



БИОЭНЕРГЕТИКА

Доцент Гончарова Л.В.

План

- Цепь переноса электронов и окислительное фосфорилирование;
- Окислительно-восстановительный потенциал;
- Переносчики электронов дыхательной цепи
- Сопряжение окисления и фосфорилирования
- Ингибирование окислительного фосфорилирования
- Разобщение окислительного фосфорилирования
- Бурая жировая ткань
- Активные формы кислорода

Figure 18.3

Solar
energy

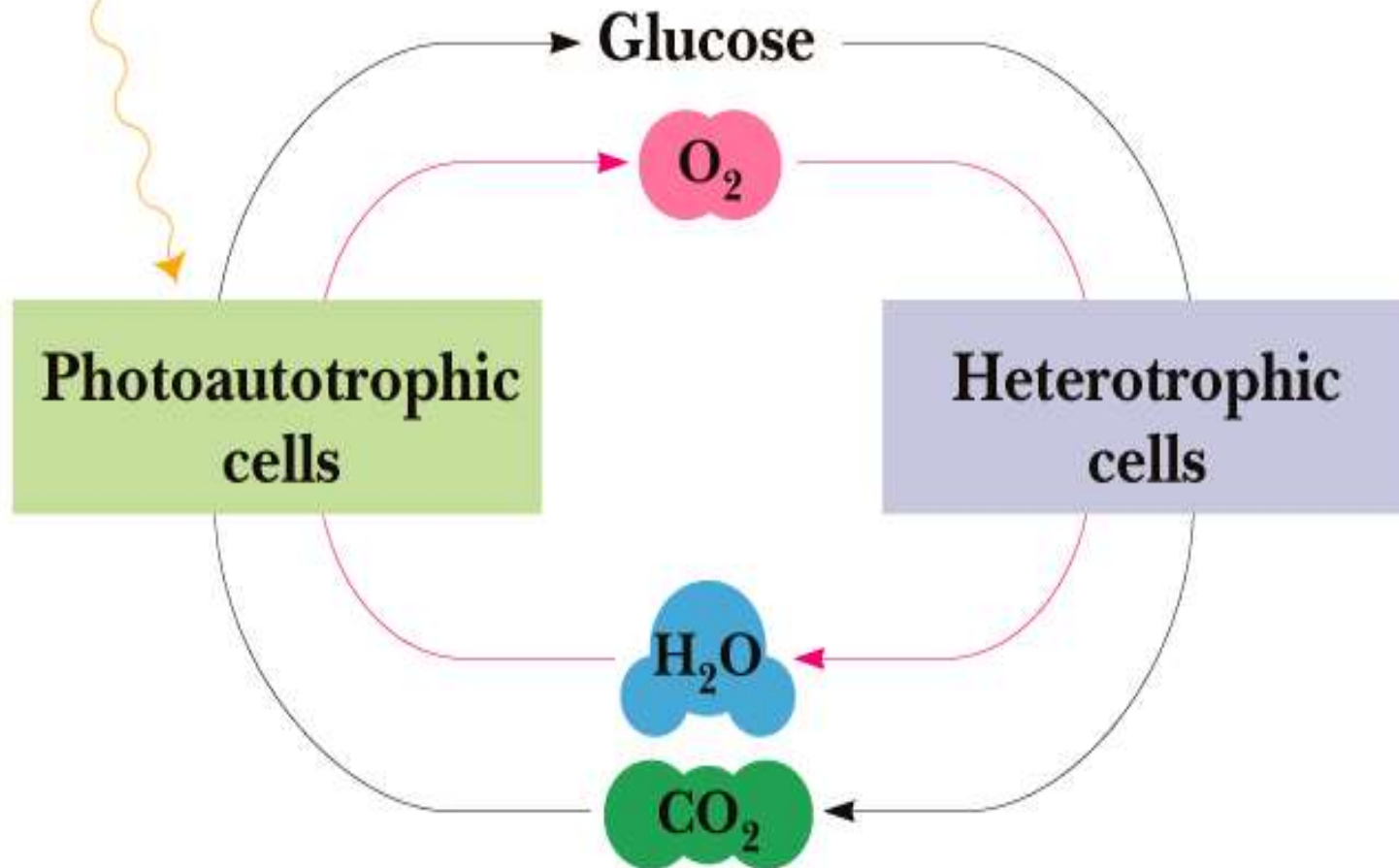
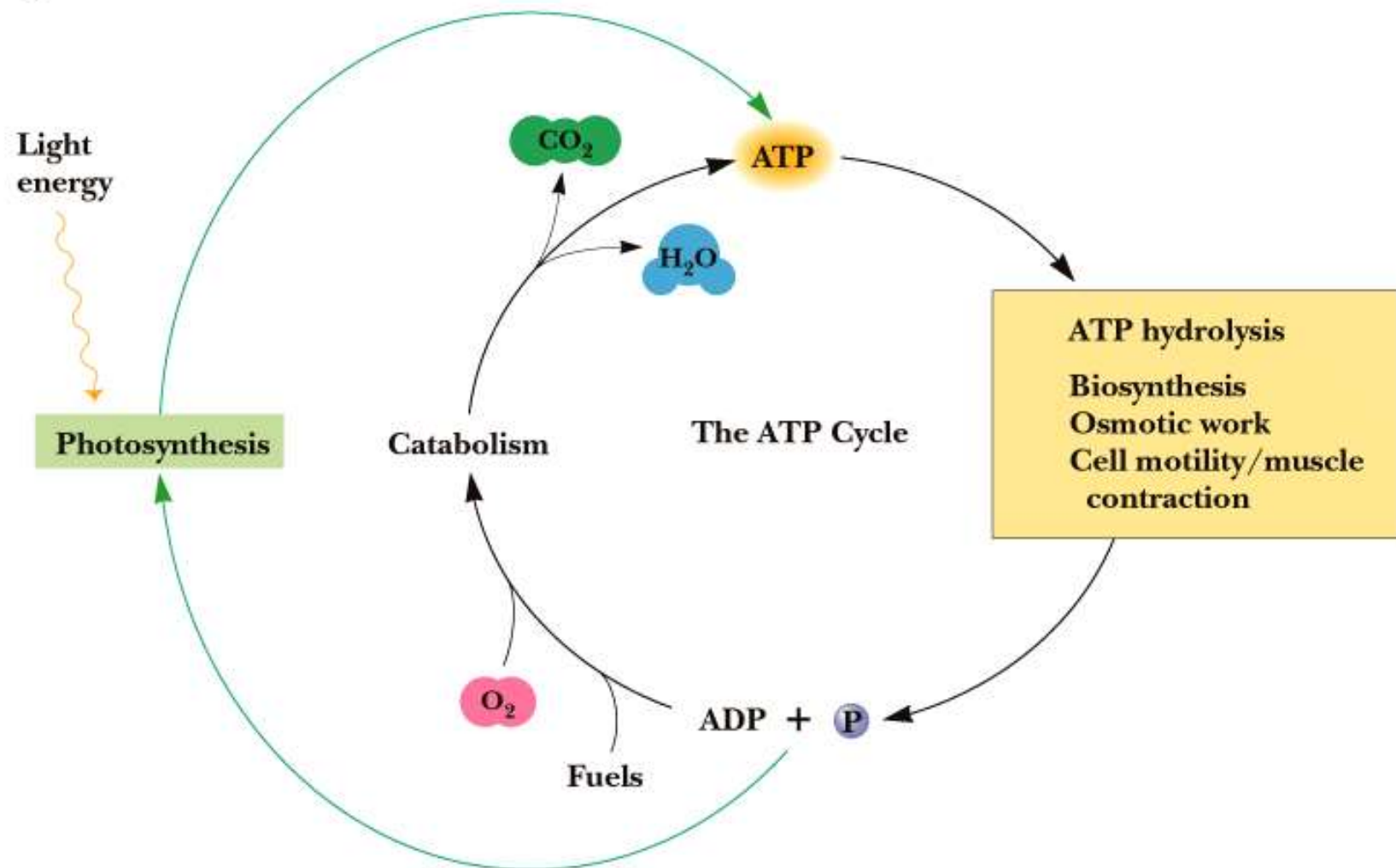


Figure 18.8

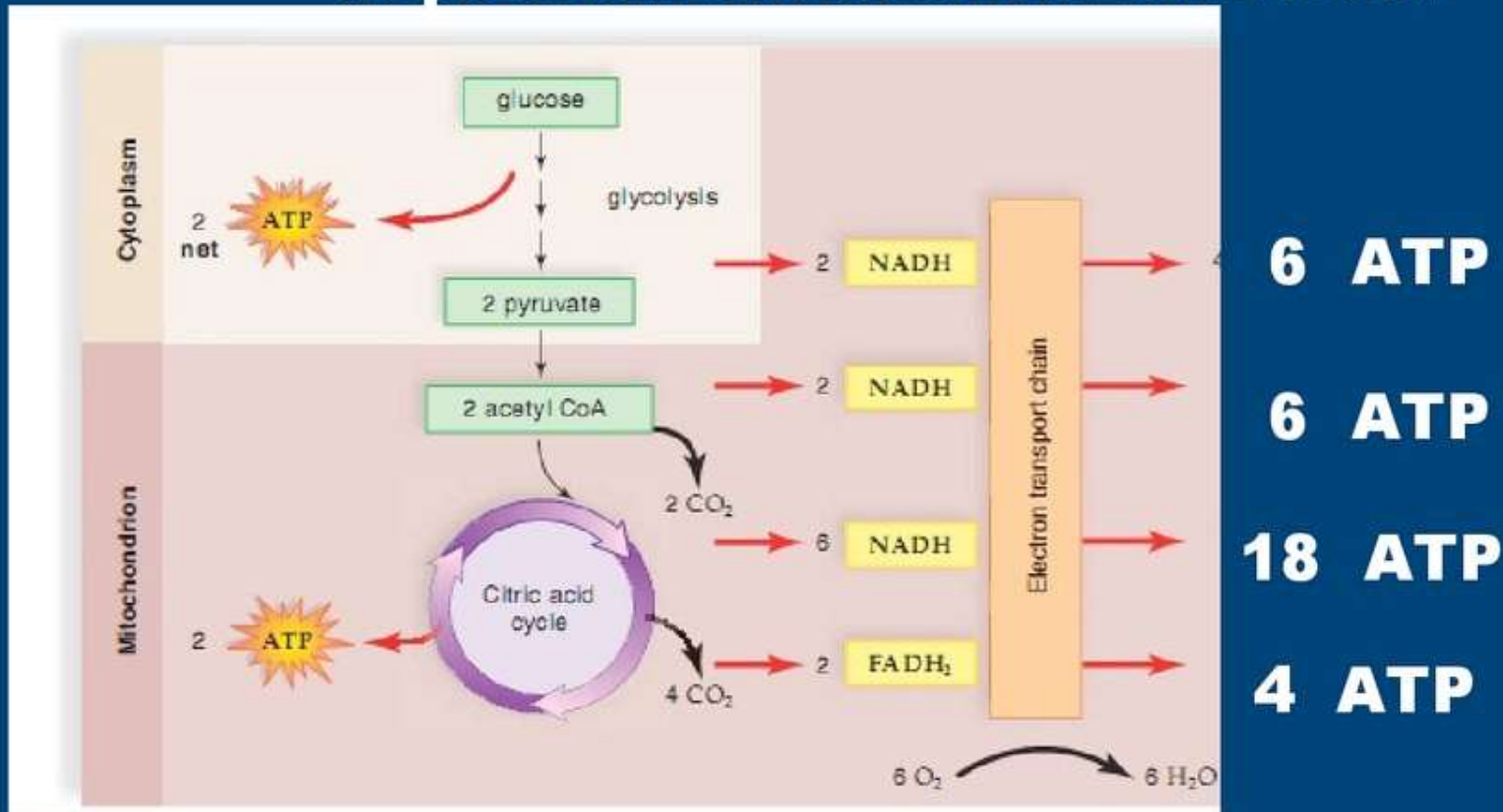


Этапы катаболизма

- 1 этап. Макромолекулы (крахмал, белки, триацилглицеролы) превращаются в строительные блоки: моносахариды, аминокислоты, глицерол и высшие жирные кислоты. Запасания энергии на этом этапе практически не происходит.
- 2 этап. Строительные блоки подвергаются дальнейшему превращению в несколько молекул, которые могут окисляться в углекислый газ и воду в общем пути метаболизма. На этом этапе часть свободной энергии запасается в виде АТФ.
- 3 этап. Конечный участок общего метаболического пути, в котором молекулы превращаются в CO_2 и воду и улавливается максимально возможное количество свободной энергии.

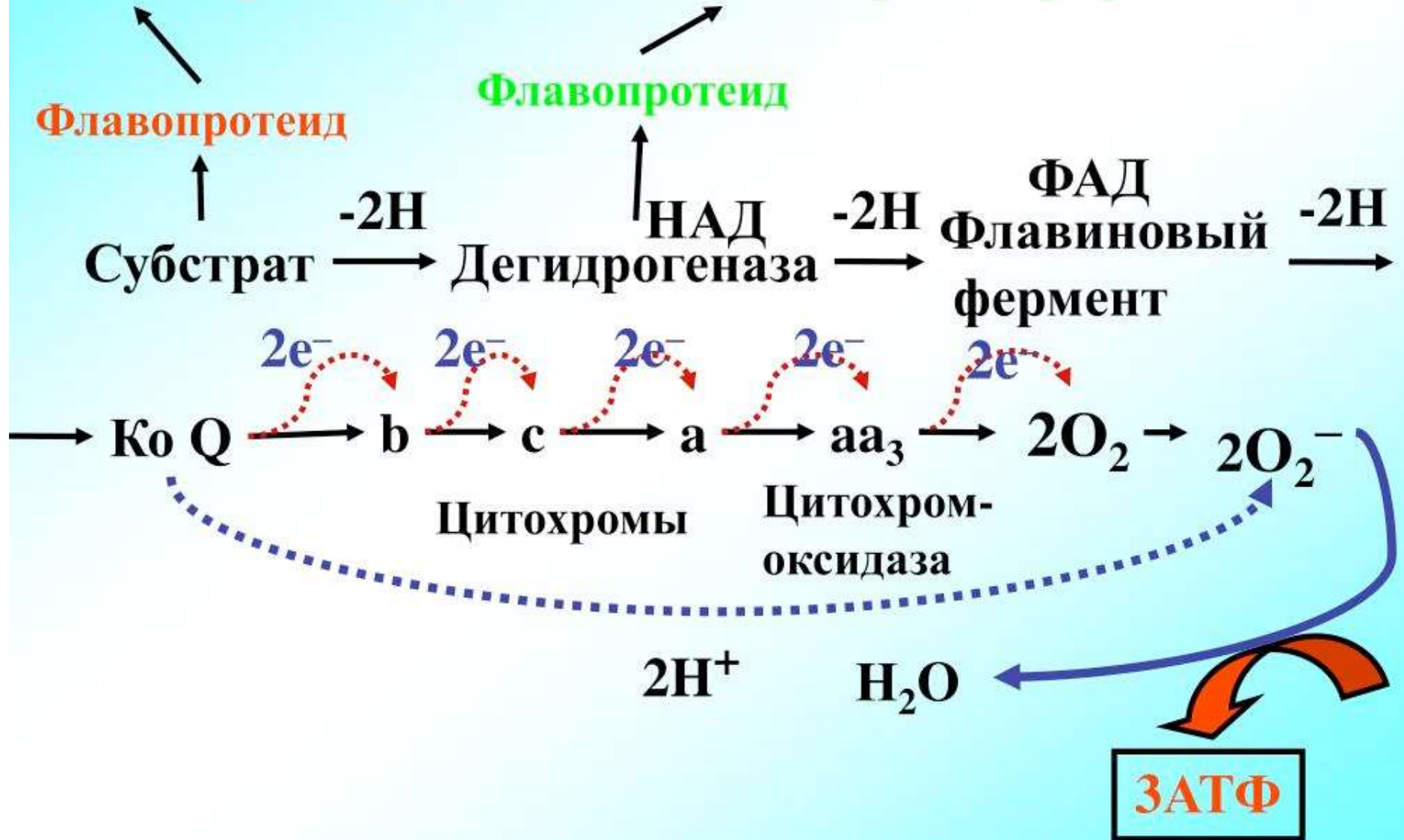
Биологическое окисление

Вклад субстратного и окислительного фосфорилирования в образование АТФ при аэробном окислении глюкозы



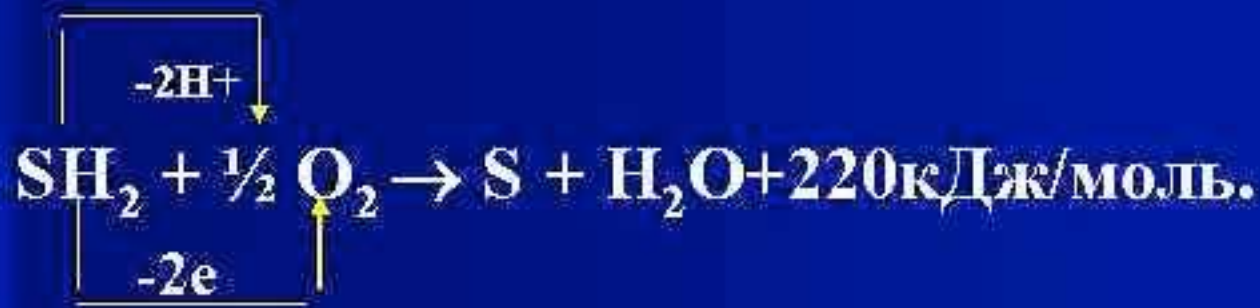
Всего 38 АТФ: 34 АТФ – ЭТЦ, 4 АТФ – субстратное фосфорилирование)

Механизм биологического окисления



Тканевое дыхание. Дыхательная цепь

- O_2 в процессе биоокисления используется как акцептор H окисляемых (дегидрируемых) S, в результате чего синтезируется H_2O (400мл в сутки)



МИТЧЕЛЛ ПИТЕР
1920-1992

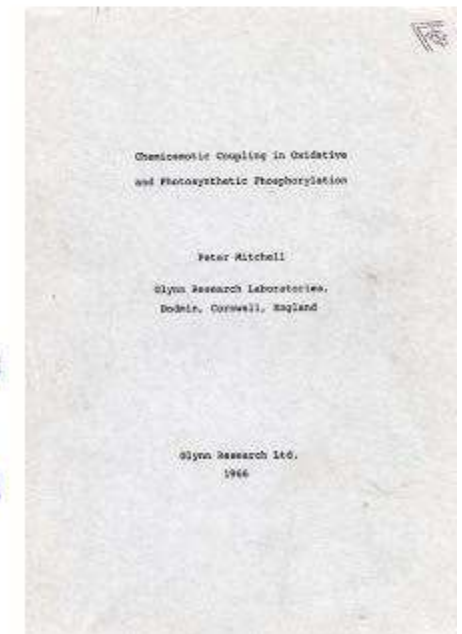


Английский биохимик. Разработал
хемиосмотическую теорию преобразования энергии в
биологической мембране при синтезе АТФ. Получил
Нобелевскую премию в 1978 г.

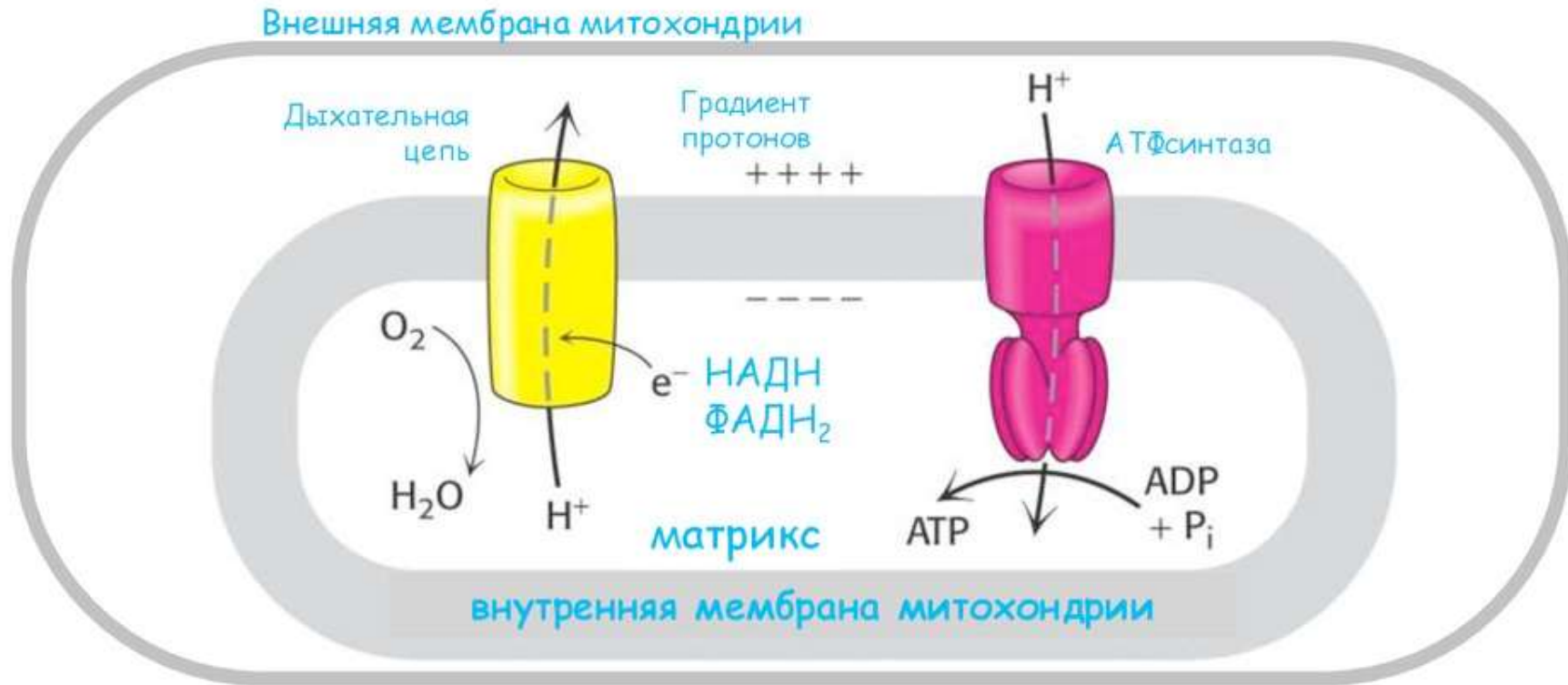
П. Митчелл сформулировал хемиосмотическую теорию окислительного фосфорилирования (Нобелевская премия 1978 г.).

Постулаты хемиосмотической теории:

- внутренняя митохондриальная мембрана (ВММ) непроницаема для ионов, в частности для H^+ и OH^- ;
- за счет энергии транспорта электронов через I, III и IV комплексы дыхательной цепи из матрикса выкачиваются протоны;
- возникающий на мембране электрохимический потенциал (ЭХП) и есть промежуточная форма запасаения энергии;
- возвращение (транслокация) протонов в матрикс митохондрии через протонный канал **АТФ-синтазы** за счет ЭХП является движущей силой синтеза АТФ.

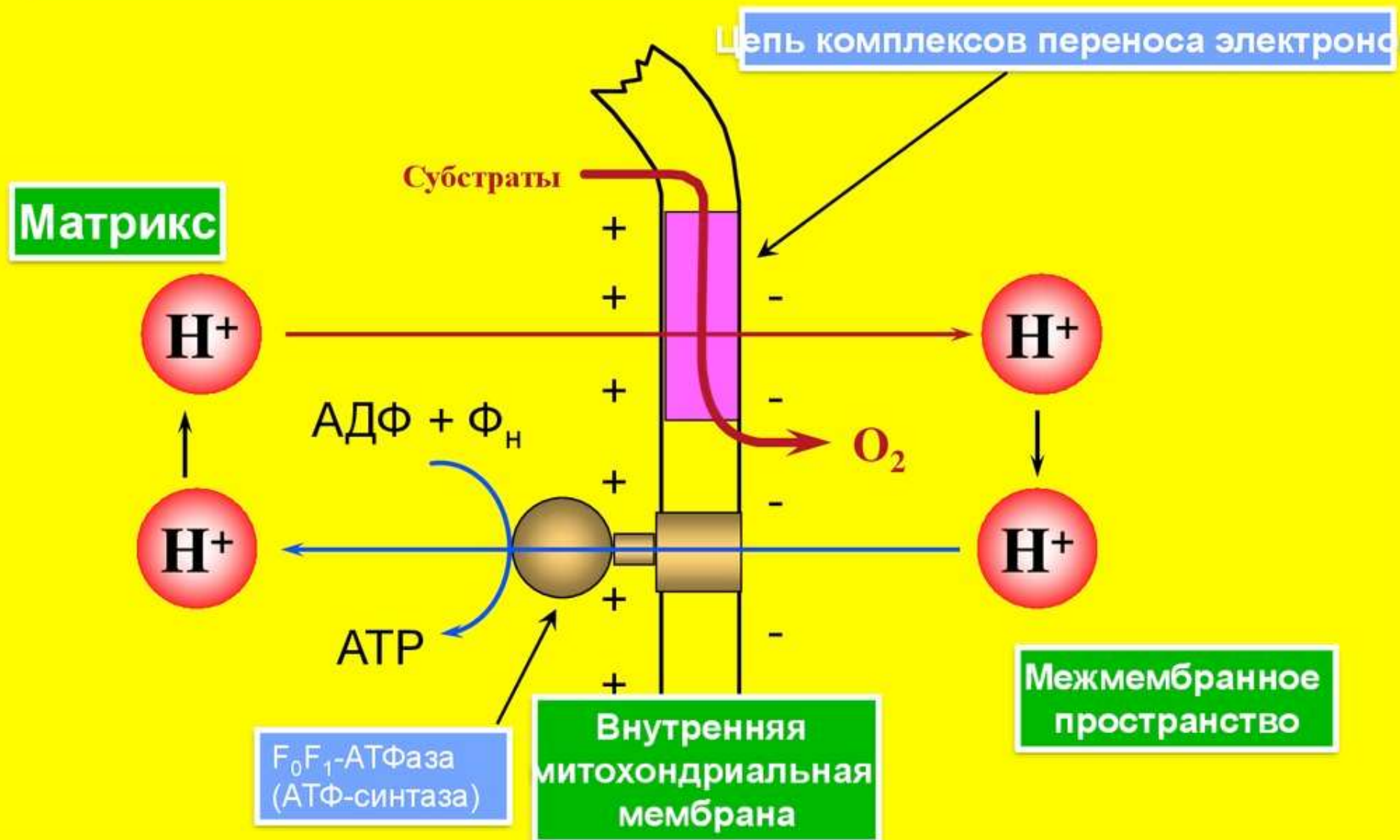


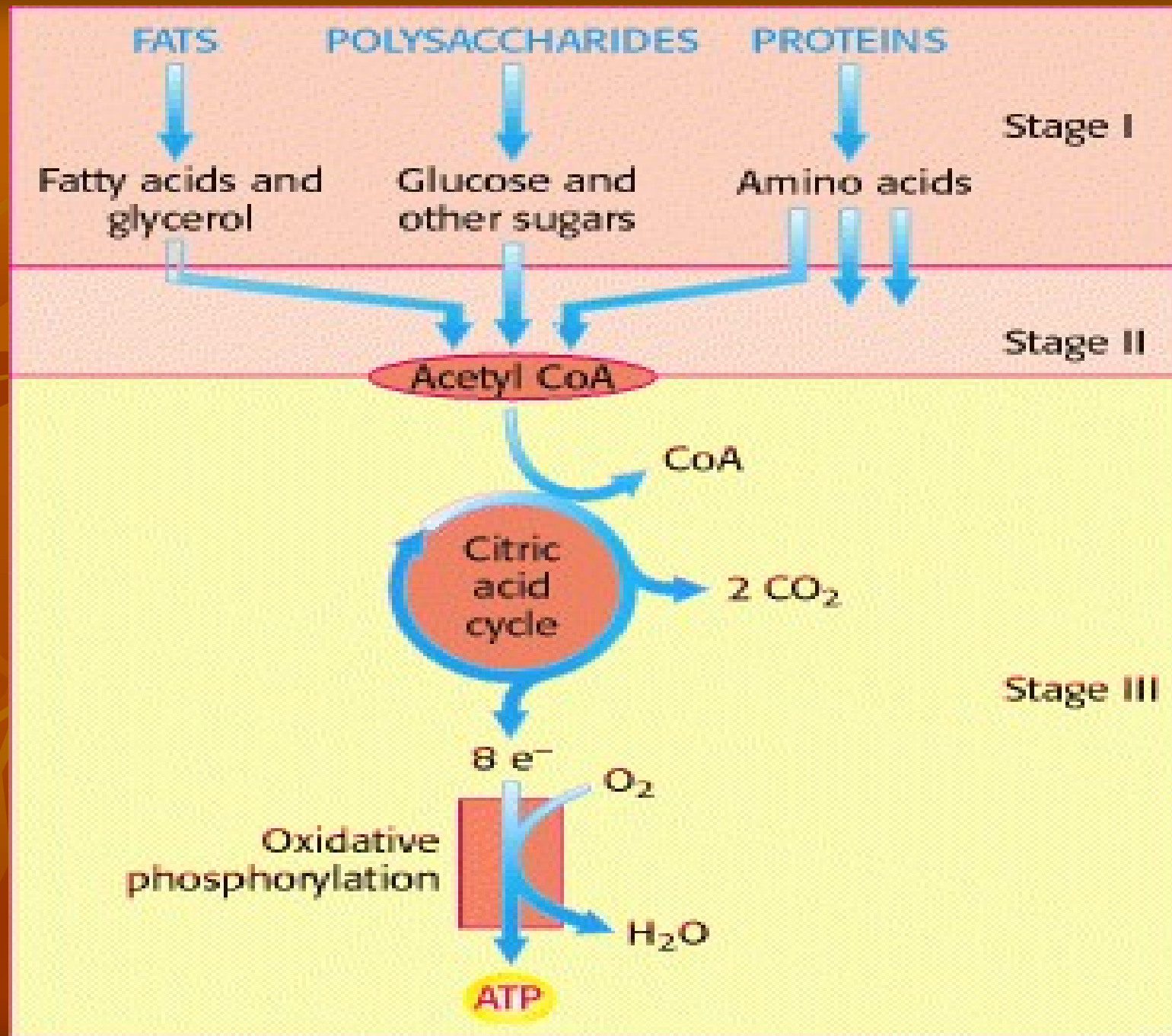
Общая схема синтеза АТФ (хемиосмотическая гипотеза Митчелла)



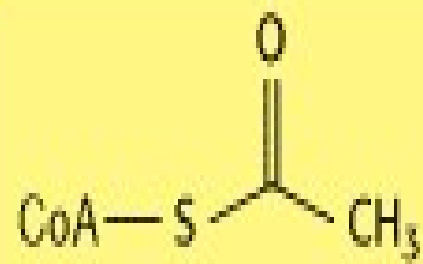
- Дыхательная цепь получает электроны от НАДН и ФАДН₂ (т.е. она окисляет восстановленные формы этих коферментов)
- Конечным окислителем в этих реакциях является молекула O_2 . Получается вода
- Одновременно с переносом электронов от НАДН и ФАДН₂ на O_2 происходит перенос протонов (H^+) через внутреннюю мембрану митохондрии. Таким образом, H^+ накапливаются в межмембранном пространстве митохондрии
- Накопившиеся протоны могли бы перейти обратно в матрикс, но этому мешает внутренняя мембрана митохондрии
- Фермент АТФсинтаза образует специальный канал для протонов, по которому они могут пройти обратно в матрикс
- Одновременно с переходом H^+ в матрикс происходит синтез АТФ (окислительное фосфорилирование АДФ)

Окислительное фосфорилирование (По Митчеллу)

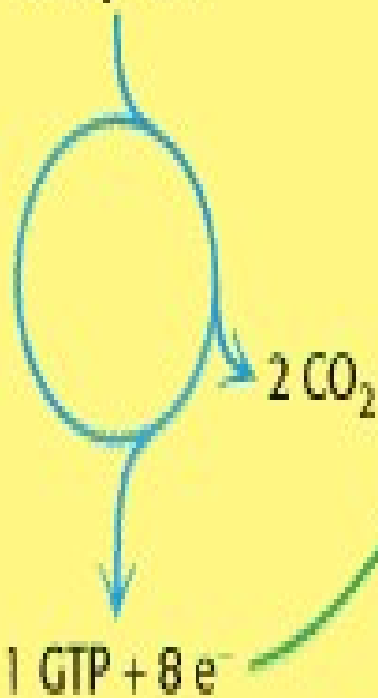




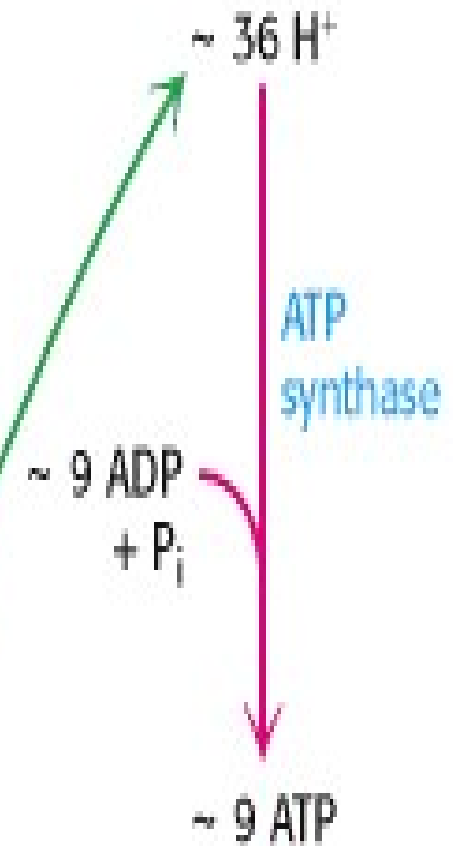
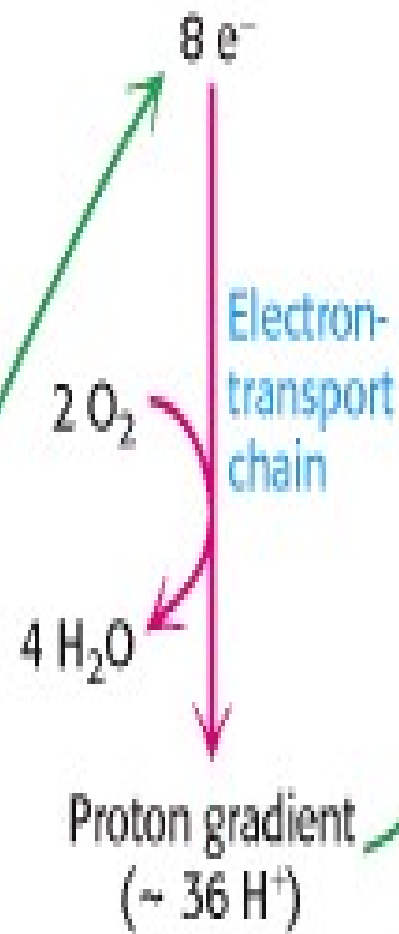
CITRIC ACID CYCLE

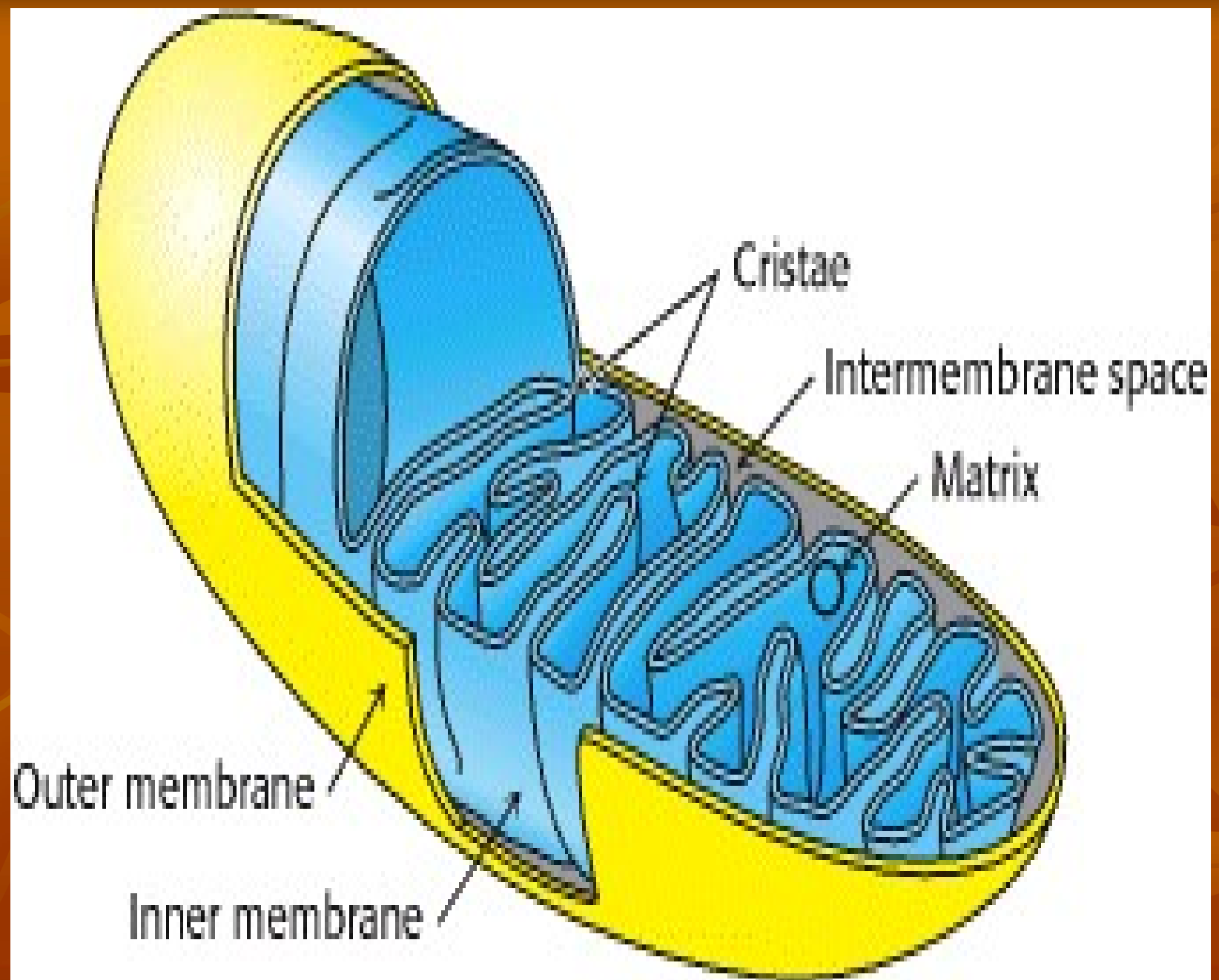


Acetyl CoA



OXIDATIVE PHOSPHORYLATION







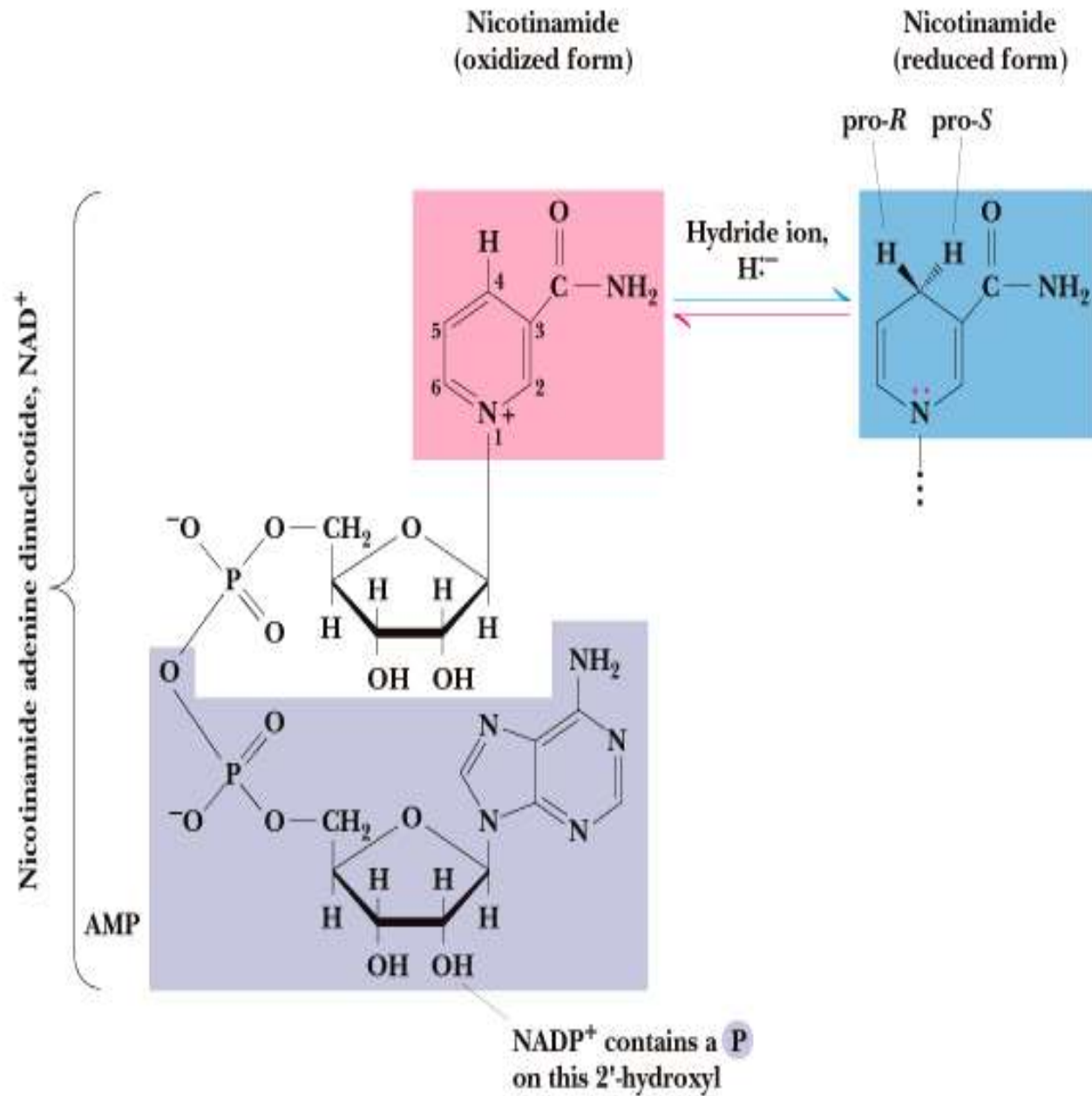
Роль окислительно-восстановительных процессов в метаболизме

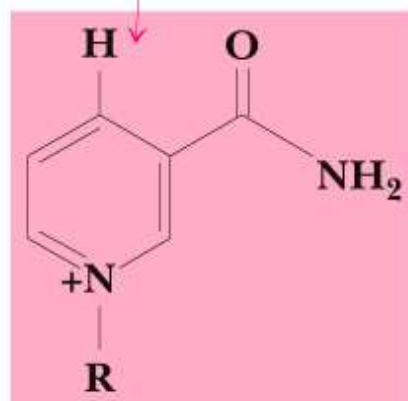
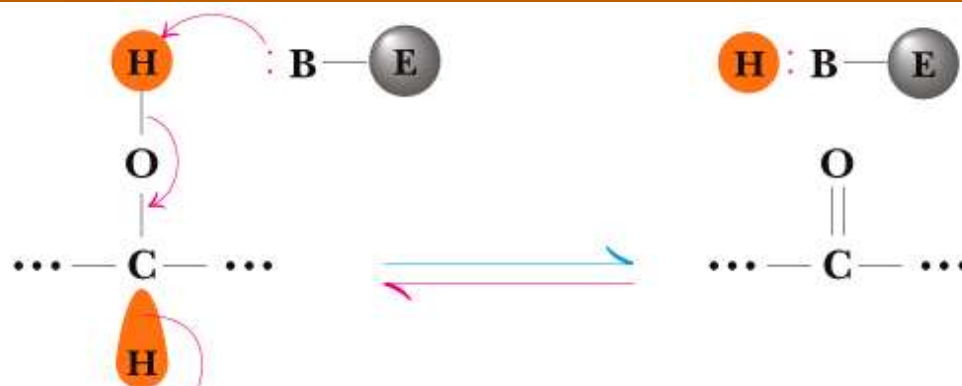
- Основной путь получения энергии гетеротрофами - окисление органических веществ путем дегидрирования.
- НАД^+ собирает электроны, освобождающиеся в процессе катаболизма
- в реакциях восстановительного синтеза используются $\text{НАДФН} + \text{H}^+$.

Коферменты никотиновой кислоты и никотинамида

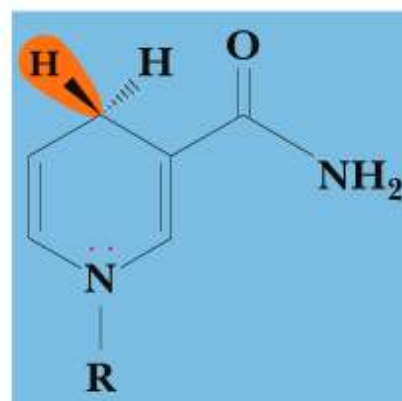
- Существуют два кофермента никотиновой кислоты и никотинамида: НАД⁺ и НАДФ⁺;
- НАД⁺ и НАДФ⁺ - двухэлектронные переносчики;
- Они переносят гидрид ионы к и от субстратов.

Figure 18.19



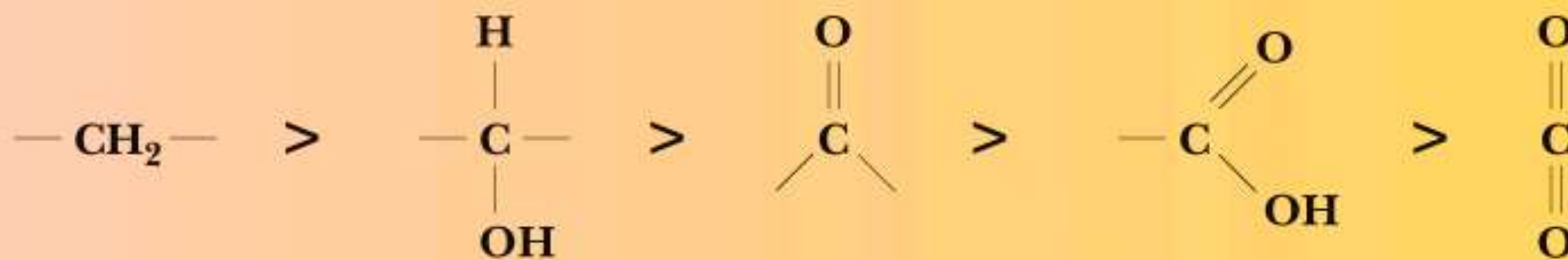


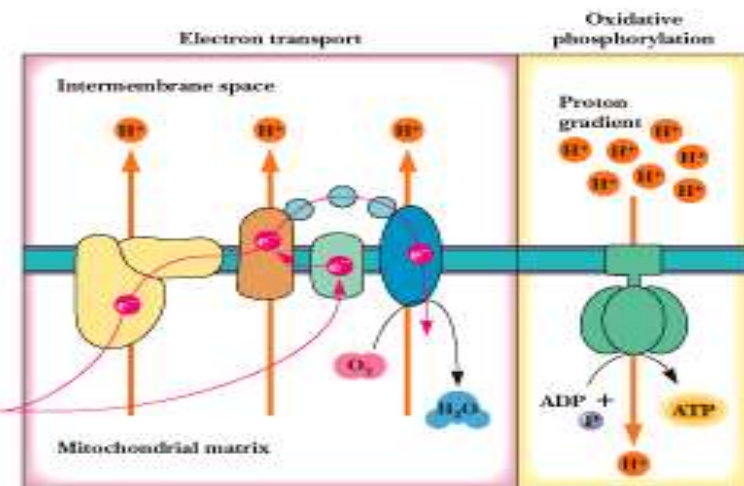
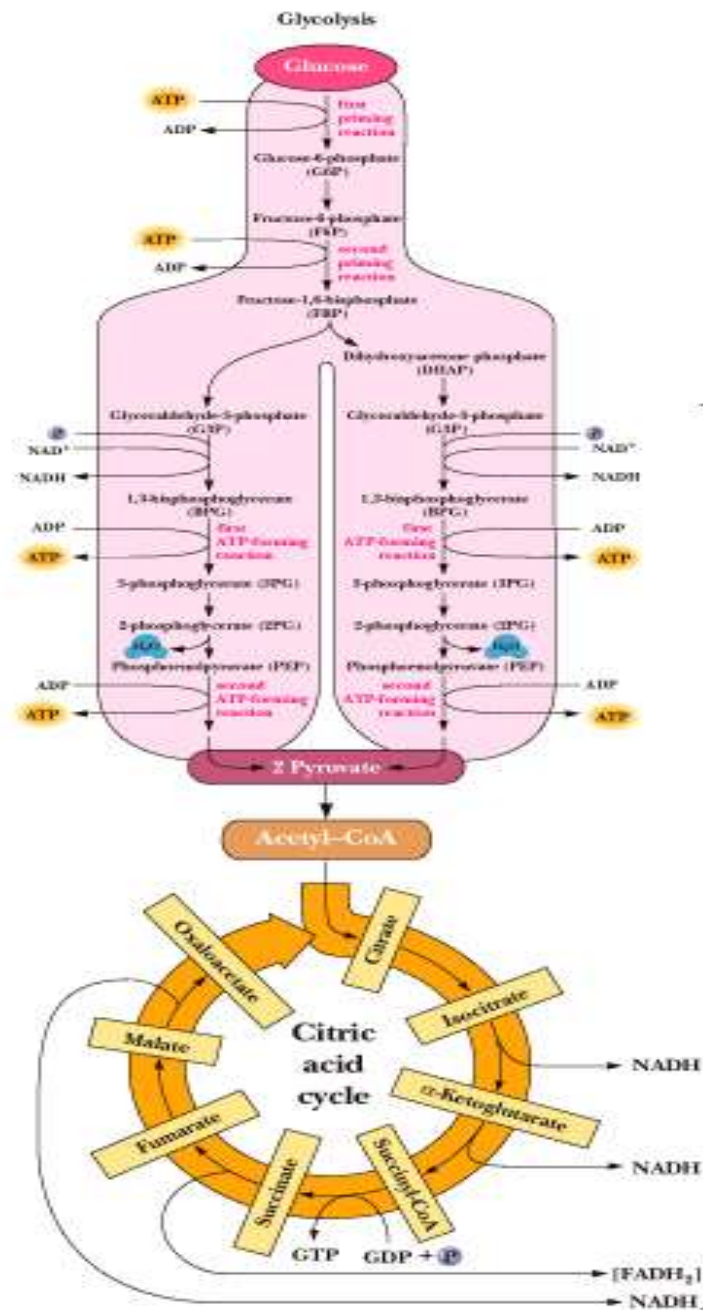
Oxidized coenzyme
(NAD⁺ or NADP⁺)



Reduced coenzyme
(NADH or NADPH)

Сравнение степеней окисления атомов углерода в биомолекулах

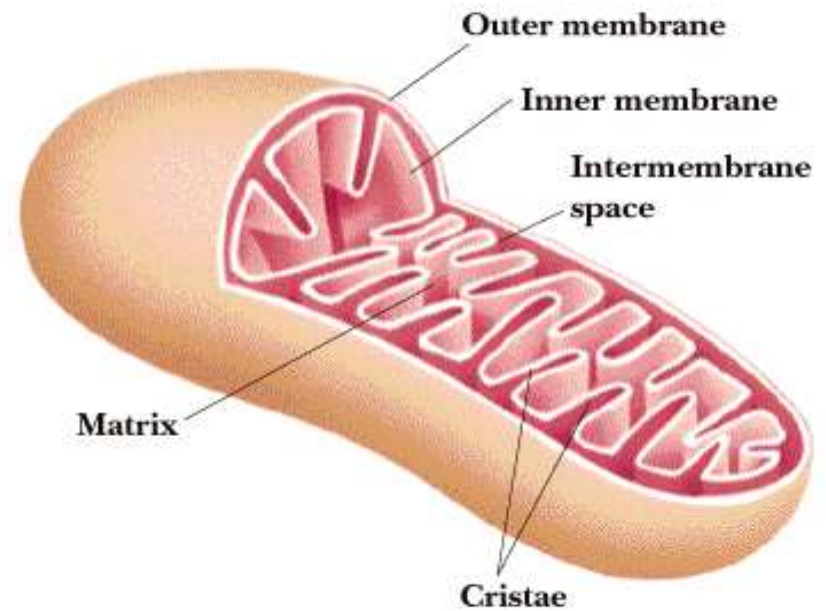




Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.1



(a)



(b)

Окислительно-восстановительные реакции

Окислительно-восстановительные реакции включают транспорт электронов, каждая из реакций состоит из двух сопряженных полуреакций:

$A(\text{окисленный}) + B(\text{восстановленный}) = B(\text{окисленный}) + A(\text{восстановленный})$

- Окисление – процесс потери электронов.
- Восстановление – процесс присоединения электронов.
- В уравнении А является акцептором электронов, В – донор электронов.

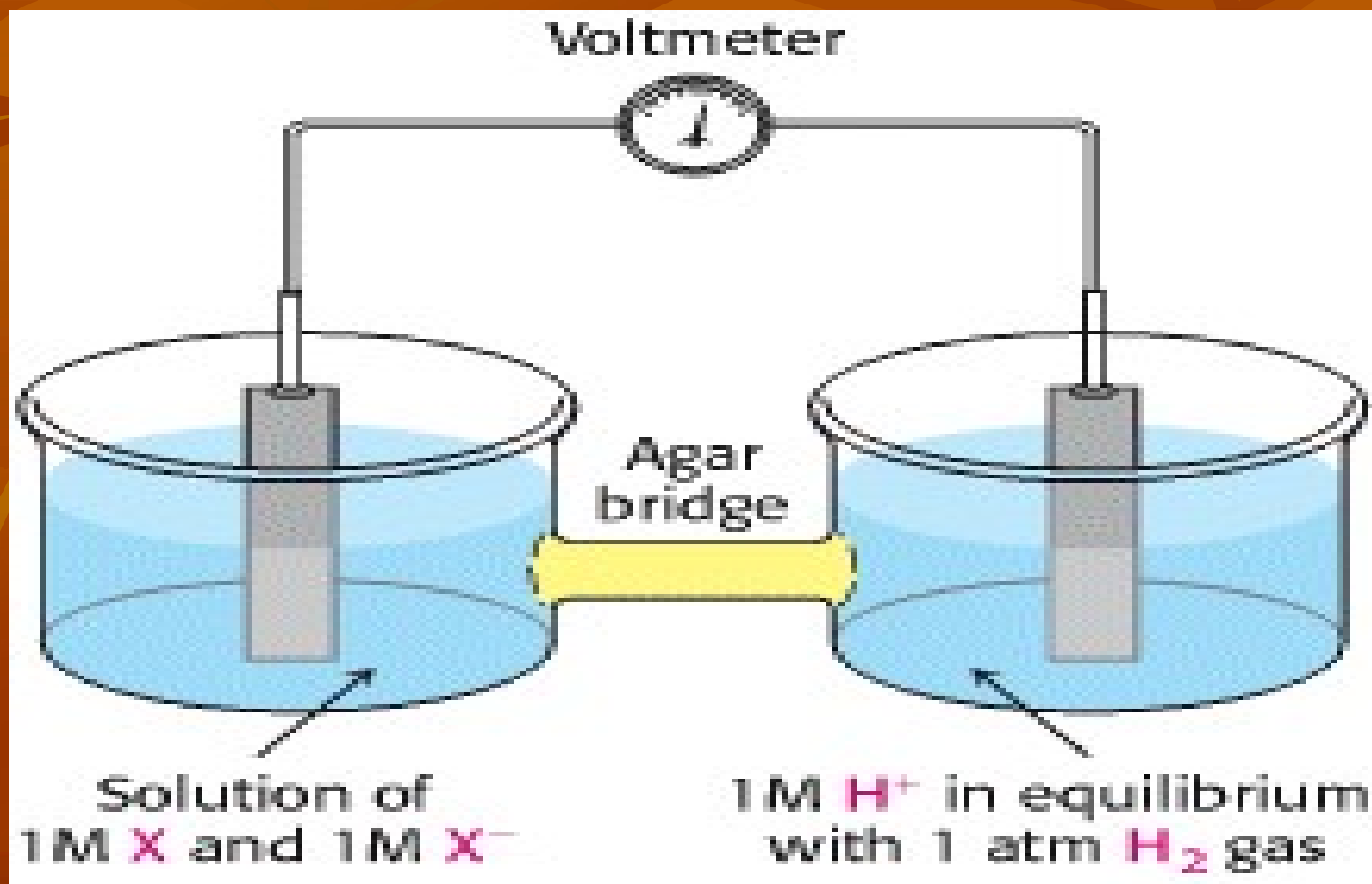
Окислительно- восстановительный потенциал.

Стандартный окислительно-восстановительный потенциал (редокс потенциал) для полуреакций – электрический потенциал ($E^{0'}$) в вольтах, измеряемый в течение реакции в стандартных условиях. Для сравнения используется водородный электрод.

Стандартные условия:

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

■ $\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E_0'$

- где ΔG - стандартная свободная энергия реакции;
- n - число электронов;
- F - число Фарадея;
- ΔE - разность между значениями окислительно-восстановительных потенциалов исходных веществ и продуктов реакции.

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

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

Строение дыхательной цепи

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

NADH



NADH-Q
oxidoreductase



Q

Succinate-Q
reductase



Q-cytochrome c
oxidoreductase



Cyt c

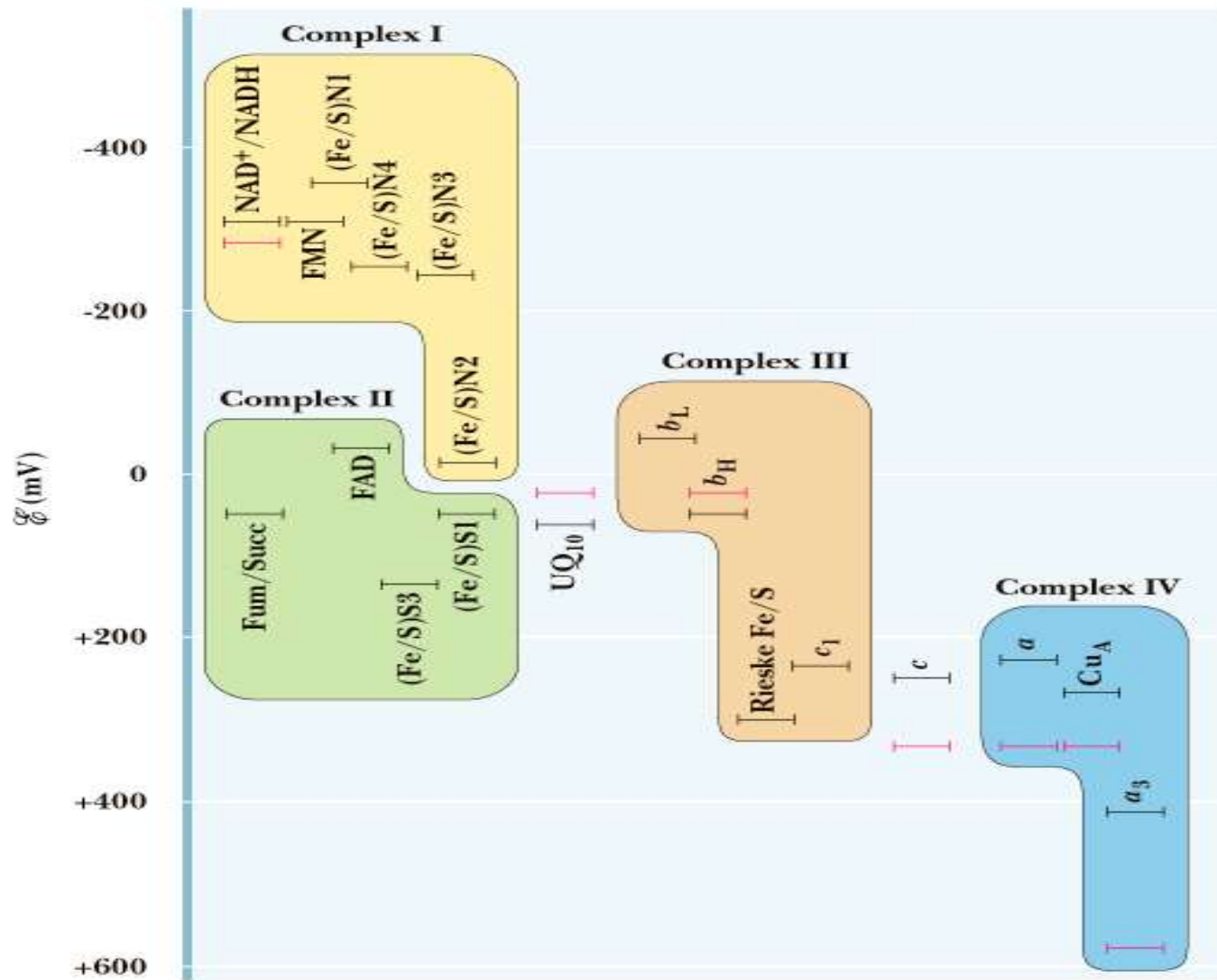


Cytochrome c
oxidase

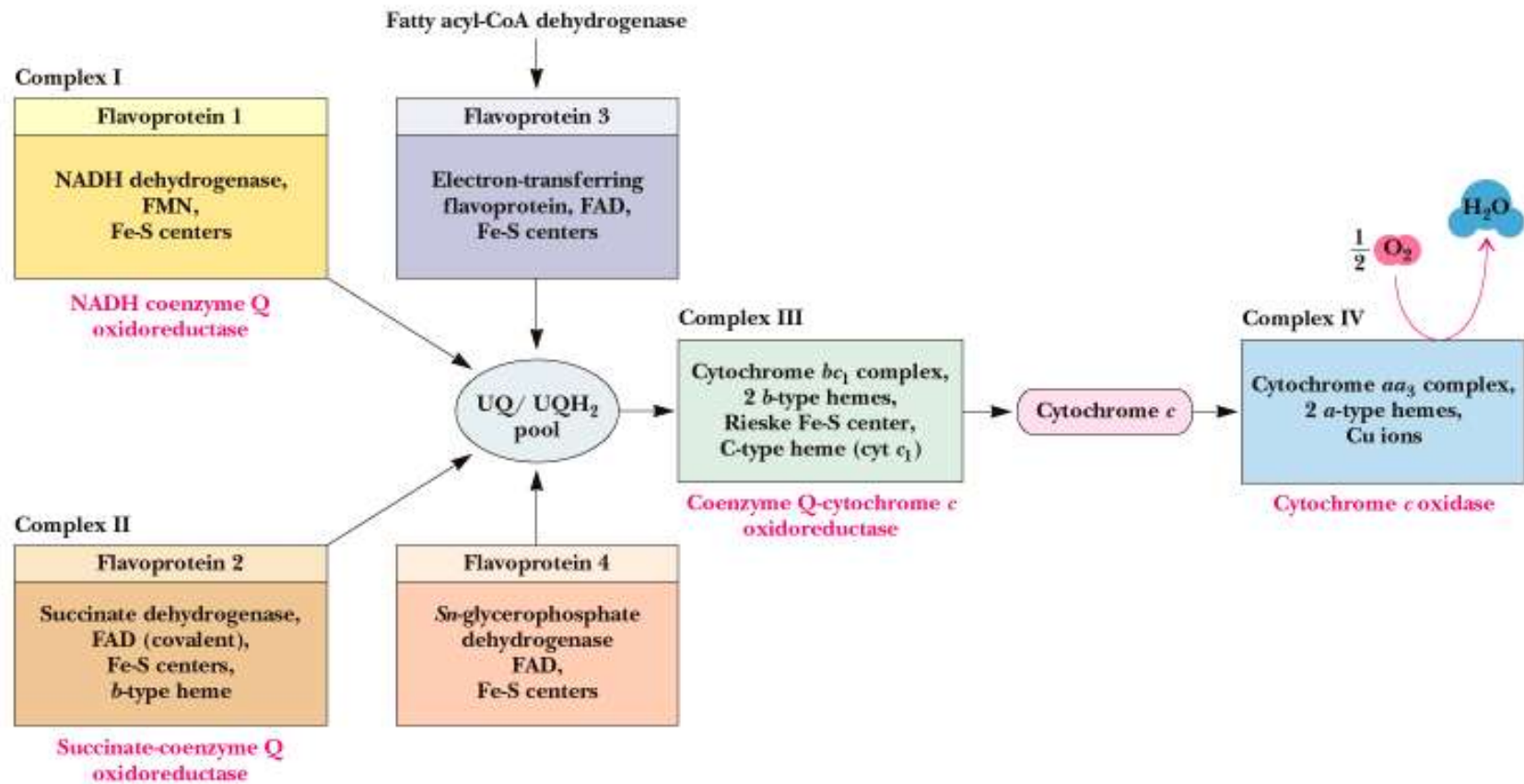


O₂

Строение дыхательной цепи



Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.4

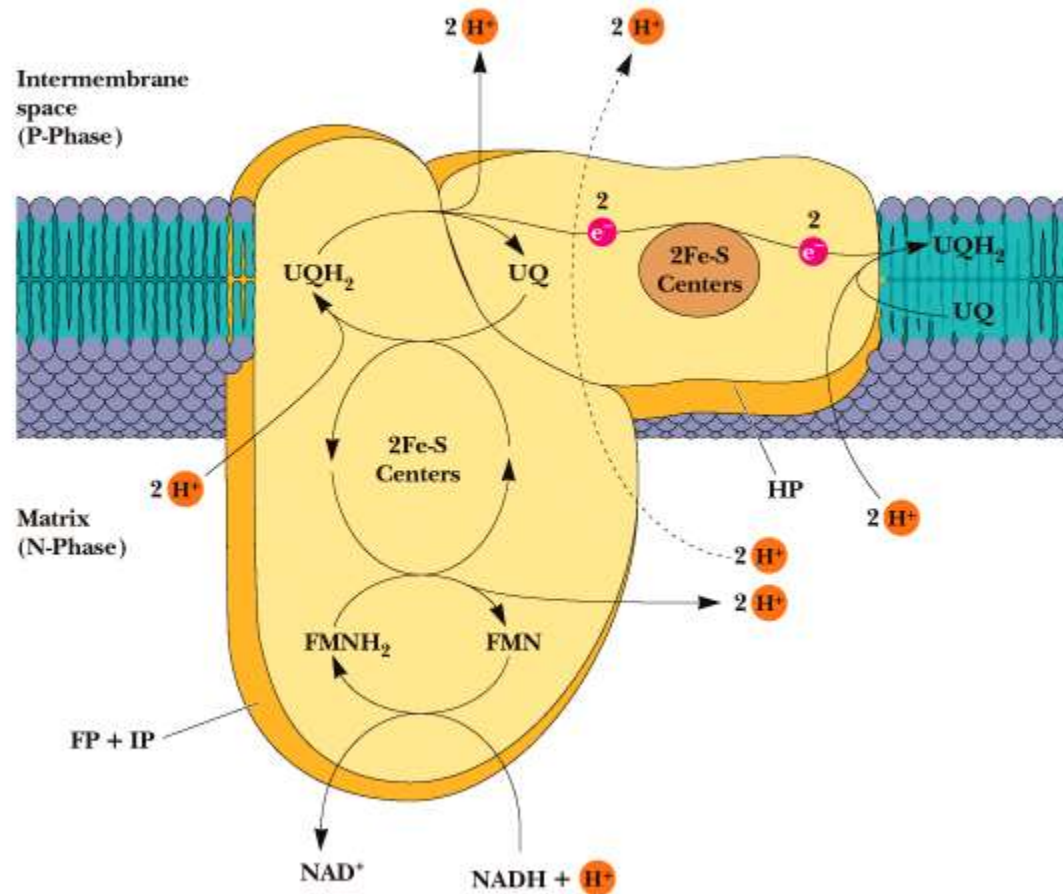


Комплекс I

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



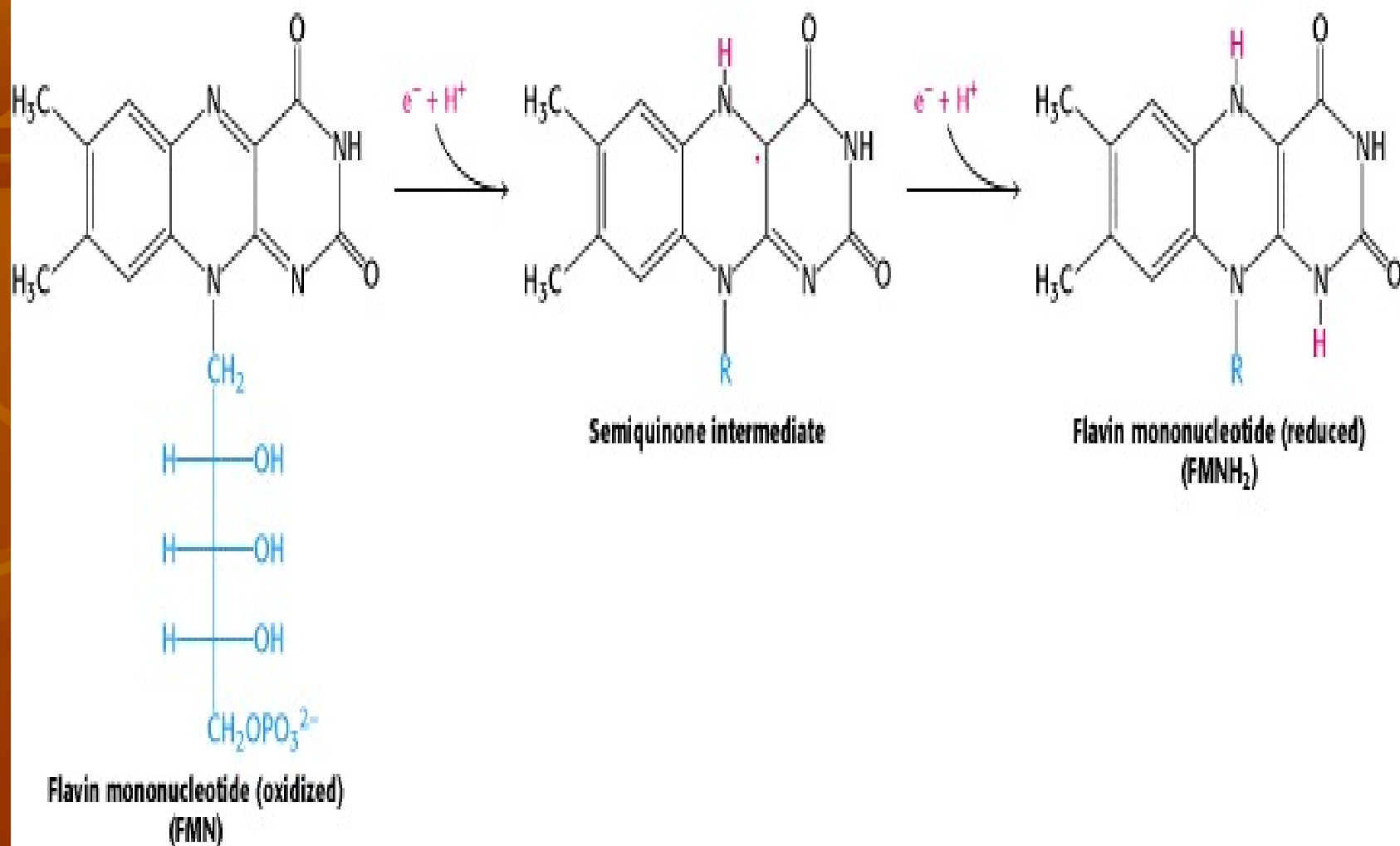
Рибофлавин (витамин В2)

- 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

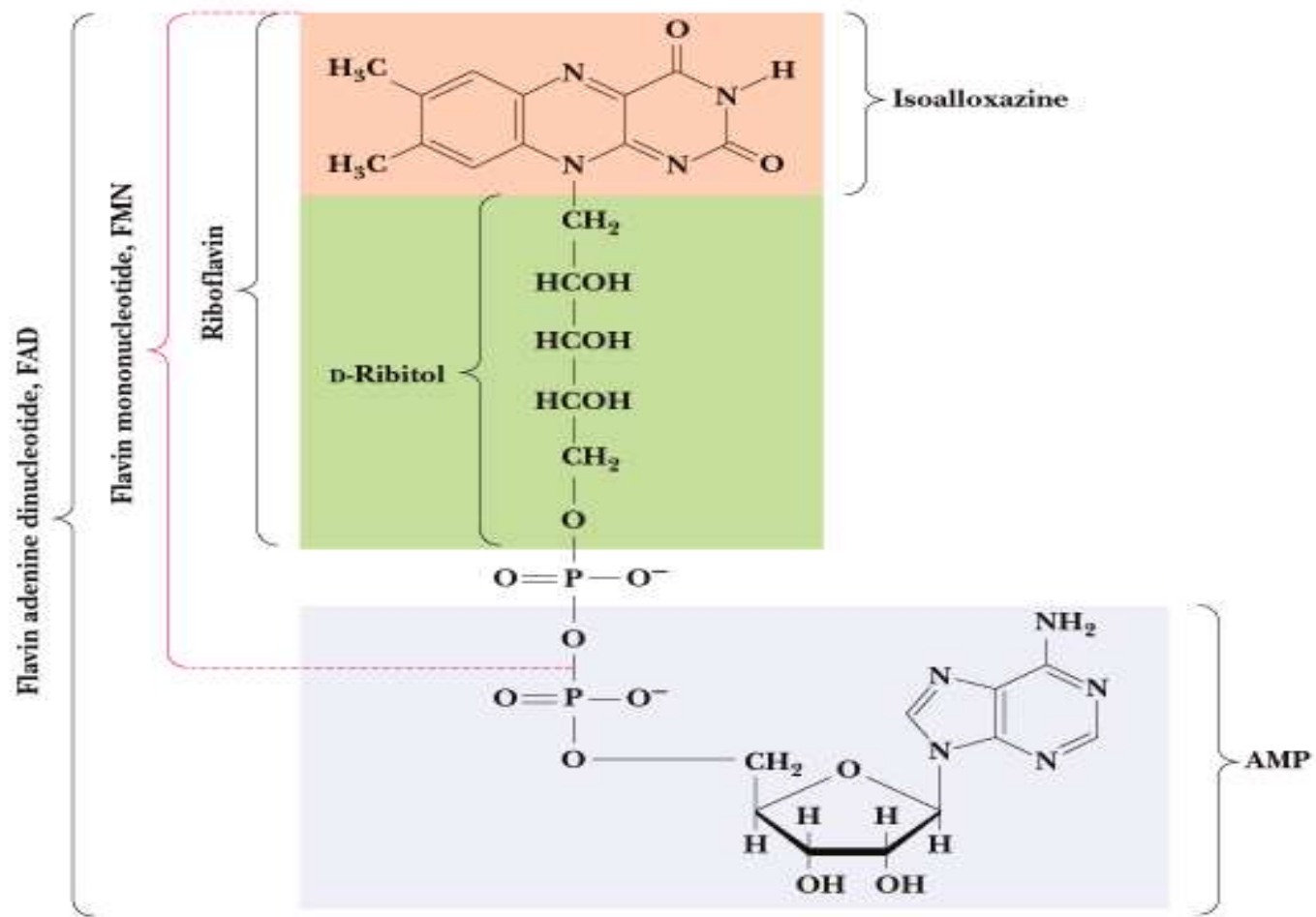


Комплекс II

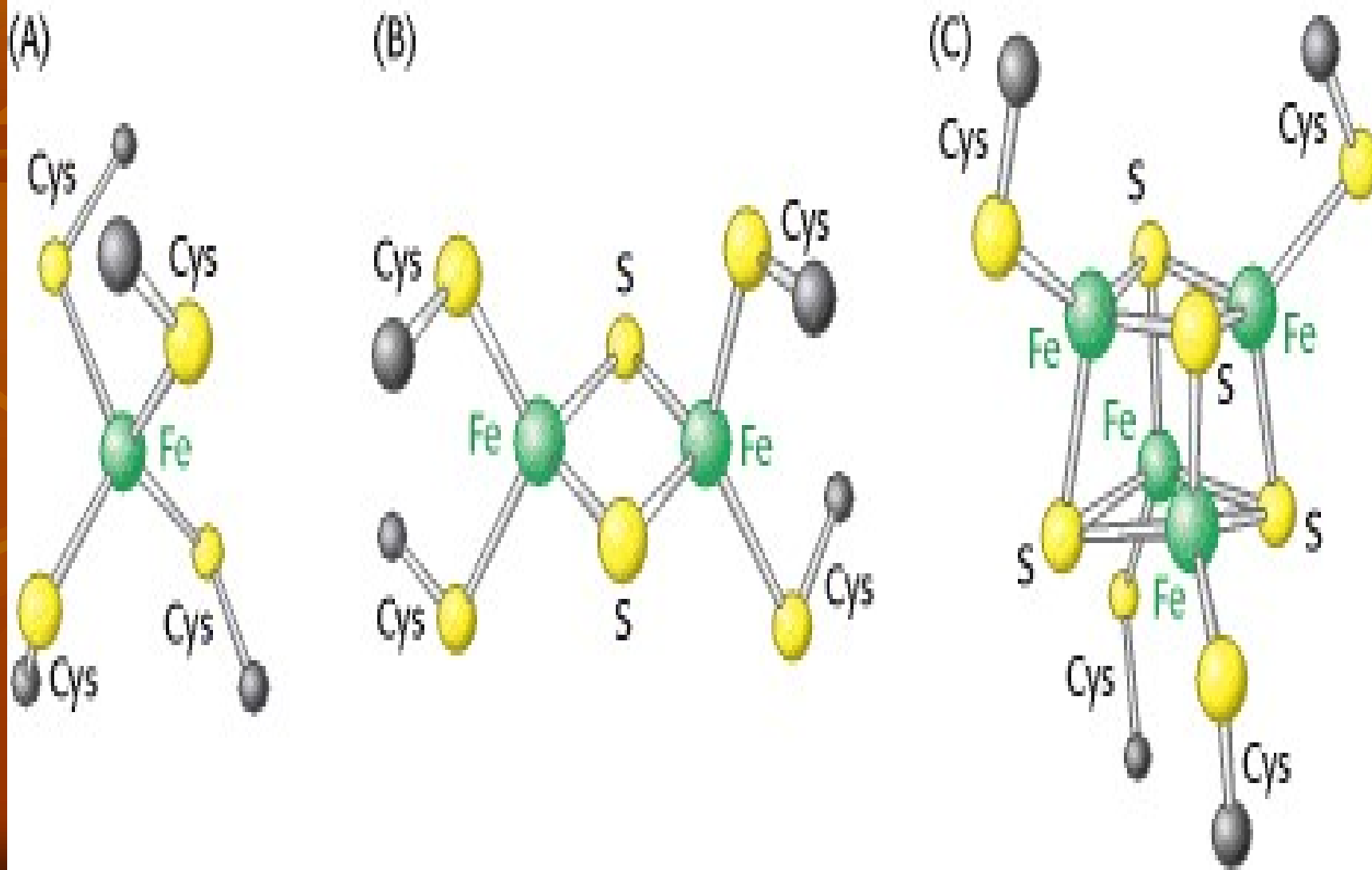
(сукцинат-кофермент Q редуктаза)

- 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 $\rightarrow$ фумарат + коэнзим QH₂

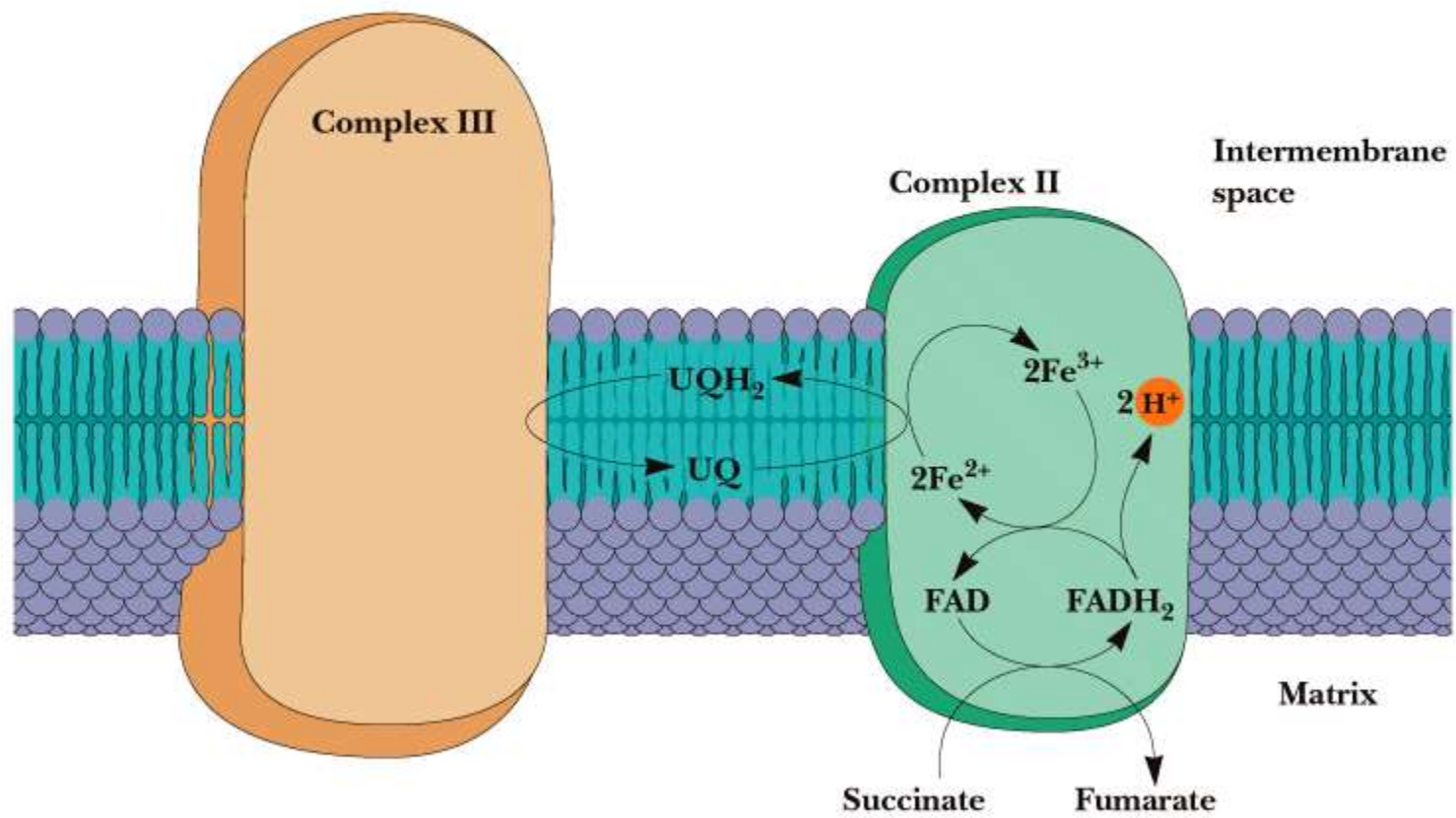
ФАД



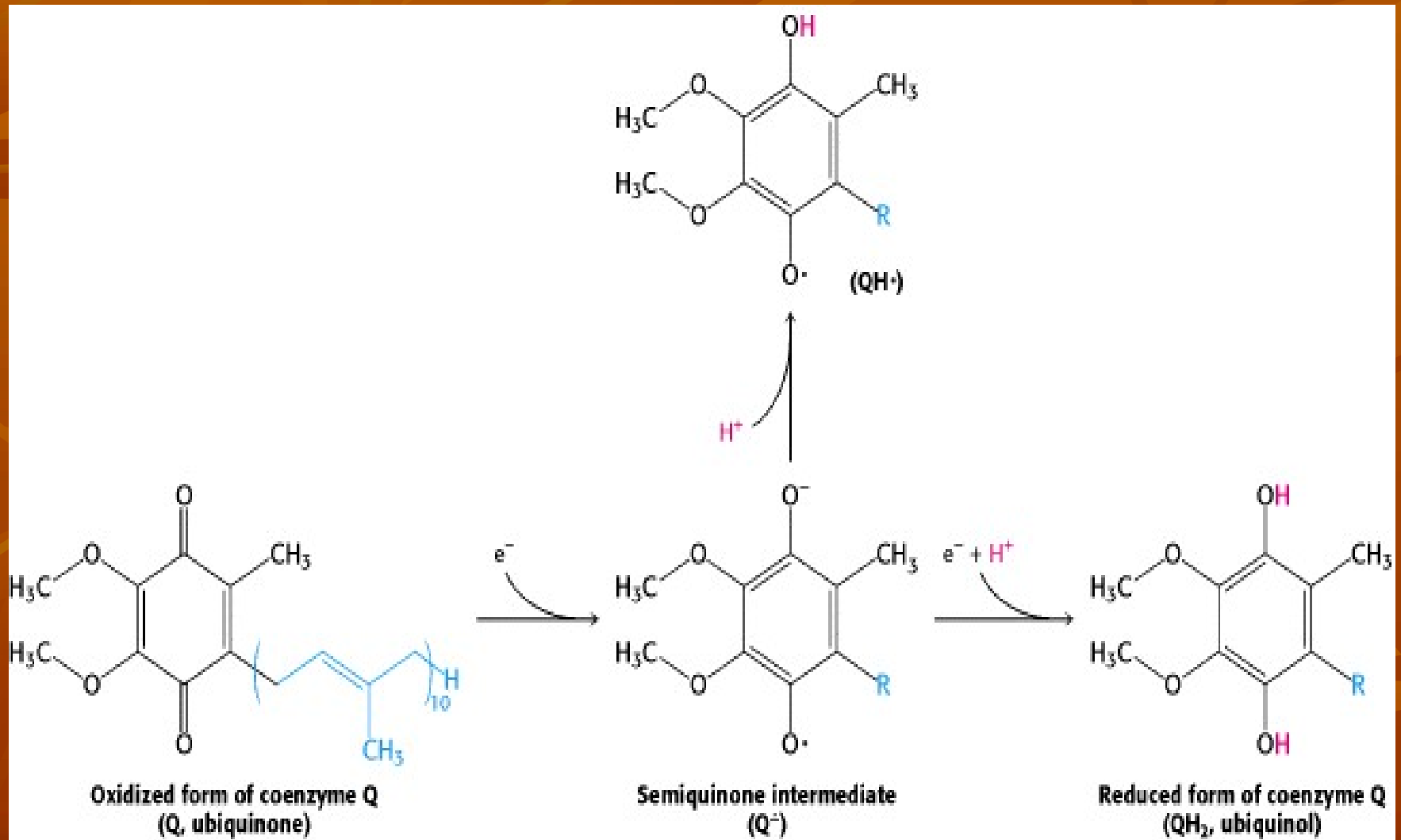
Типы железо-серных центров



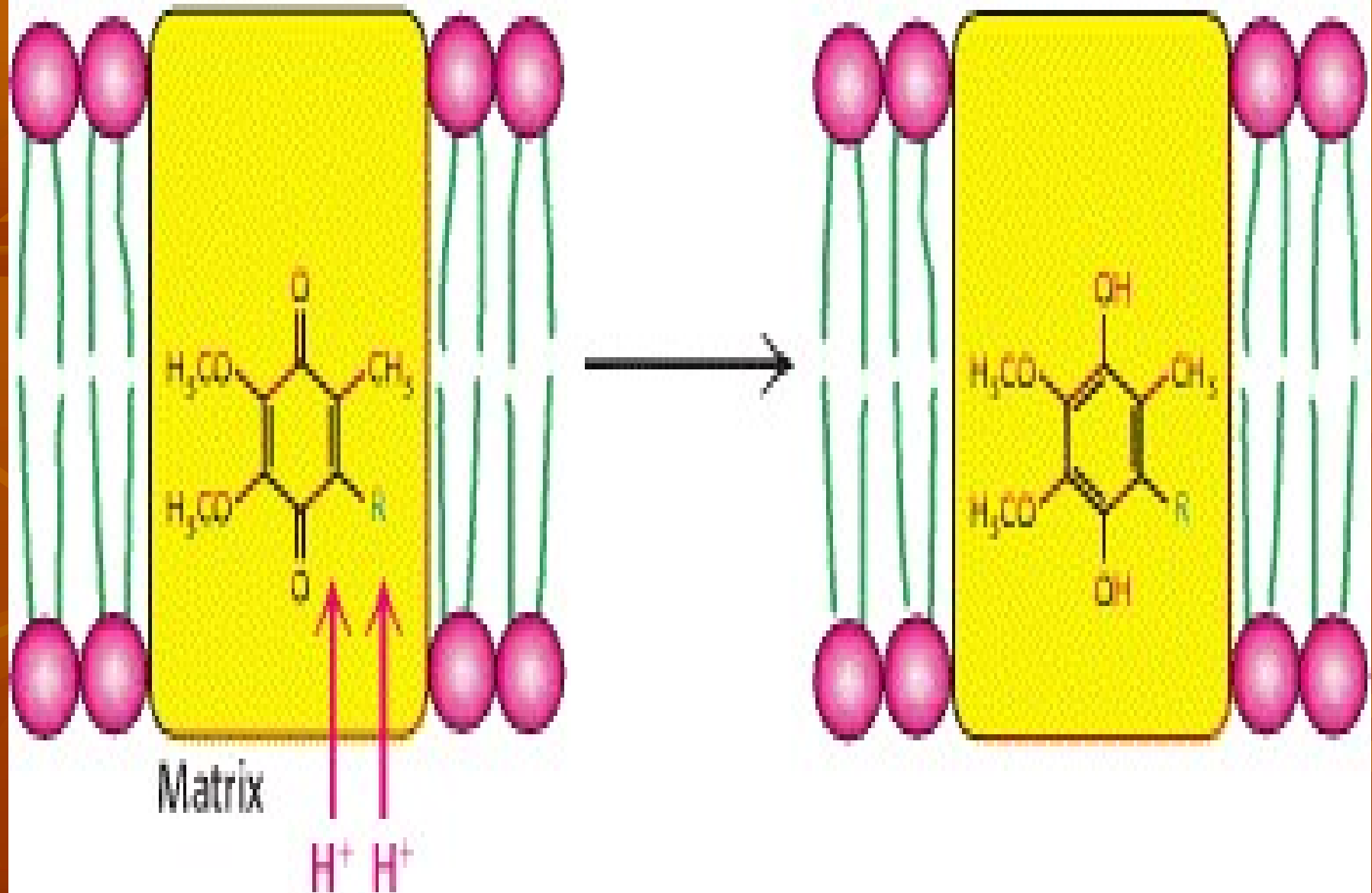
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.8



Убихинон



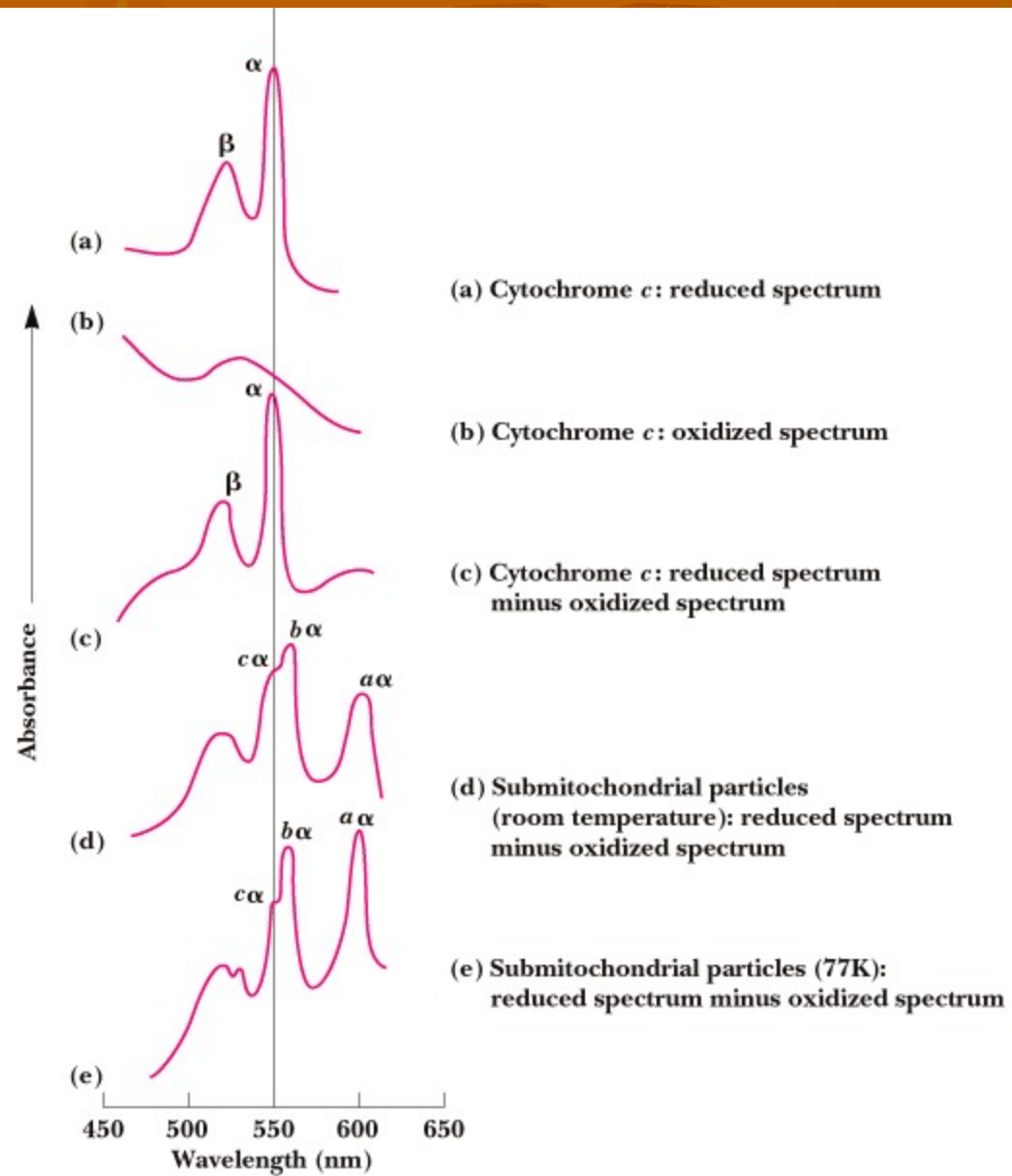
Intermembrane space

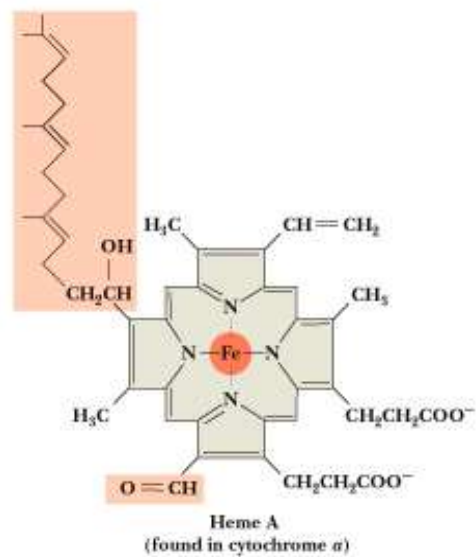
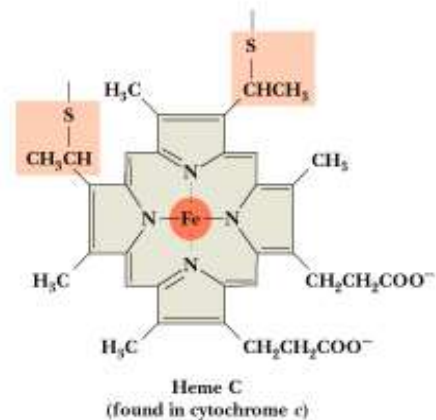


Комплекс III

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.

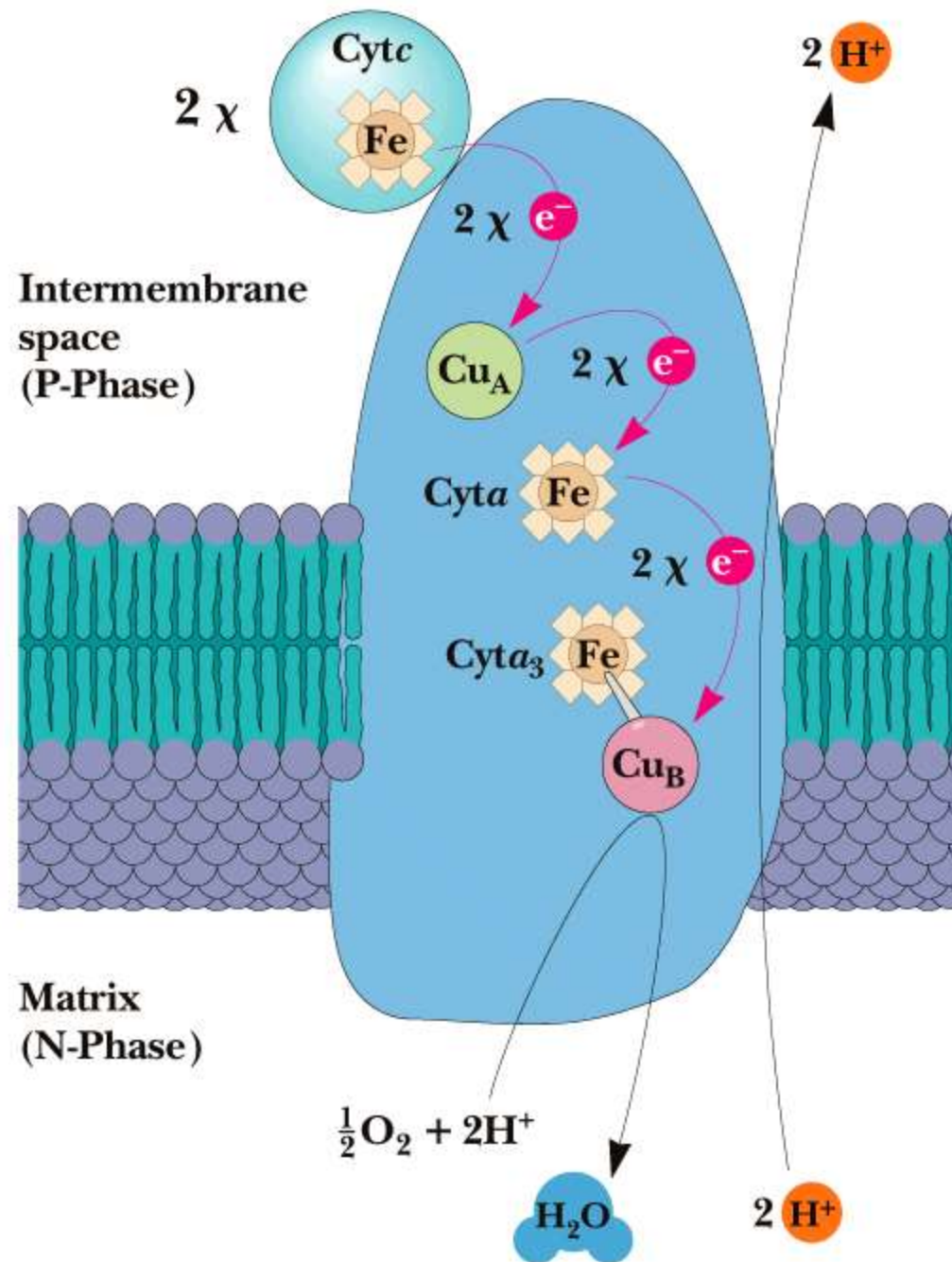




Комплекс IV

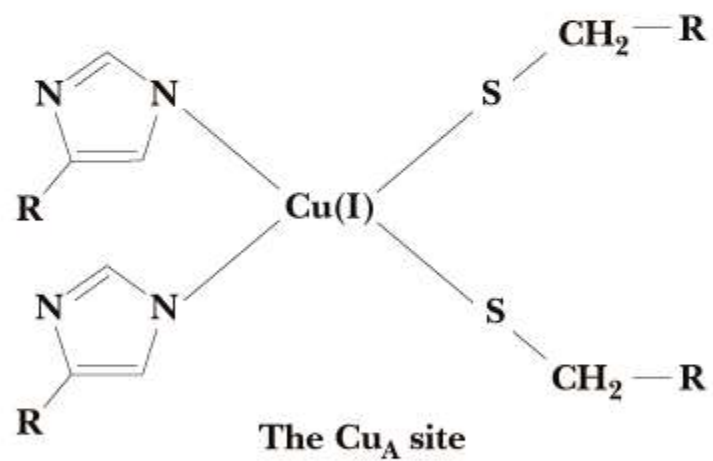
цитохром с оксидаза

- 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 а₃) и два иона меди;
- структура комплекса до конца не изучена;
- комплекс IV также транспортирует протоны водорода.

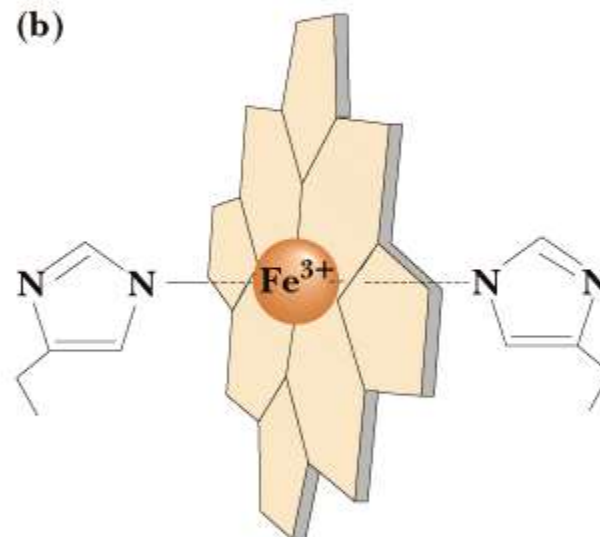


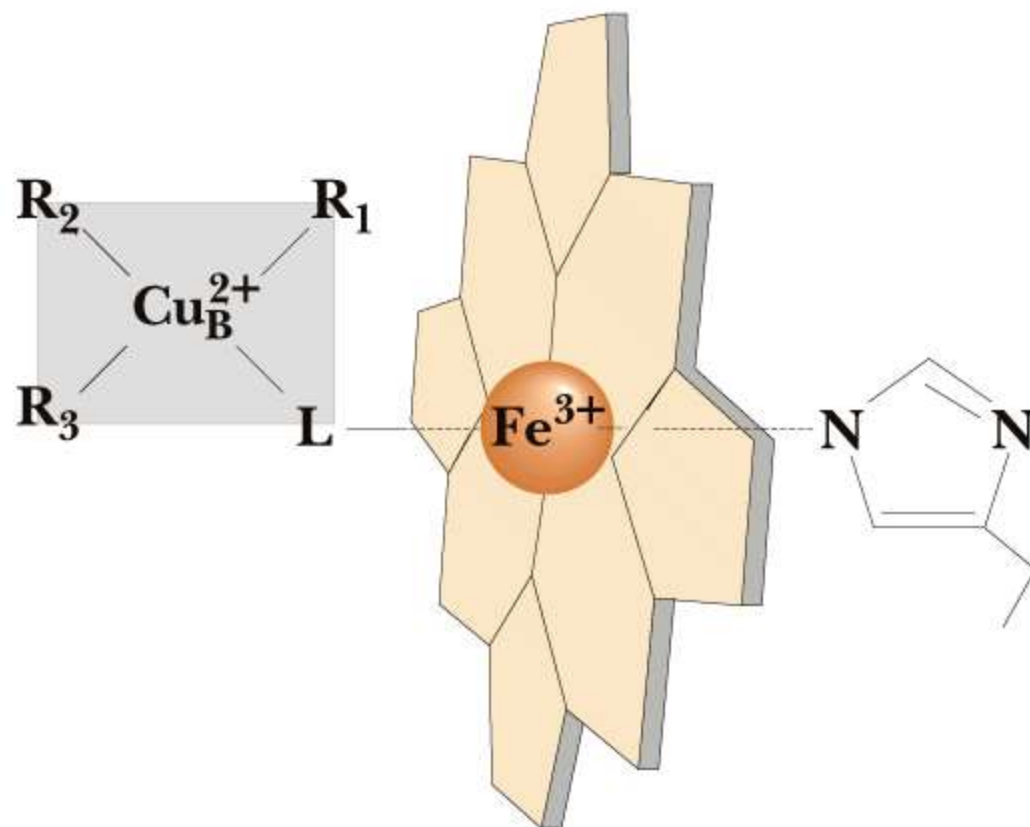
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.18

(a)



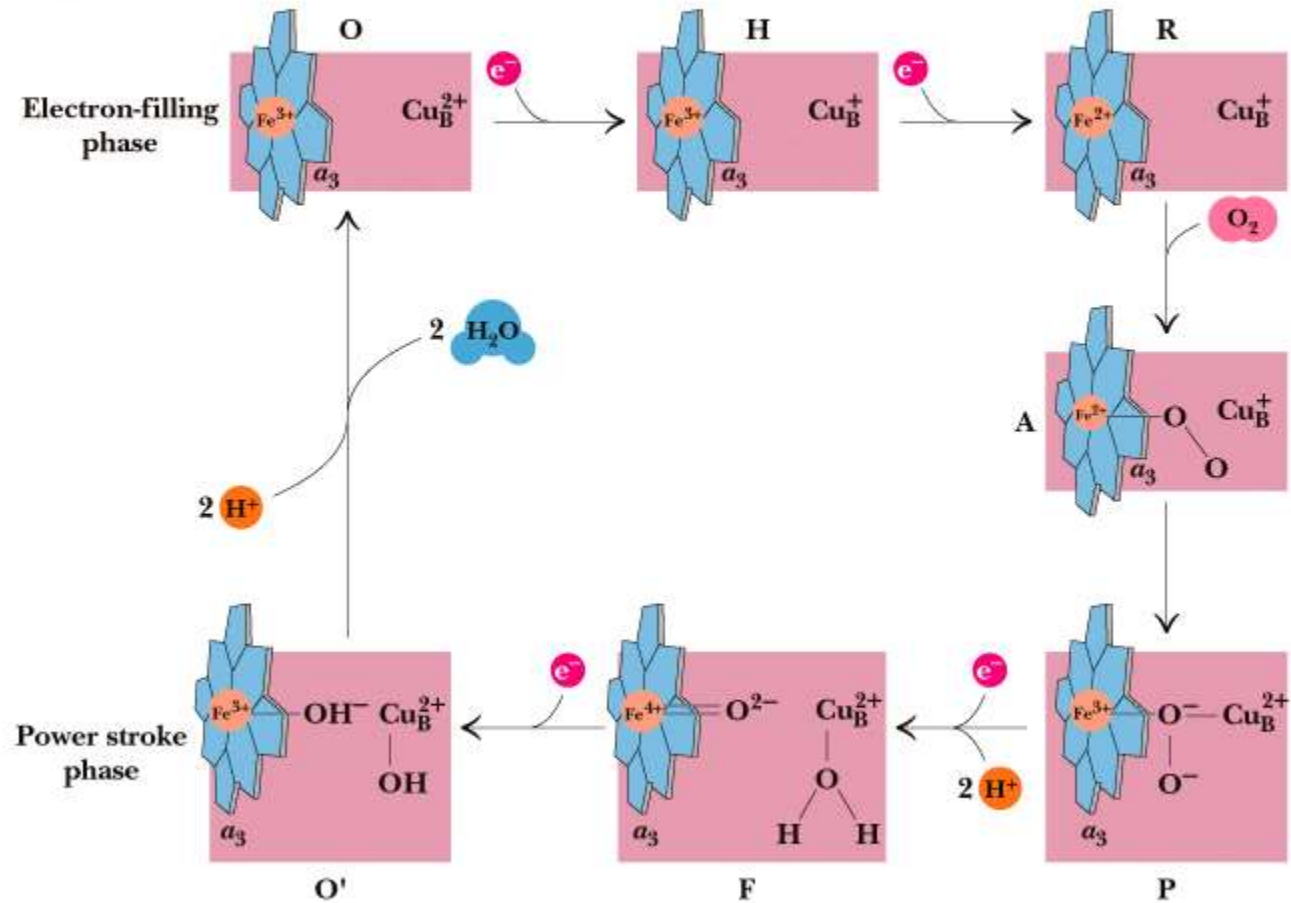
(b)

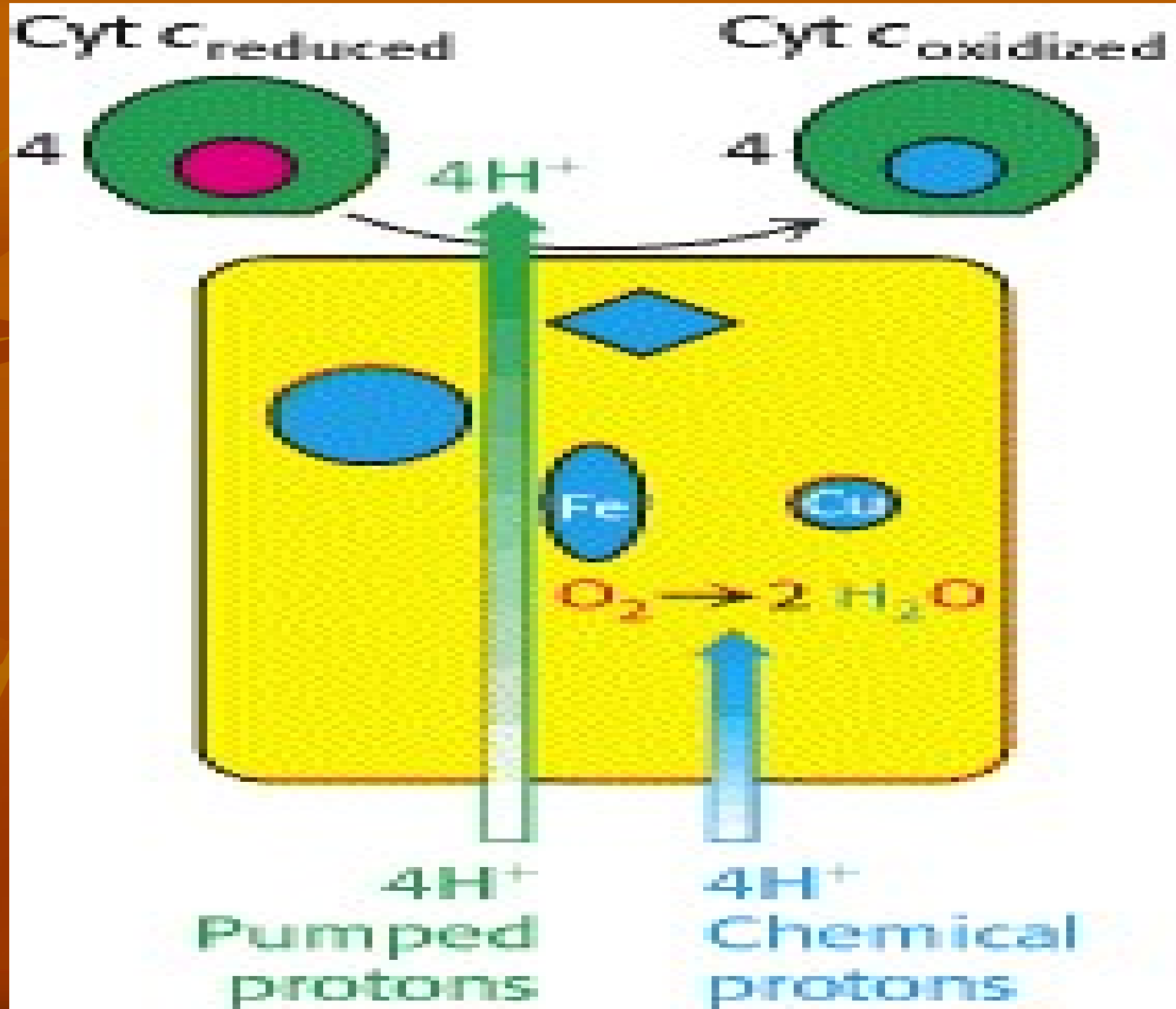




Heme

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.20

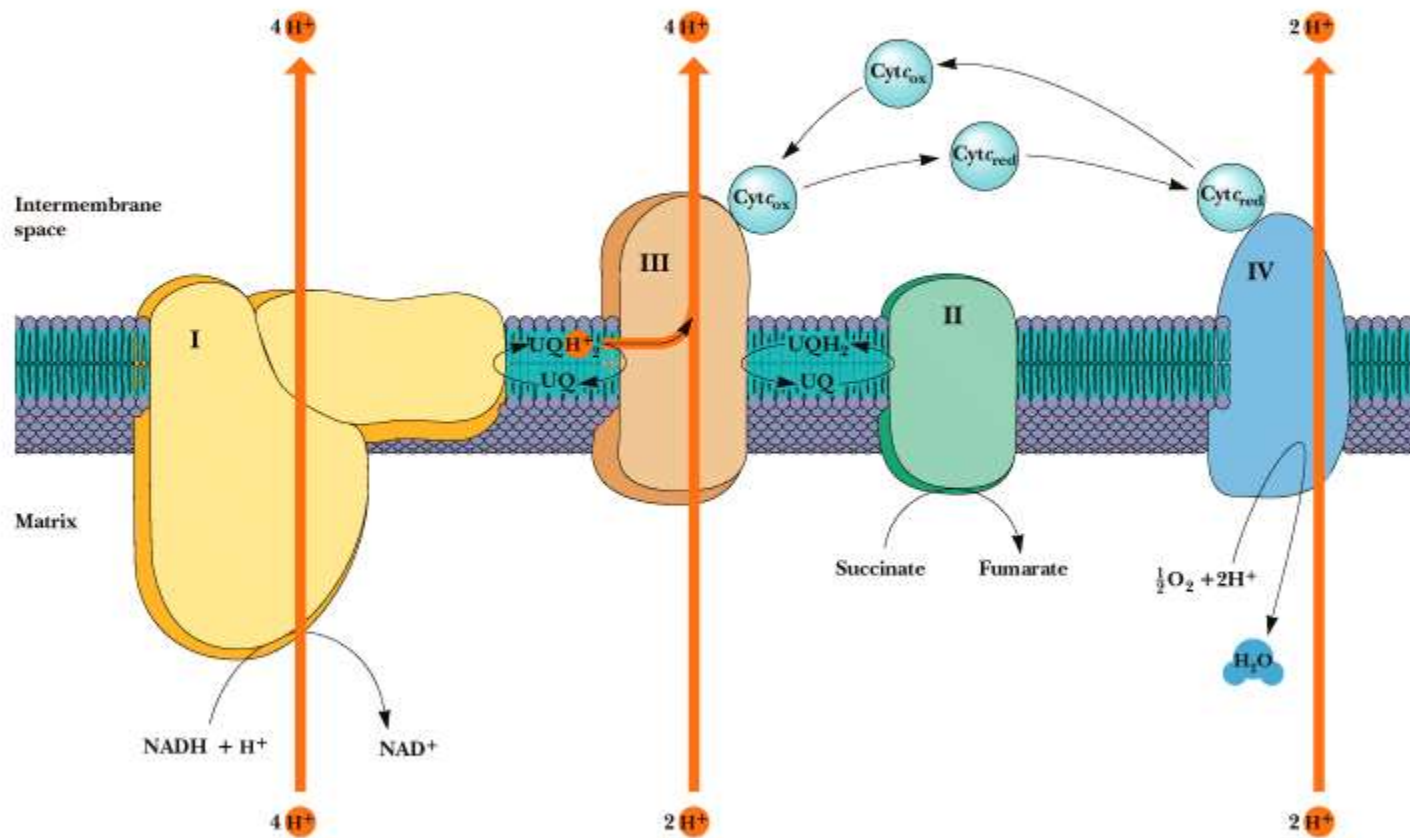




Сопряжение транспорта электронов и окислительного фосфорилирования

- 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 хемиосмотическая гипотеза позволила ему получить Нобелевскую премию.

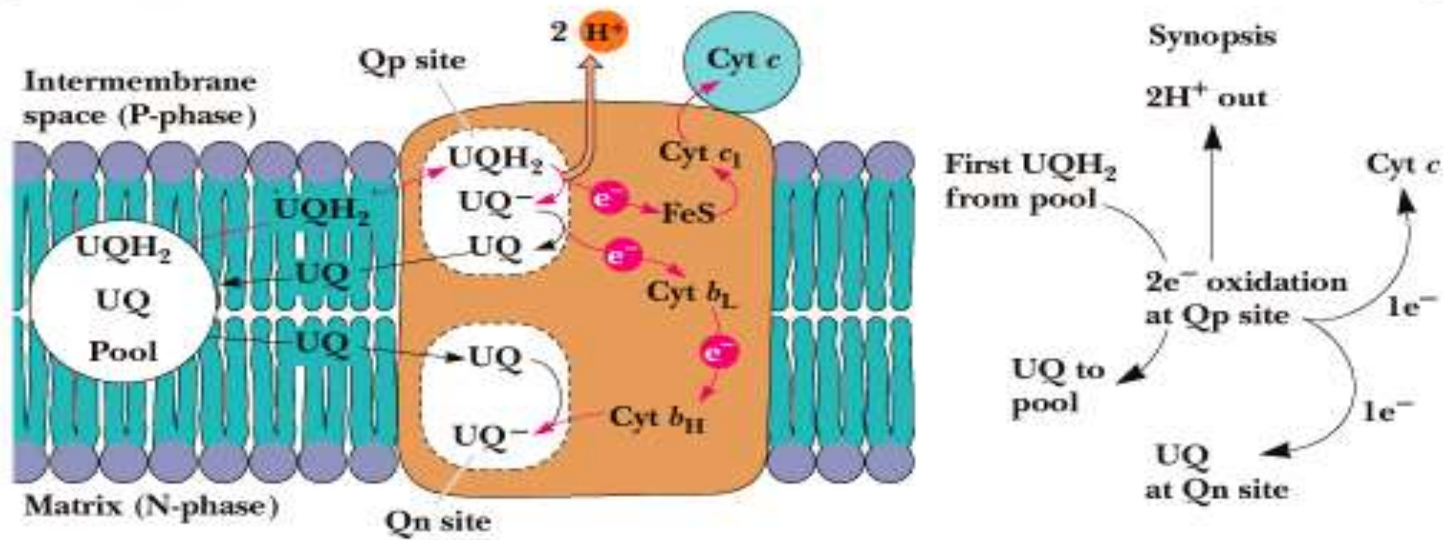
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.21



Q цикл

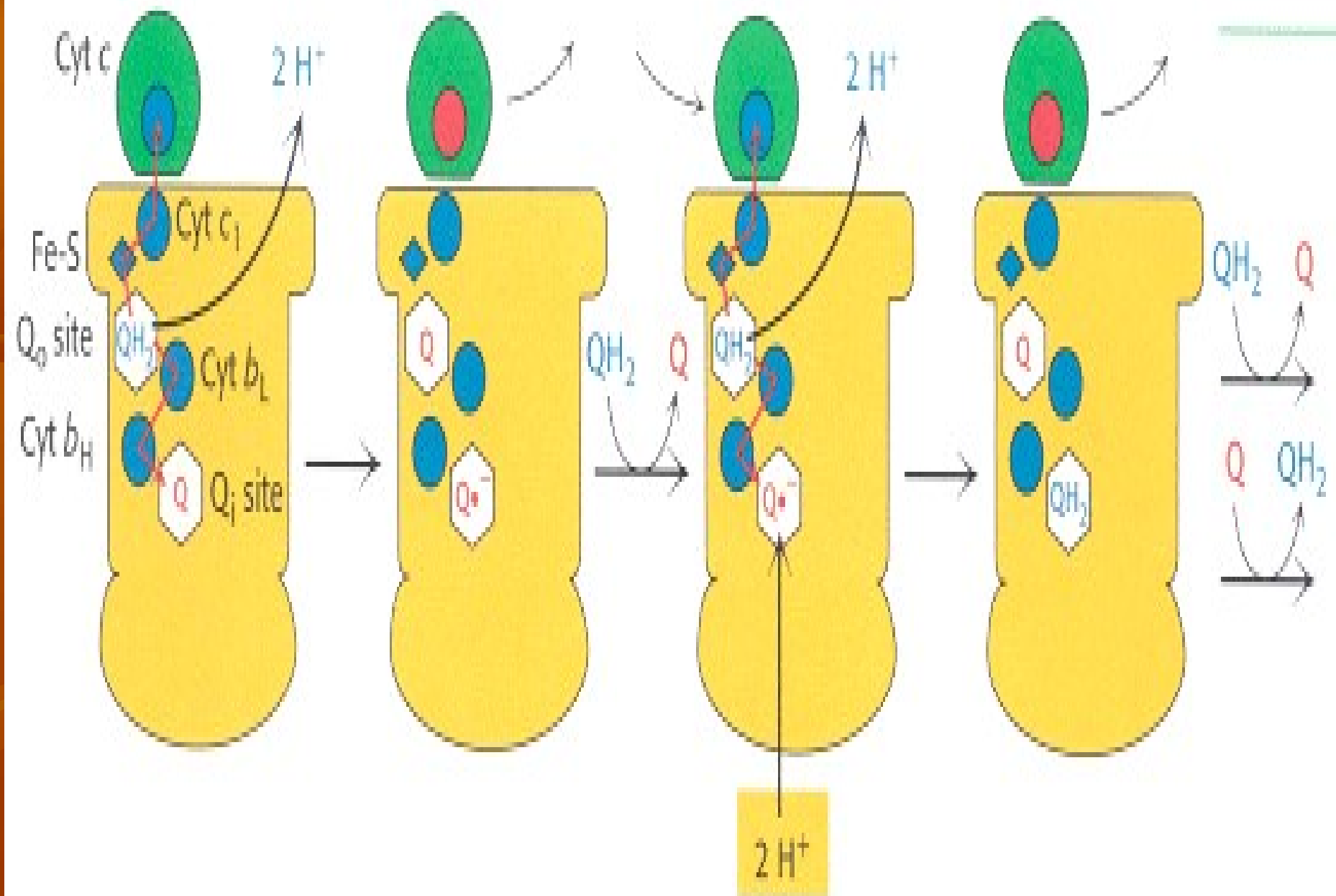
- Происходит передача двух электронов с восстановленной формы коэнзима Q: один на цитохром c, другой на коэнзим Q, образуя полухинон.
- Вновь образованный коэнзим Q диффундирует и замещается новой молекулой QH_2 , которая тоже отдает электроны: один на второй цитохром c, второй на полухинон.
- Транспорт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

(a) First half of Q cycle



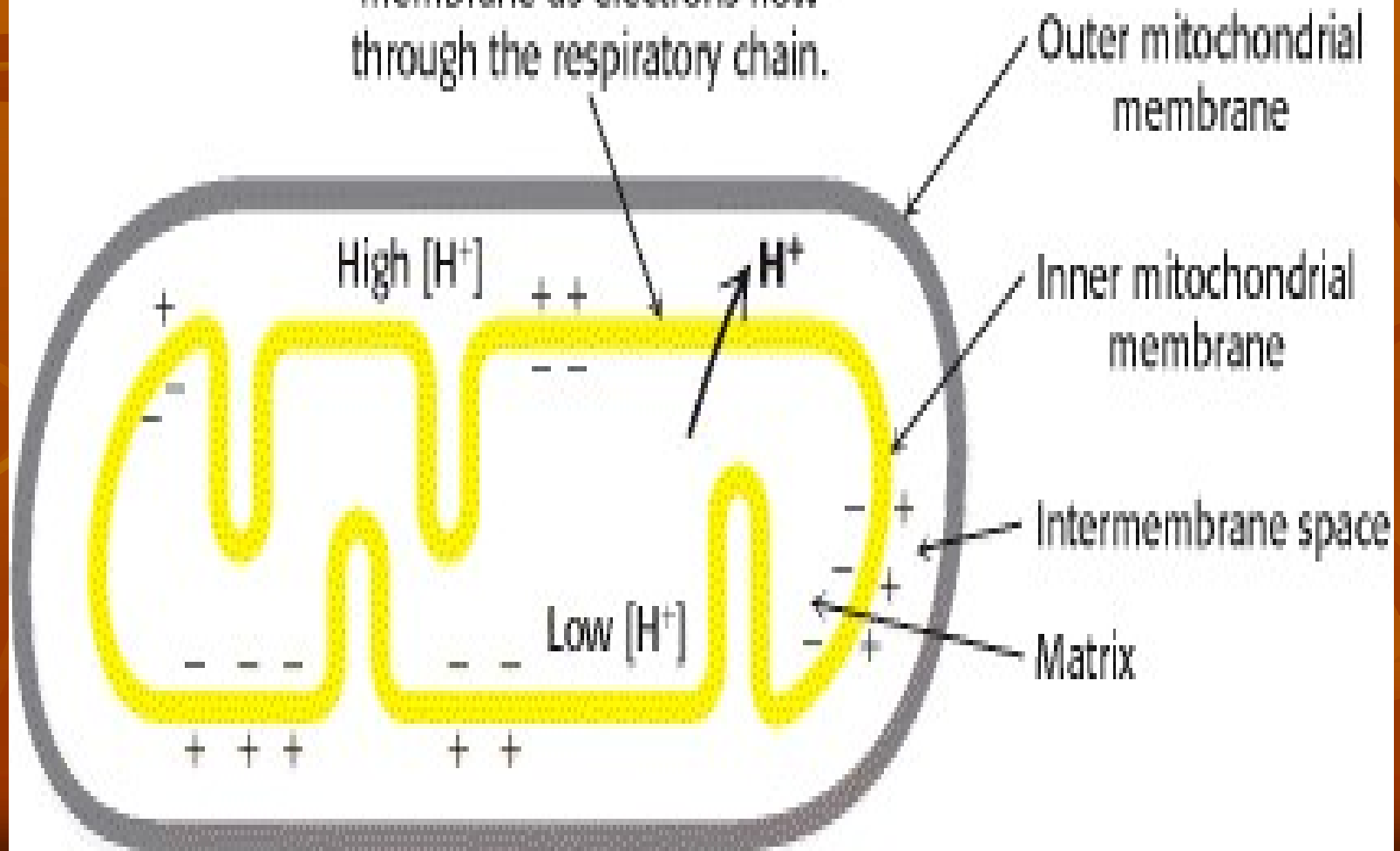
(b) Second half of Q cycle



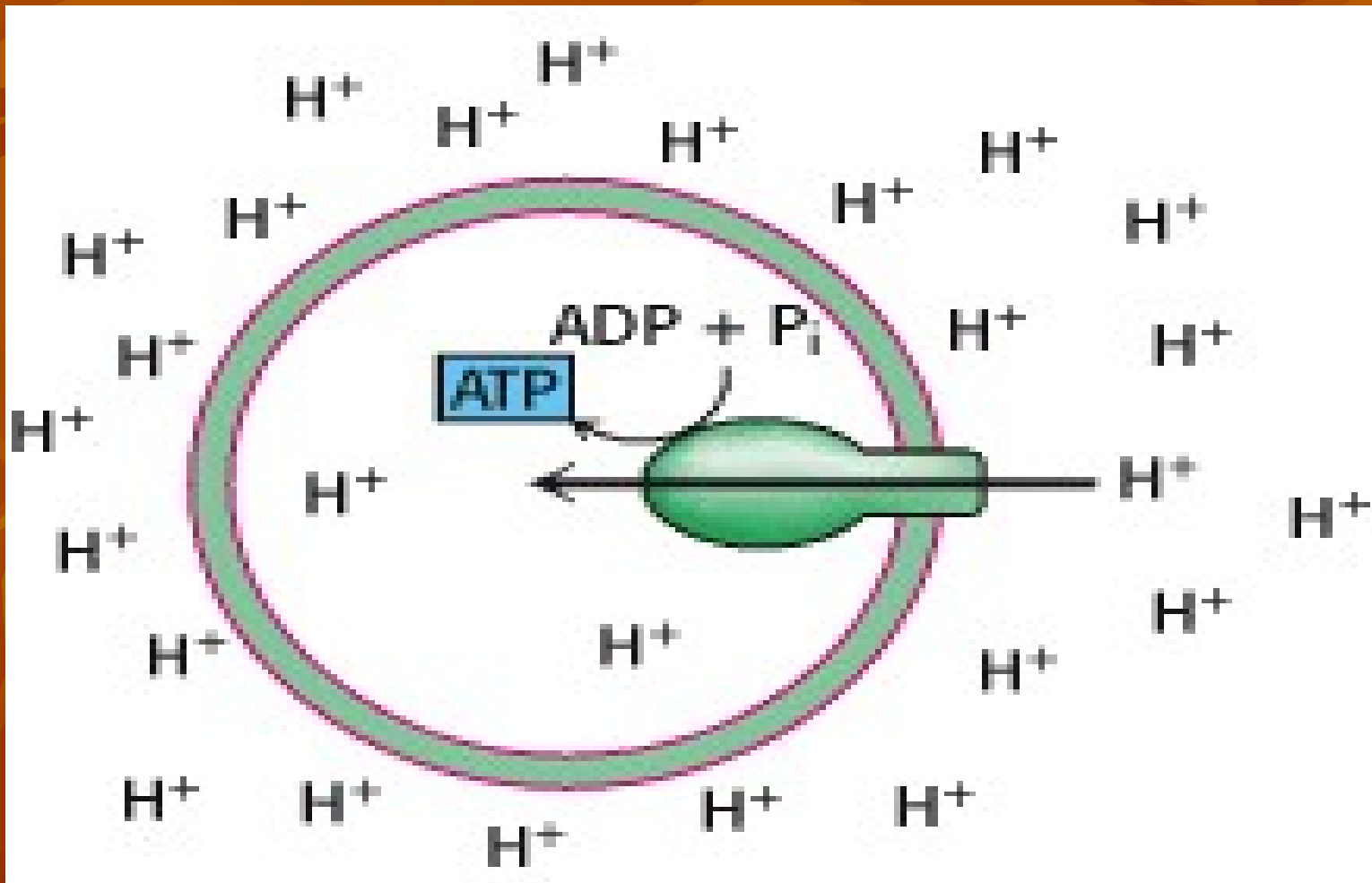


Гипотеза Митчелла

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

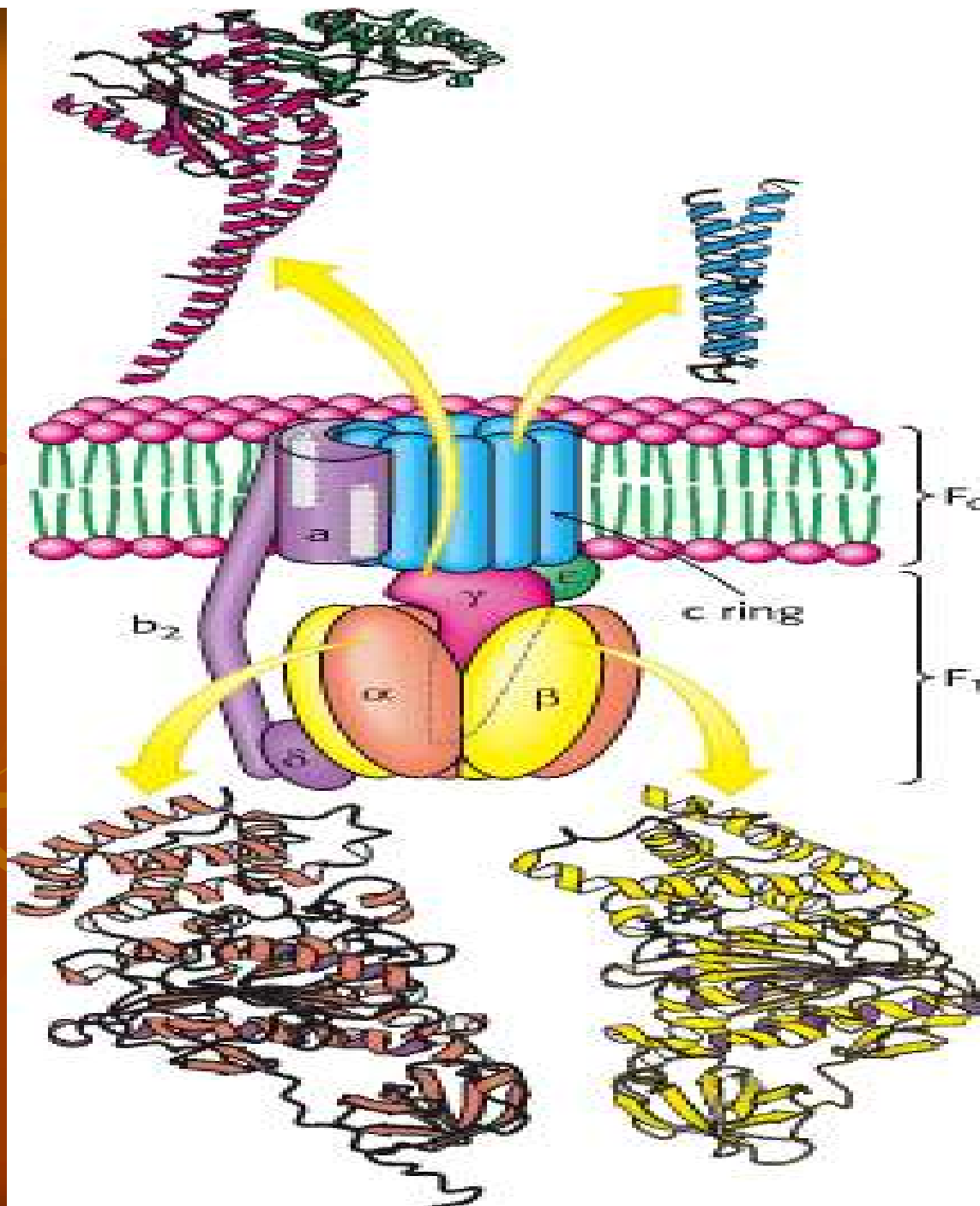


Протонный градиент и АТФ синтаза



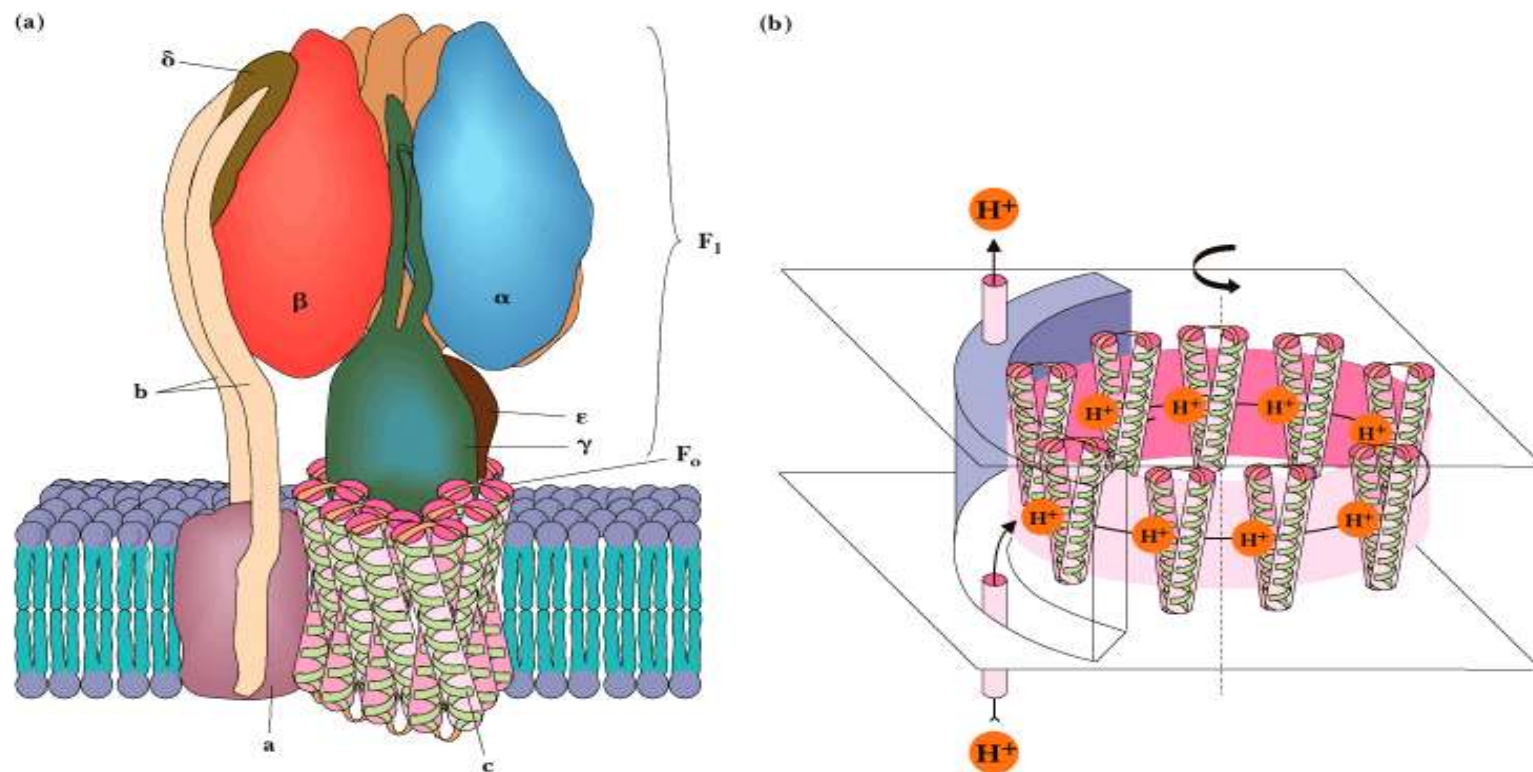
Основные положения теории Митчелла.

- 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.



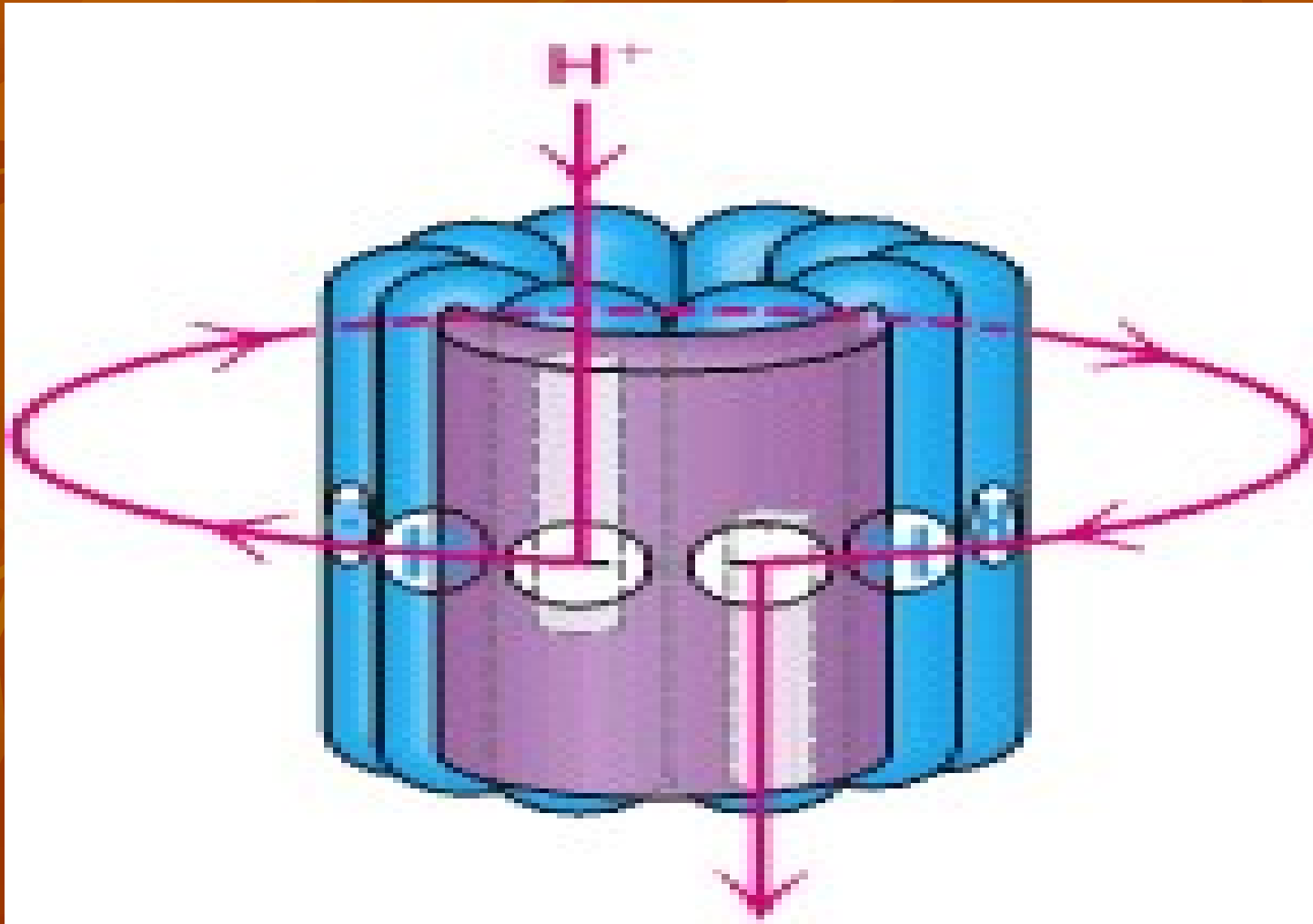
АТФ синтаза

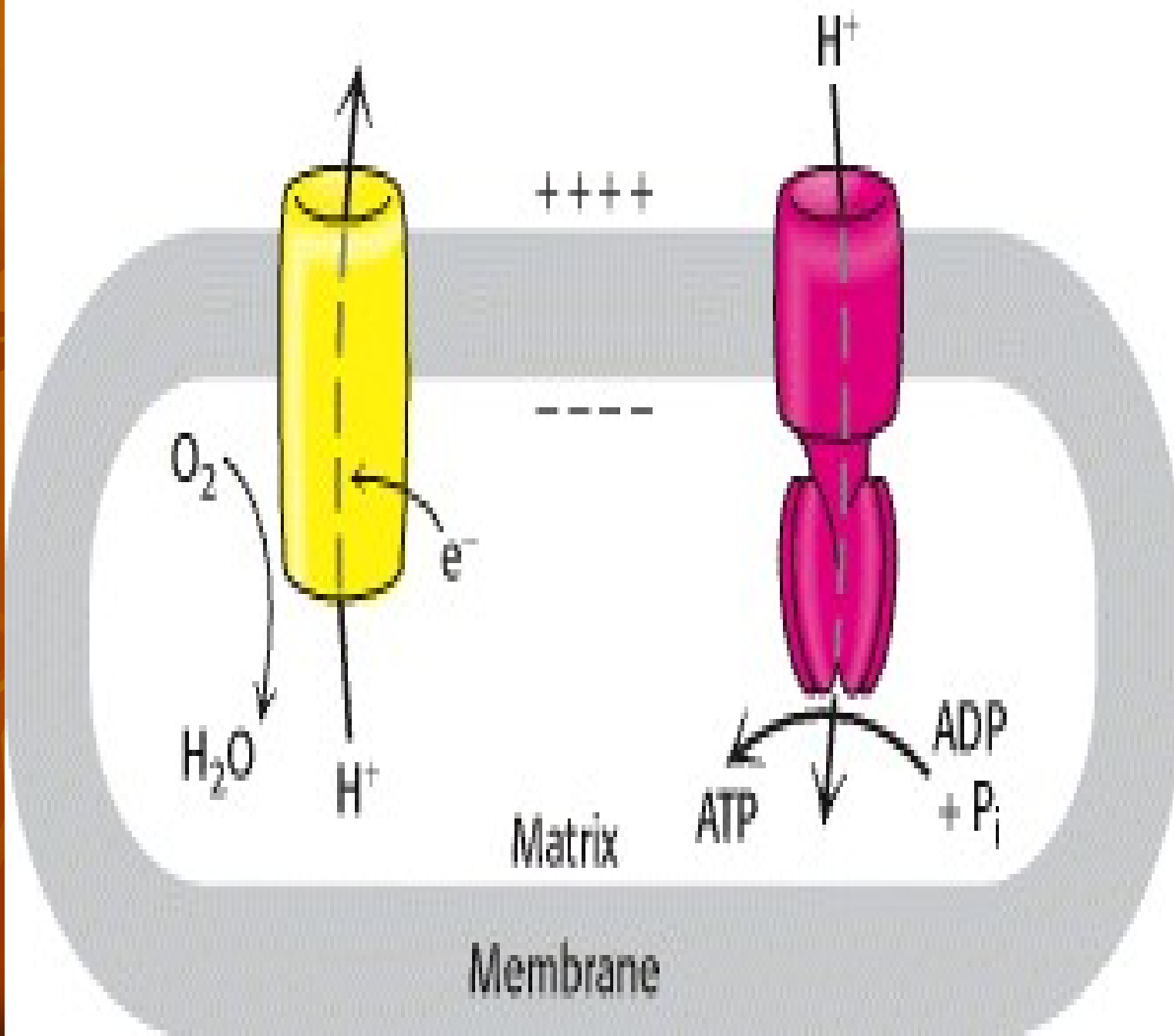
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.25



Saunders College Publishing

Конформационные изменения АТФ синтазы

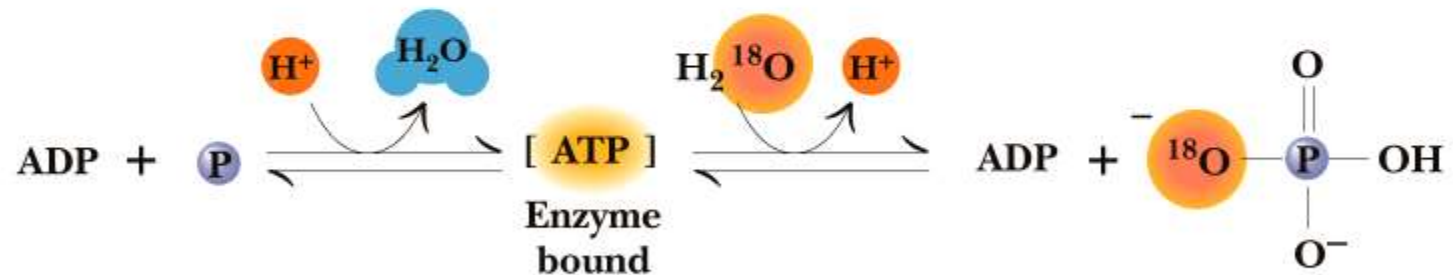




In the presence of a proton gradient:



In the absence of a proton gradient:



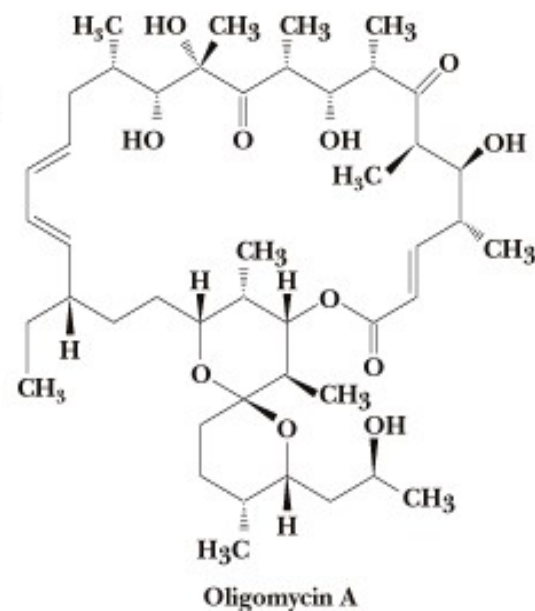
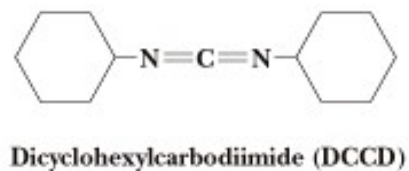
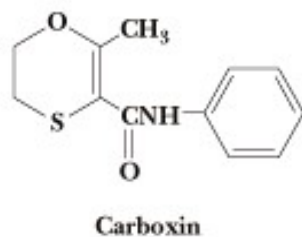
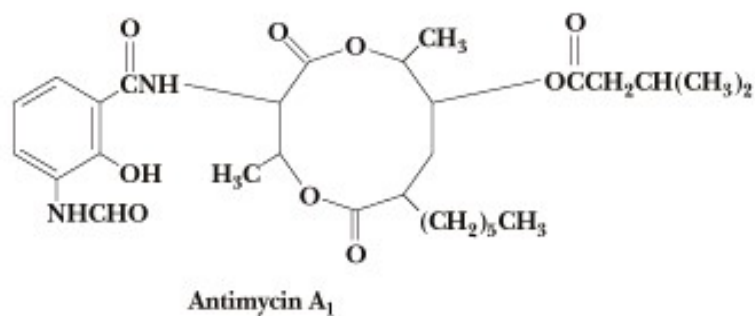
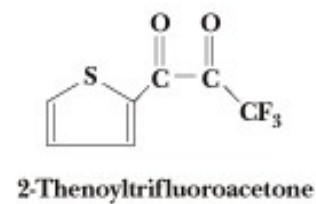
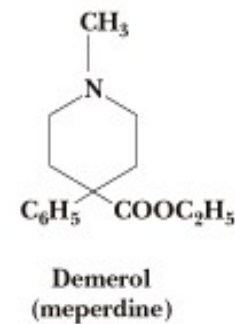
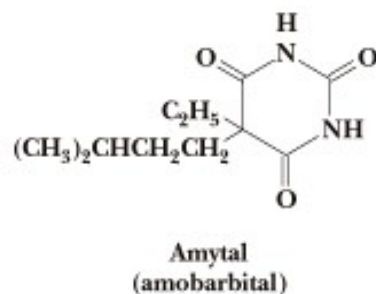
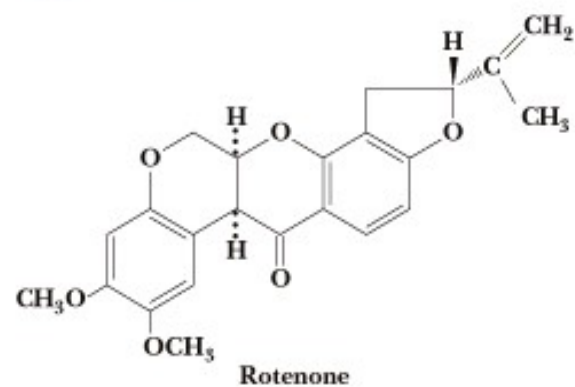
Резюме

- 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

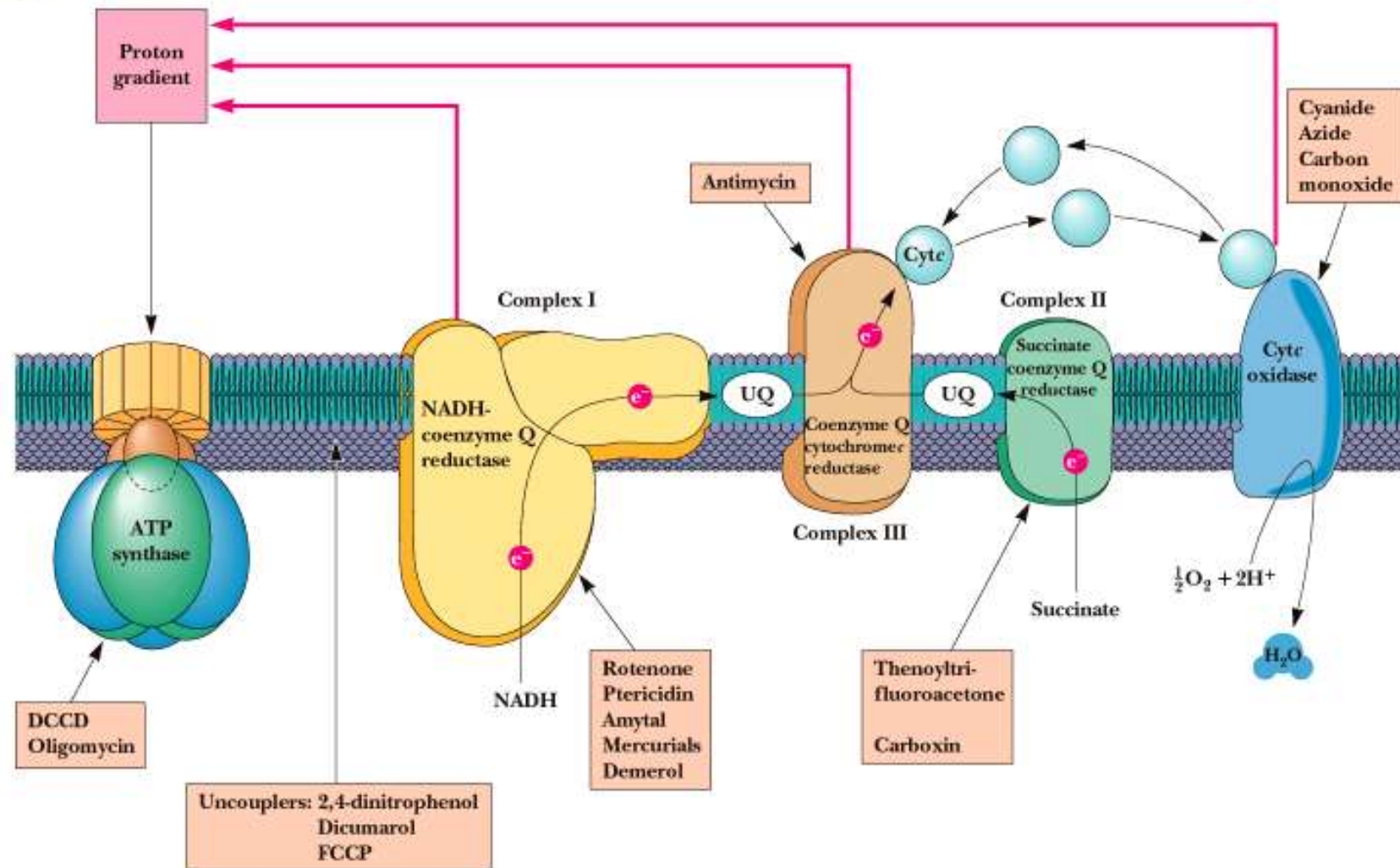
Ингибиторы окислительного фосфорилирования

- Ротенон (рыбий яд) ингибирует комплекс I;
- Цианиды, азиды и угарный газ ингибируют комплекс IV, взаимодействуя с ферри формой цитохрома a_3 ;
- олигомицин и дициклогексокарбодиимид ингибируют АТФ синтазу.

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.29



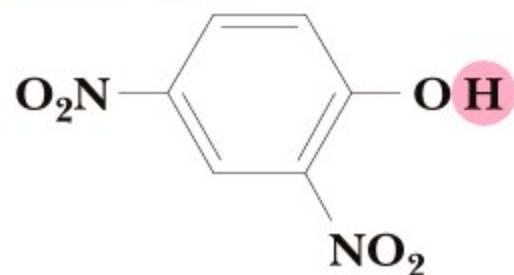
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.30



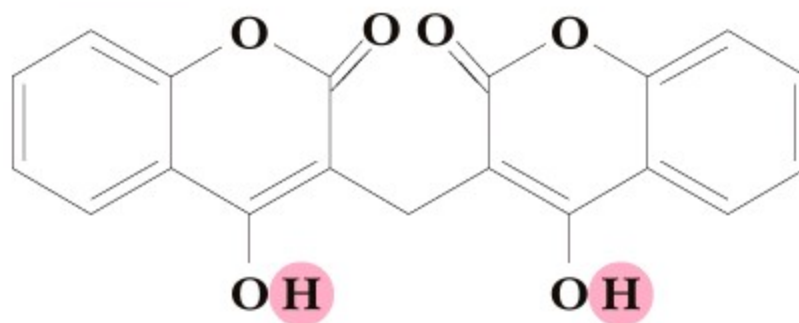
Разобшители

- 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.

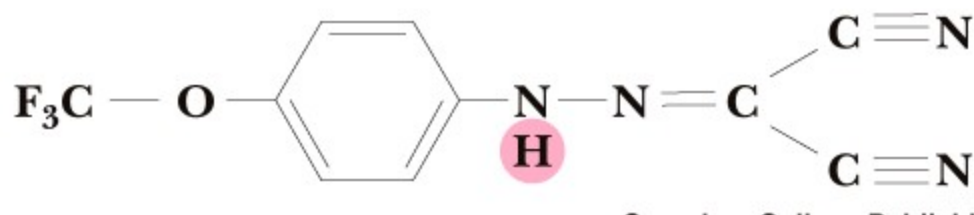
Dinitrophenol

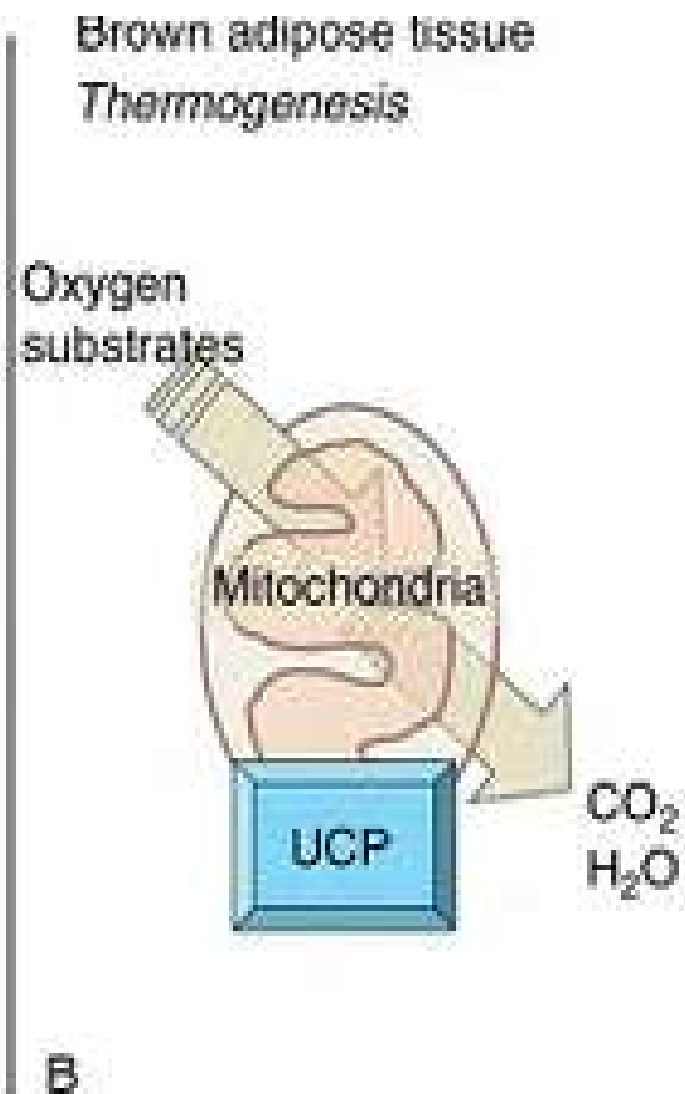
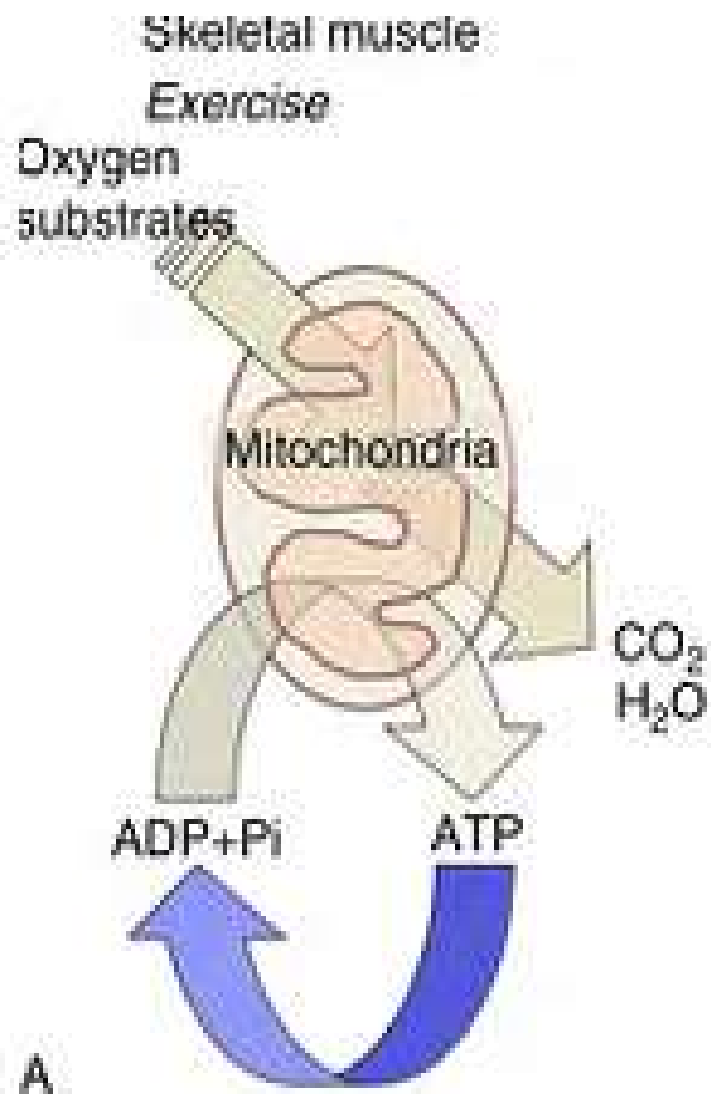


Dicumarol



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





Разобшчители окисления и фосфорилирования

К разобшчителям в первую очередь относят "протонофоры" – вещества переносящие ионы водорода. При этом одновременно уменьшаются оба компонента электрохимического градиента – электрический и химический, и энергия градиента рассеивается в виде тепла.

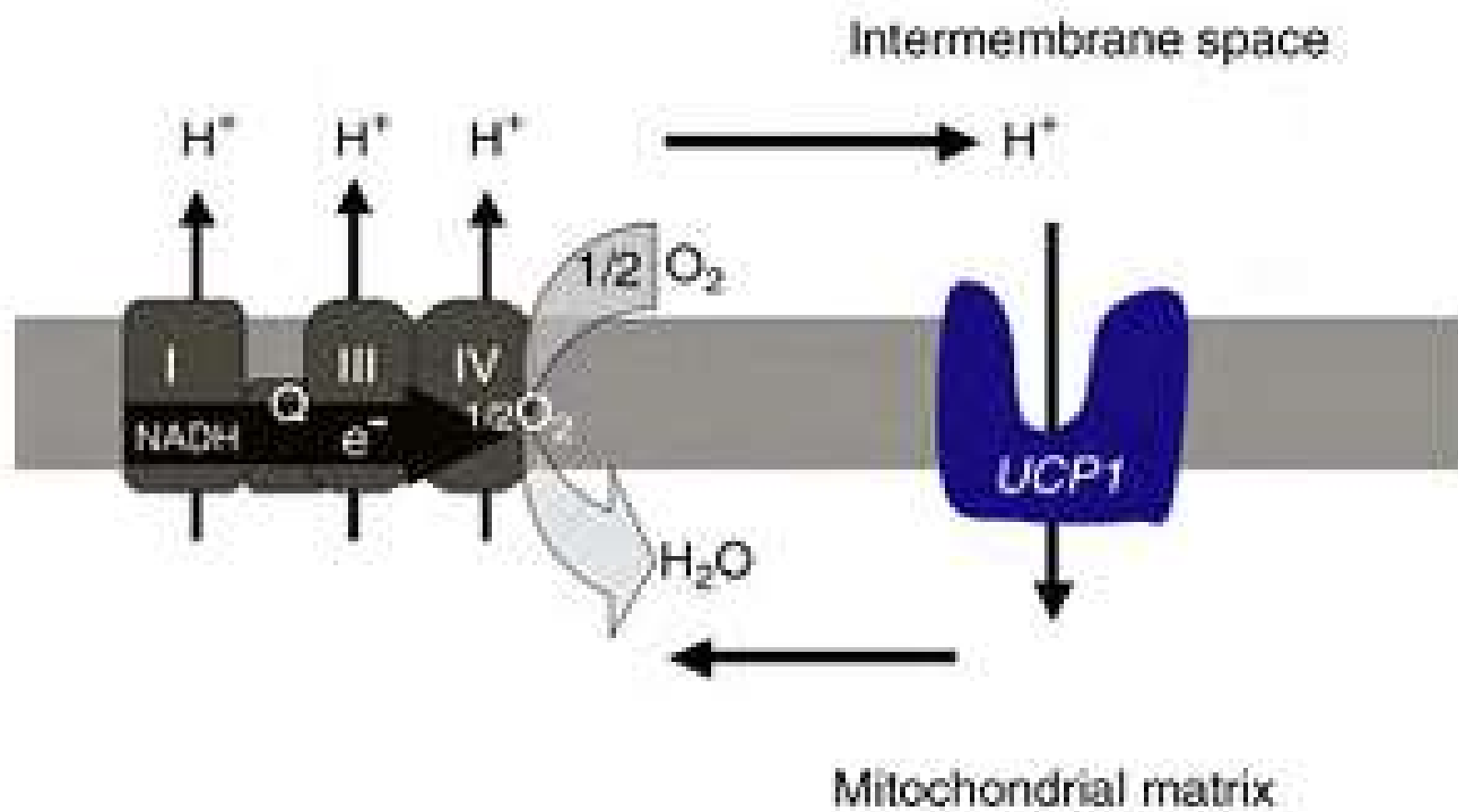
Следствием эффекта протонофоров является возрастание катаболизма жиров и углеводов в клетке и во всем организме.

Классическим протонофором является **динитрофенол**, жирорастворимое соединение, присоединяющие ионы водорода на внешней поверхности внутренней митохондриальной мембраны и отдающие их на внутренней поверхности.

Белок **термогенин** является физиологическим протонофором.

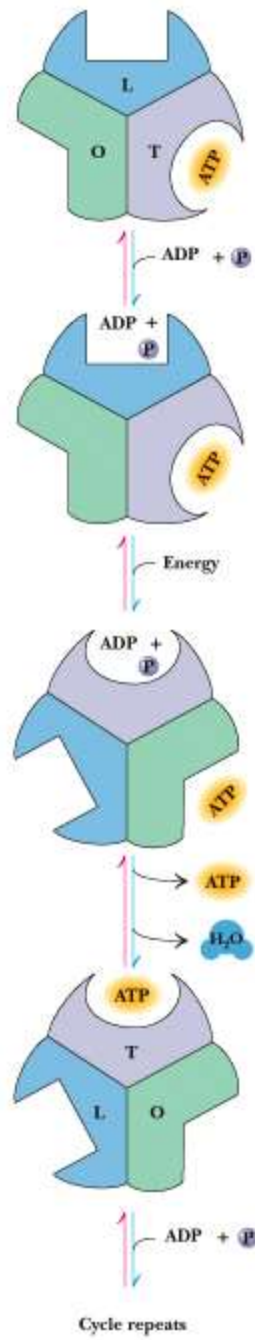
Кроме динитрофенола и термогенина протонофорами, к примеру, являются **салицилаты, жирные кислоты и трийодтиронин**.

FIGURE 2 Comparison of skeletal muscle and brown adipose tissue mitochondria. (A) Mitochondria are cellular organelles converting the redox energy liberated during oxidation of organic substrates into ATP, a molecule containing energy under a form readily usable by most enzymes working to maintain cell structure and integrity or to perform work such as mechanical work in muscle. The cellular need for ATP controls oxidation rate by mitochondria. (B) In brown adipocyte, a specific uncoupling protein referred to as UCP (precisely UCP1) is present in a large amount in the inner membrane. UCP1 is able to fool mitochondria which accelerates their oxidation rate whereas no ATP is produced. UCP1 removes the control of energy expenditure by ATP demand and therefore oxidation rate and energy expenditure increase under the form of heat. This process is used in newborns, arousal from hibernation, and small mammals exposed to cold when muscle thermogenesis would not be sufficient.

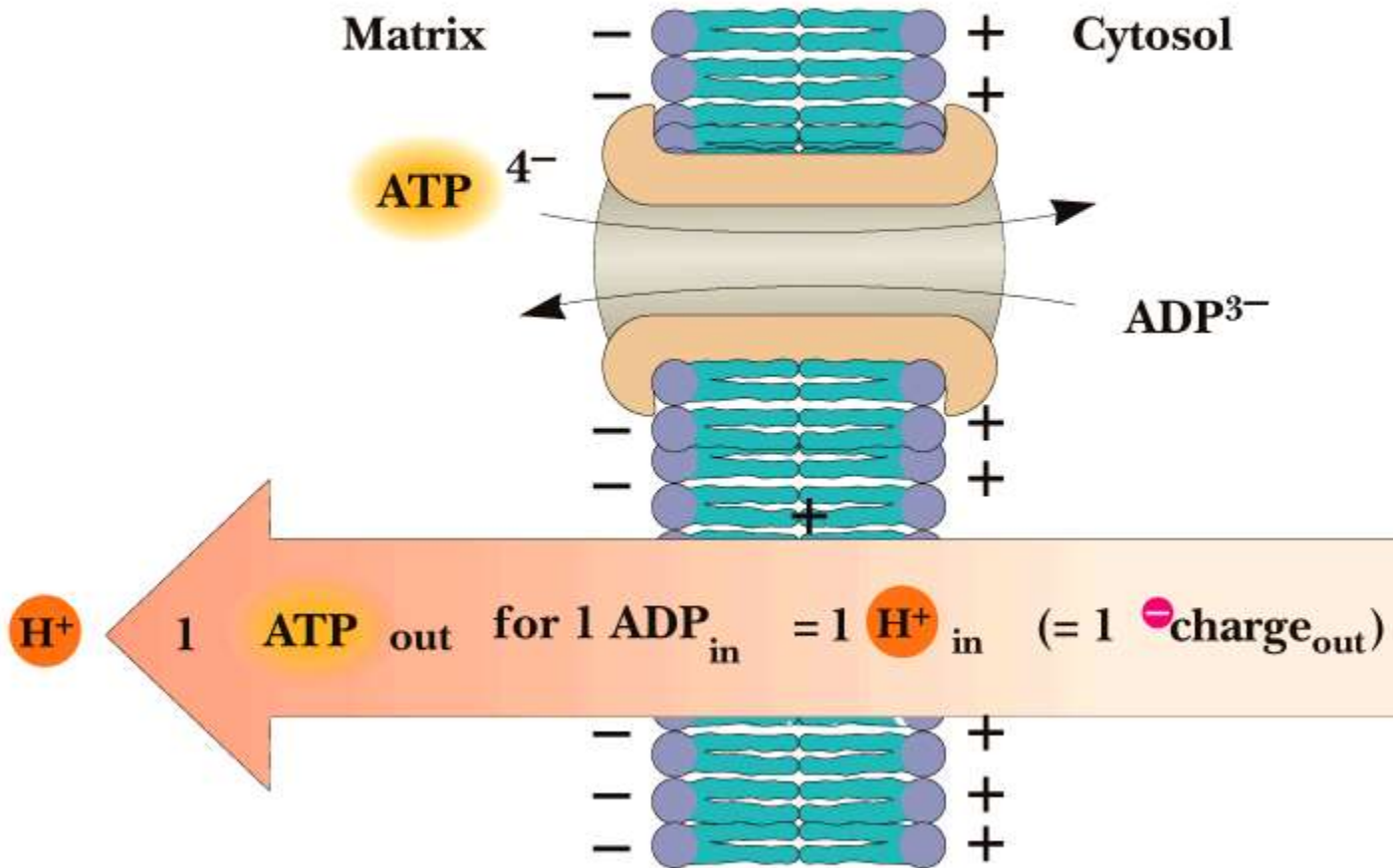


АТФ-АДФ транслоказа

- 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



Saunders College Publishing

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 возрасти 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.

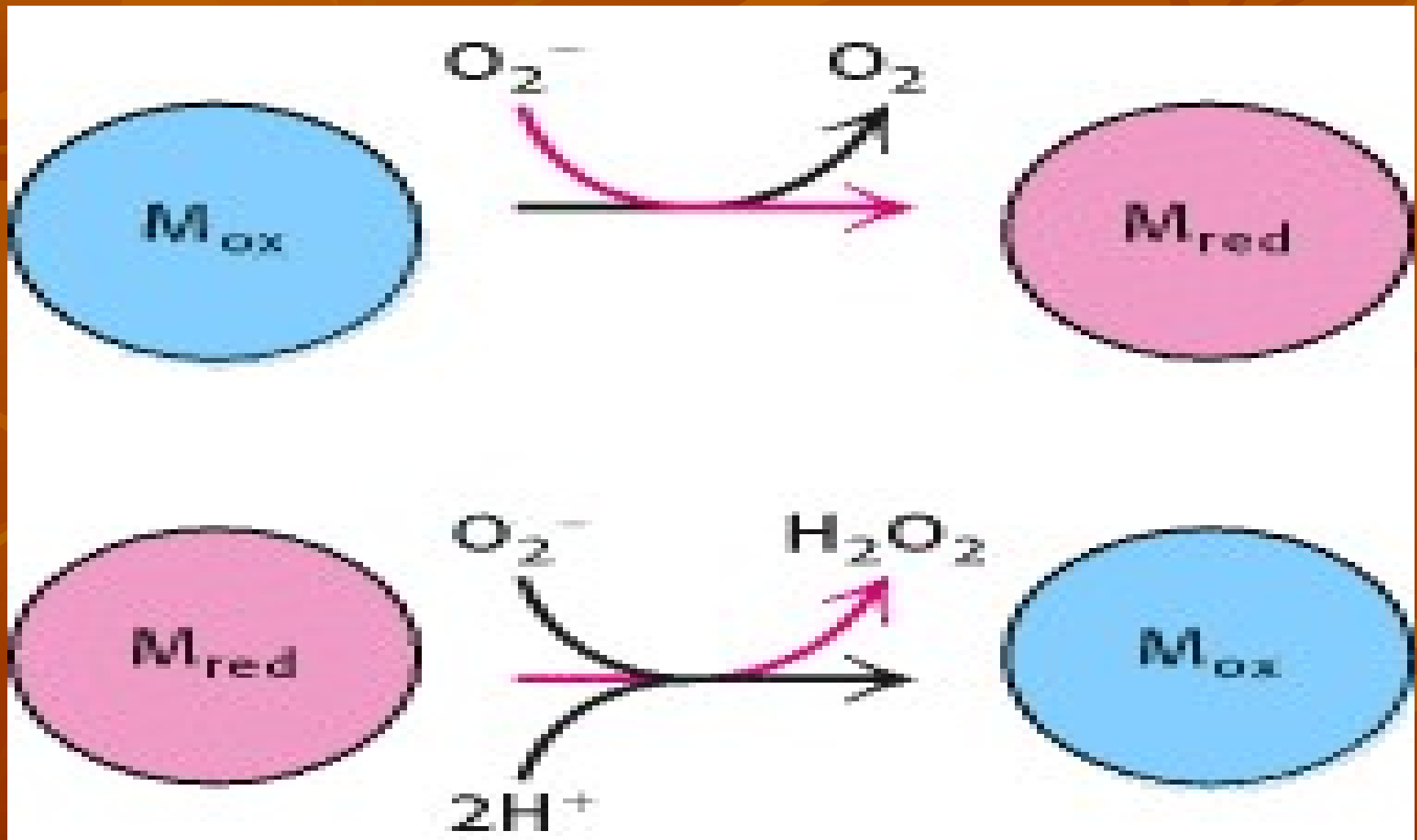
Супероксид ион

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

- Детоксикация O_2^- :



Механизм действия супероксиддисмутазы

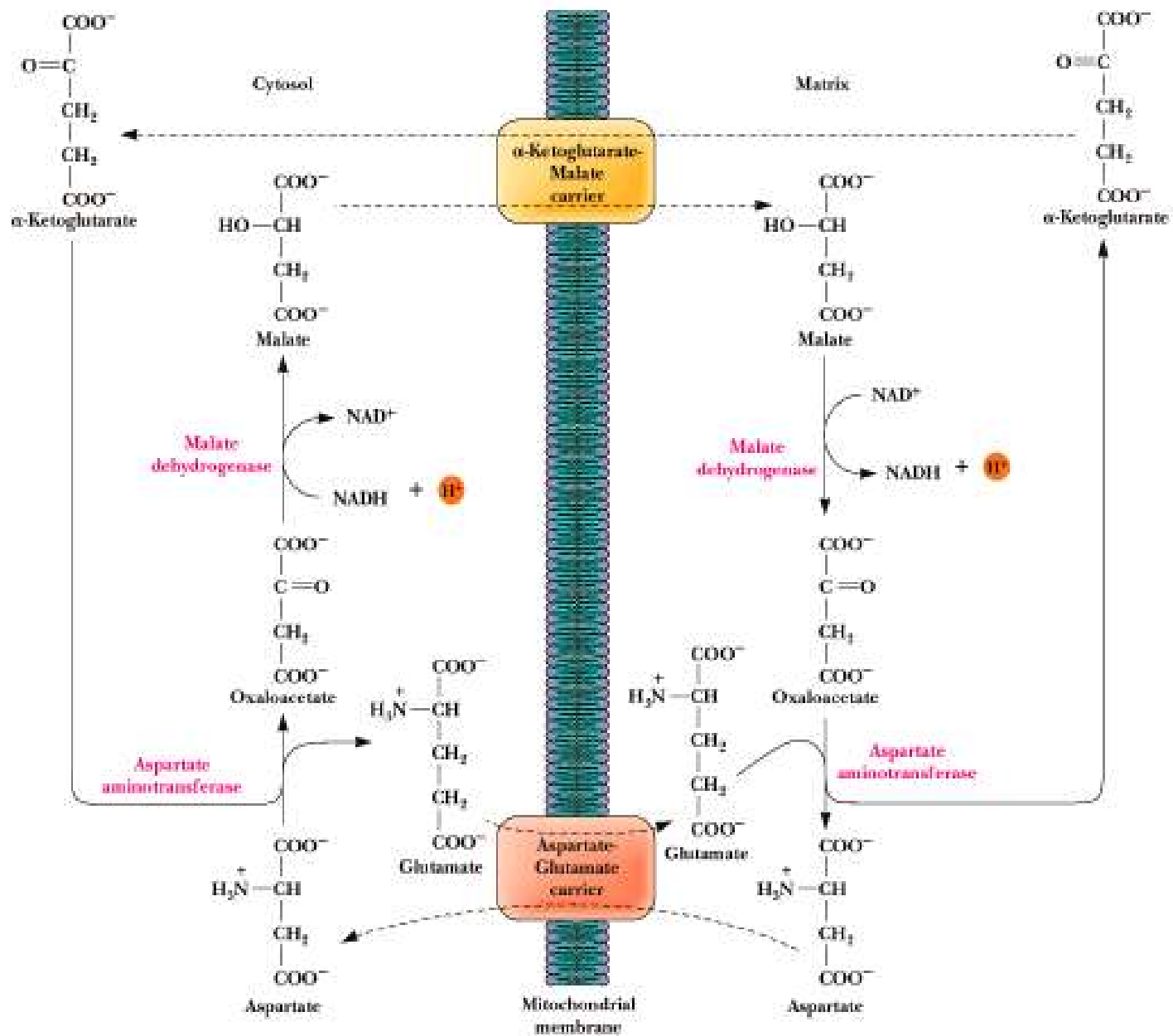


Пероксид водорода

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

