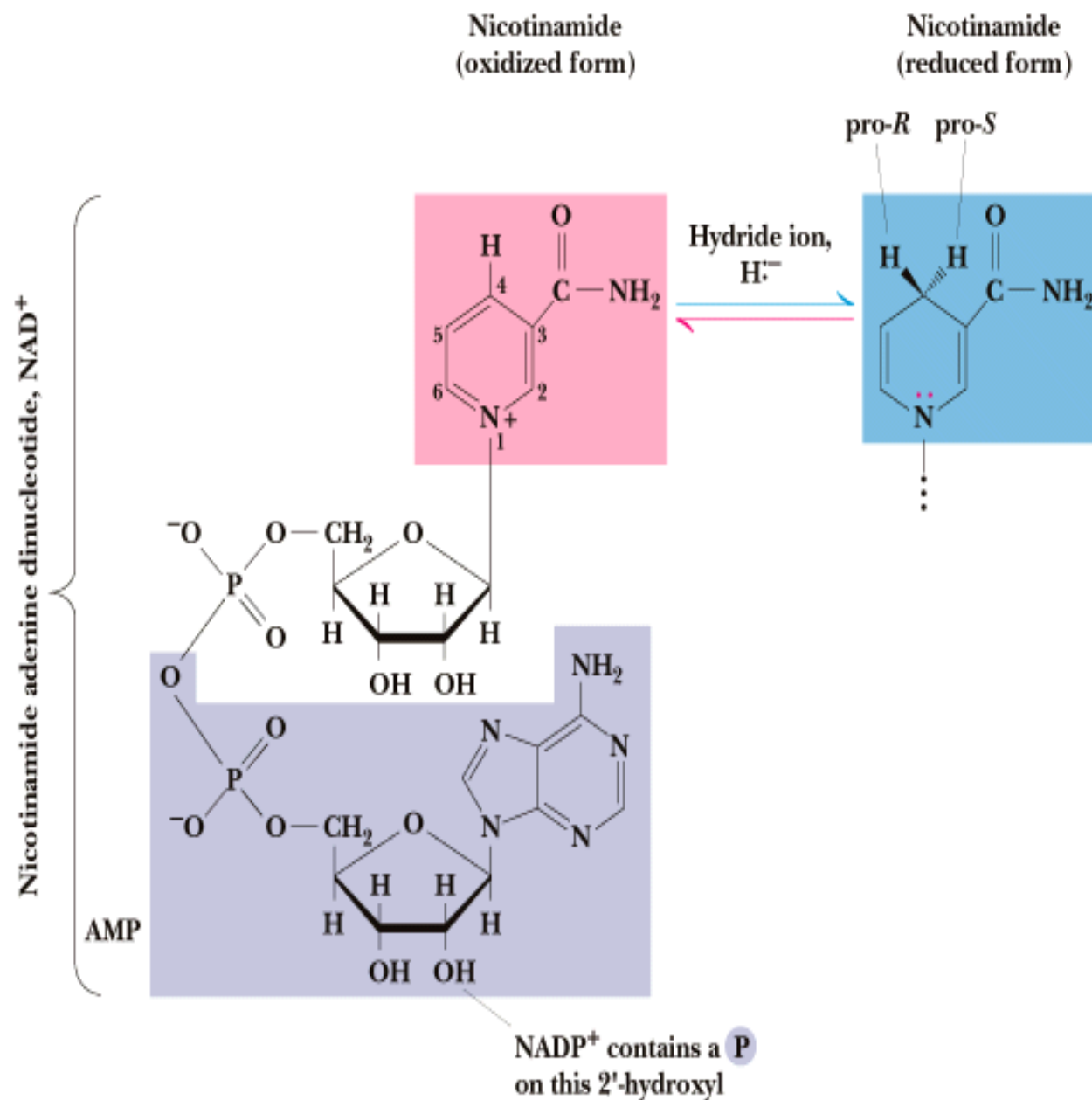
Роль окислительно-восстановительных процессов в метаболизме

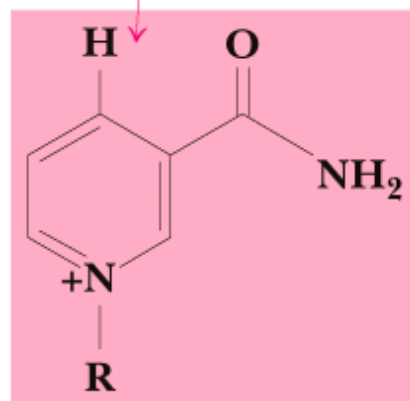
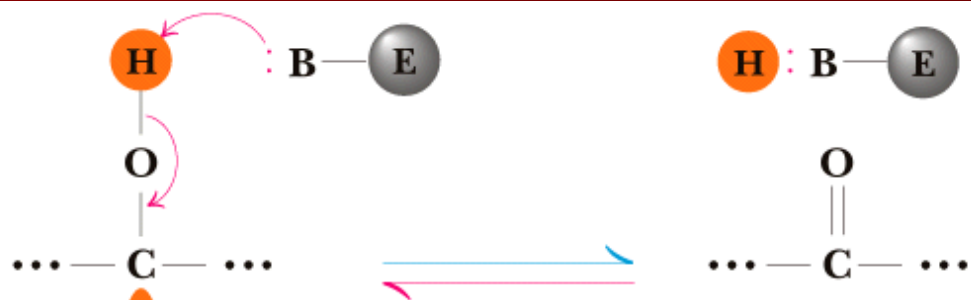
- Основной путь получения энергии гетеротрофами - окисление органических веществ путем дегидрирования.
- НАД^+ собирает электроны, освобождающиеся в процессе катаболизма
- в реакциях восстановительного синтеза используются $\text{НАДФН} + \text{H}^+$.

Коферменты никотиновой кислоты и никотинамида

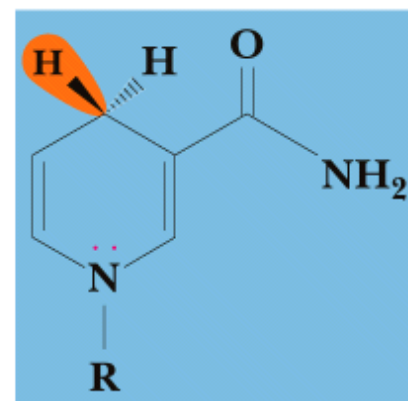
- Существуют два кофермента никотиновой кислоты и никотинамида: НАД⁺ и НАДФ⁺;
- НАД⁺ и НАДФ⁺ - двухэлектронные переносчики;
- Они переносят гидрид ионы к и от субстратов.

Figure 18.19



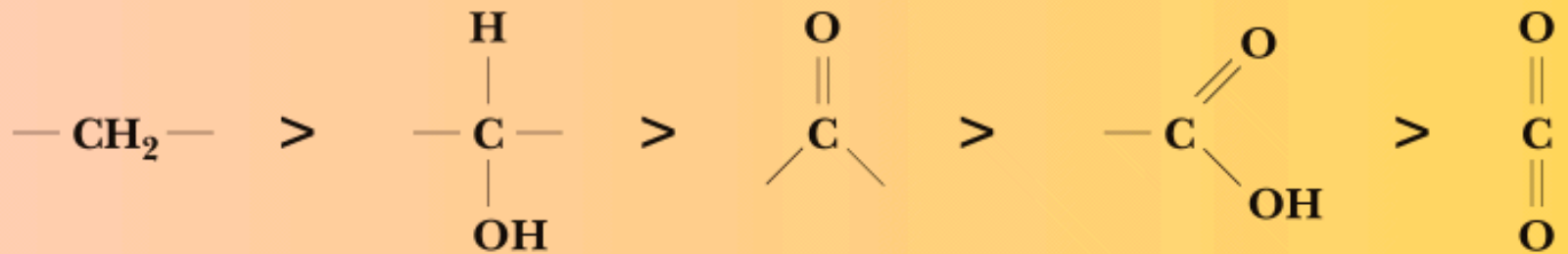


Oxidized coenzyme
(NAD⁺ or NADP⁺)



Reduced coenzyme
(NADH or NADPH)

Сравнение степеней окисления атомов углерода в биомолекулах



Окислительно-восстановительные реакции

Окислительно-восстановительные реакции включают транспорт электронов, каждая из реакций состоит из двух сопряженных полуреакций: $A(ок) + B(восст) = A(восст) + B(ок)$

- окисление – процесс потери электронов;
- восстановление – процесс присоединения электронов;
- в уравнении А является акцептором электронов, В – донор электронов.

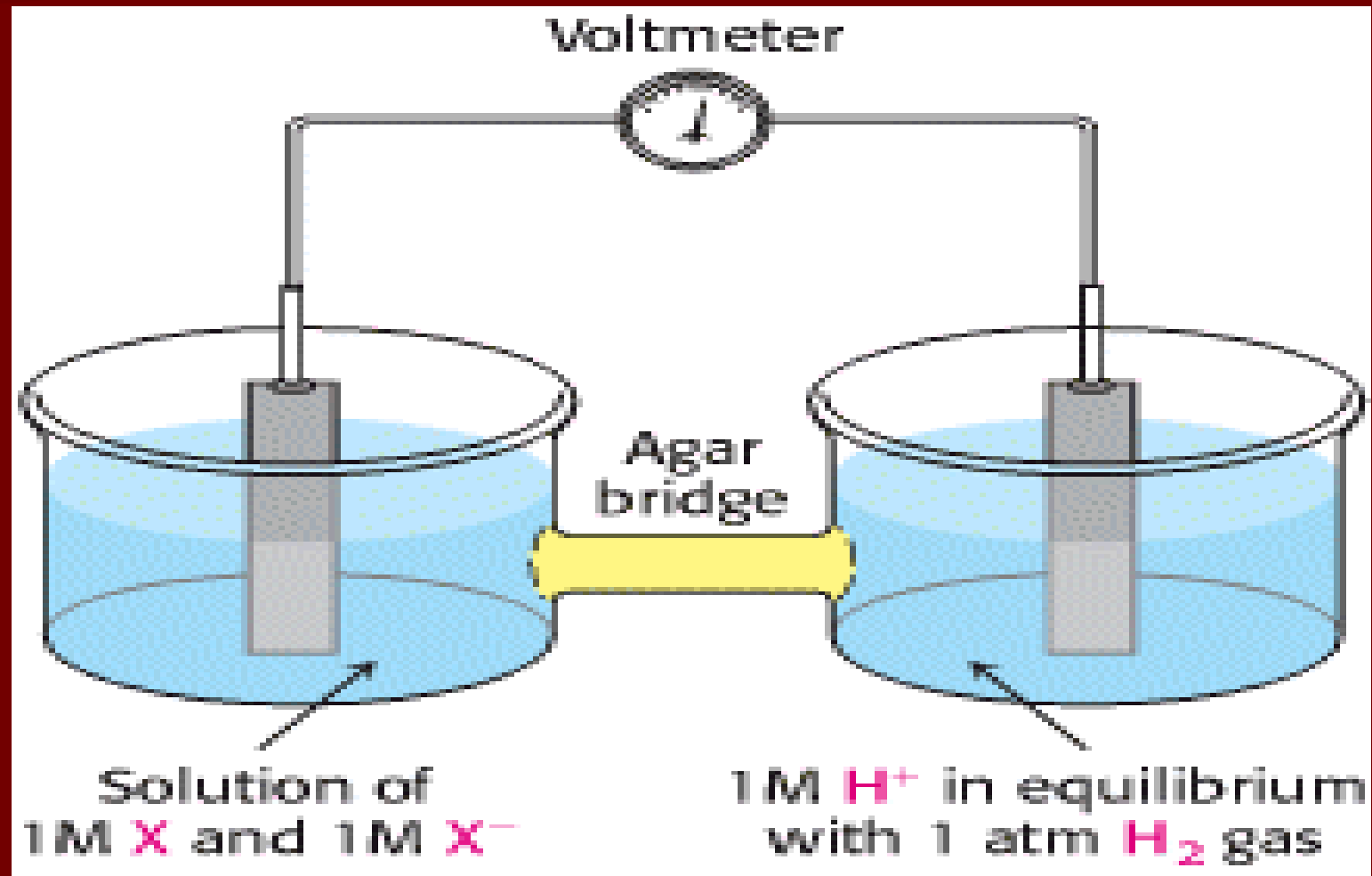
Окислительно-восстановительный потенциал.

Стандартный ОВ потенциал (редокс потенциал) для полуреакций – электрический потенциал (E^0') в вольтах, измеряемый в течение реакций в стандартных условиях. Для сравнения используется водородный электрод.

Стандартные условия:

- pH 7;
- температура 25⁰С;
- концентрация растворенных веществ 1 моль;
- атмосферное давление 1 атм.

Аппарат для измерения стандартного окислительно-восстановительного потенциала



Полуреакции	E^0' (volts)
Ацетат + $2H^+ + 2e^- \leftrightarrow$ Ацетальдегид	-0.60
НАД ⁺ + $2H^+ + 2e^- \leftrightarrow$ НАДН + H^+	-0.32
Свободный ФАД + $2H^+ + 2e^- \leftrightarrow$ Свободный ФАДН ₂	-0.18
Пируват + $2H^+ + 2e^- \leftrightarrow$ Лактат	-0.19
Фумарат + $2H^+ + 2e^- \leftrightarrow$ Сукцинат	+0.03
Цитохром с(Fe^{3+}) + $e^- \leftrightarrow$ Цитохром с (Fe^{2+})	+0.25
$1/2 O_2 + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow H_2O$	+0.82

Уравнение расчета энергии переноса 2e от НАДН+ H⁺ к ½ O₂.

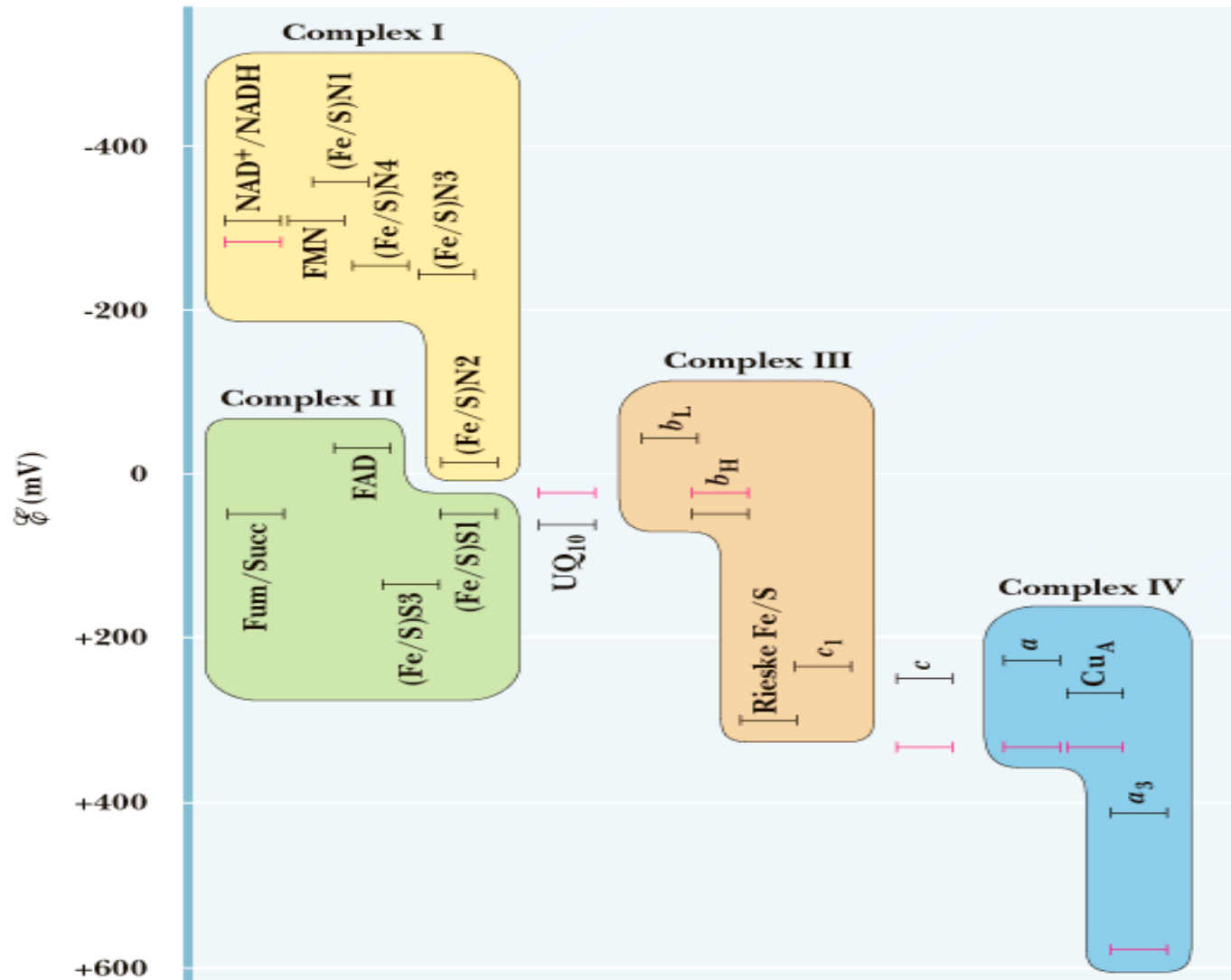
■ $\Delta G^{0'} = -n \times F \times \Delta E^{0'}$

- где ΔG - стандартная свободная энергия реакции;
- n - число электронов;
- F - число Фарадея;
- $\Delta E^{0'}$ - разность между значениями ОВ потенциалов исходных веществ и продуктов реакции.

Уравнение расчета энергии переноса $2e$ от НАДН+ H^+ к $\frac{1}{2} O_2$.

- $\Delta E^0' \text{ НАДН/ } O_2 = (0,82 - (-0,32)) = 1,14 \text{ В.}$
- $\Delta G = 2 * 23,065 * 1,14 = 52,6 \text{ ккал/моль или } 220 \text{ кДж/моль.}$
- Величина - теоретически достаточна для синтеза 7 АТФ, но синтезируется не более 3-х.

Строение дыхательной цепи

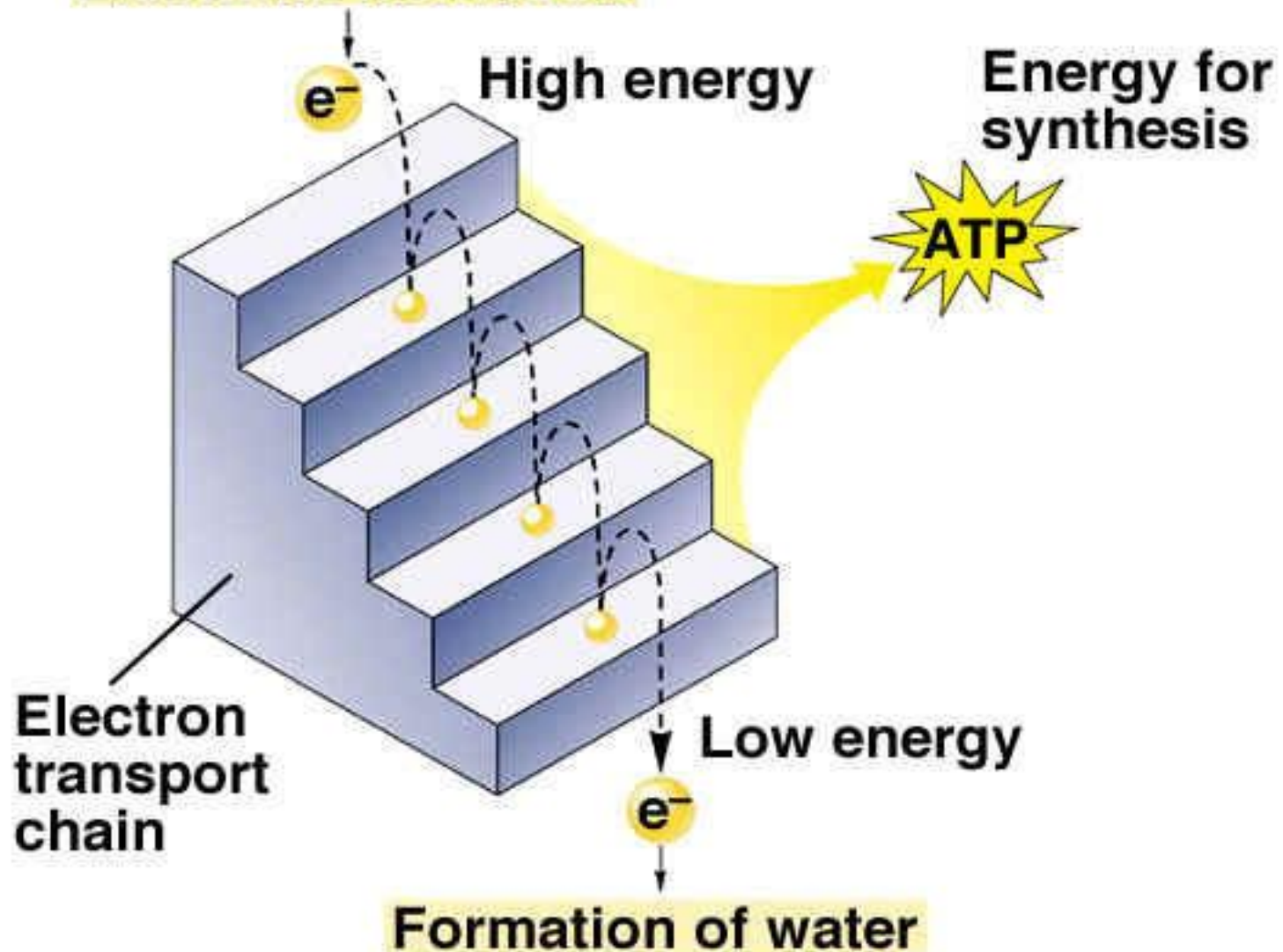


Строение дыхательной цепи

- Четыре белковых комплекса расположены во внутренней митохондриальной мембране
- Жирорастворимый кофермент Q и водорастворимый цитохром C перемещаются между белковыми комплексами
- Энергия электронов при их движении по дыхательной цепи снижается

Electron Transport Schematic

Electrons from food



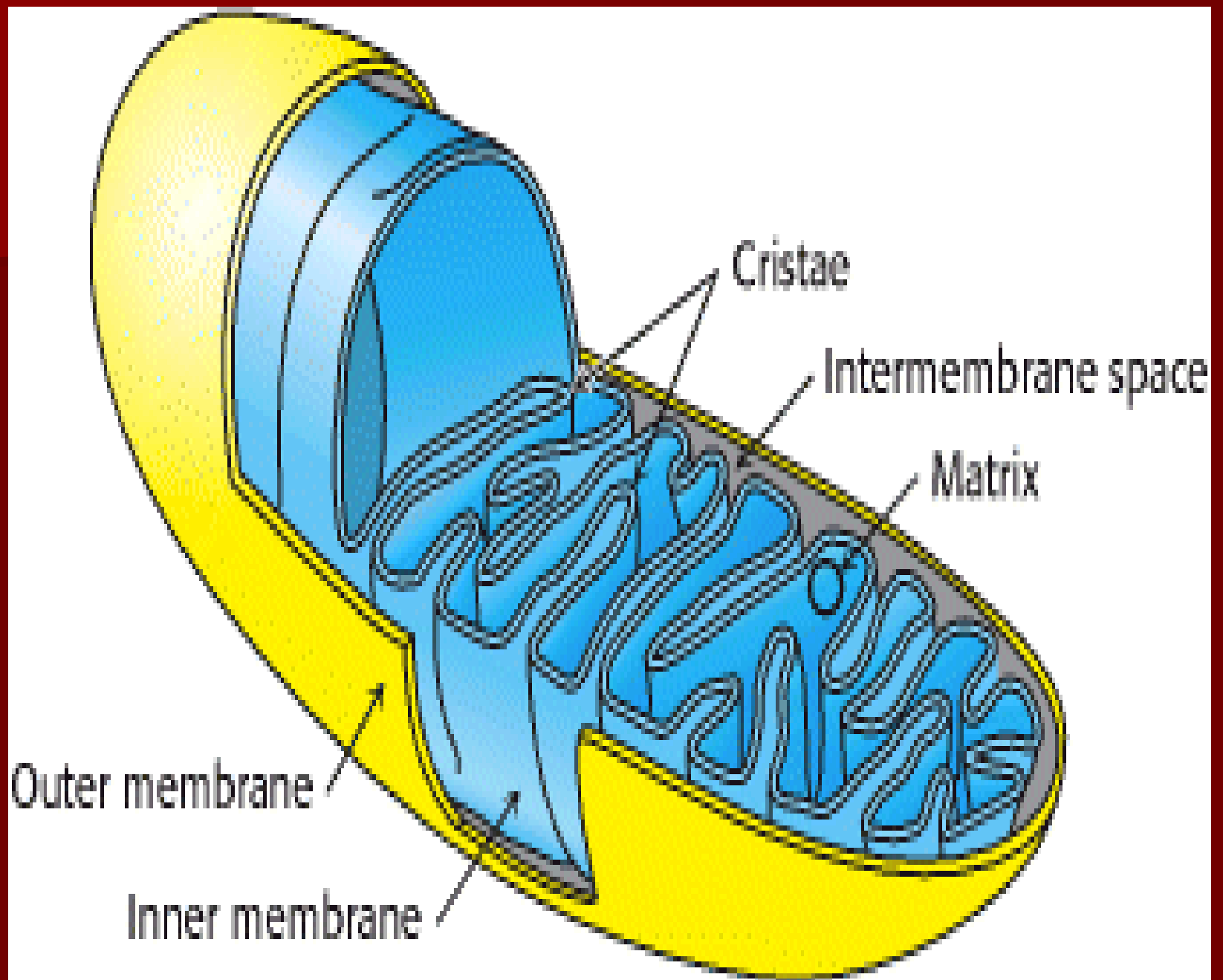
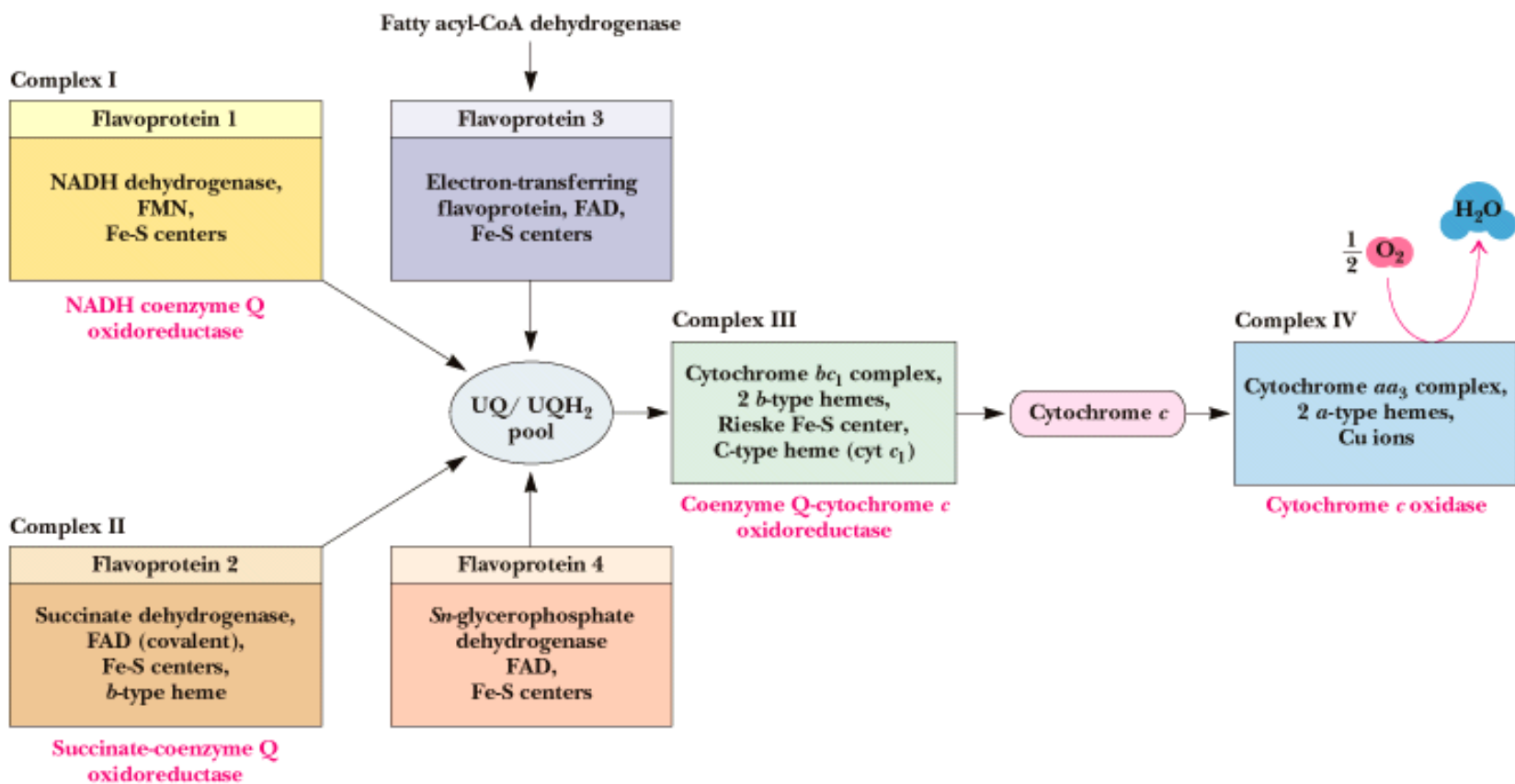




Figure 21.4

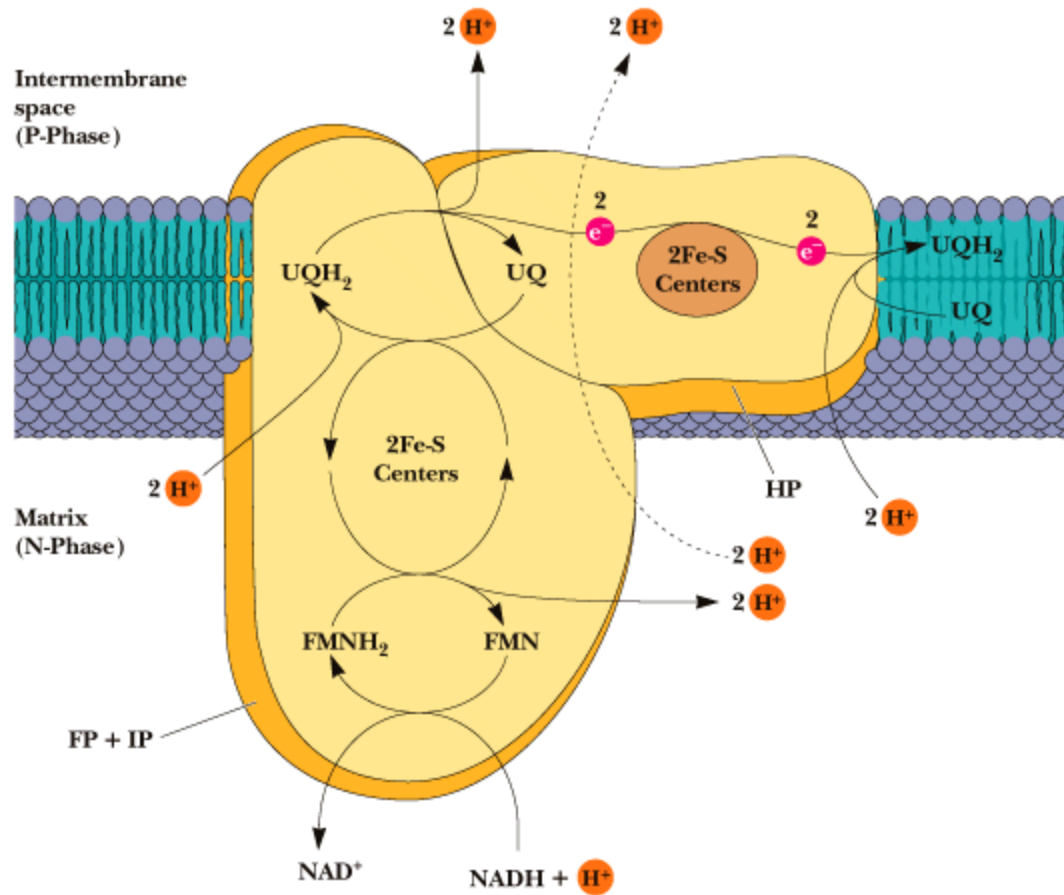


Комплекс I

НАДН-КоQ редуктаза

- Переносит электроны от НАДН к коферменту Q
- Состоит из более 30 субъединиц масса- 850 kD
- Путь движения электронов
 - $\text{NADH} \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{UQ} \rightarrow \text{FeS} \rightarrow \text{UQ}$
- Четыре протона H^+ переходят в межмембранное пространство при переносе 2-х электронов

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.6



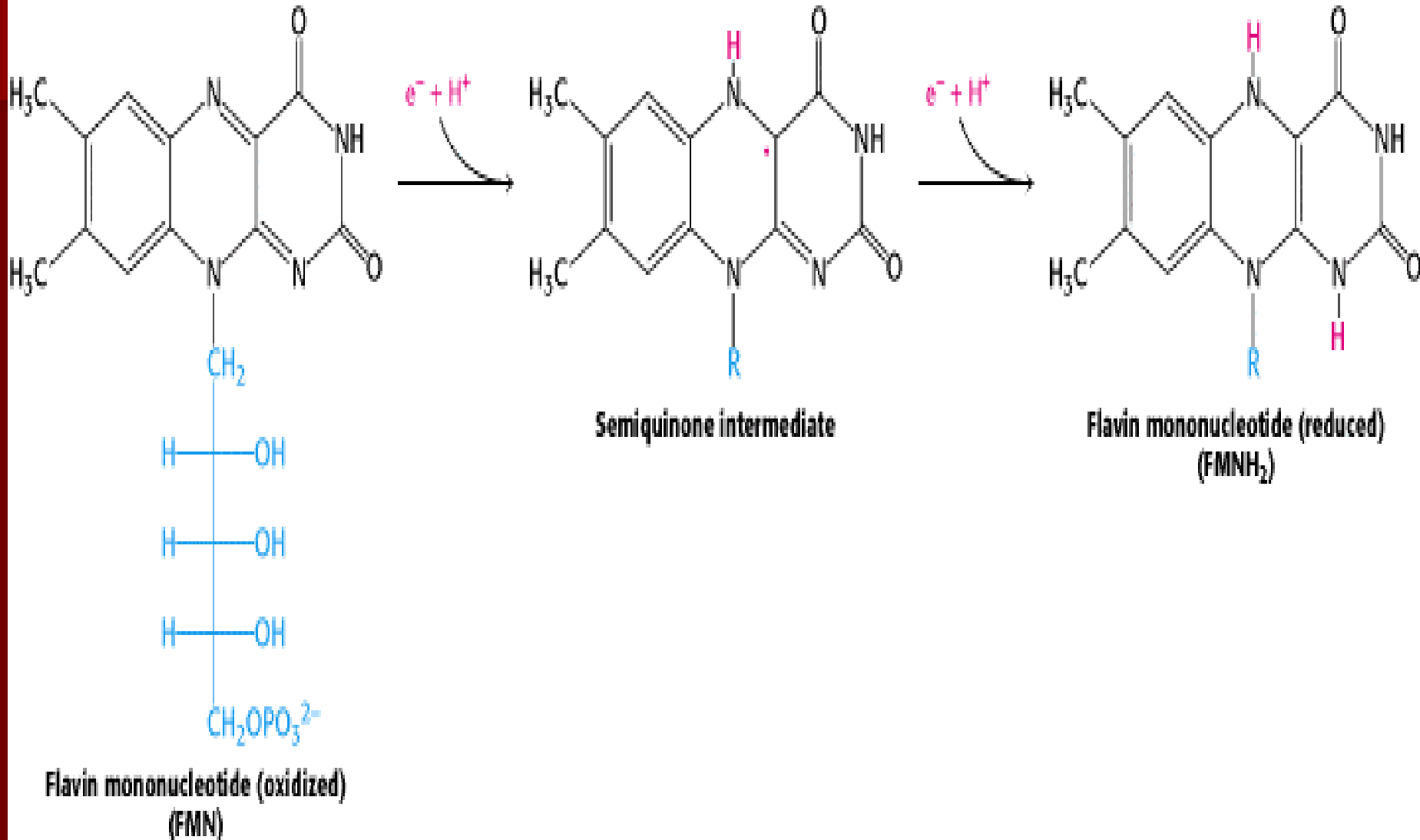
Рибофлавин (витамин В₂)

- Молекула содержит спирт рибитол и флавин или изоаллоксазиновое кольцо
- Активные формы витамина – ФМН и ФАД
- ФМН и ФАД не являются настоящими нуклеотидами, однако традиционные названия до сих пор существуют

Флавиновые коферменты

- ФМН и ФАД – одно и двухэлектронные переносчики
- Название флавин происходит от латинского *flavius*, что означает желтый
- Окисленная форма (хинон) является желтой, полухинон – голубой, восстановленная форма не окрашена

FMN



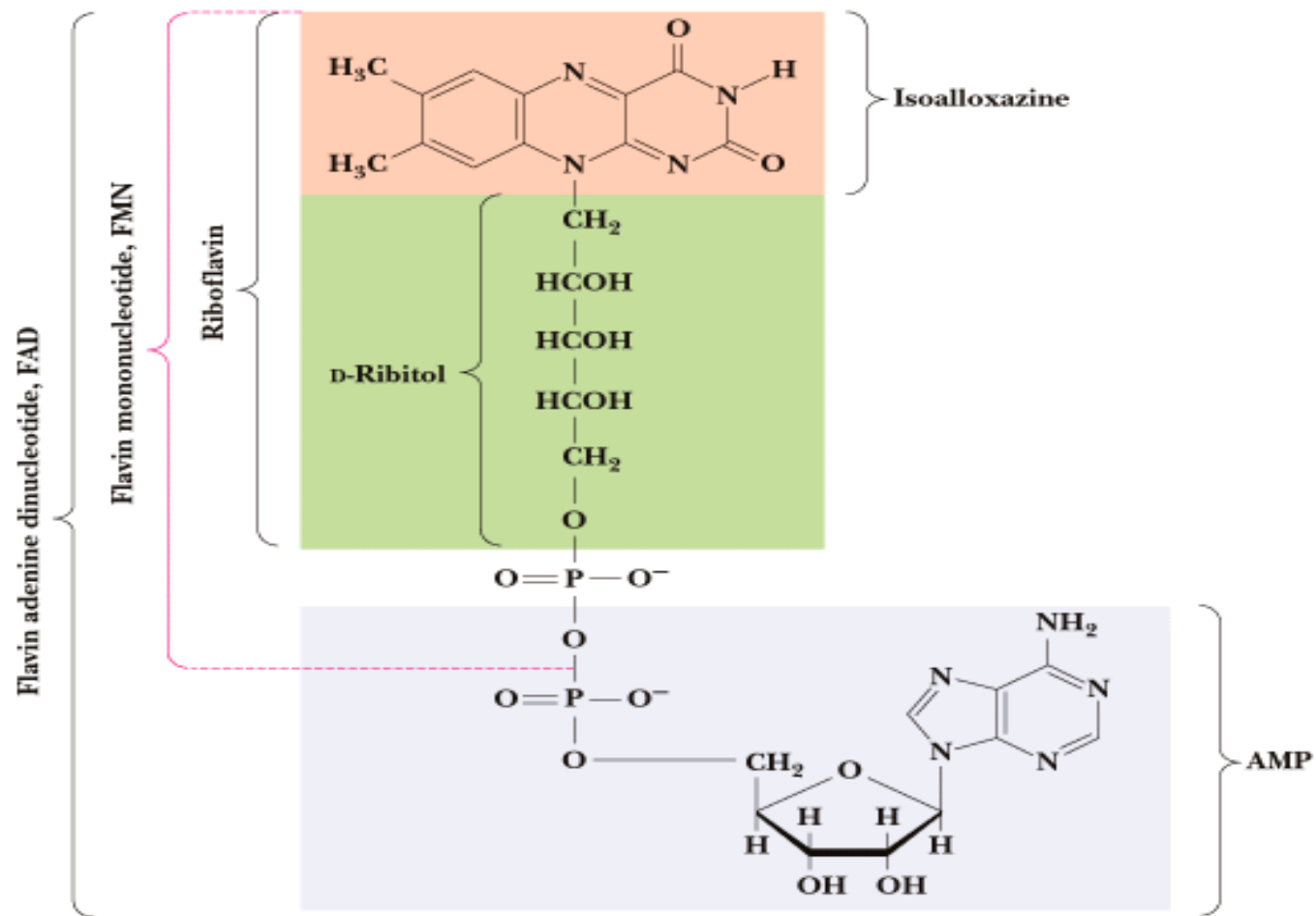
Комплекс II

(сукцинат-кофермент Q редуктаза)

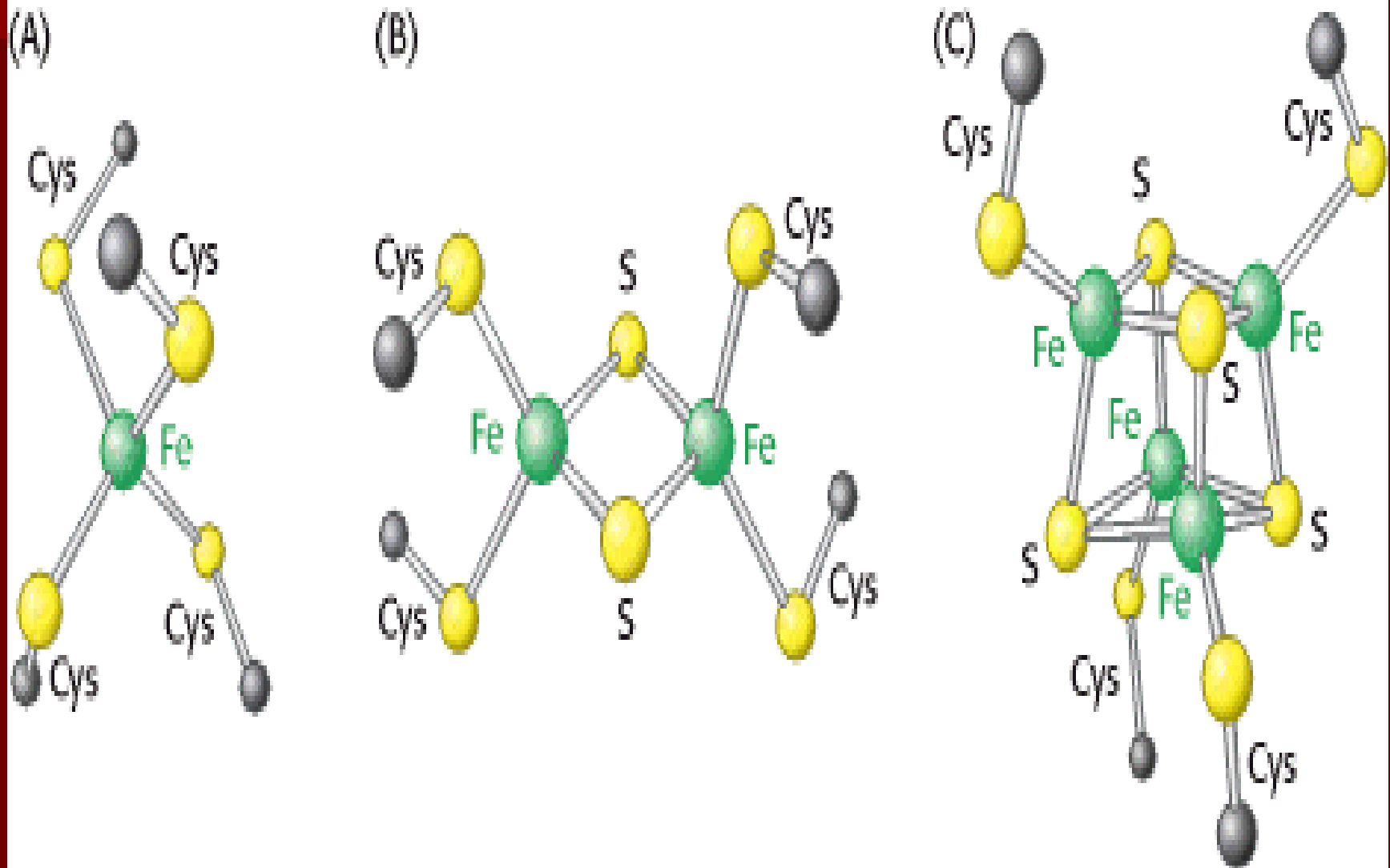
- сукцинатдегидрогеназа – фермент цикла Кребса;
- сукцинатдегидрогеназа – ФАД-зависима;
- Содержит четыре субъединицы, включая два железосерных центра (Fe-S);
- Содержит три типа Fe-S центров :
 - 4Fe-4S, 3Fe-4S, 2Fe-2S
- Передача электронов: сукцинат $\rightarrow$ ФАДН₂ $\rightarrow$ 2Fe²⁺ $\rightarrow$ коэнзим QH₂
- Суммарная реакция:

сукцинат + коэнзим Q $\leftrightarrow$ фумарат + коэнзим QH₂

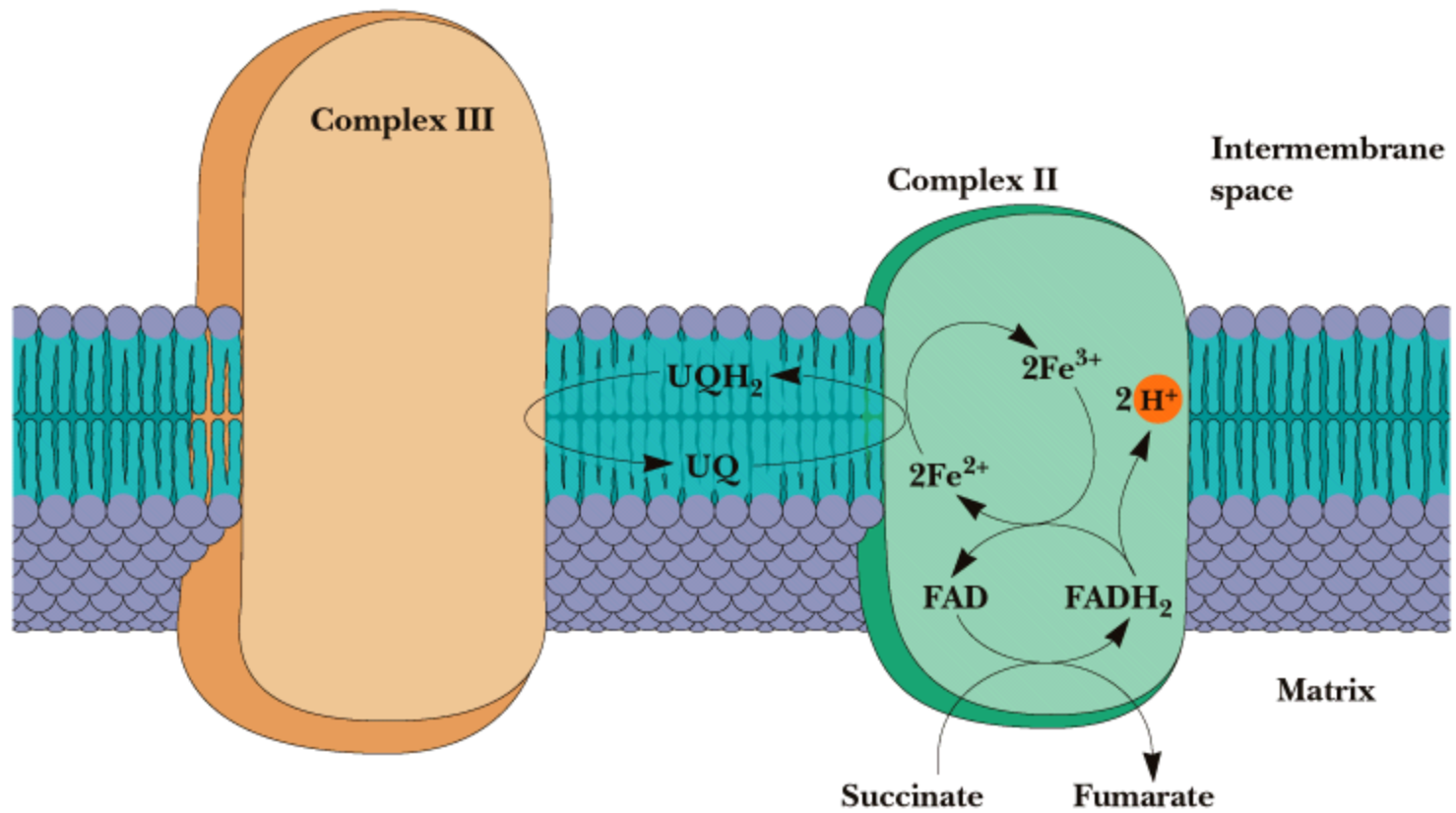
ФАД



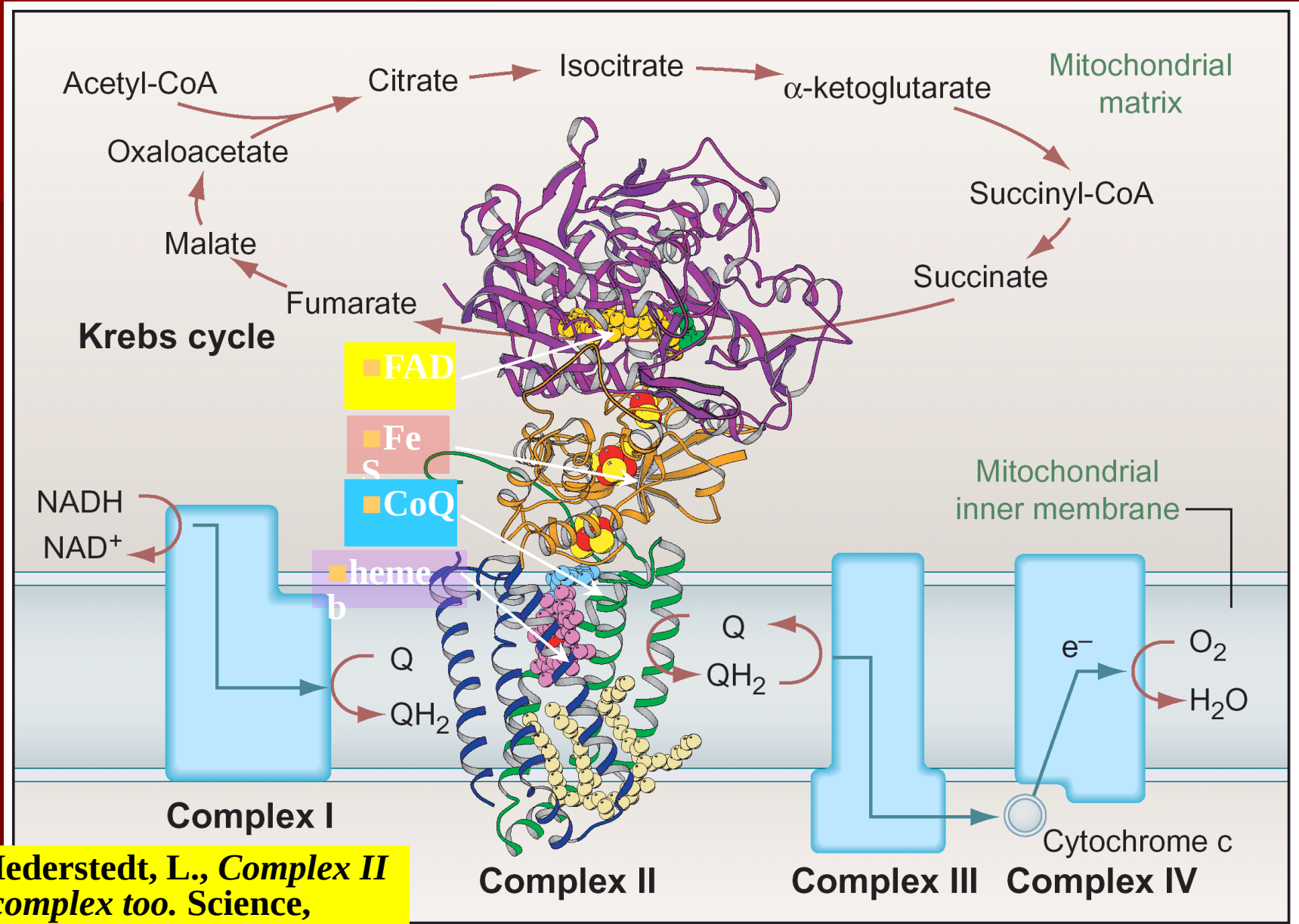
Типы железо-серных центров



Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.8

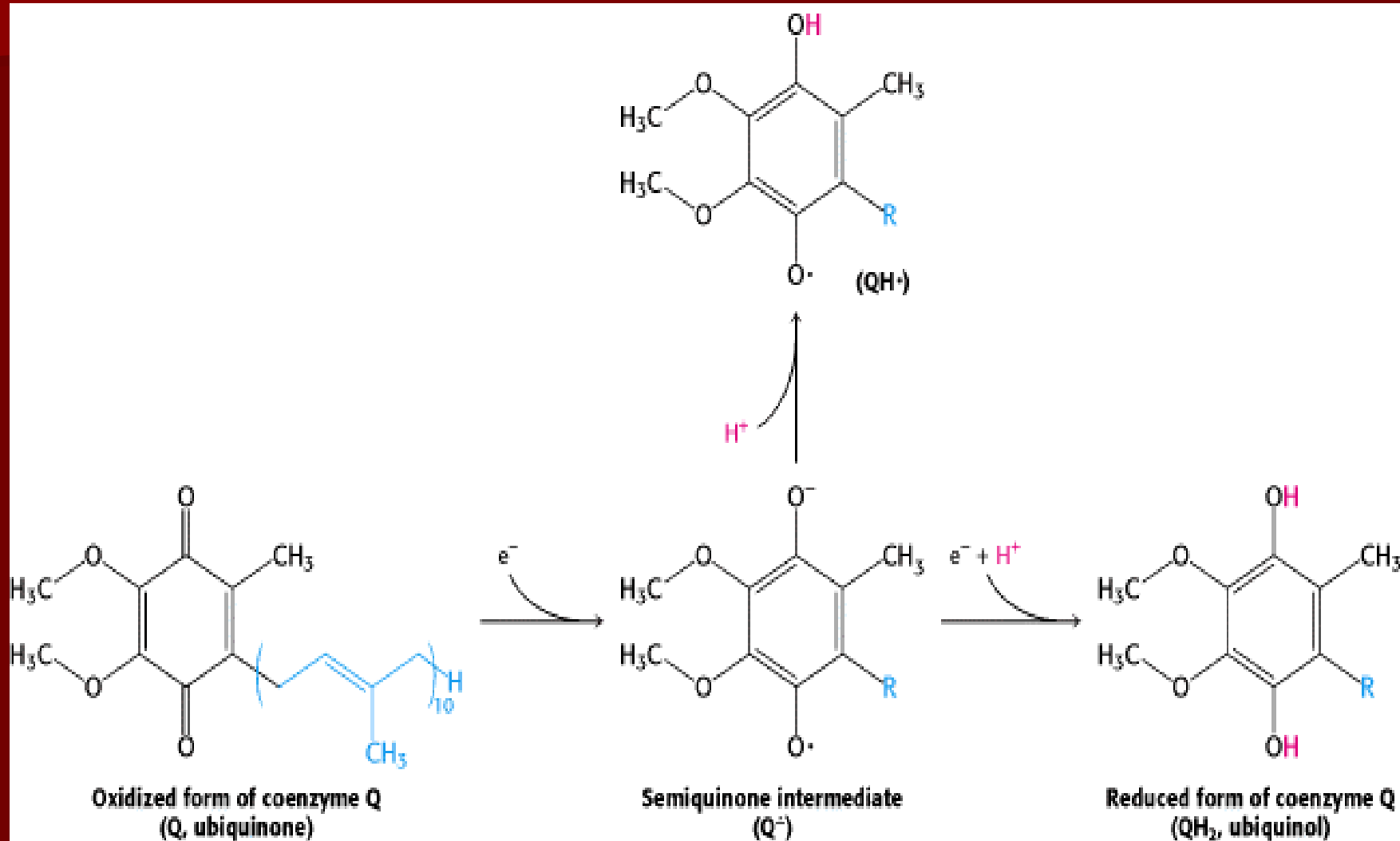


Комплекс II дыхательной цепи митохондрий

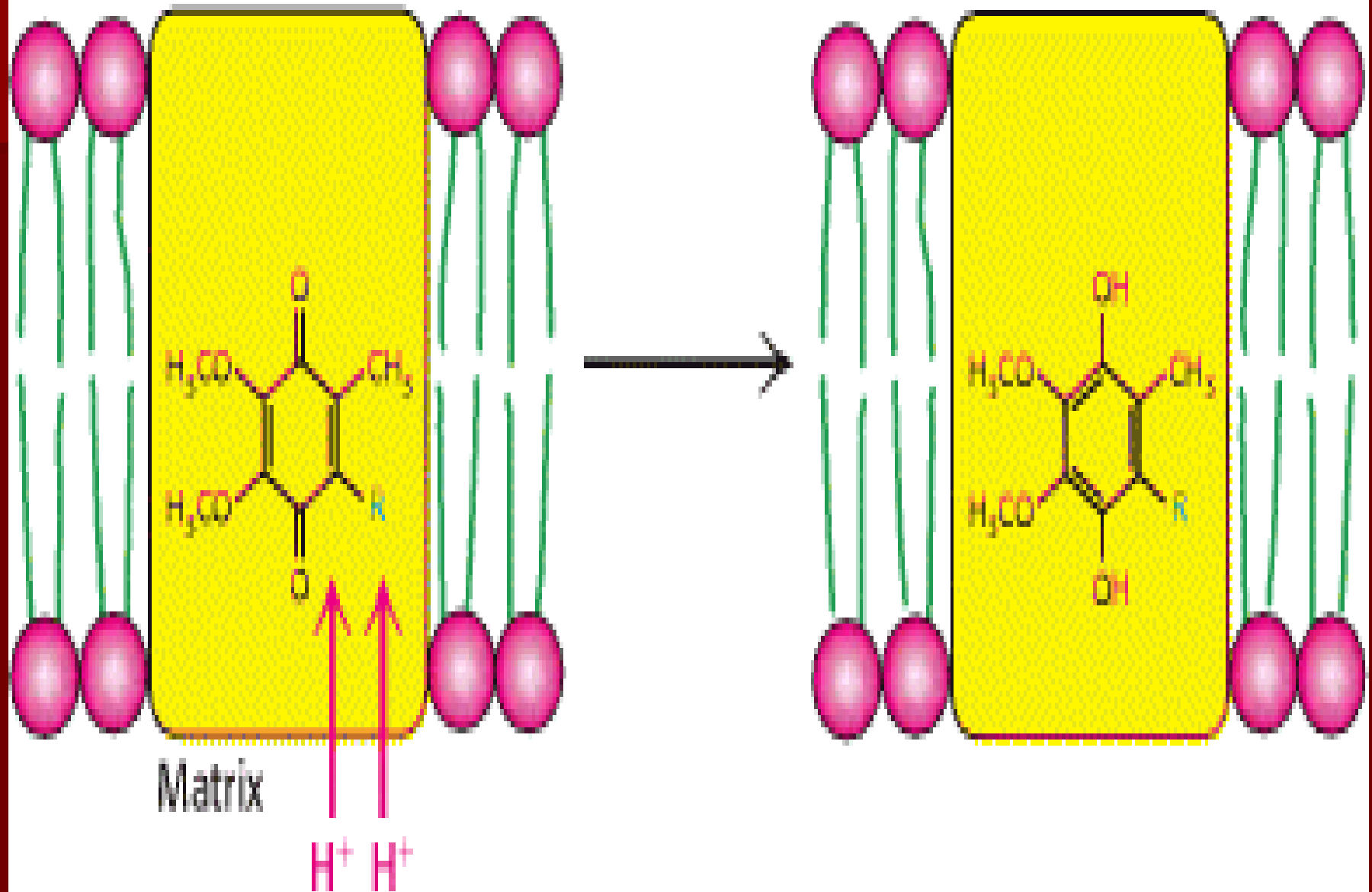


Hederstedt, L., *Complex II is complex too*. Science, 2003. 299: p. 671-672.

Убихинон



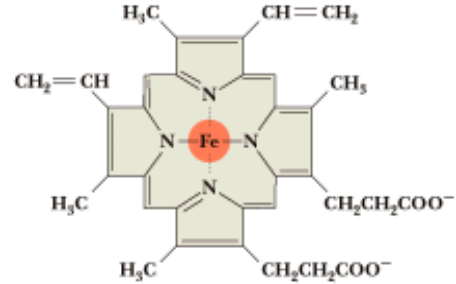
Intermembrane space



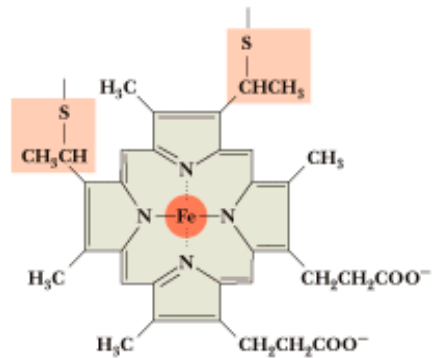
Комплекс III

коэнзим Q-цитохром с редуктаза

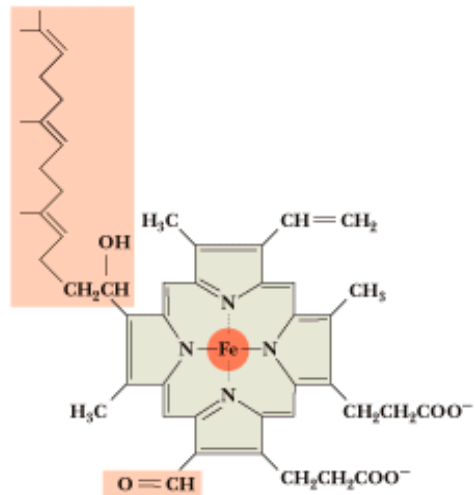
- коэнзим Q передаёт электроны на -цитохром с и выкачивает протоны в межмембранное пространство в уникальном цикле, называемом Q циклом;
- главным белком этого комплекса является цитохром b с гемами b_L и b_H;
- цитохромы, как и железосерные центры являются одноэлектронными переносчиками;
- коэнзим Q – жирорастворимый переносчик электронов;
- цитохром с – водорастворимый переносчик электронов.



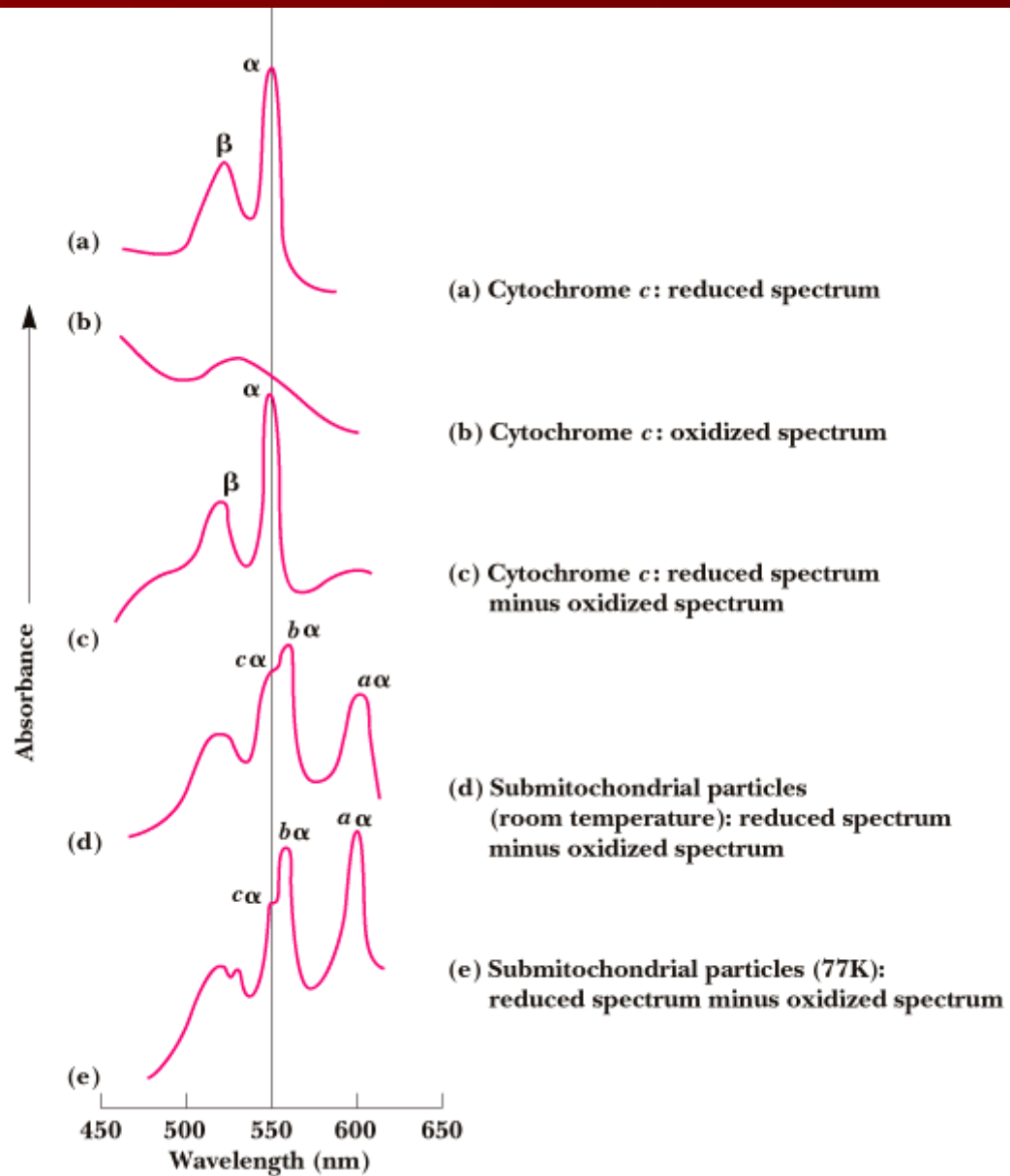
Iron protoporphyrin IX
(found in cytochrome *b*,
myoglobin, and hemoglobin)



Heme C
(found in cytochrome *c*)



Heme A
(found in cytochrome *a*)



Cyto. c1

Rieske

Subunit 8

Cyto. b

Subunit 11

Subunit 10

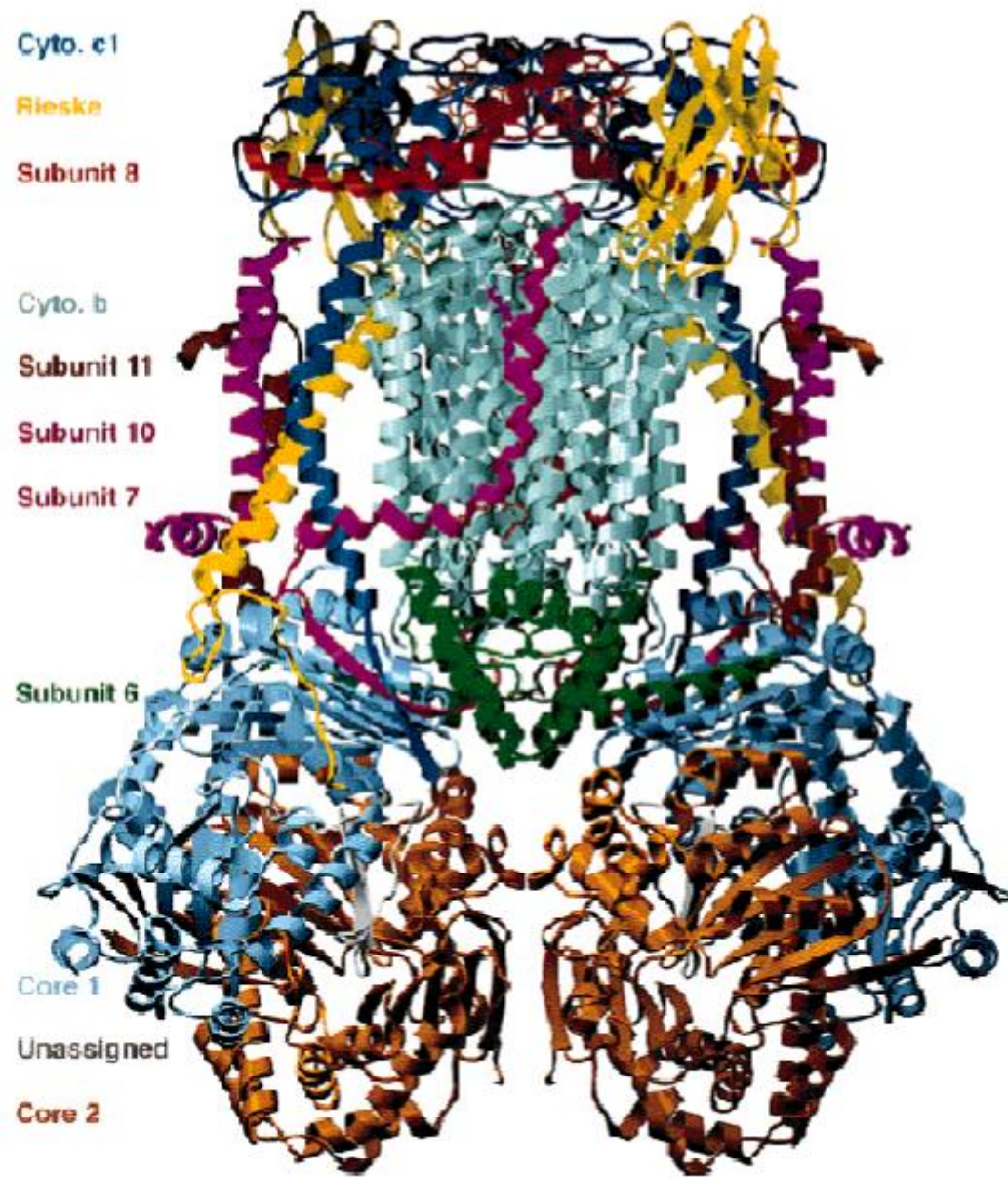
Subunit 7

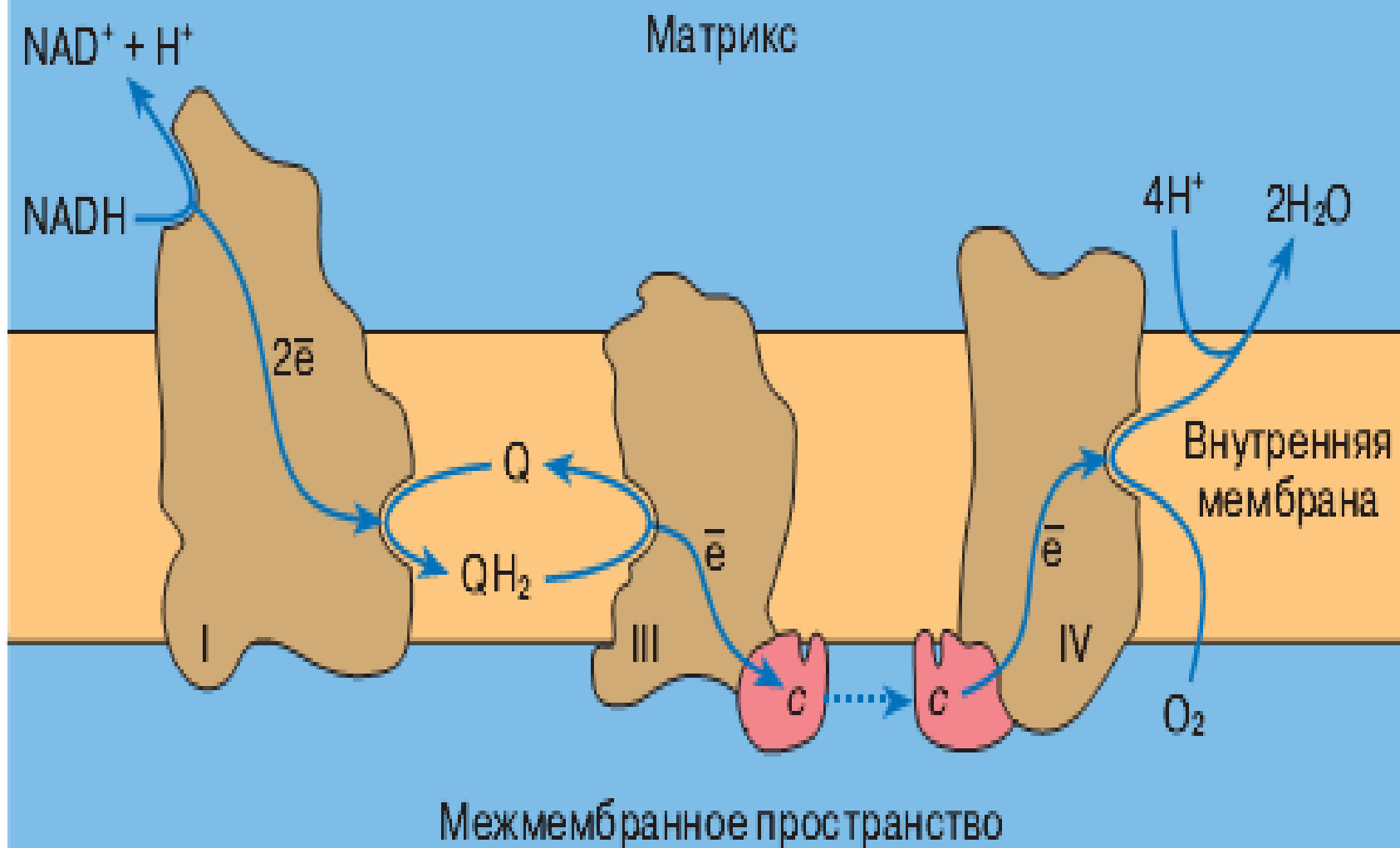
Subunit 6

Core 1

Unassigned

Core 2

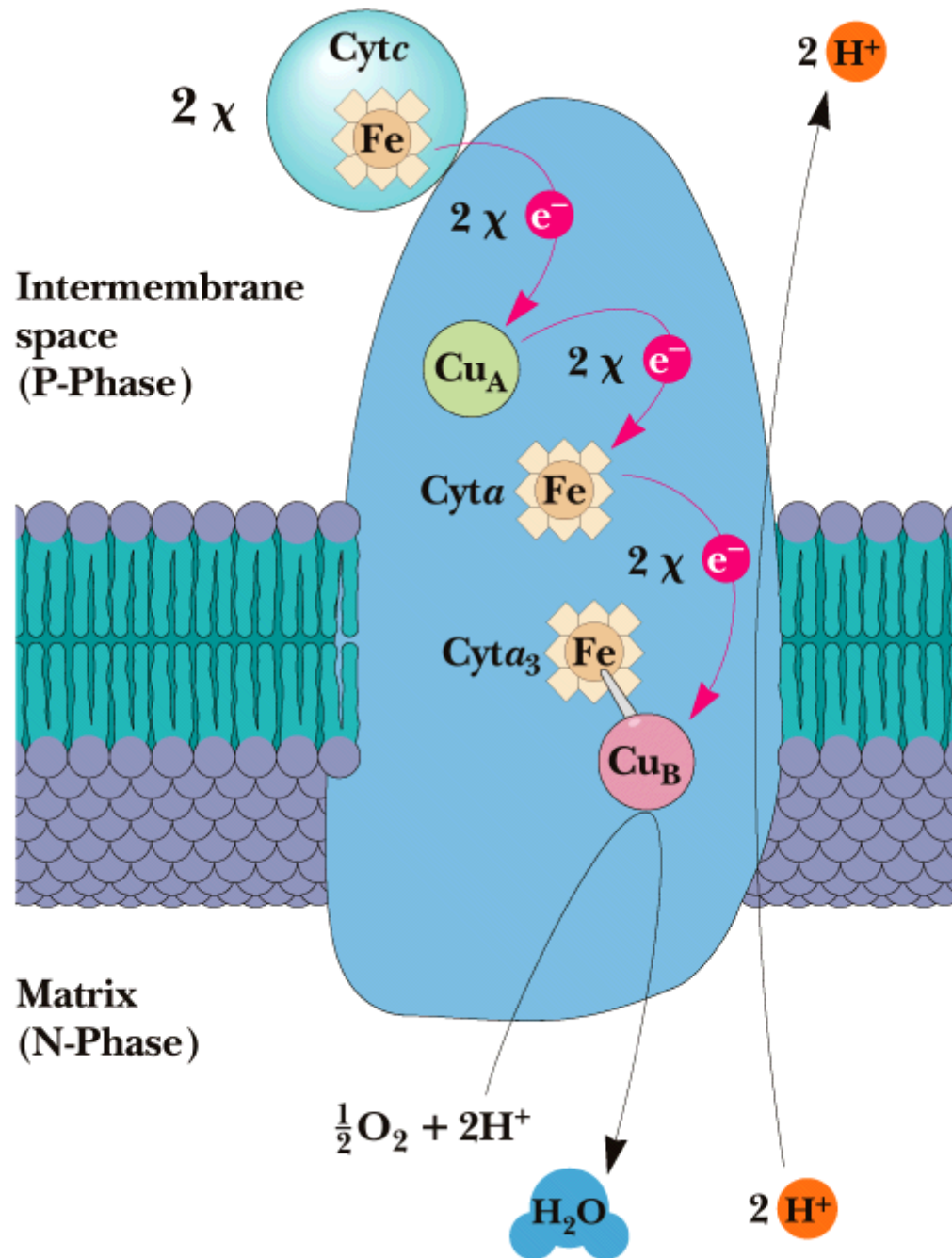




Комплекс IV

цитохром с оксидаза

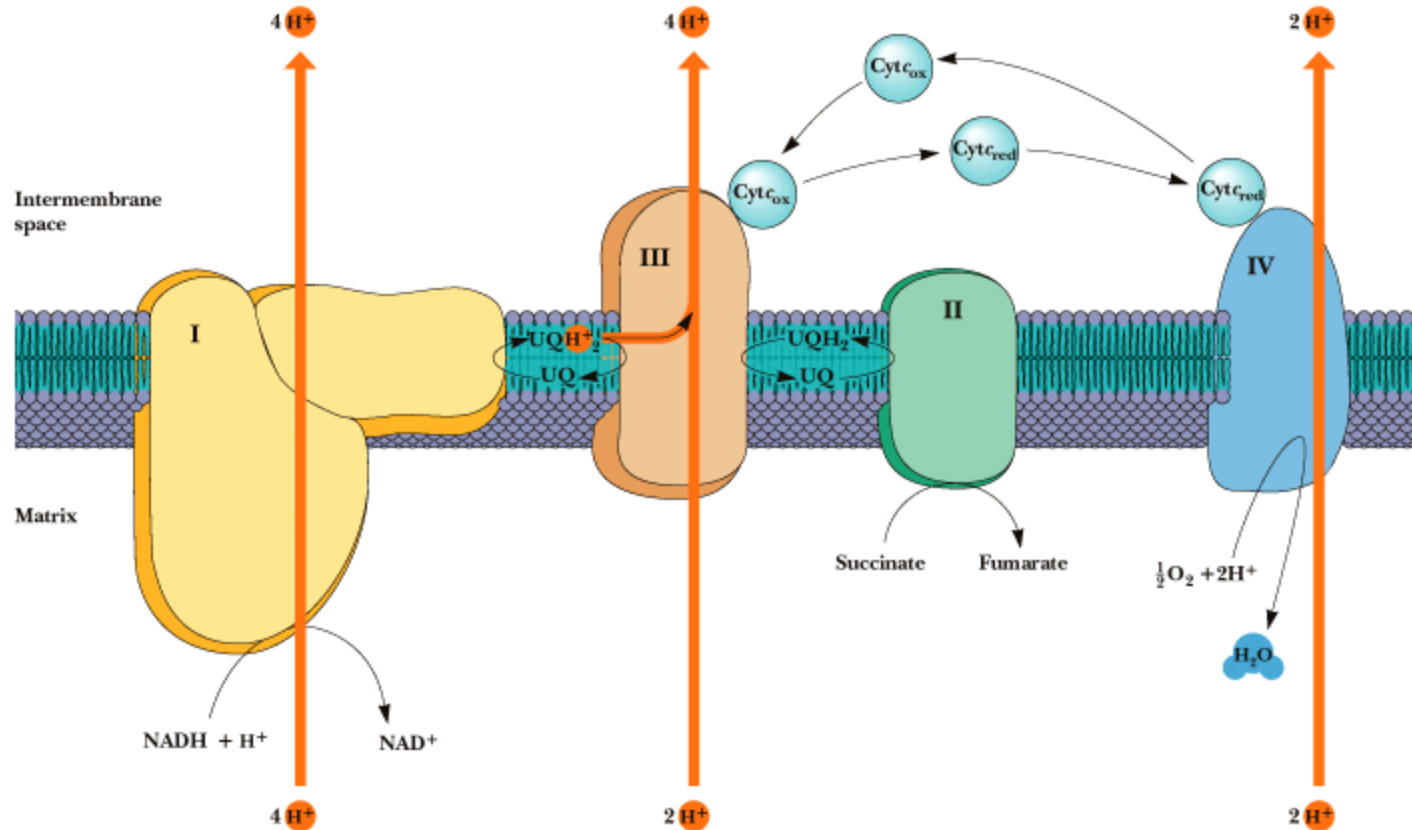
- **Электроны с цитохрома с используются для четырехэлектронного восстановления молекулы кислорода, что приводит к образованию двух молекул воды;**
- **кислород конечный акцептор электронов в дыхательной цепи;**
- **цитохром с оксидаза использует два гема (а и аз) и два иона меди;**
- **структура комплекса до конца не изучена;**
- **комплекс IV также транспортирует протоны водорода.**



Сопряжение транспорта электронов и окислительного фосфорилирования

- Много исследователей пытались найти «высокоэнергетический посредник»;
- Питер Митчелл предложил необычную идею: протонный градиент через внутреннюю митохондриальную мембрану может быть использован для синтеза АТФ;
- Митчелл был осмеян, но хемиоосмотическая гипотеза позволила ему получить Нобелевскую премию.

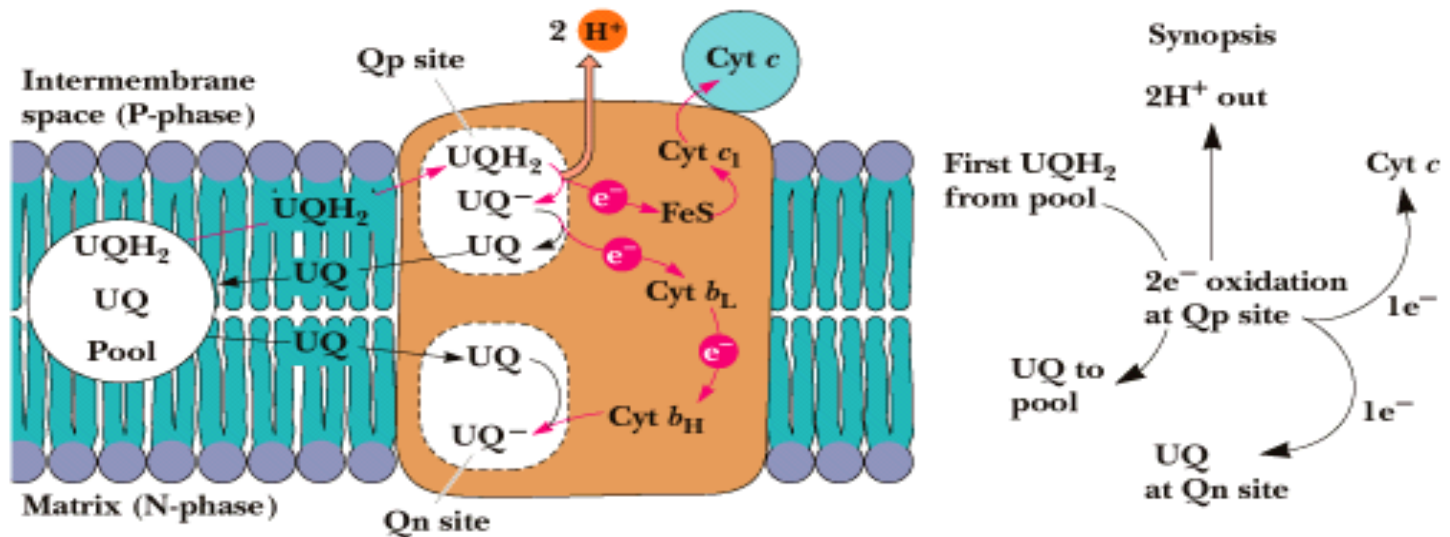
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.21



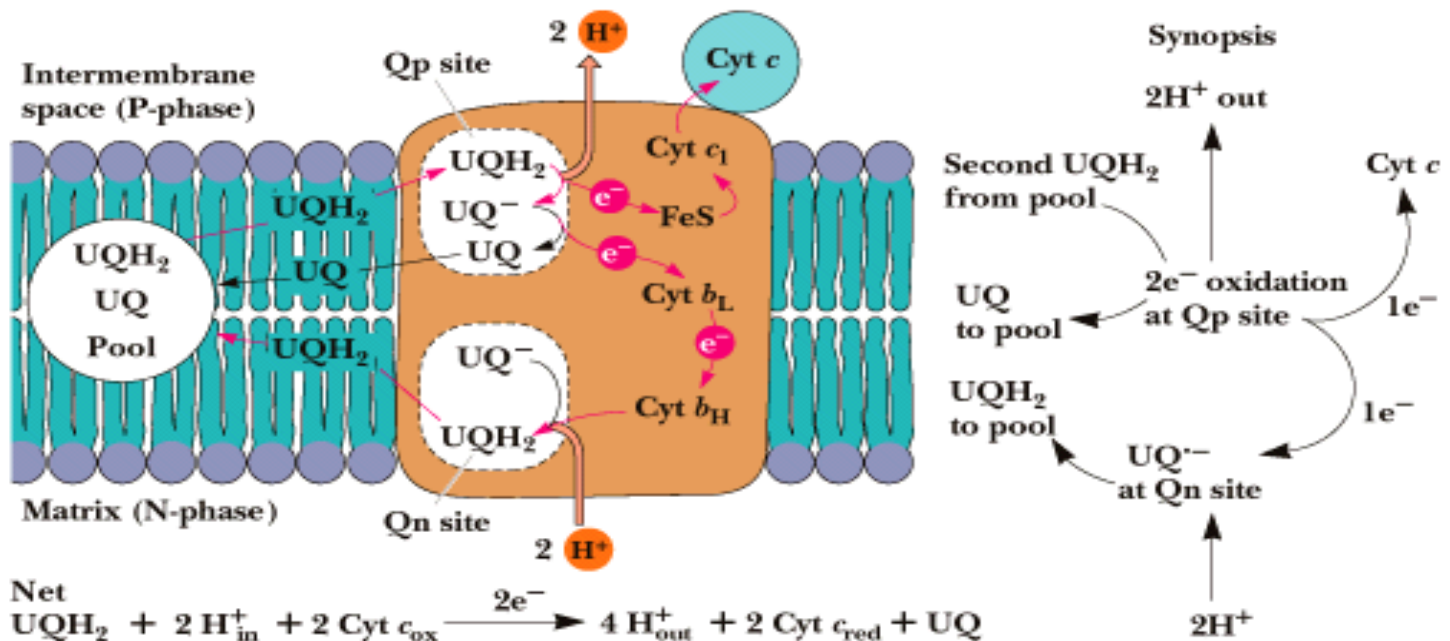
Q цикл

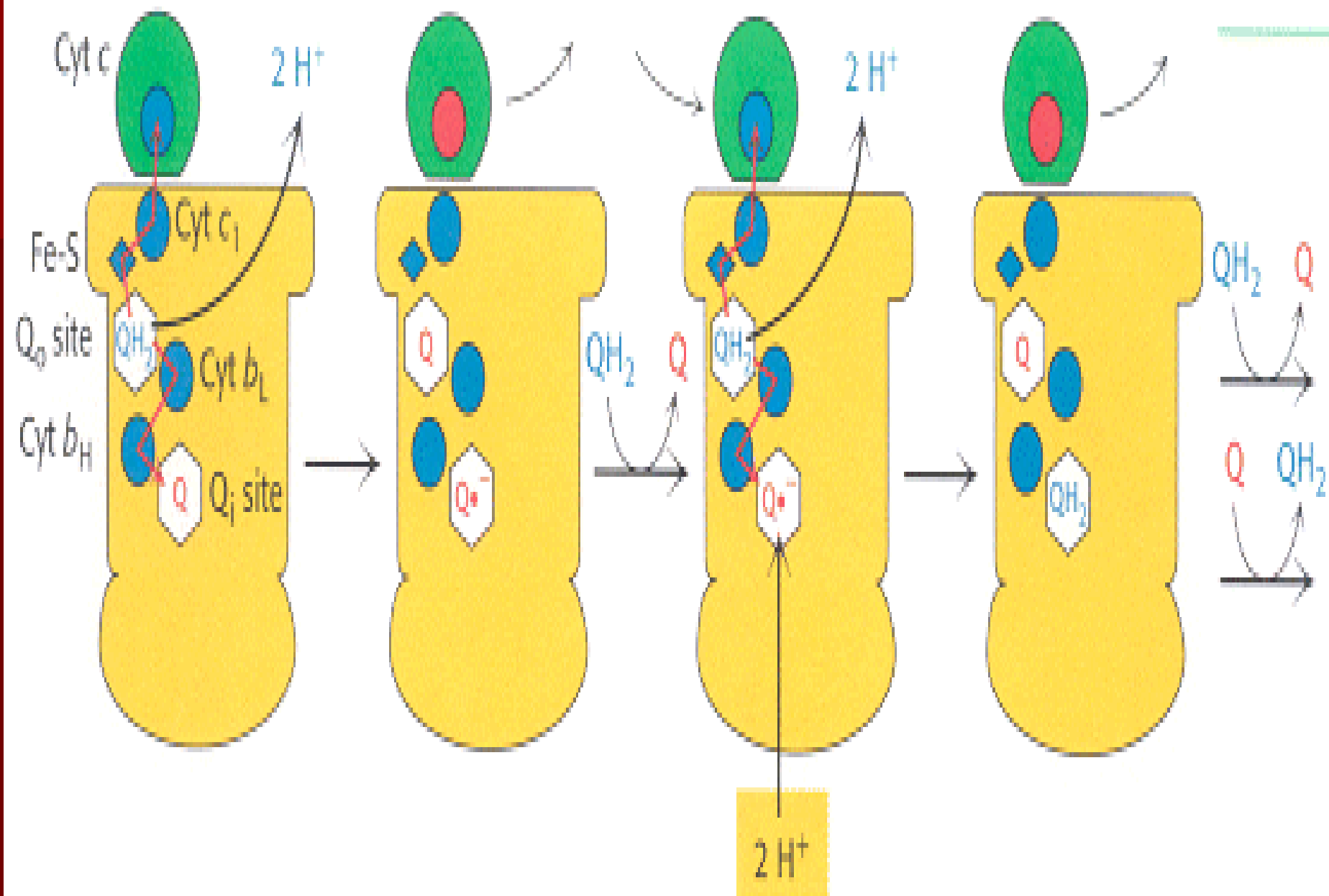
- Происходит передача двух электронов с восстановленной формы коэнзима Q: один на цитохром c, другой на коэнзим Q, образуя полухинон.
- Вновь образованный коэнзим Q диффундирует и замещается новой молекулой QH_2 , которая тоже отдает электроны: один на второй цитохром c, второй на полухинон.
- Транспорт второго электрона сопровождается выкачиванием двух протонов из матрикса.

(a) First half of Q cycle



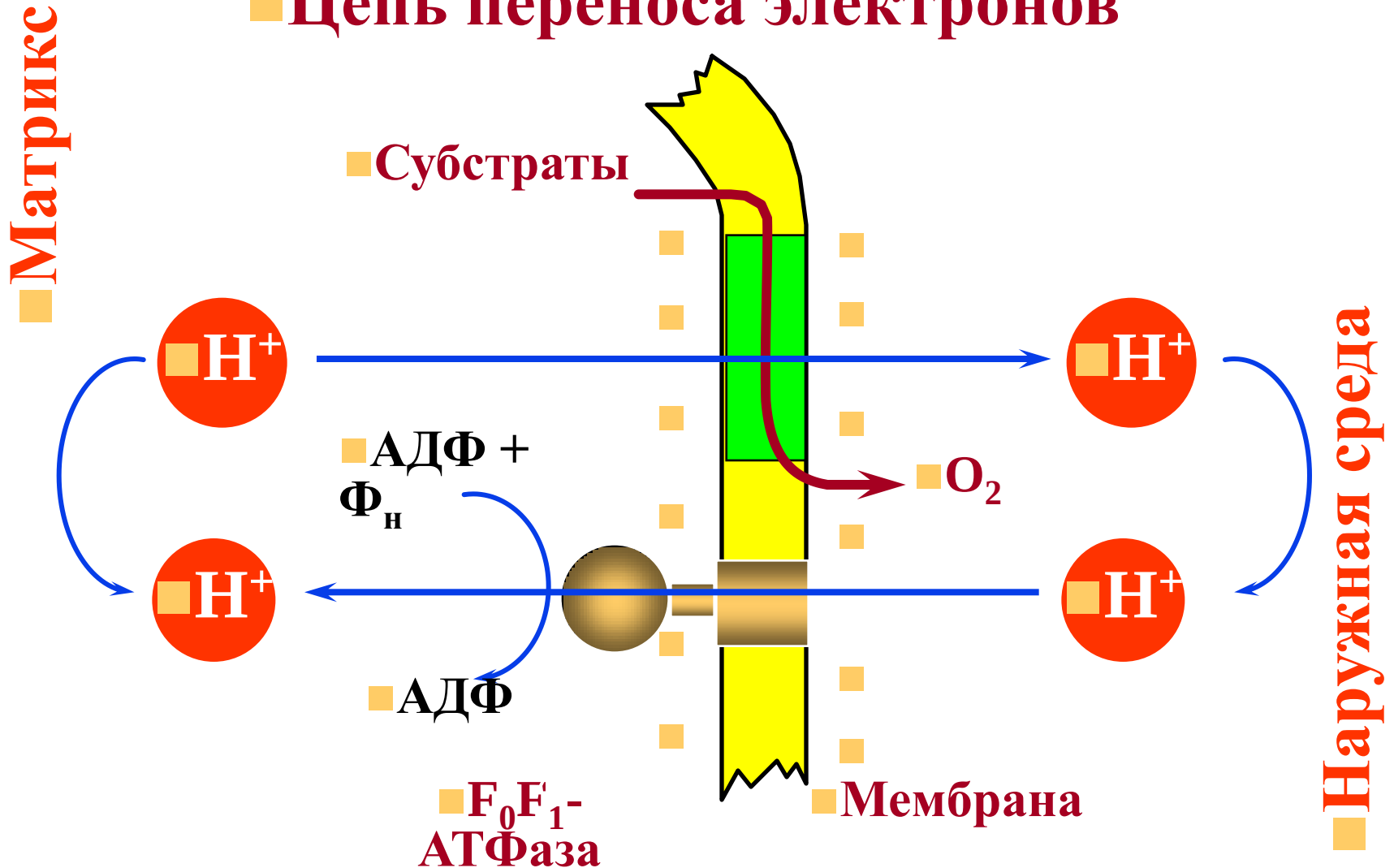
(b) Second half of Q cycle





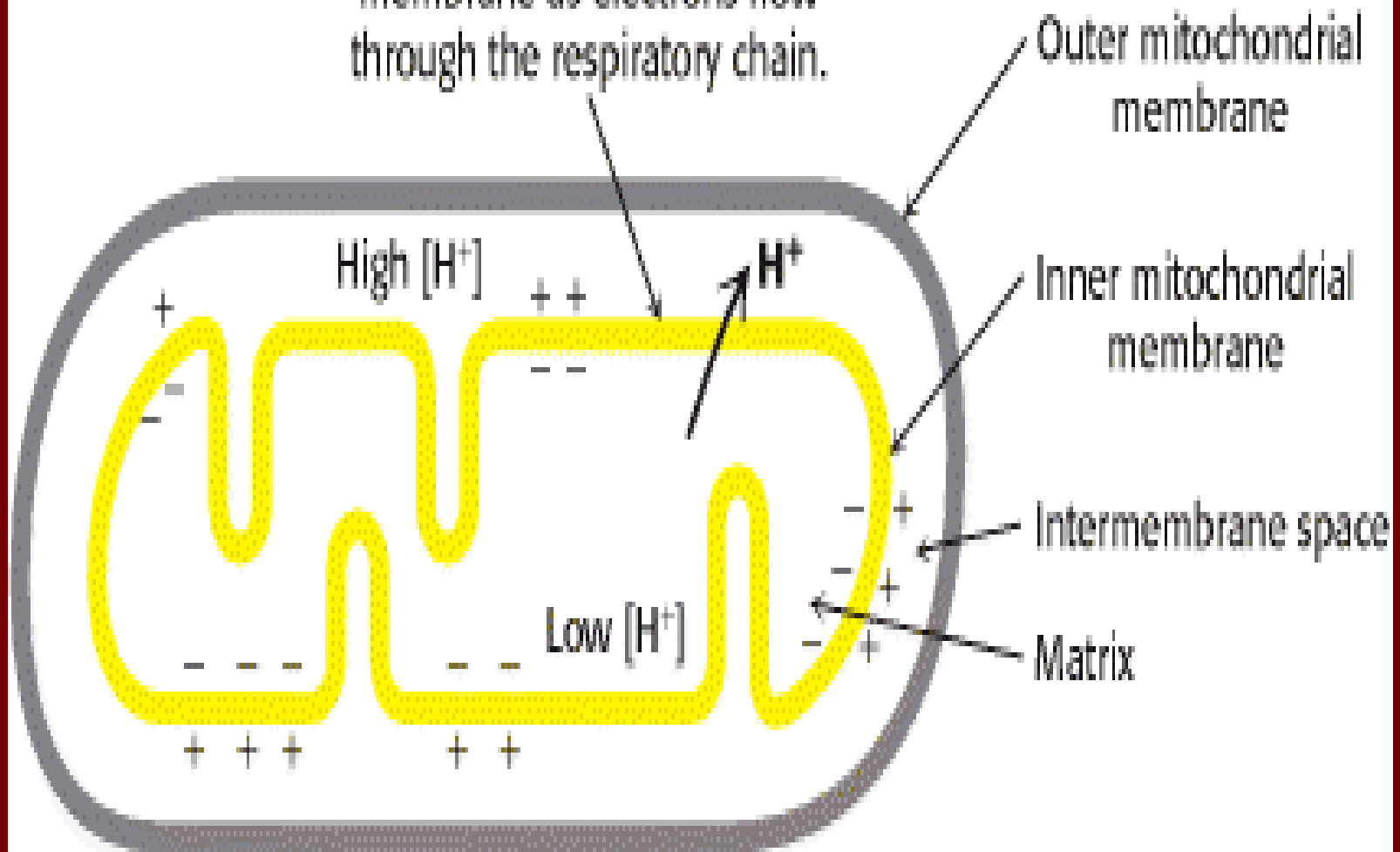
Окислительное фосфорилирование (По Митчеллу)

Цепь переноса электронов



Гипотеза Митчелла

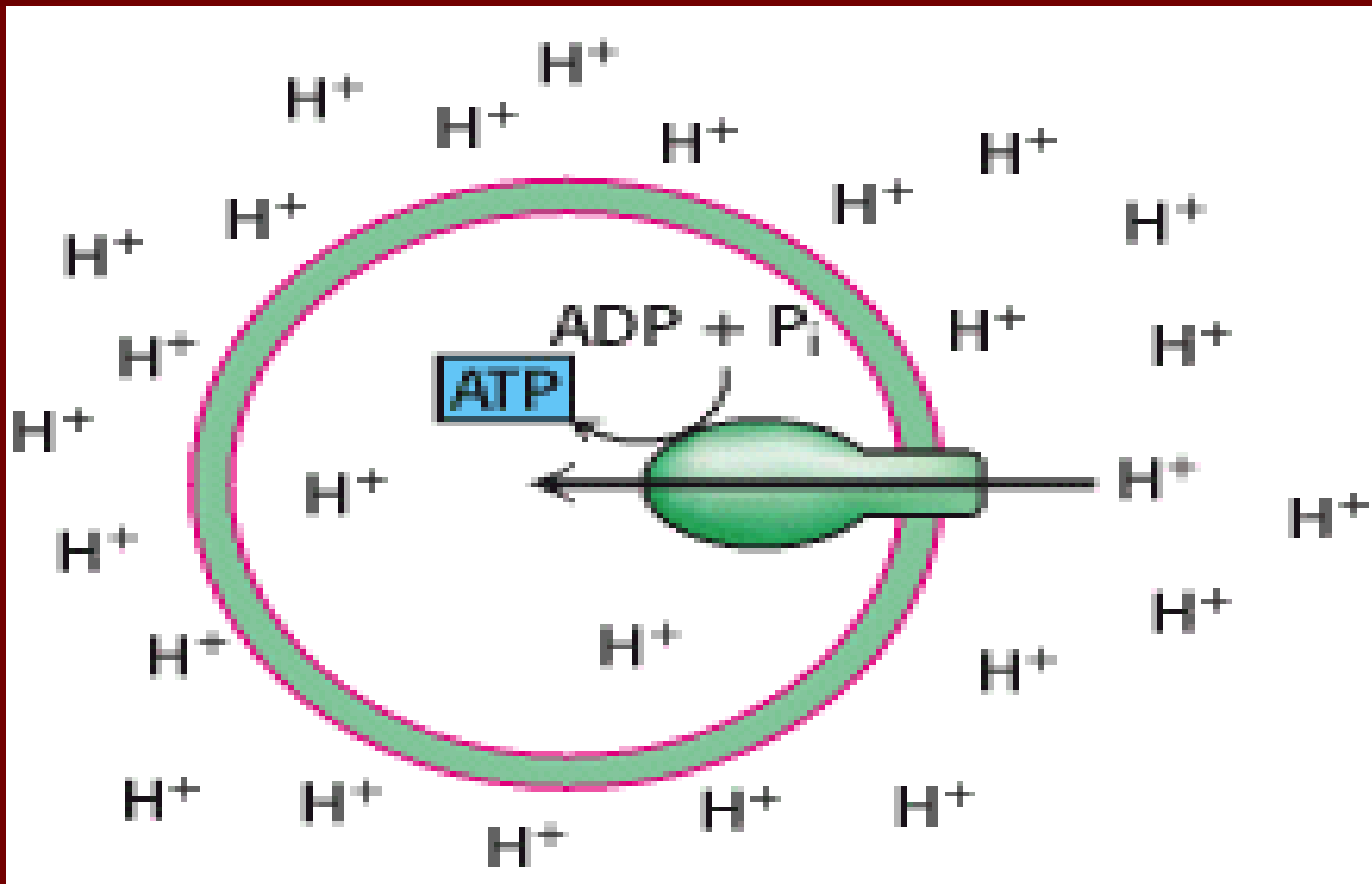
Protons are pumped across this membrane as electrons flow through the respiratory chain.



Основные положения теории Митчелла.

- Перенос электронов по дыхательной цепи от НАД.Н+Н+ к кислороду сопровождается выкачиванием протонов из матрикса митохондрий в межмембранное пространство.
- Протоны, перенесенные из матрикса в межмембранное пространство, не могут вернуться обратно в матрикс, так как внутренняя мембрана непроницаема для протонов.
- Таким образом, создается протонный градиент, при котором концентрация протонов в межмембранном пространстве больше, а рН меньше, чем в матриксе.
- Каждый протон несет положительный заряд, и вследствие этого появляется разность потенциалов по обе стороны мембраны: отрицательный заряд на внутренней стороне и положительный на внешней.
- В совокупности электрический и концентрационный градиенты составляют электрохимический потенциал $\Delta\mu_{H^+}$ — источник энергии для синтеза АТФ.

Протонный градиент и АТФ синтаза



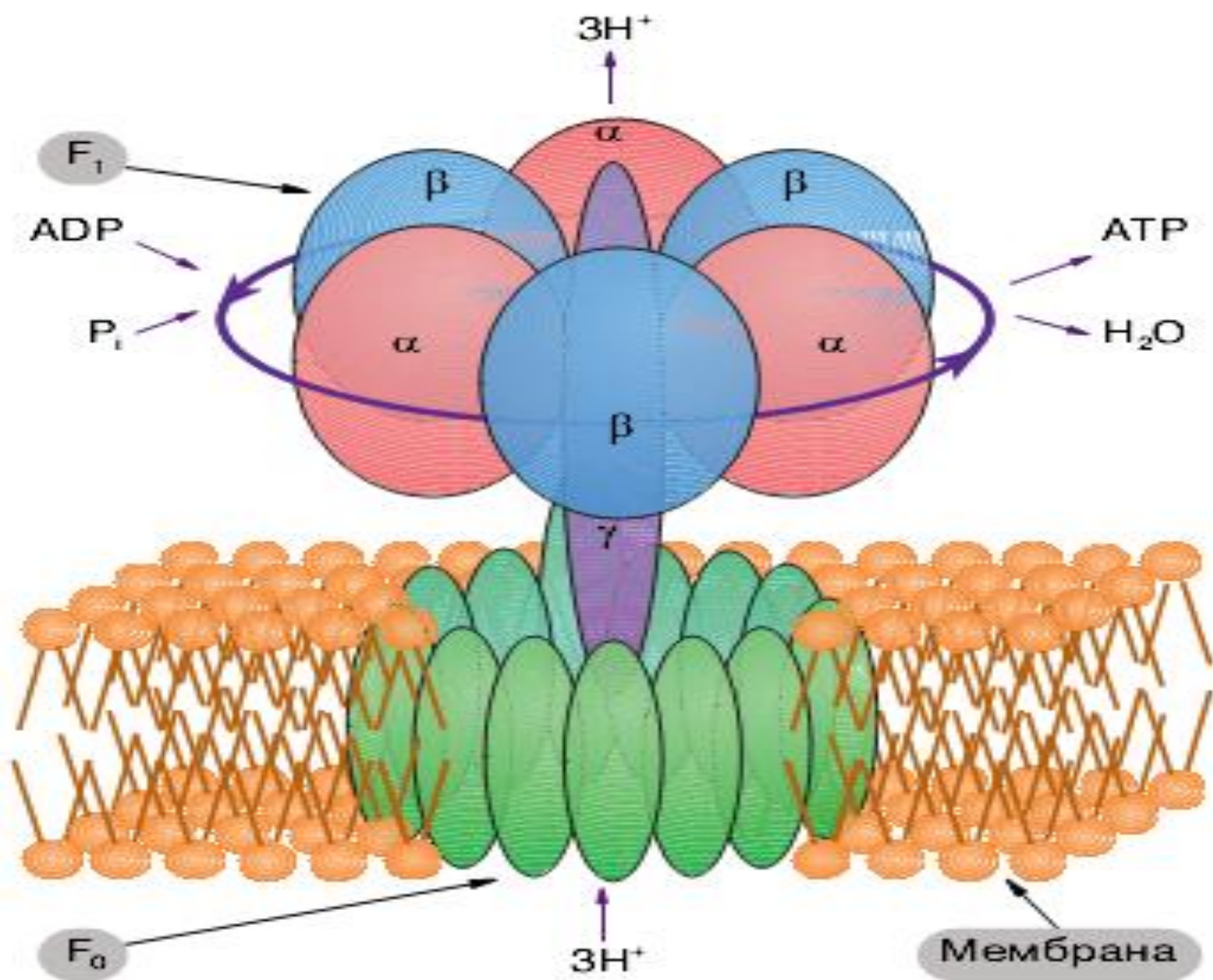
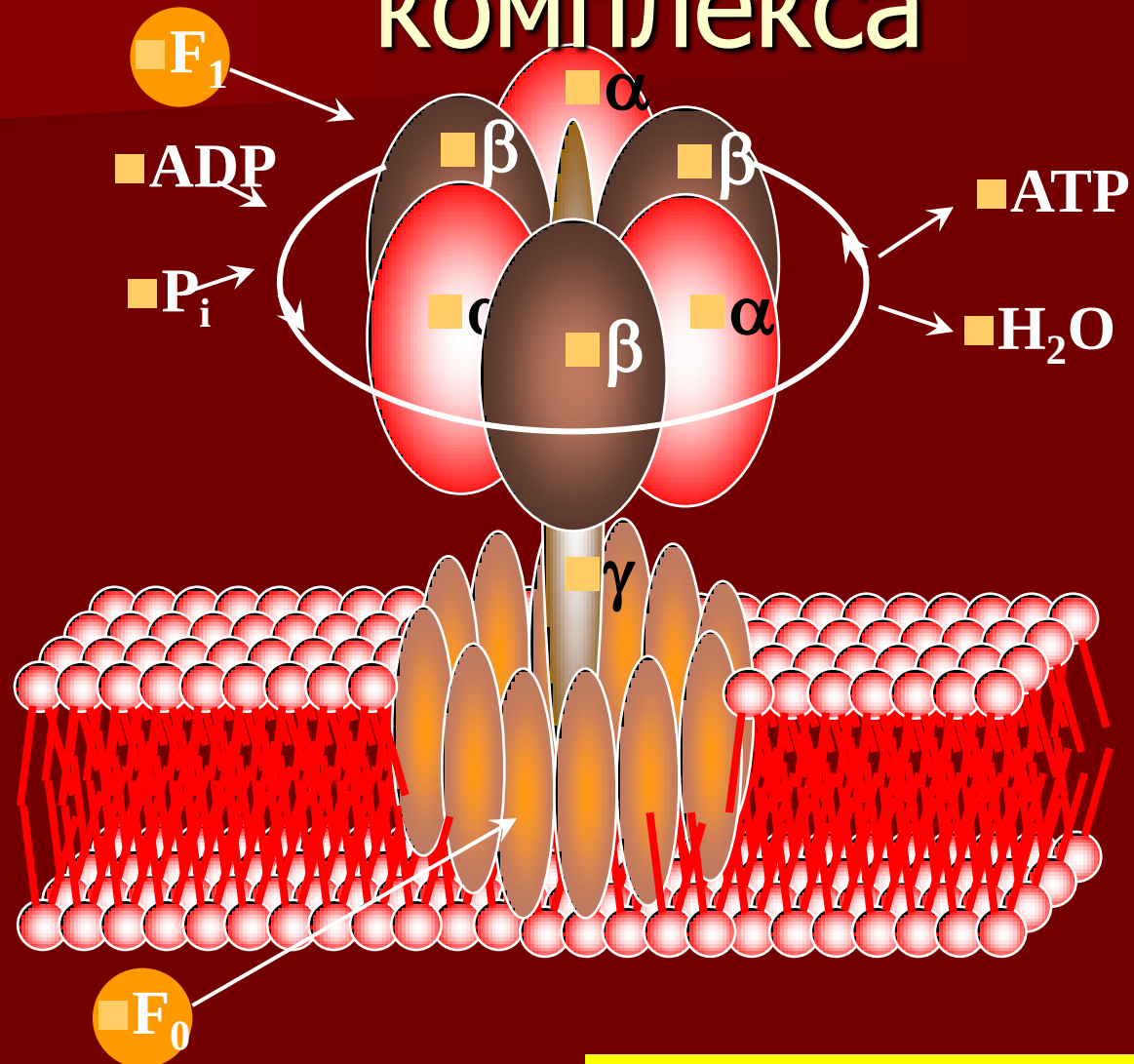


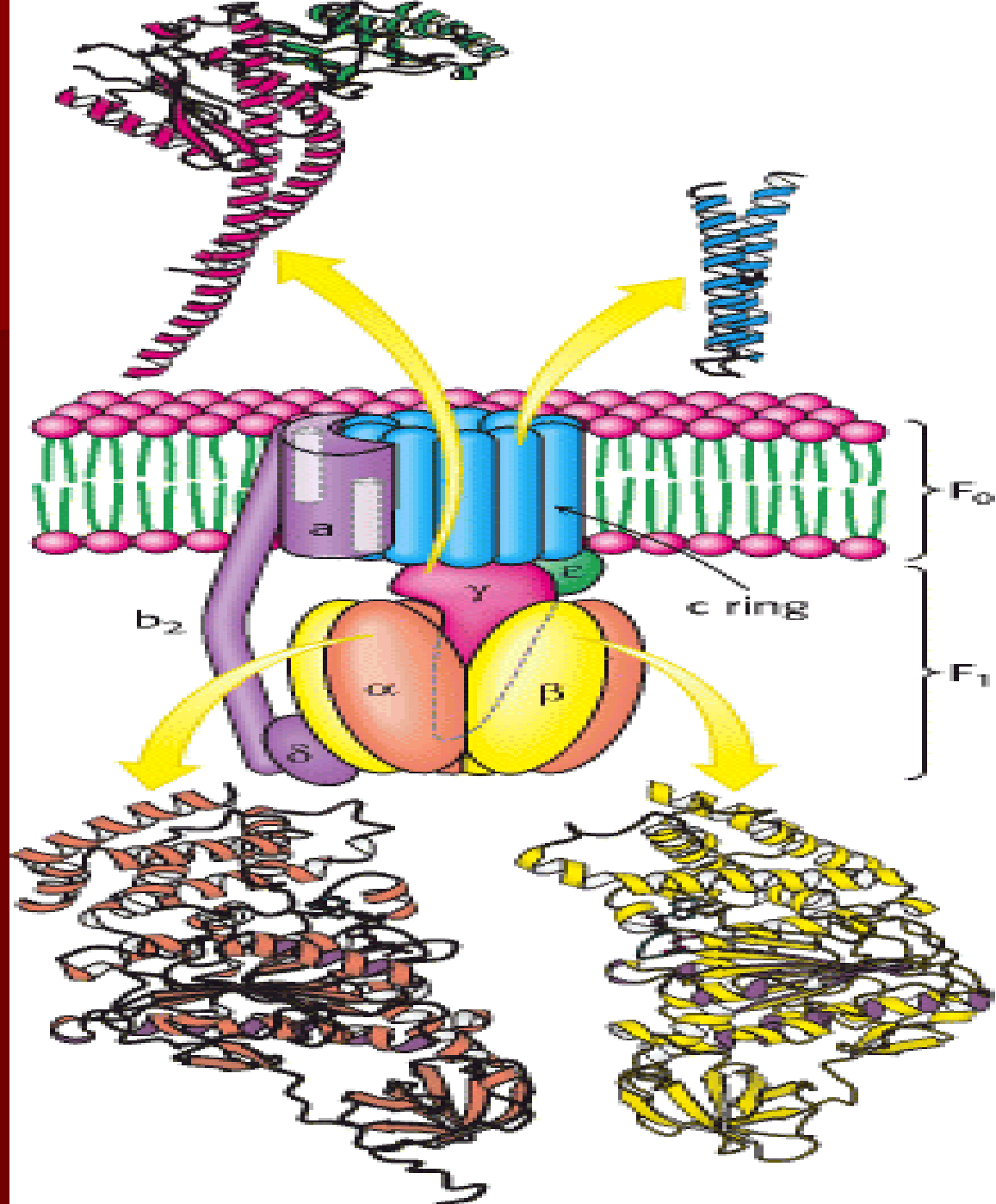
Рис. 3. Пространственное строение H^+ АТРсин-
тазного комплекса

пространственное строение

H^+ / АТР синтазного

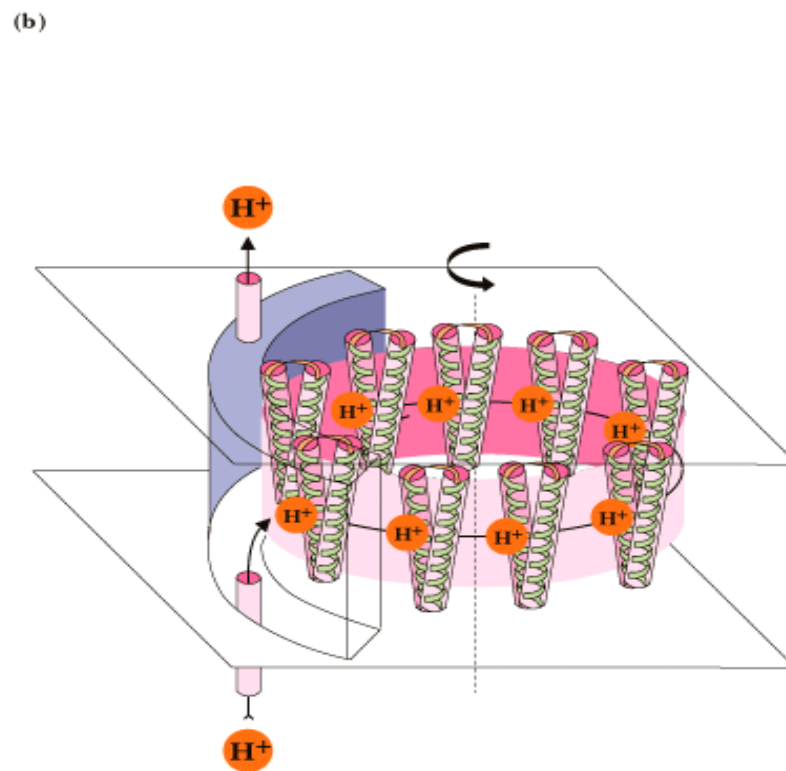
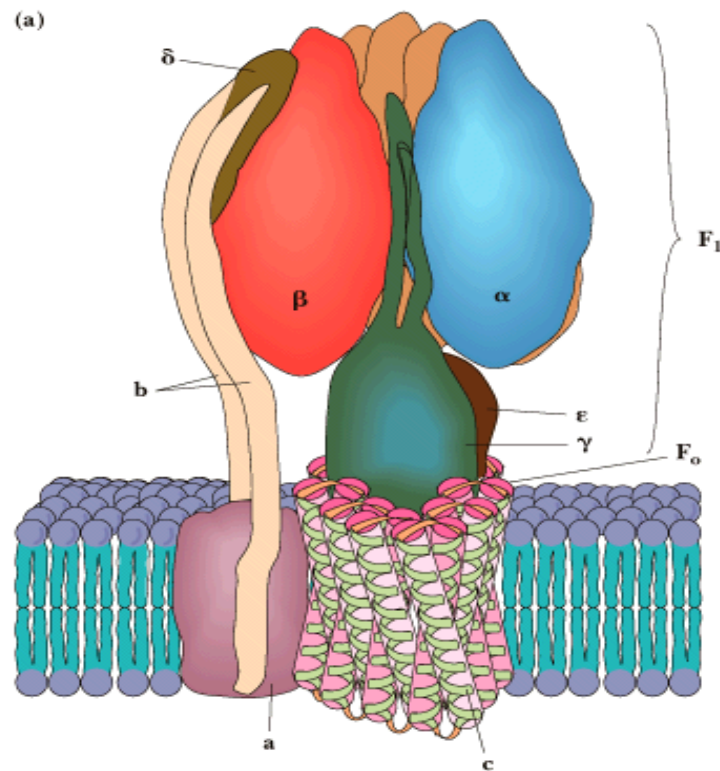
комплекса



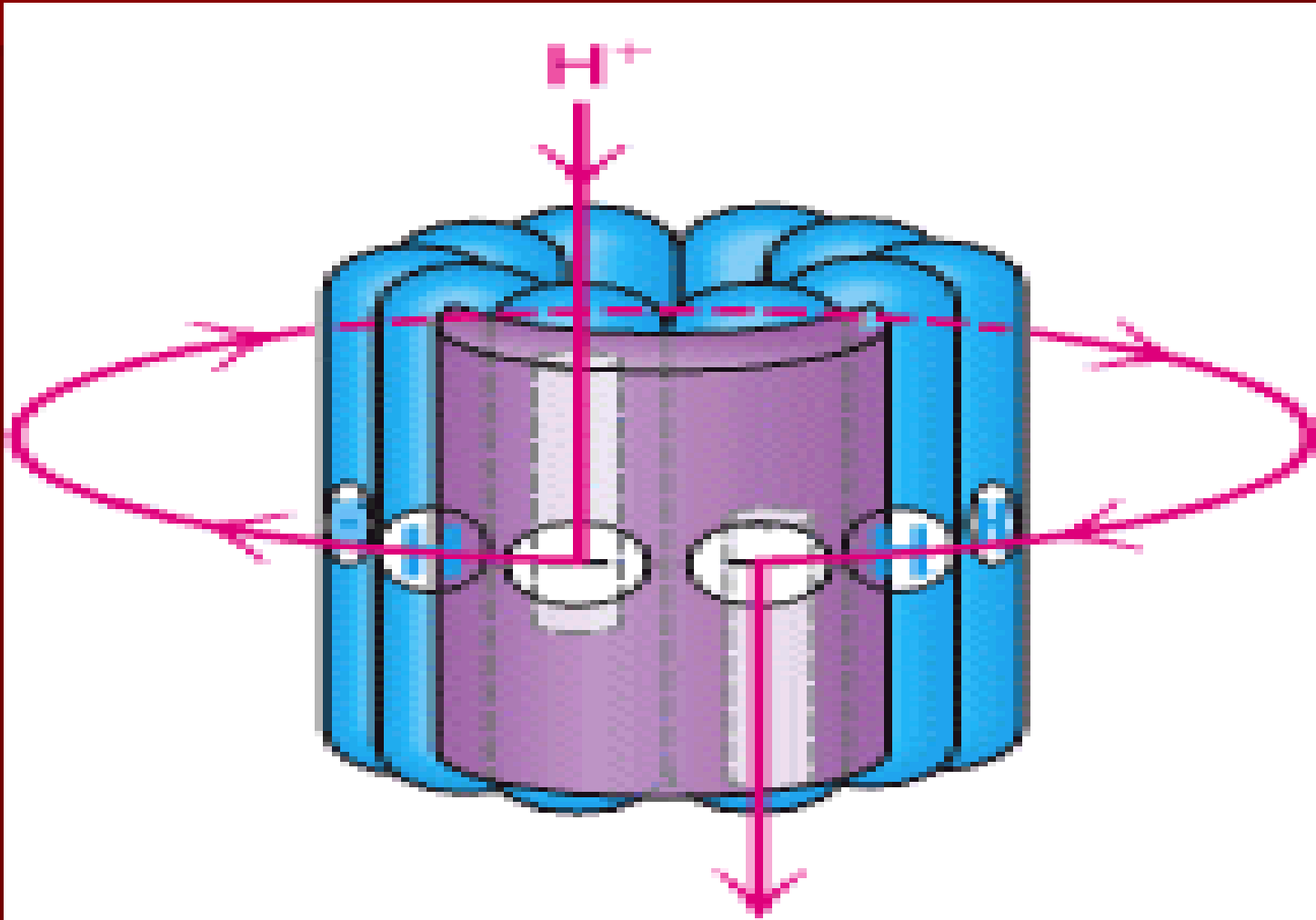


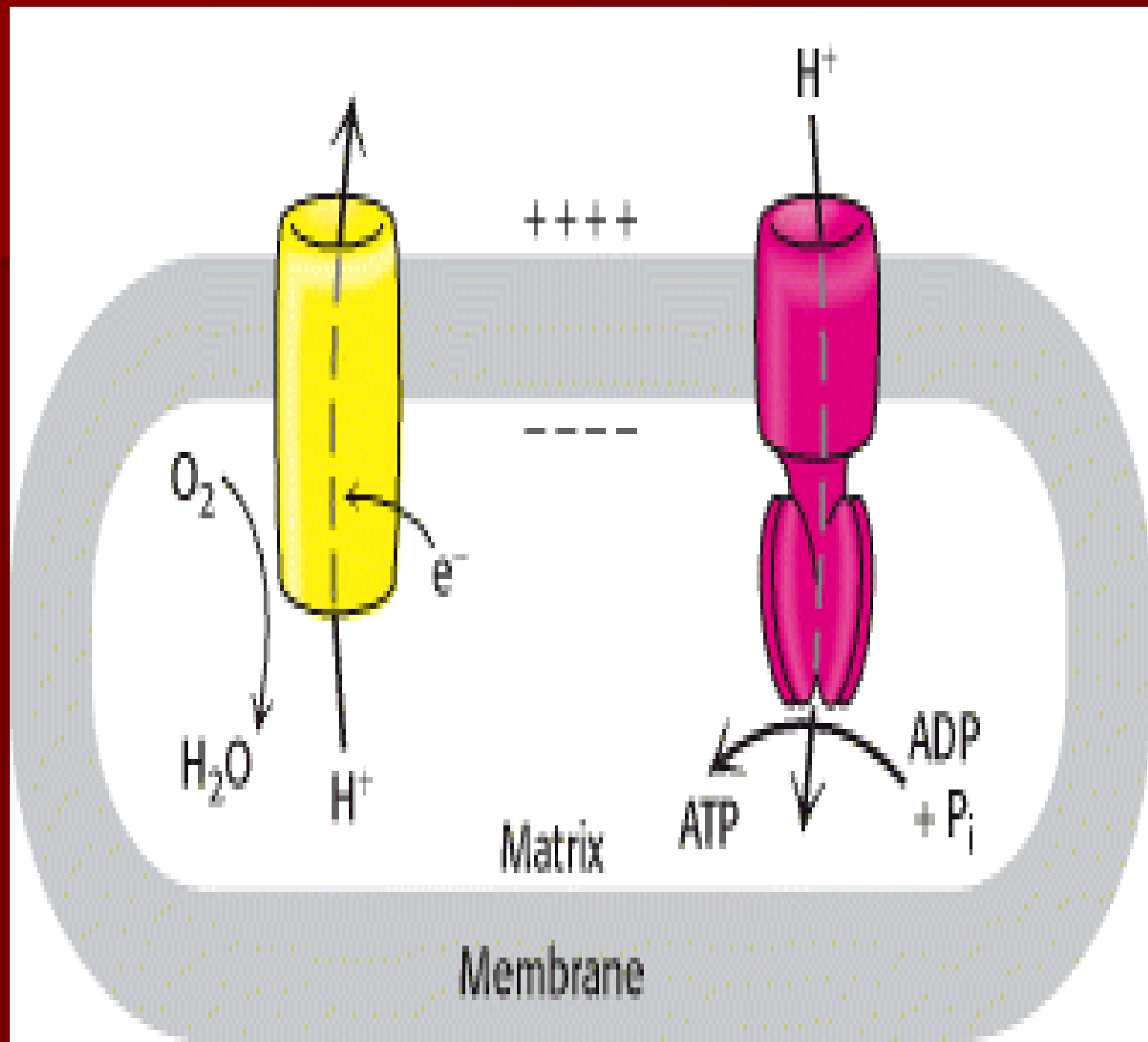
АТФ синтаза

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.25



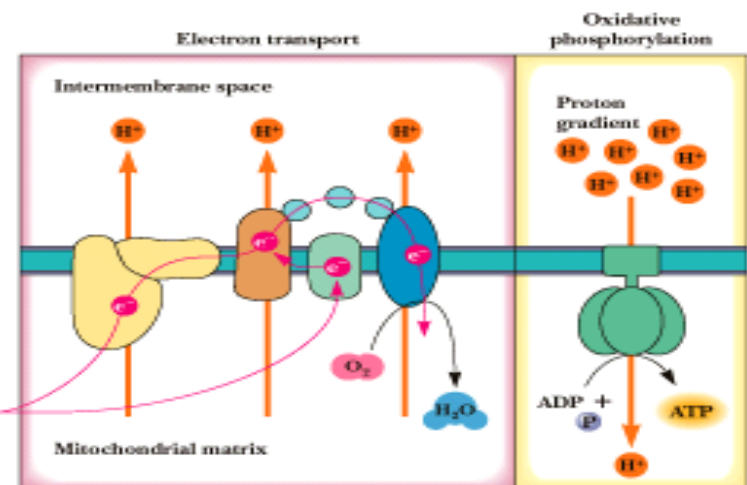
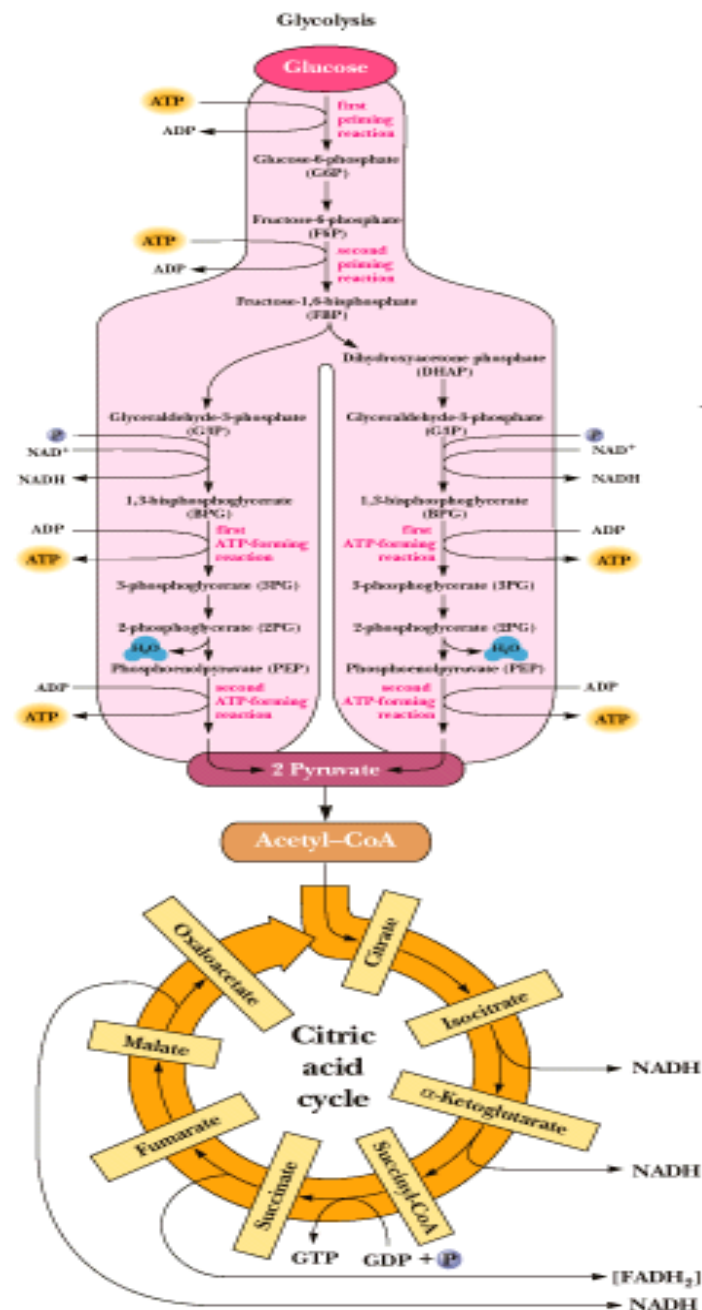
Конформационные изменения АТФ синтазы





Резюме

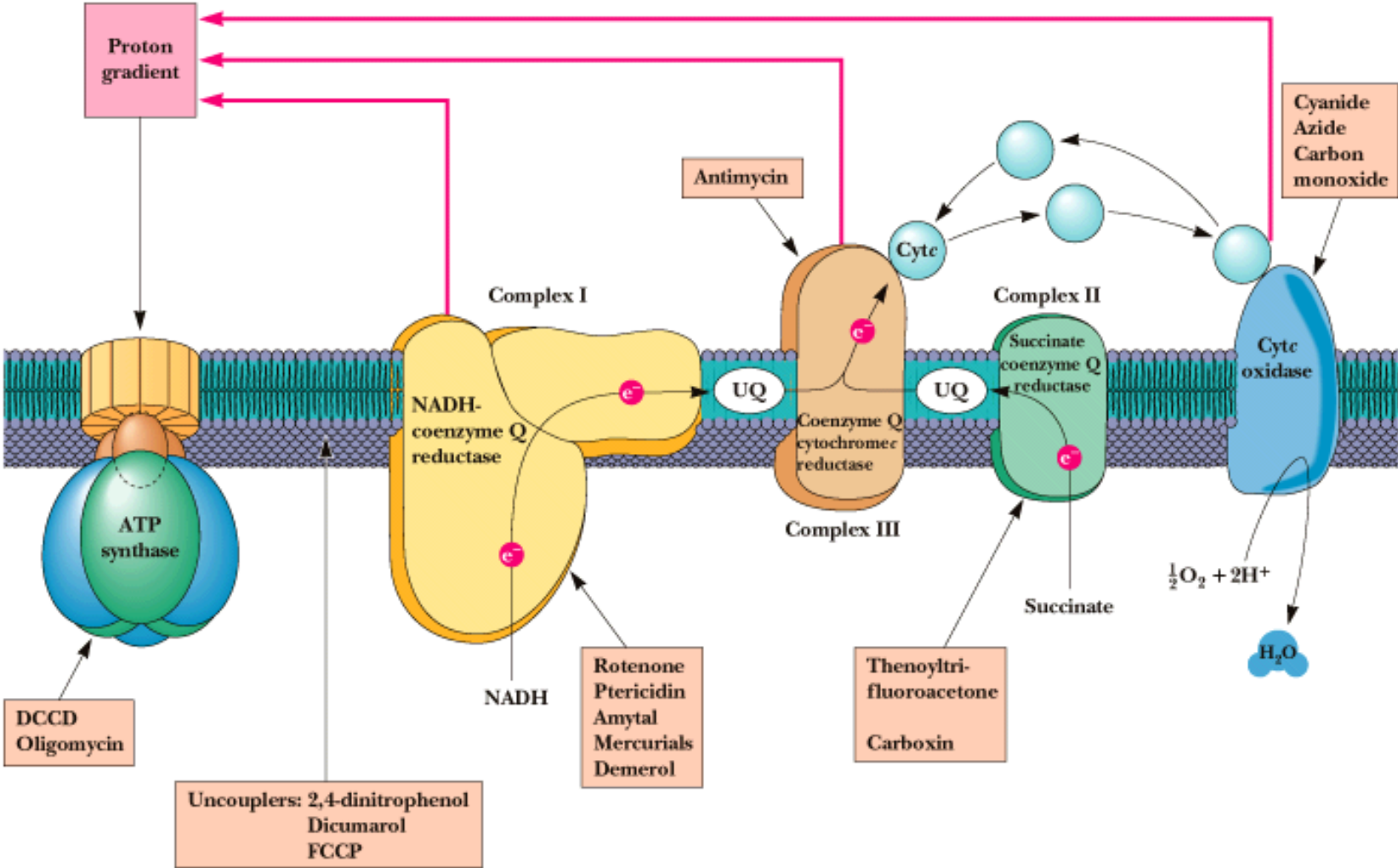
- Дыхательная цепь- путь переноса протонов и электронов от органических веществ на кислород воздуха
- Это система переносчиков, структурно закрепленная в мембране митохондрий и расположенных в соответствии со своими редокс – потенциалами.
- В процессе переноса электронов по дыхательной цепи создаётся протонный градиент;
- Окислительное фосфорилирование: поступление протонов обратно в матрикс приводит к синтезу АТФ



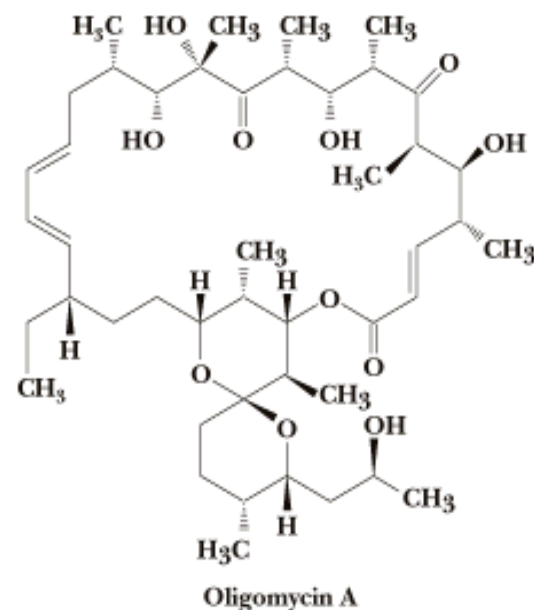
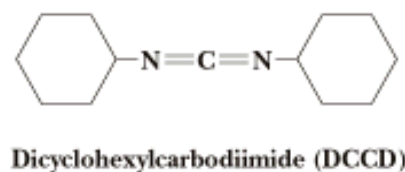
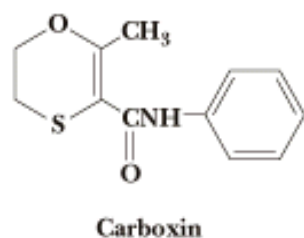
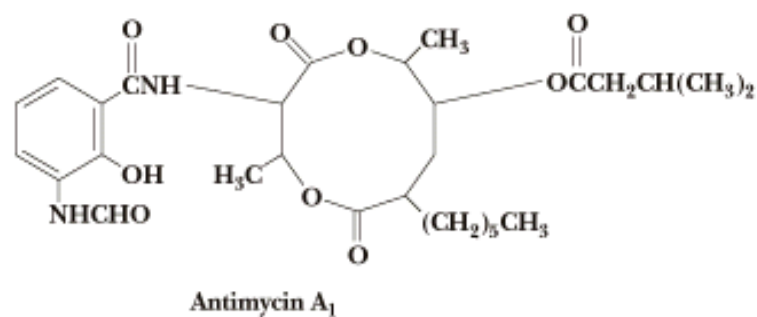
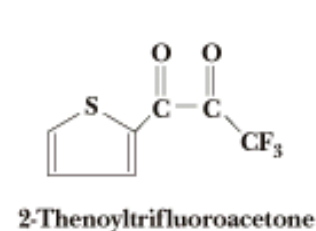
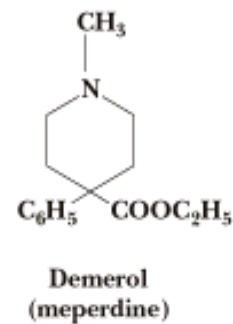
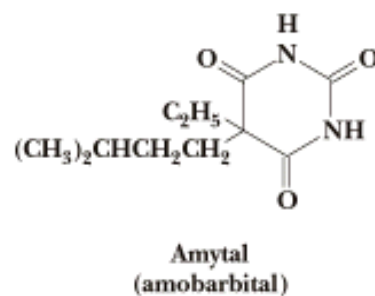
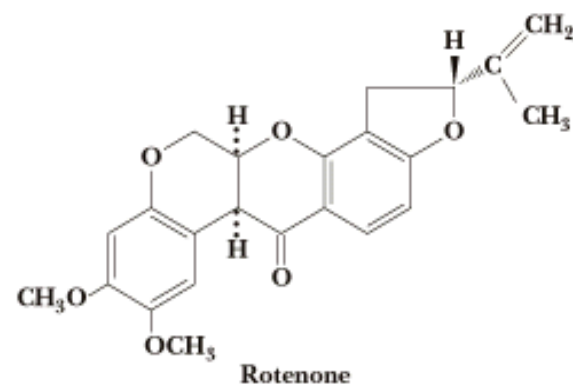
Ингибиторы окислительного фосфорилирования

- Ротенон (рыбий яд) ингибирует комплекс I;
- Цианиды, азиды и угарный газ ингибируют комплекс IV, взаимодействуя с ферри формой цитохрома аз;
- олигомицин и дициклогексокарбодиимид ингибируют АТФ синтазу.

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.30



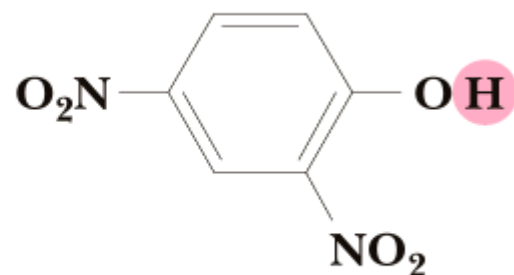
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.29



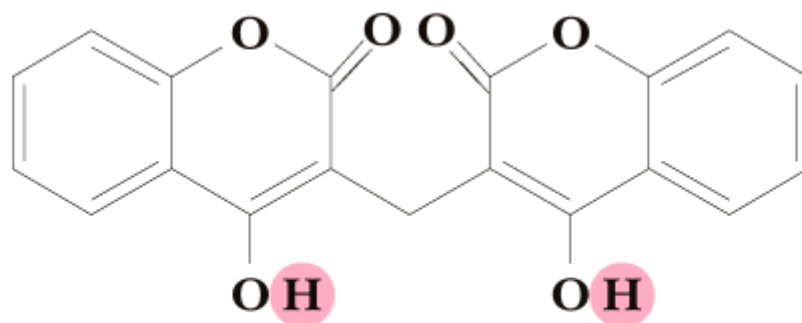
Разобшители

- Разобшение потока электронов и окислительного фосфорилирования происходит при нарушении протонного градиента;
- Разобшители являются гидрофобными молекулами, способными диссоциировать;
- Они перемещаются через мембрану, переносят протоны из межмембранного пространства обратно в матрикс, нарушая протонный градиент.

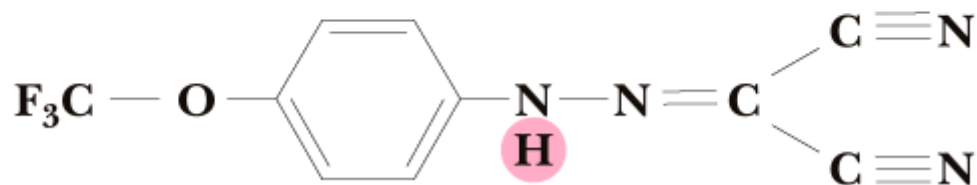
Dinitrophenol

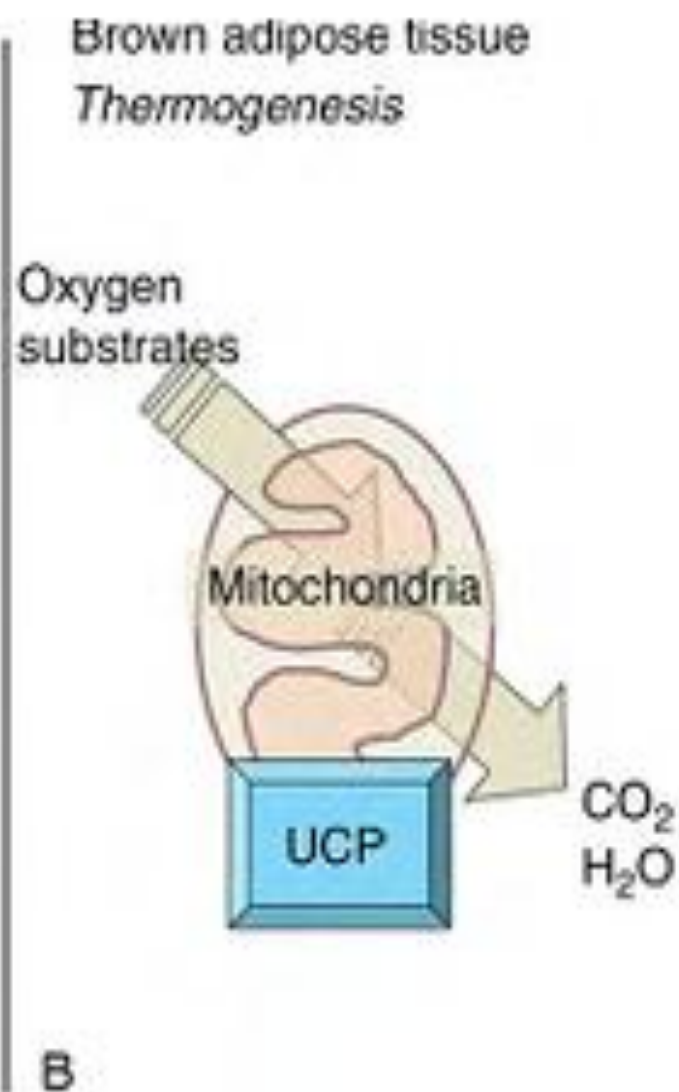
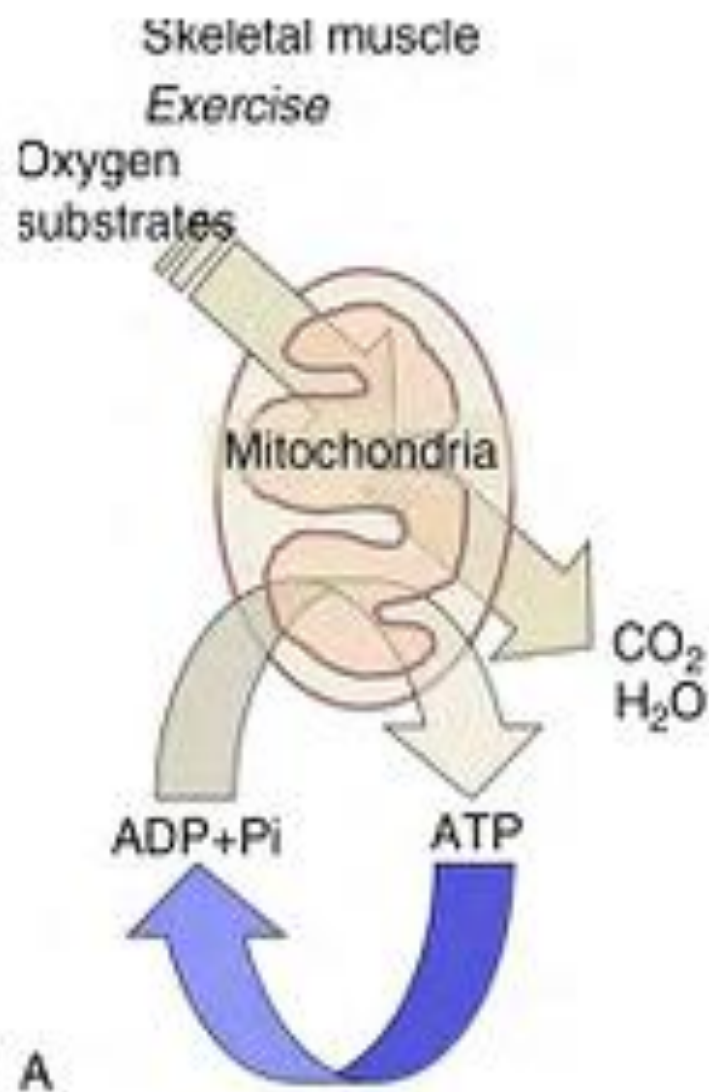


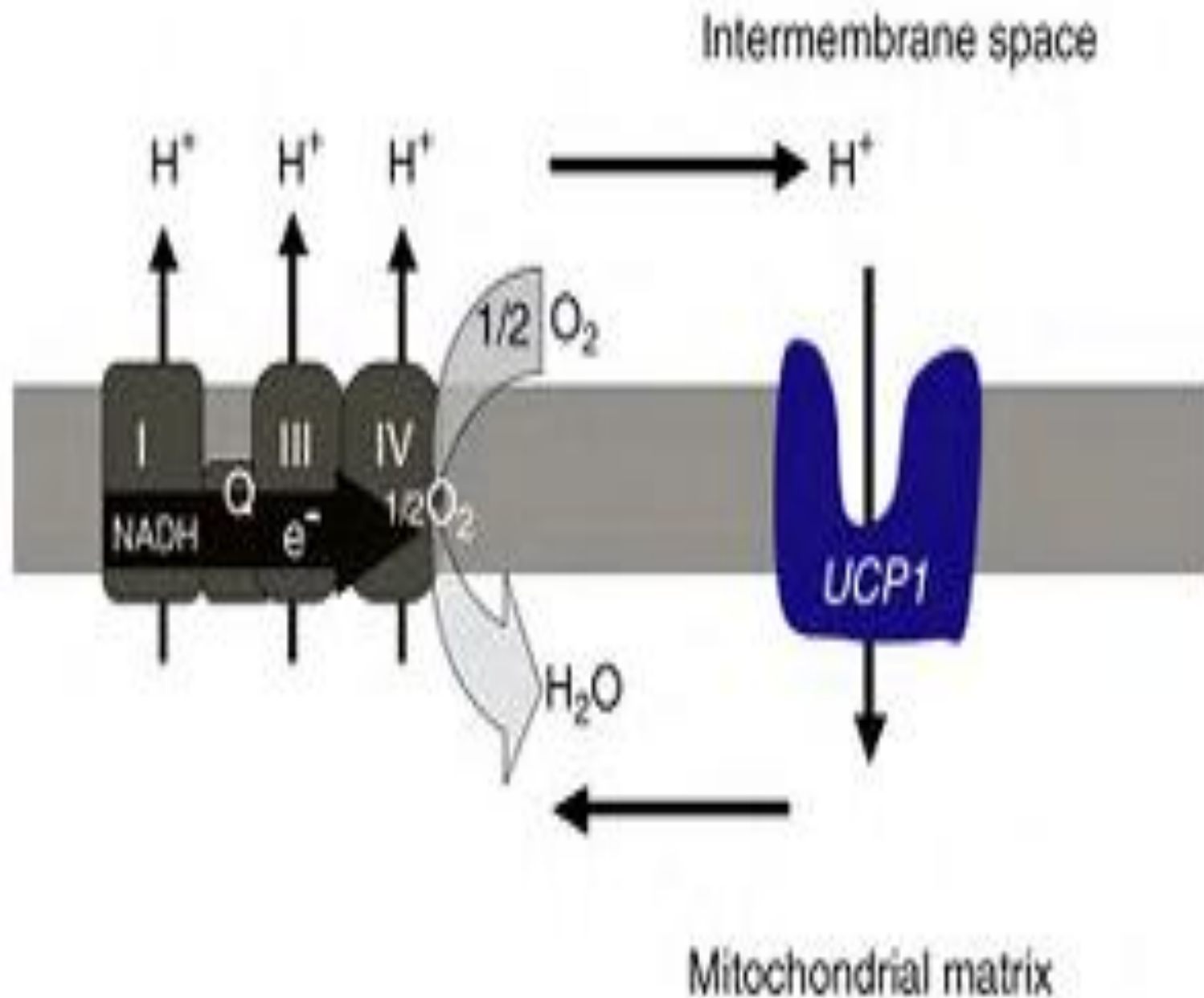
Dicumarol



Carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenyl hydrazone
—best known as FCCP; for Fluoro Carbonyl
Cyanide Phenylhydrazone

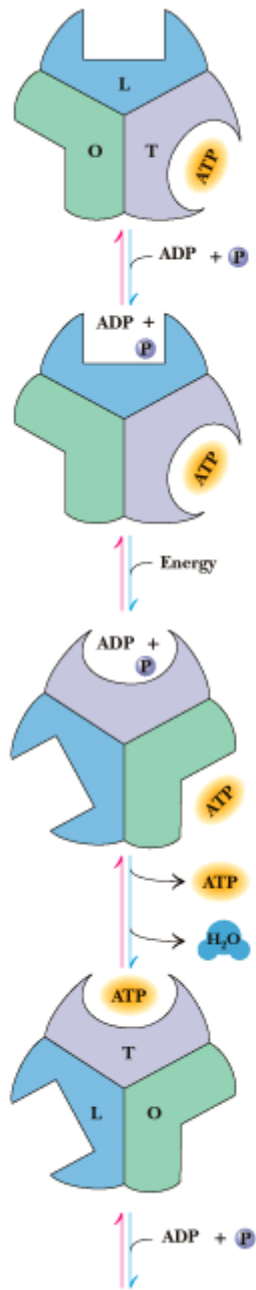




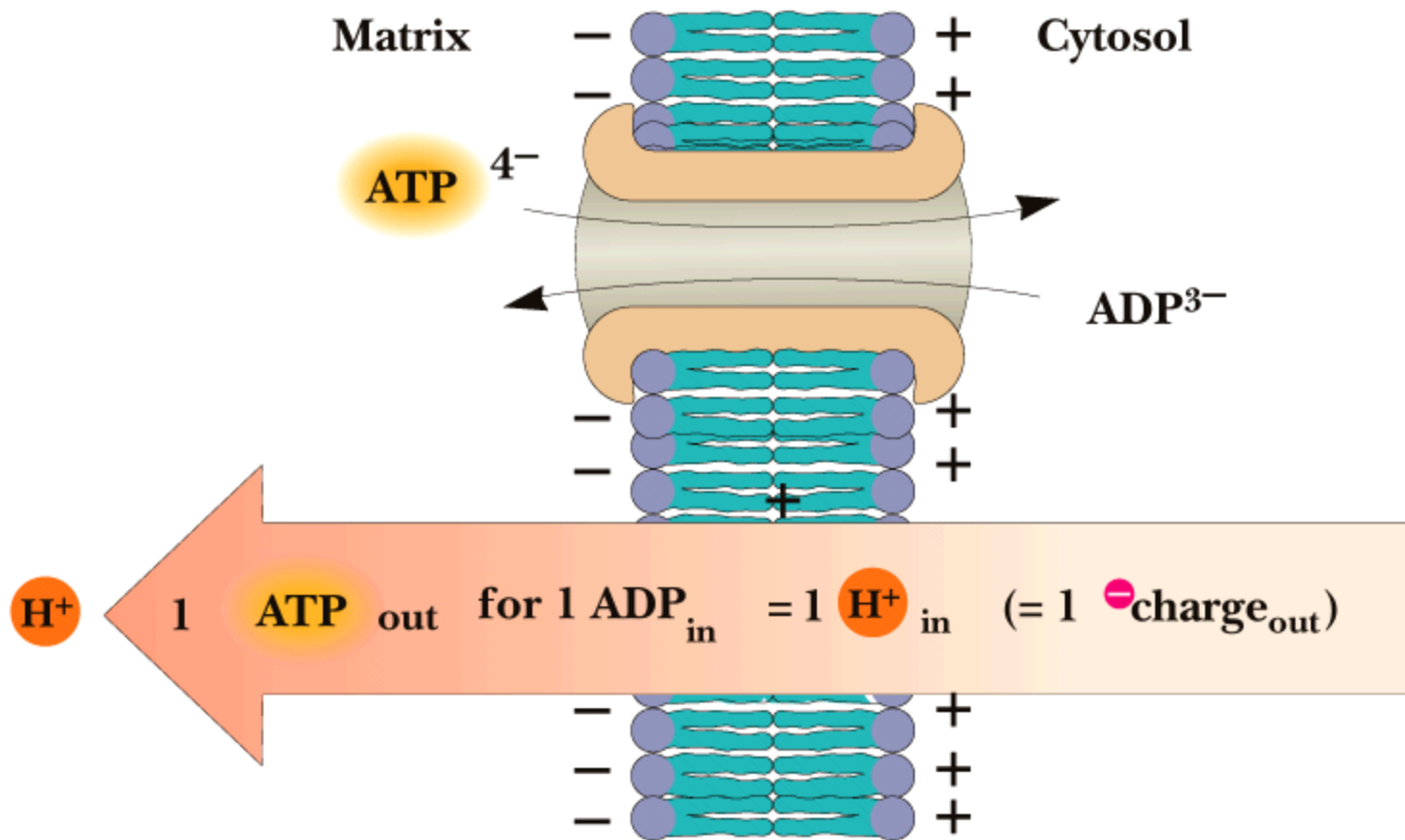


АТФ-АДФ транслоказа

- В большинстве клеток синтез основного количества АТФ происходит в митохондриях, а основные потребители АТФ расположены вне её;
- В мембране есть белок АТФ/АДФ-антипортер, осуществляющий перенос этих метаболитов через мембрану;
- Молекула АДФ поступает в митохондриальный матрикс только при условии выхода молекулы АТФ из матрикса;
- Движущая сила такого обмена - мембранный потенциал переноса электронов по ЦПЭ;
- На транспорт АТФ и АДФ расходуется около четверти свободной энергии протонного потенциала.



Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.32



Коэффициент Р/О

- Означает сколько молекул АТФ синтезируется при передаче пары электронов от субстрата на кислород;
- Транспорт e^- по дыхательной цепи от НАД⁺ к кислороду сопровождается синтезом 3 АТФ;
- Транспорт e^- по дыхательной цепи от ФАД к кислороду сопровождается синтезом 2 АТФ.

Активные формы кислорода.

Кислород является потенциально токсическим веществом. Токсичность может возрасть в результате неполного восстановления молекулы кислорода в супероксидный радикал (O_2^-), который высокотоксичен и может повреждать ДНК, белки и липиды мембран. Супероксид ион опосредует процессы старения.

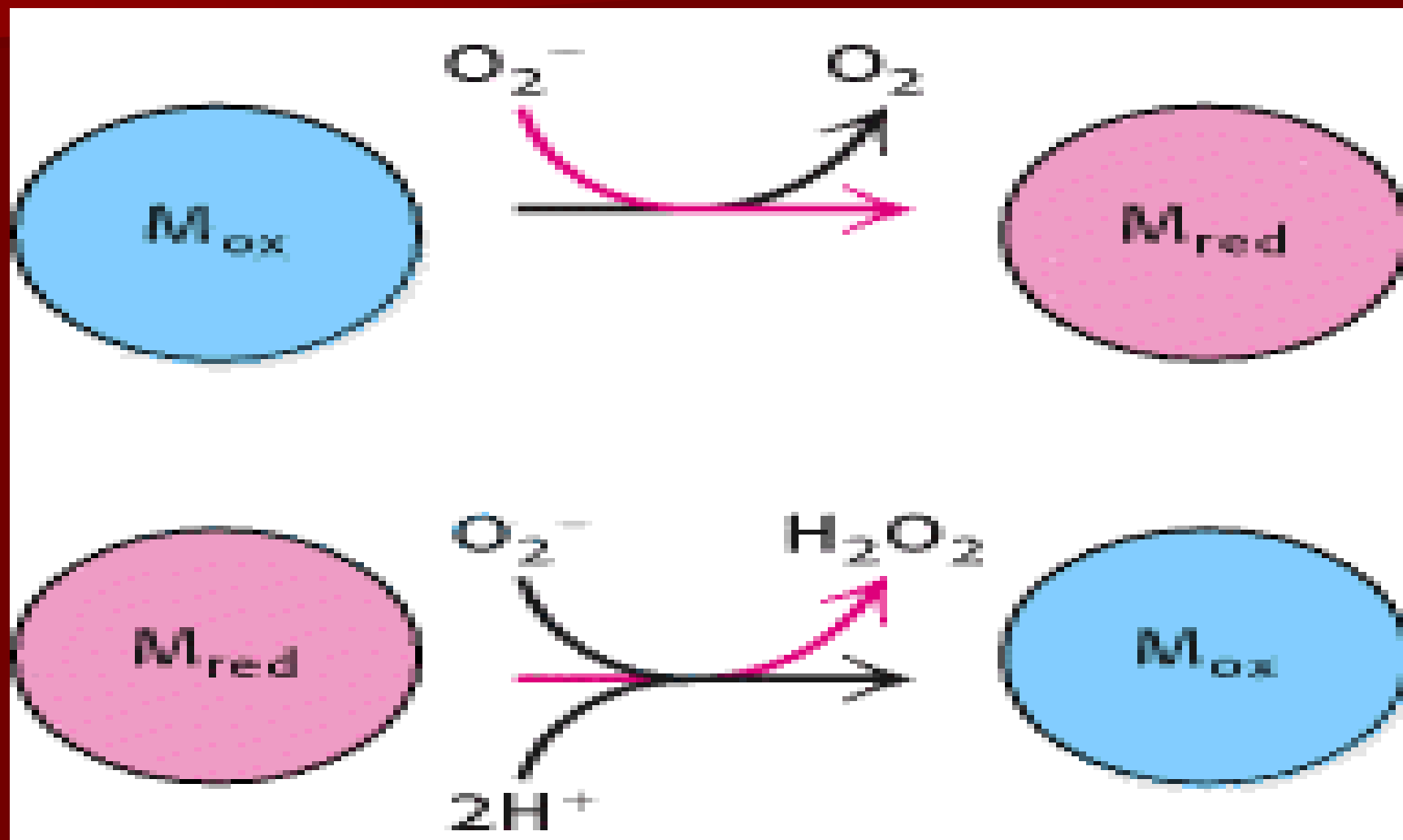
Супероксид ион

- Супероксид ион может образовываться в митохондриях при реакции кислорода с восстановленными ФАД или убихиноном.

- Детоксикация O_2^- :



Механизм действия супероксиддисмутазы

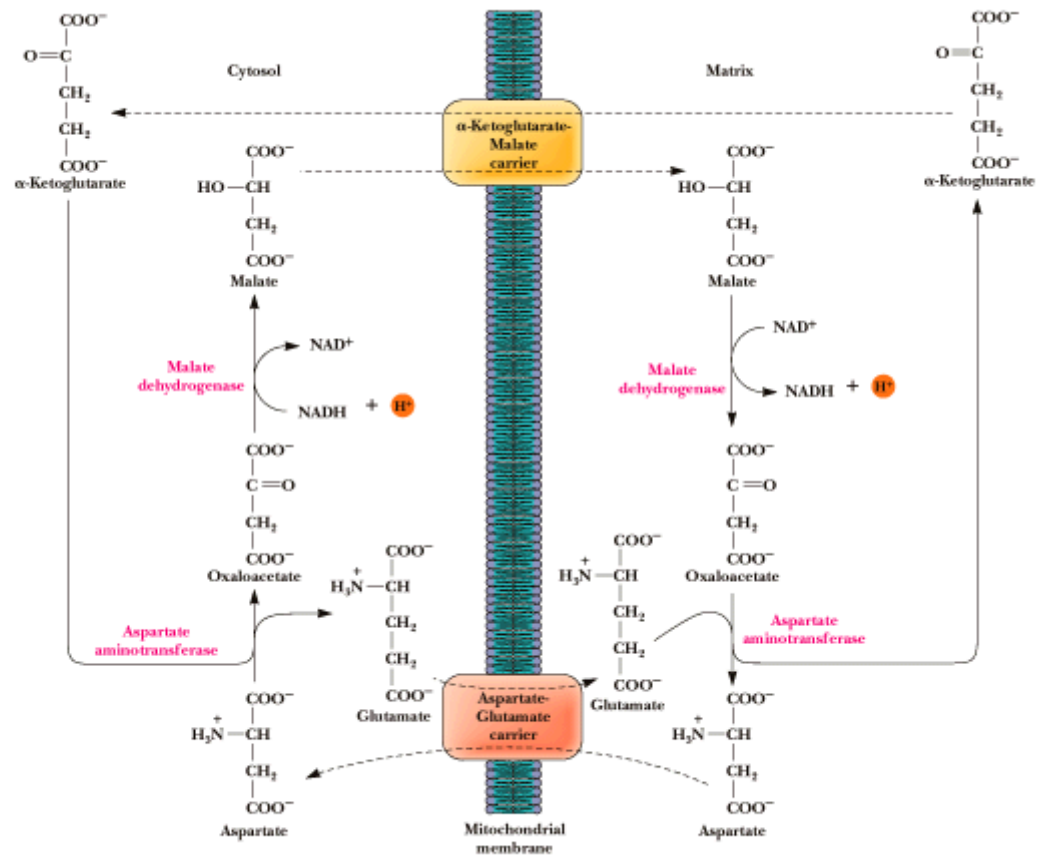


Пероксид водорода

H_2O_2 так же токсичен и разрушается пероксидазой в следующей реакции:



- а. Наиболее распространенная пероксидаза - гемсодержащий фермент каталаза.
- б. В эритроцитах, глутатион пероксидаза, селенсодержащий фермент, катализирует реакцию, сопутствующую окислению восстановленного глутатиона.
- в. Витамин С и витамин Е, также принимают участие в детоксикации супероксидного иона и других потенциально опасных свободных радикалов.



Биологическое окисление

