

Биоэнергетика

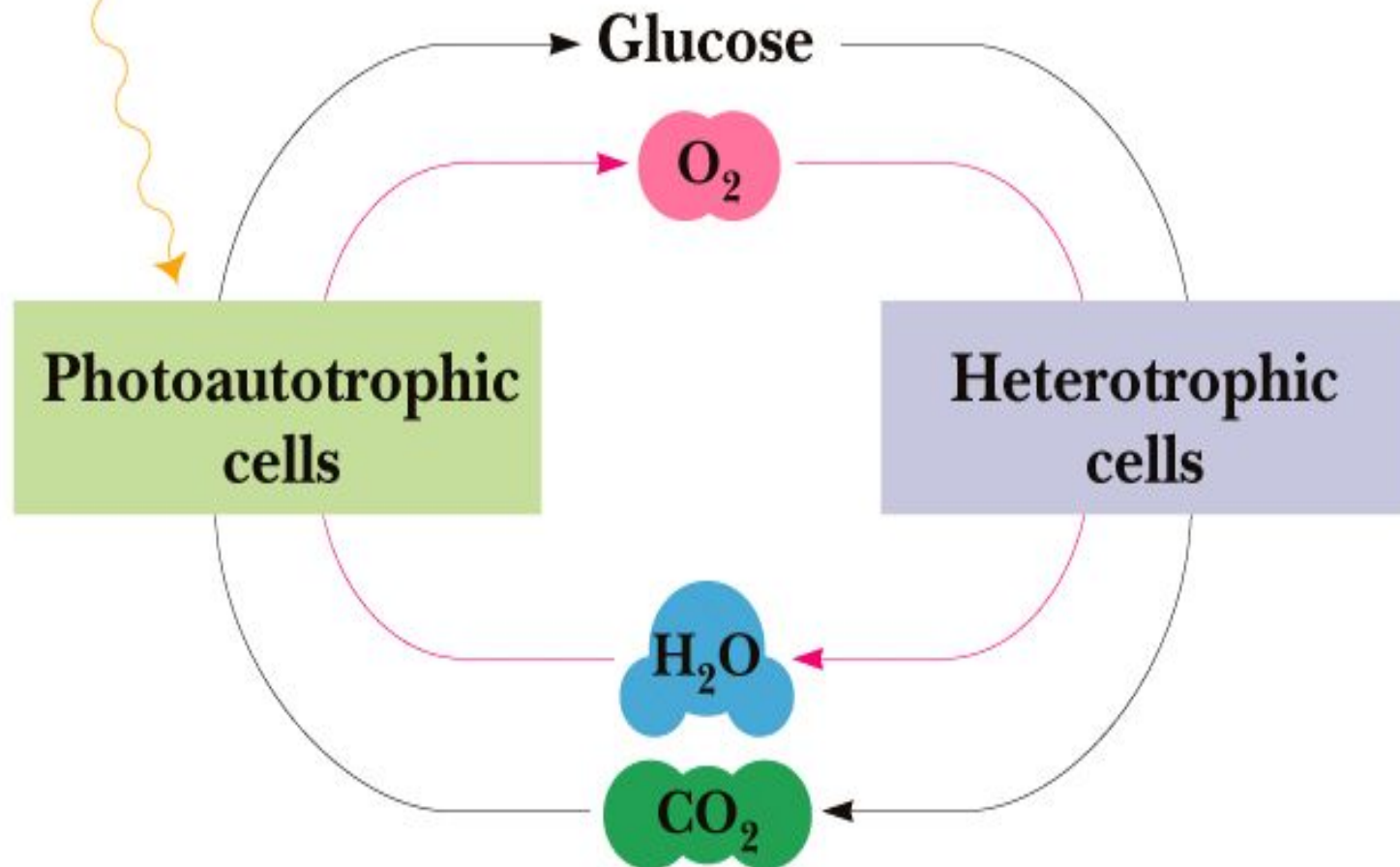
Доцент Гончарова Л.В.

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

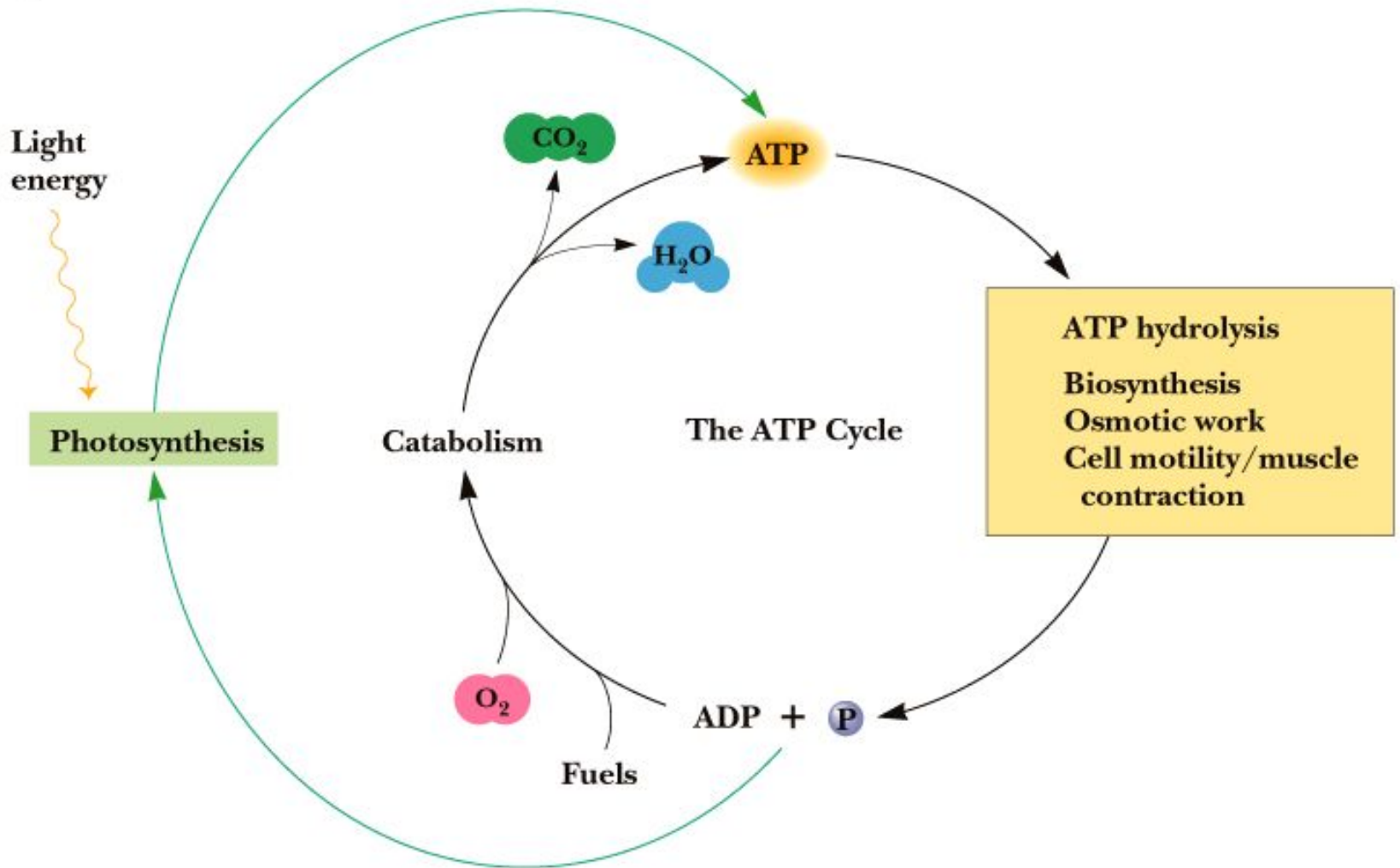
Solar
energy



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



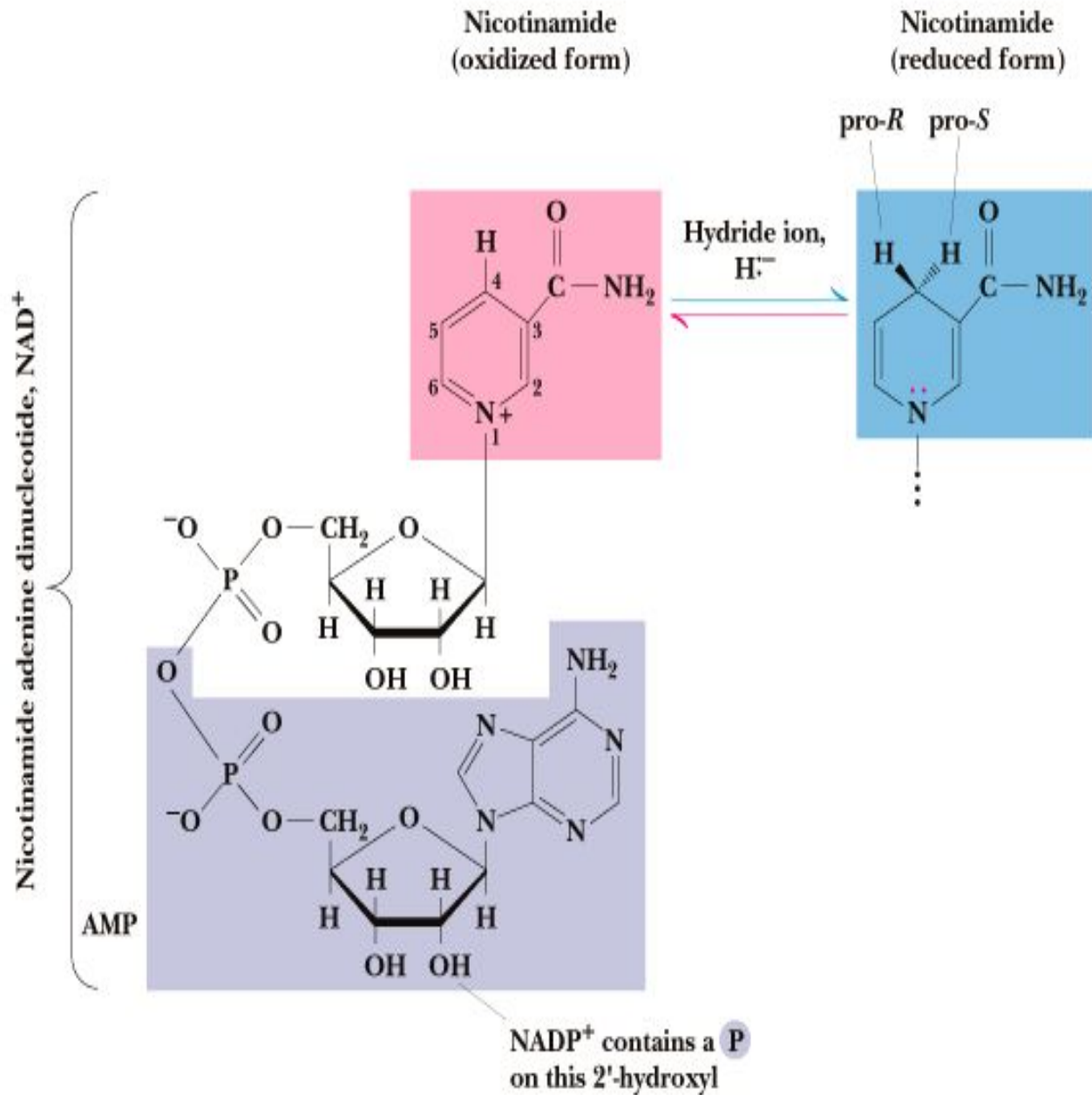
Роль окислительно-восстановительных процессов в метаболизме

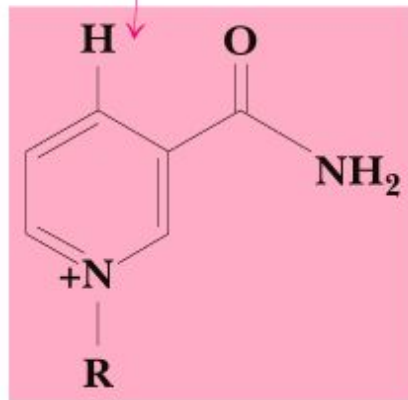
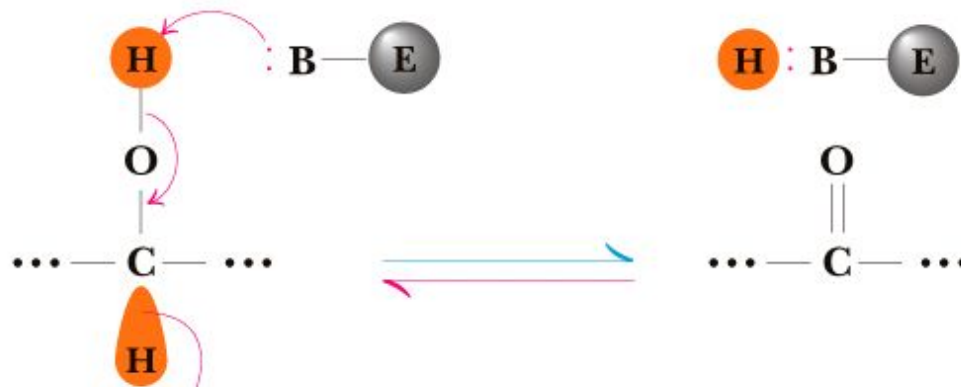
- Основной путь получения энергии гетеротрофами - окисление органических веществ путем дегидрирования.
- НАД^+ собирает электроны, освобождающиеся в процессе катаболизма
- в реакциях восстановительного синтеза используются $\text{НАДФН} + \text{H}^+$.

Коферменты никотиновой кислоты и никотинамида

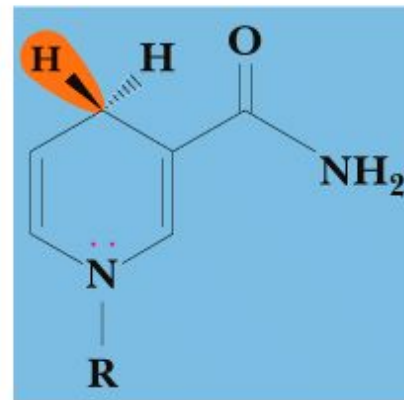
- Существуют два кофермента никотиновой кислоты и никотинамида: НАД⁺ и НАДФ⁺;
- НАД⁺ и НАДФ⁺ - двухэлектронные переносчики;
- Они переносят гидрид ионы к и от субстратов.

Figure 18.19



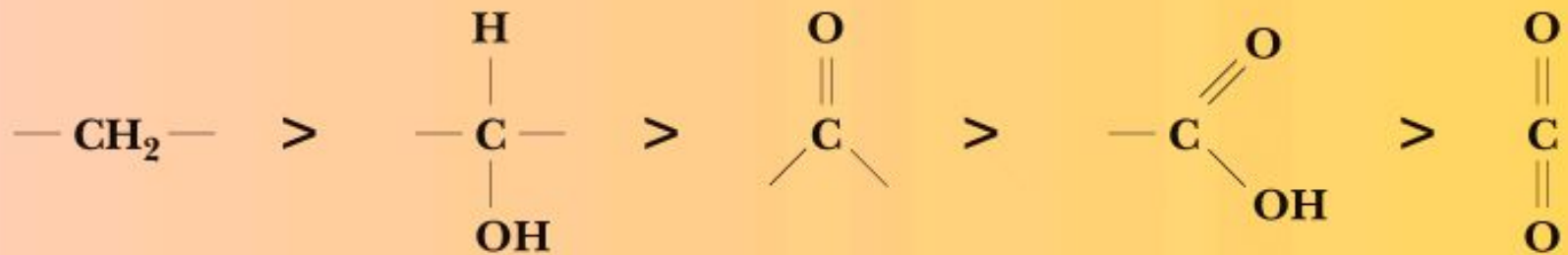


**Oxidized coenzyme
(NAD⁺ or NADP⁺)**



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

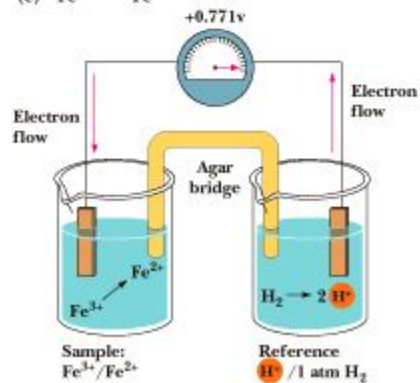
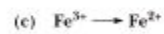
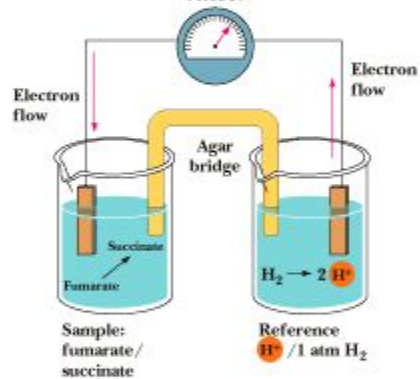
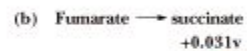
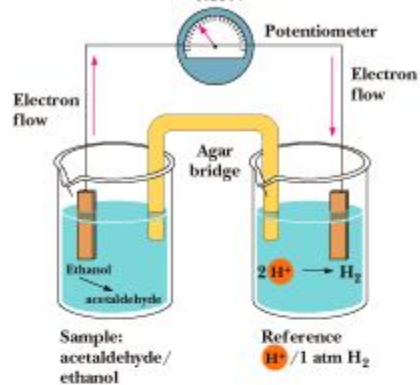
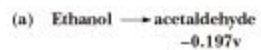
- Окисление – процесс потери электронов.
- Восстановление – процесс присоединения электронов.
- В уравнении A является акцептором электронов, B – донор электронов.

Окислительно- восстановительный потенциал.

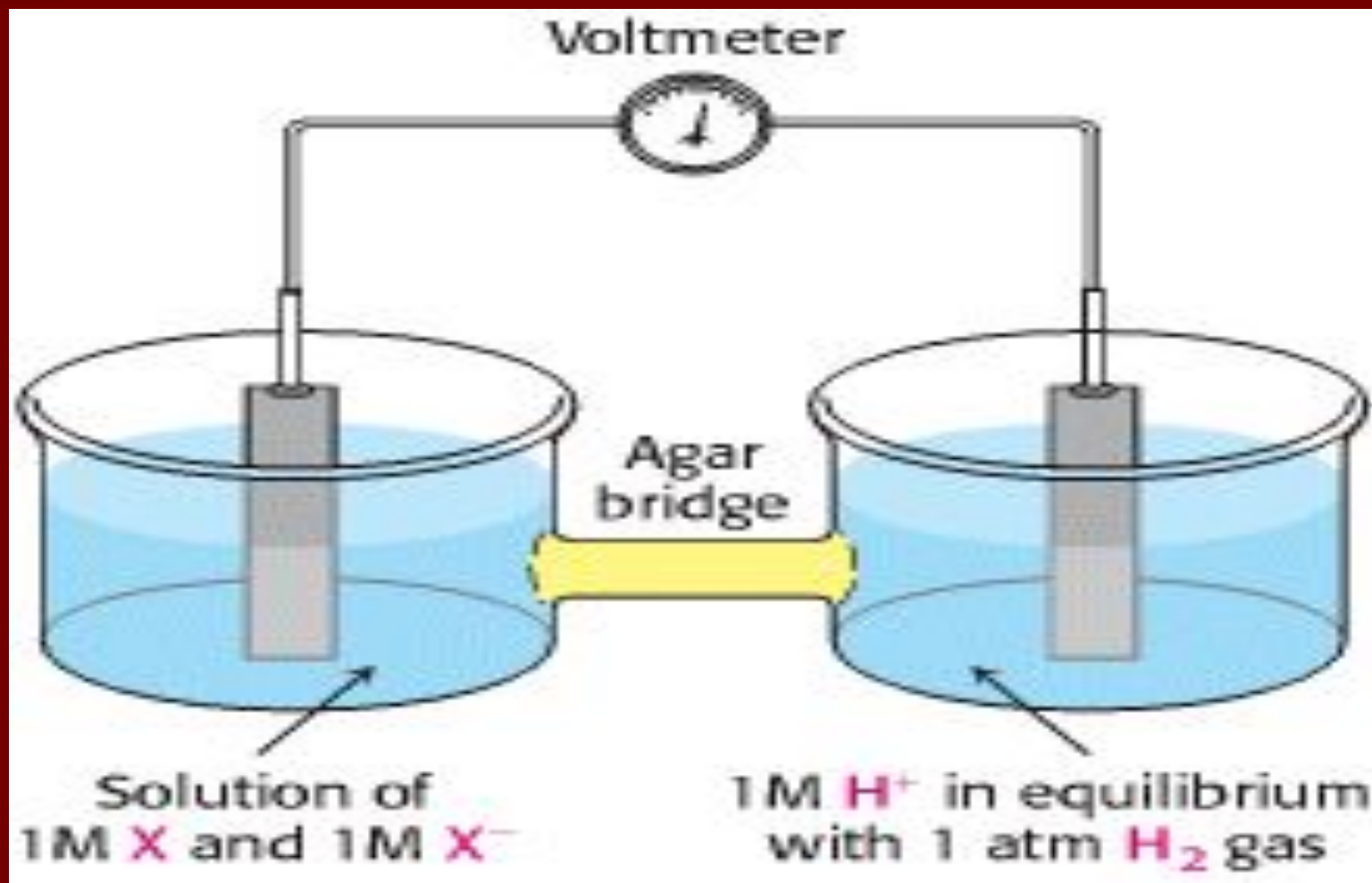
Стандартный окислительно-восстановительный потенциал (редокс потенциал) для полуреакций – электрический потенциал ($E^{0'}$) в вольтах, измеряемый в течение реакций в стандартных условиях. Для сравнения используется водородный электрод.

Стандартные условия:

- рН 7;
- температура 25°C ;
- 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

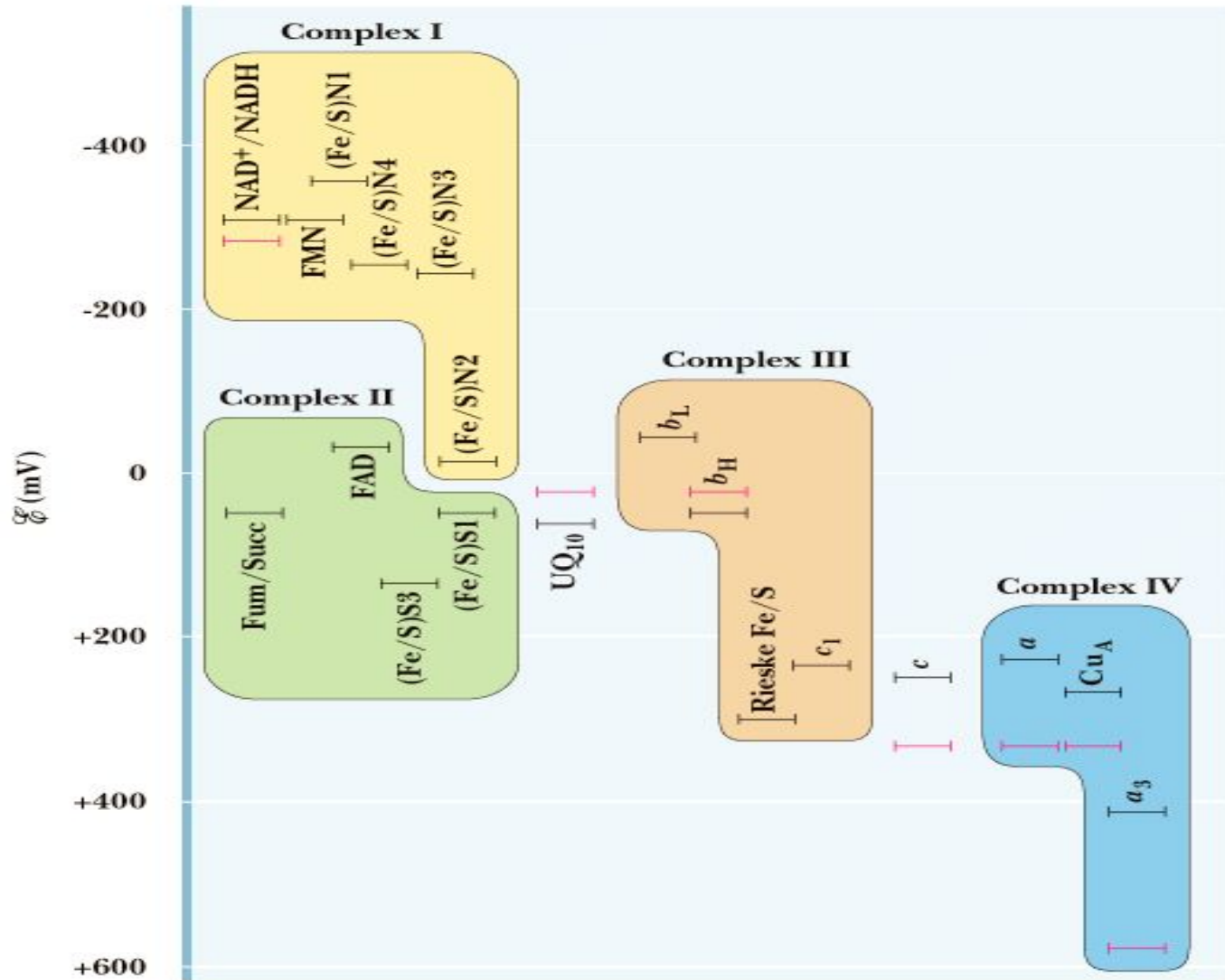
Уравнение расчета энергии переноса 2e от НАДН+ H⁺ к 1/2 O₂.

- $\Delta G^{\circ'} = -nF \Delta E_0'$
- 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+ Н+ к $\frac{1}{2} O_2$.

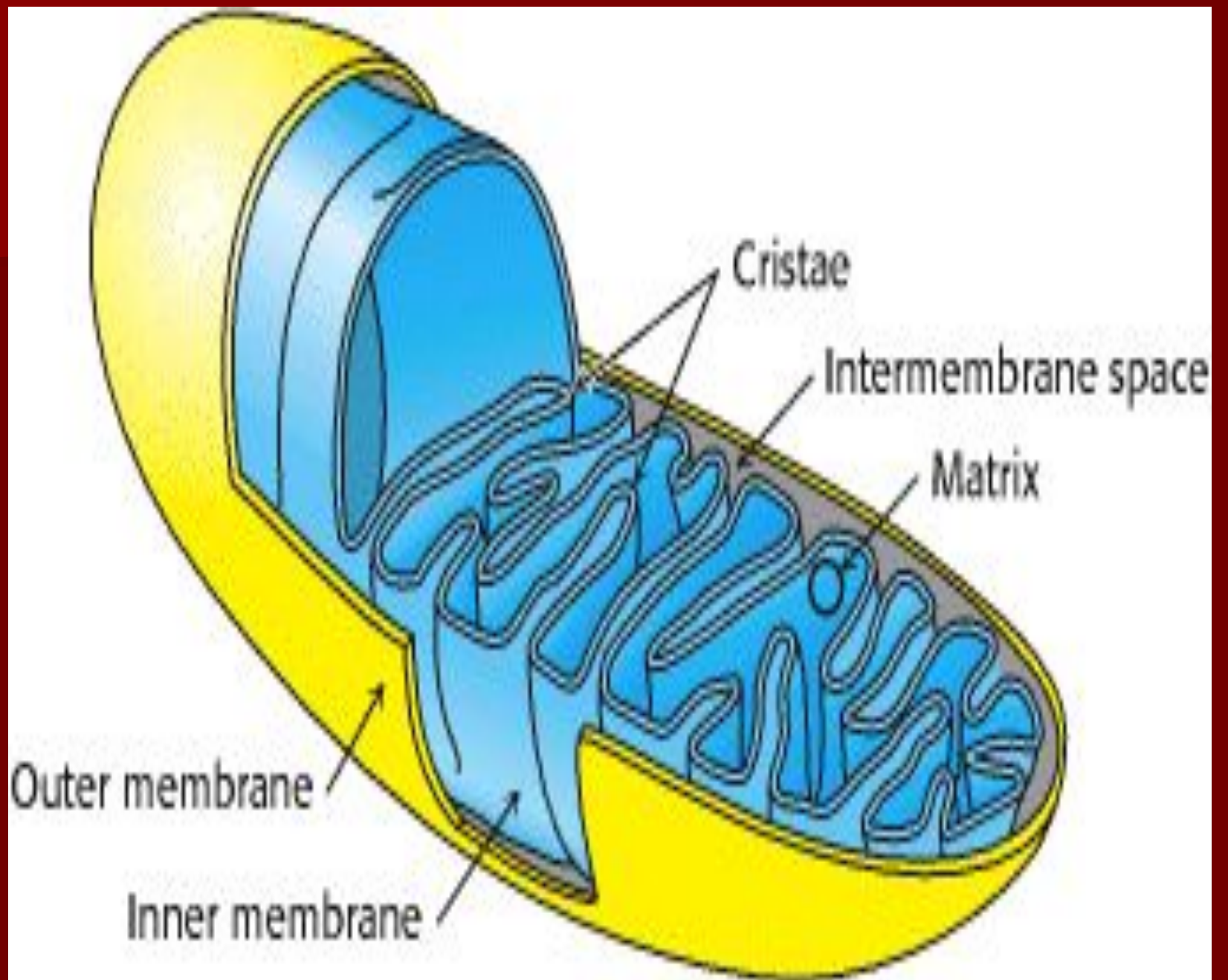
- $\Delta E \text{ НАДН/ } O_2 = (0,82 - (-0,32)) = 1,14.$
- $\Delta G = 2 * 23,065 * 1,14 = 52,6 \text{ ккал/моль или } 220 \text{ кДж/моль.}$
- Величина - теоретически достаточна для синтеза 7 АТФ, но синтезируется не более 3-х.

Строение дыхательной цепи



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**

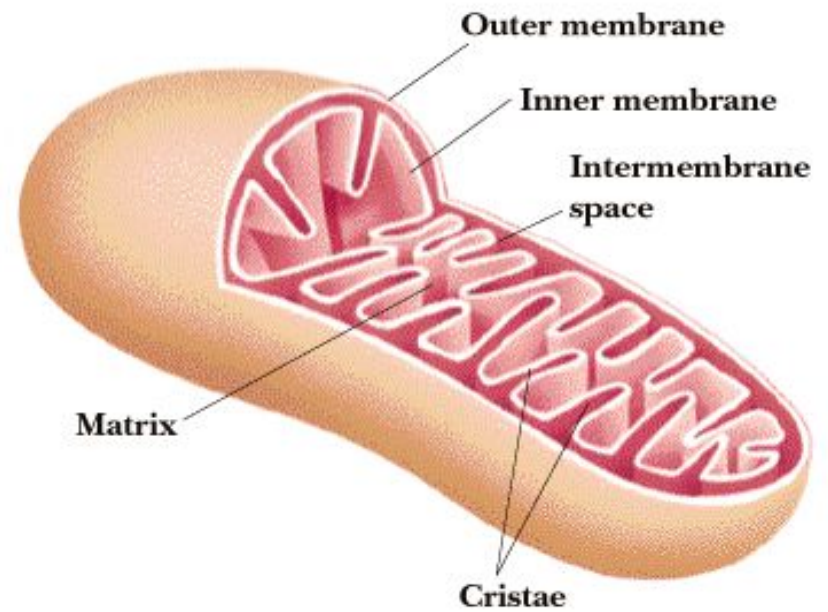




Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.1

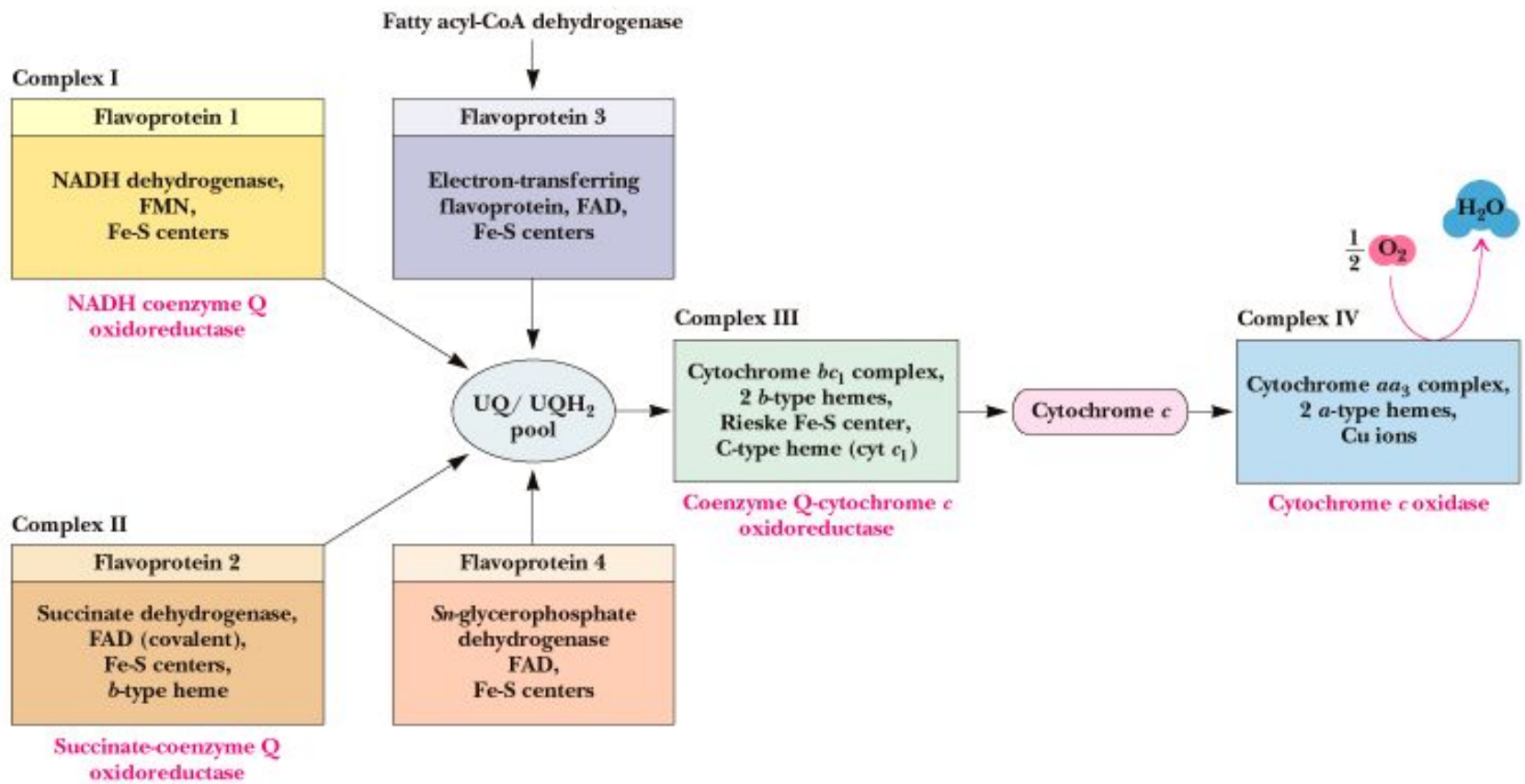


(a)



(b)

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.4

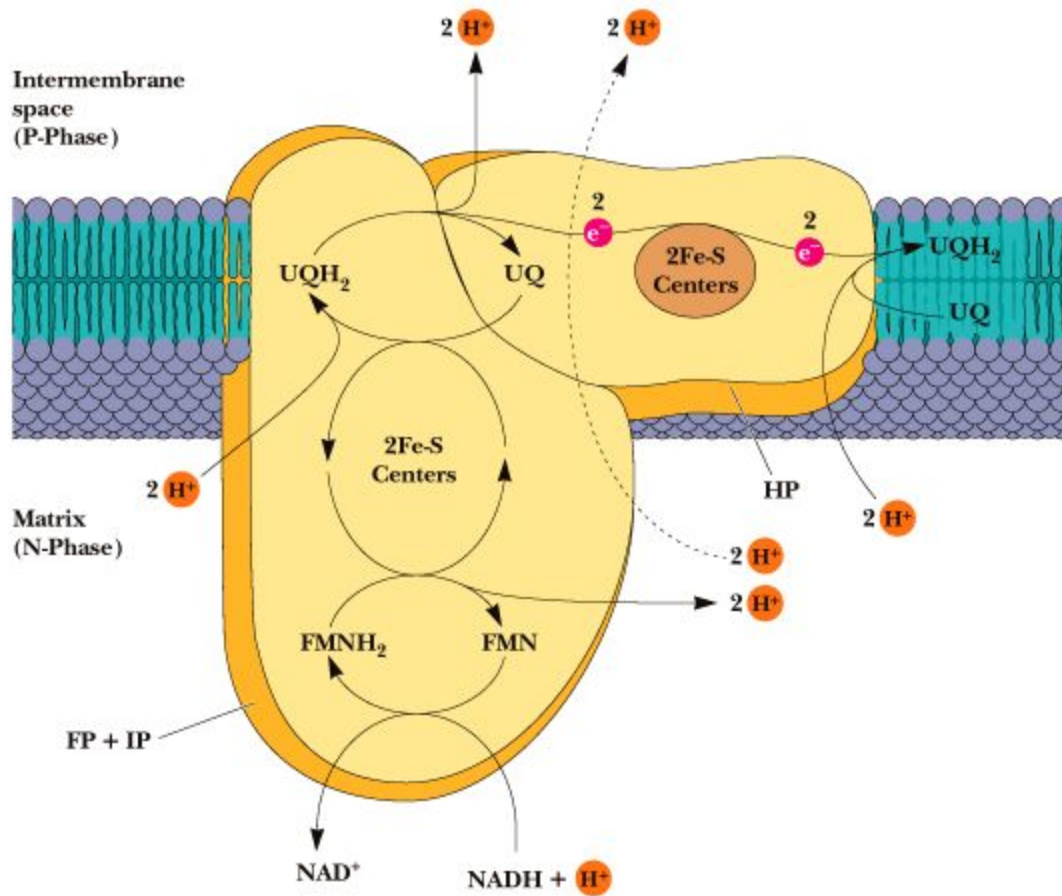


Комплекс I

НАДН-КоQ редуктаза

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

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.6



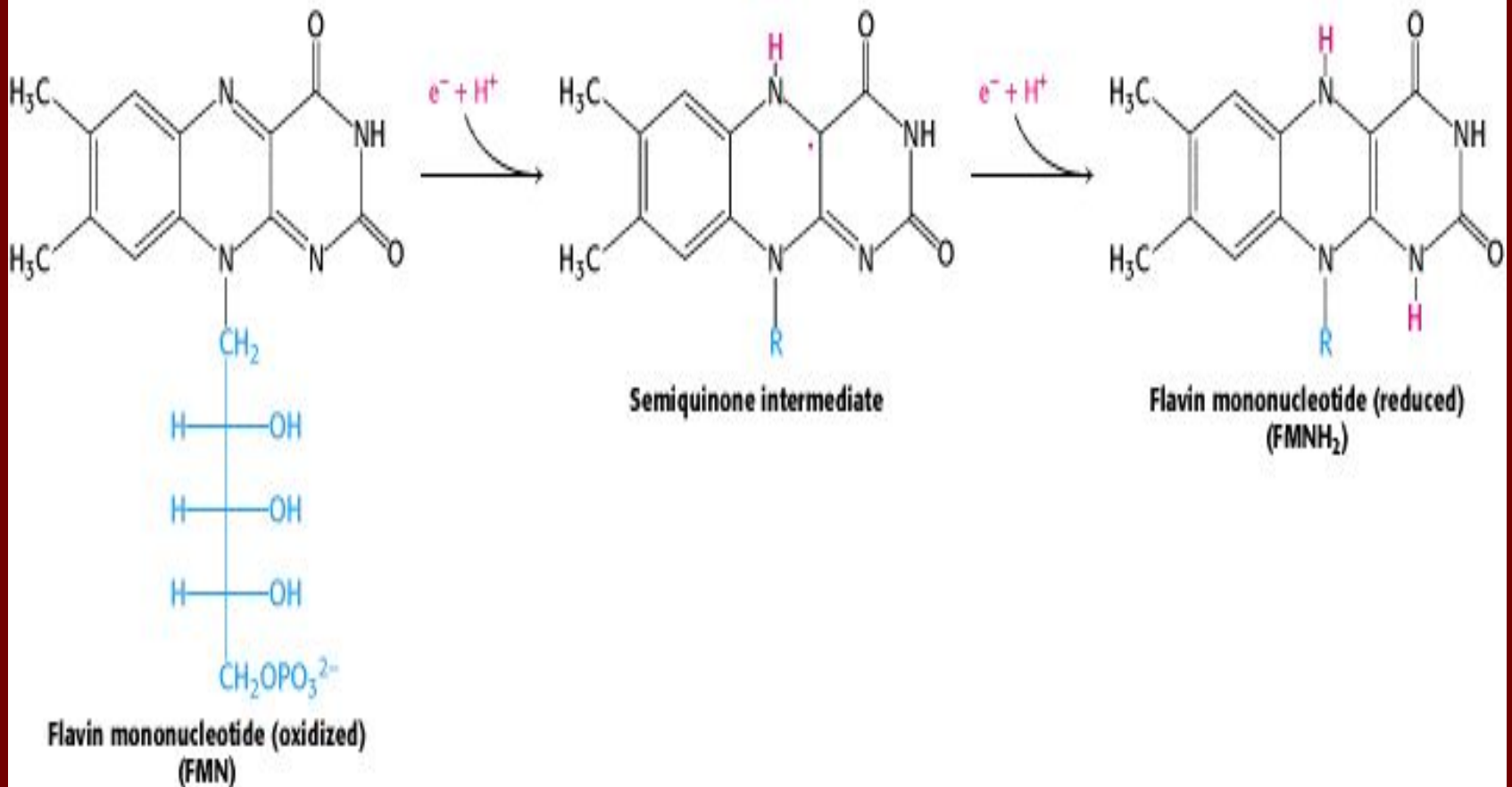
Рибофлавин (витамин В₂)

- Молекула содержит спирт рибитол и флаavin 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 флавинов происходит от латинского *flavius*, что означает желтый
- Окисленная форма (хинон) является желтой, полухинон – голубой, восстановленная форма не окрашена

FMN

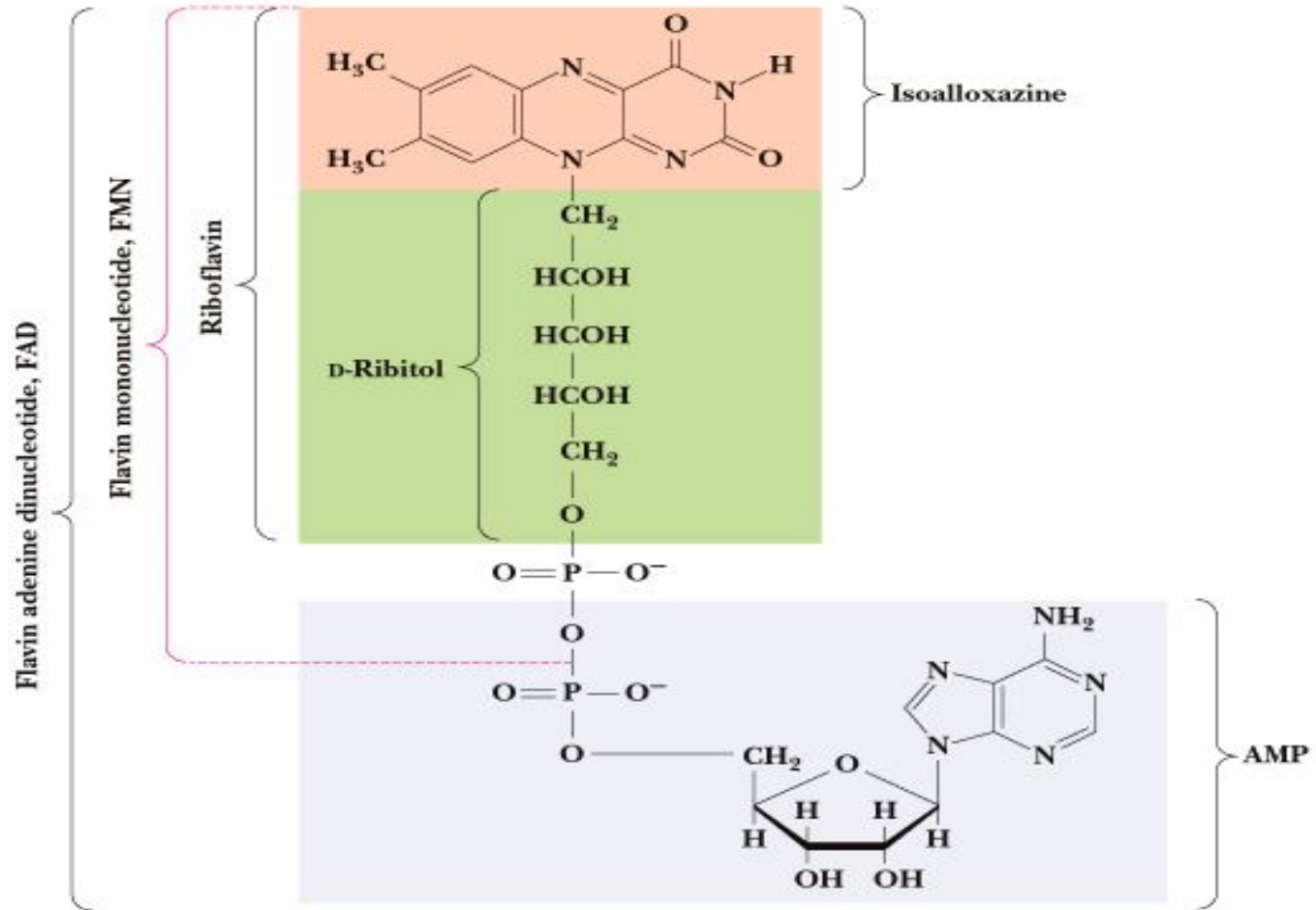


Комплекс II

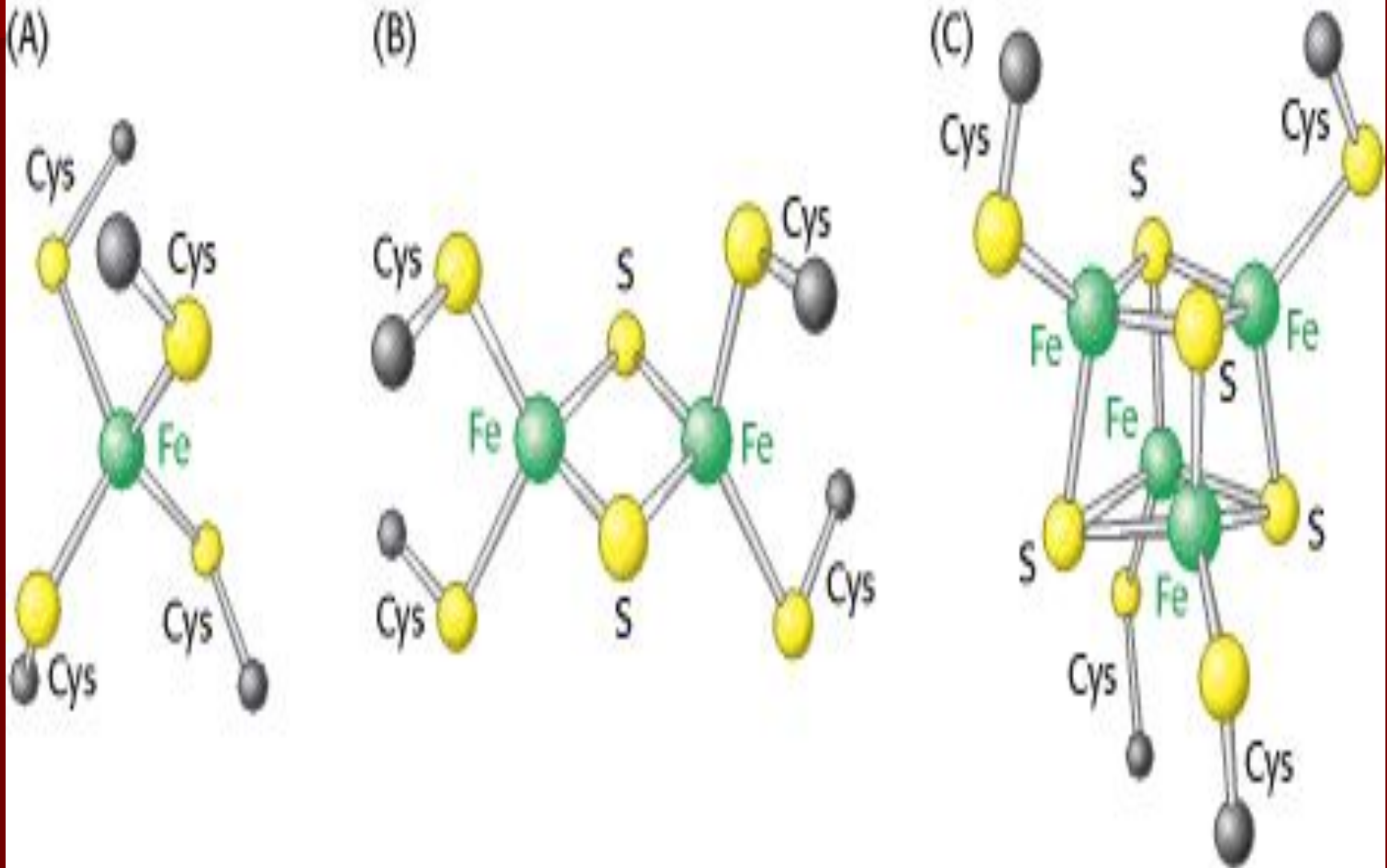
(сукцинат-кофермент Q редуктаза)

- 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 \square ФАДН₂ \square 2Fe²⁺ \square коэнзим QH₂
- Суммарная реакция:
 - сукцинат + коэнзим Q \square фумарат + коэнзим QH₂

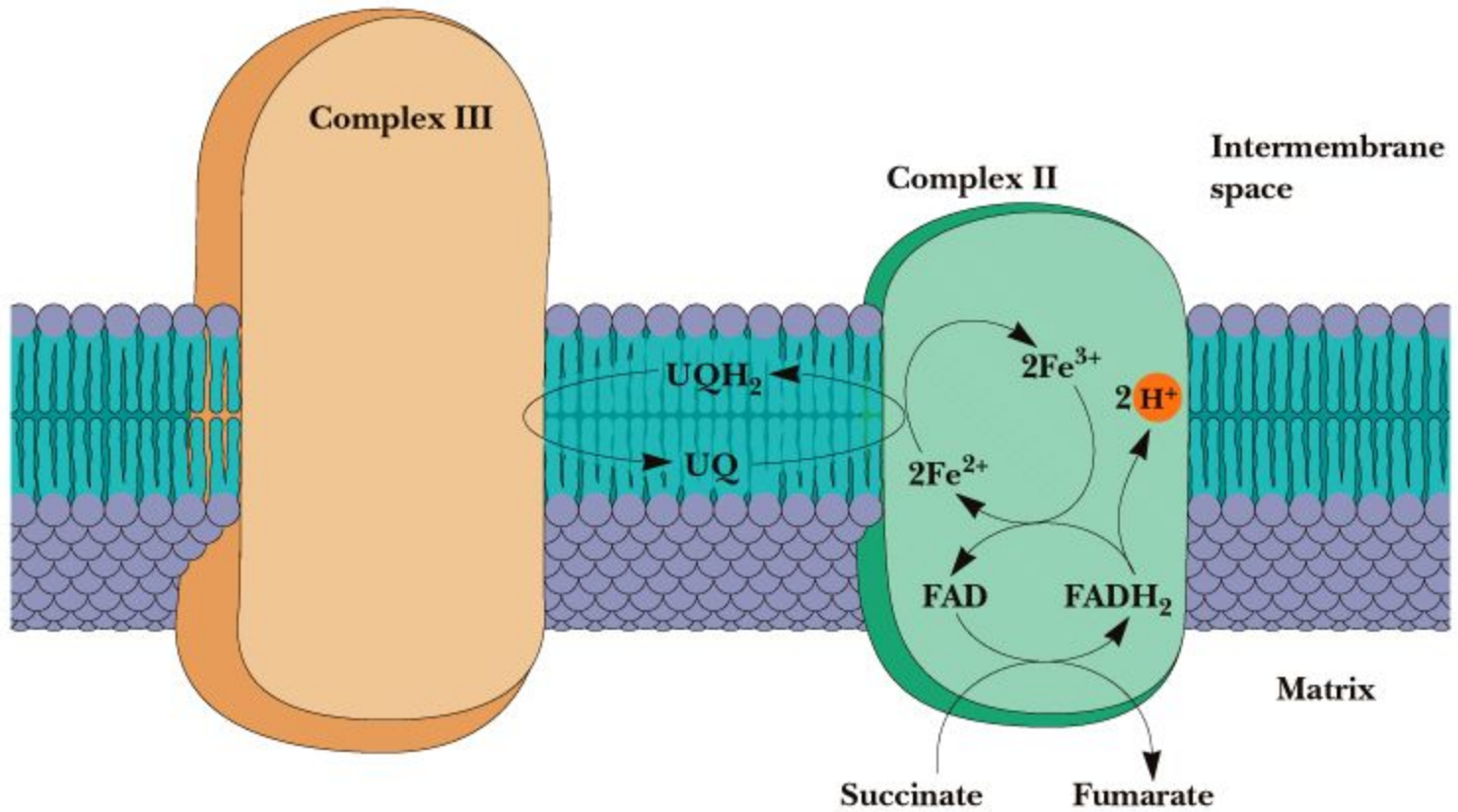
ФАД



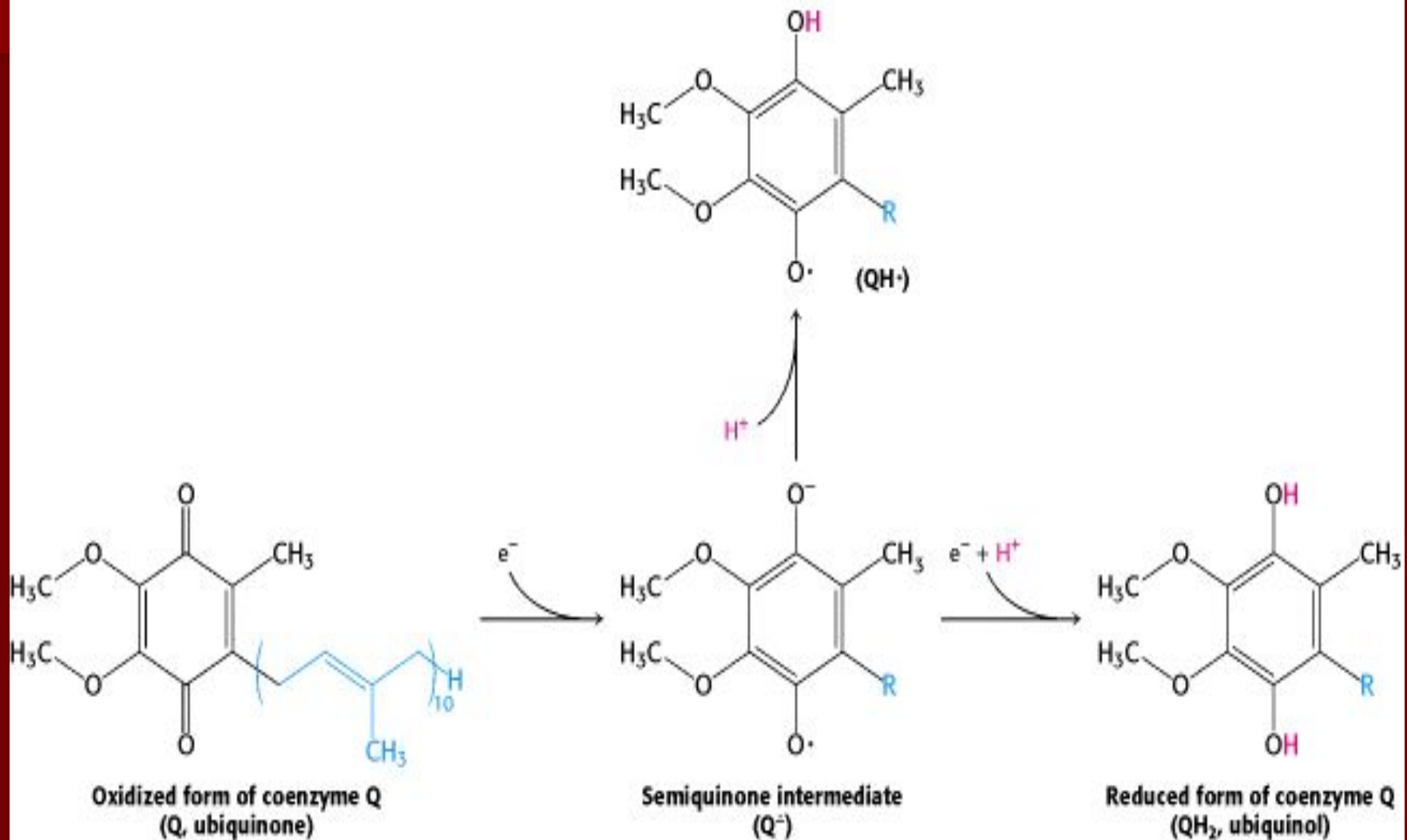
Типы железо-серных центров



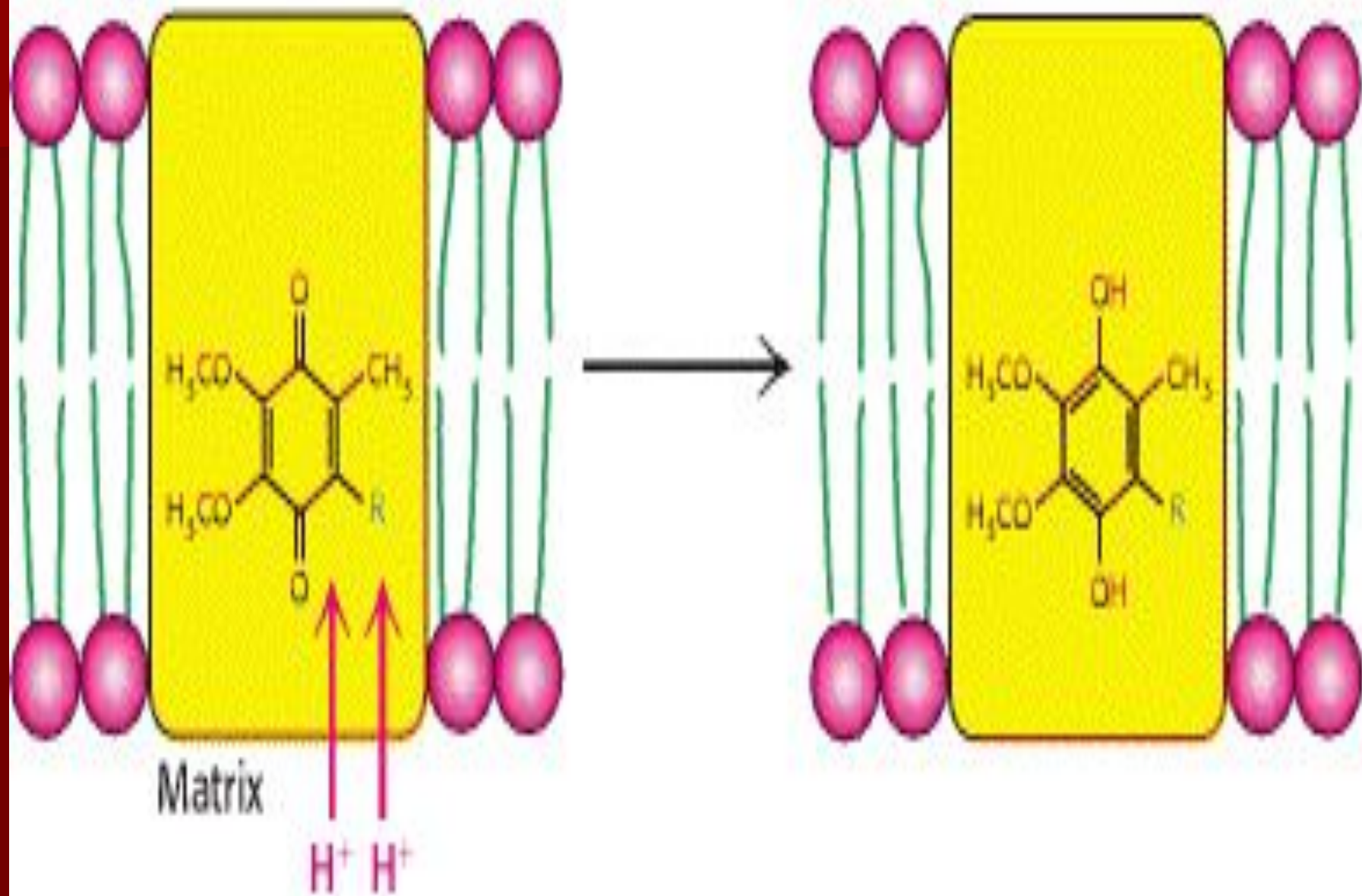
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.8



Убихинон



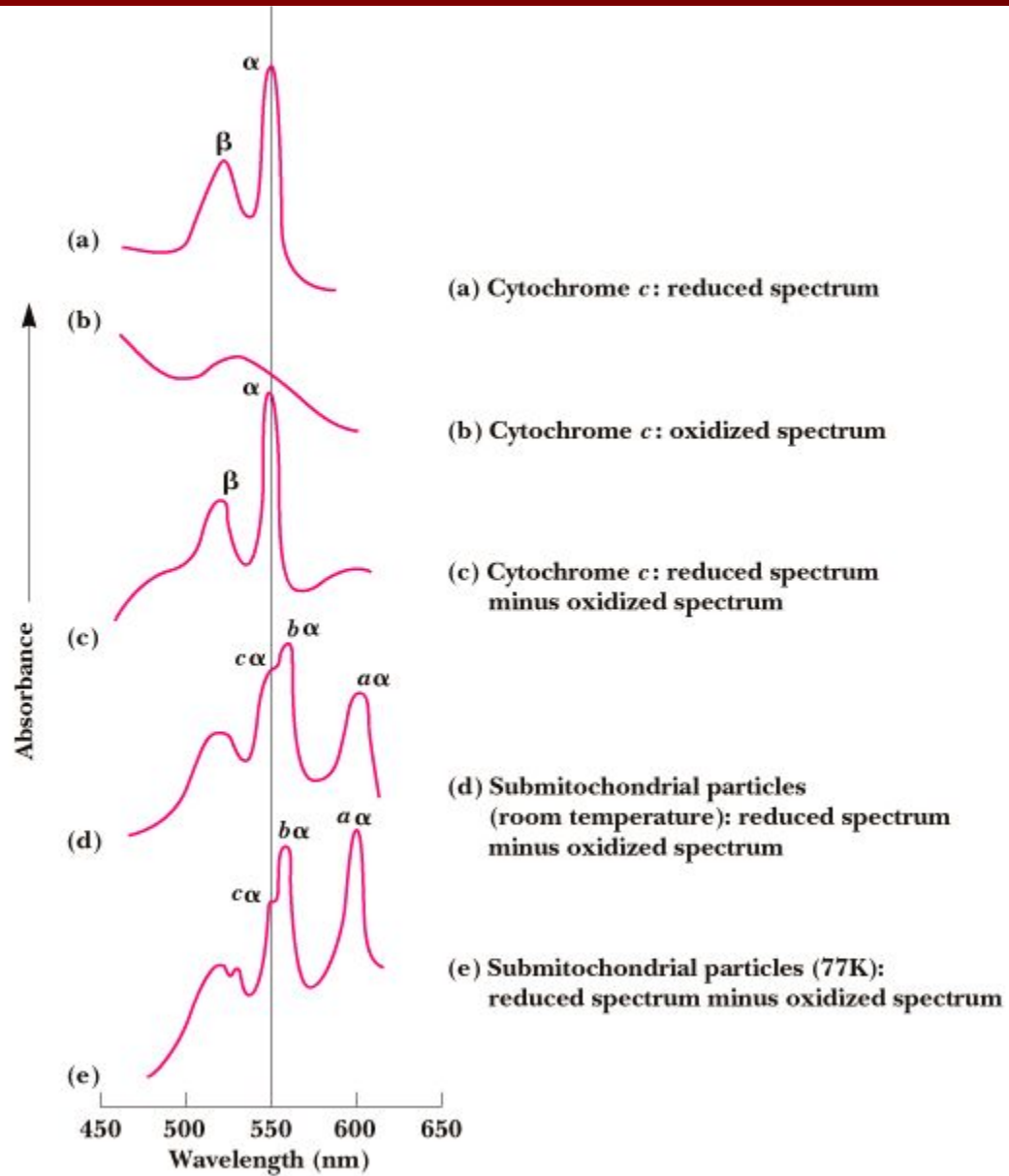
Intermembrane space

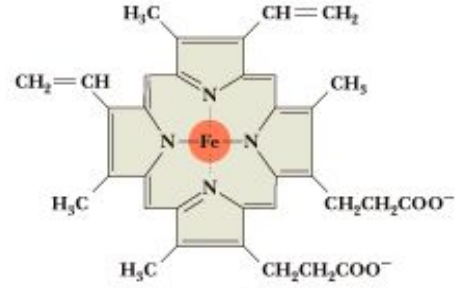


Комплекс III

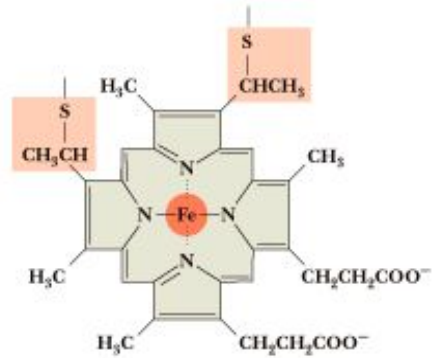
коэнзим Q-цитохром с редуктаза

- 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.

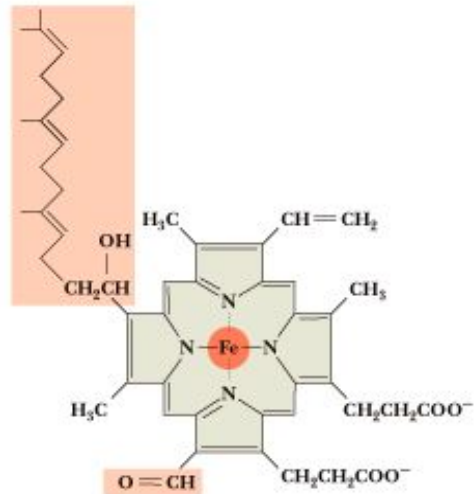




Iron protoporphyrin IX
(found in cytochrome *b*,
myoglobin, and hemoglobin)



Heme C
(found in cytochrome *c*)



Heme A
(found in cytochrome *a*)

Cyto. c1

Rieske

Subunit 8

Cyto. b

Subunit 11

Subunit 10

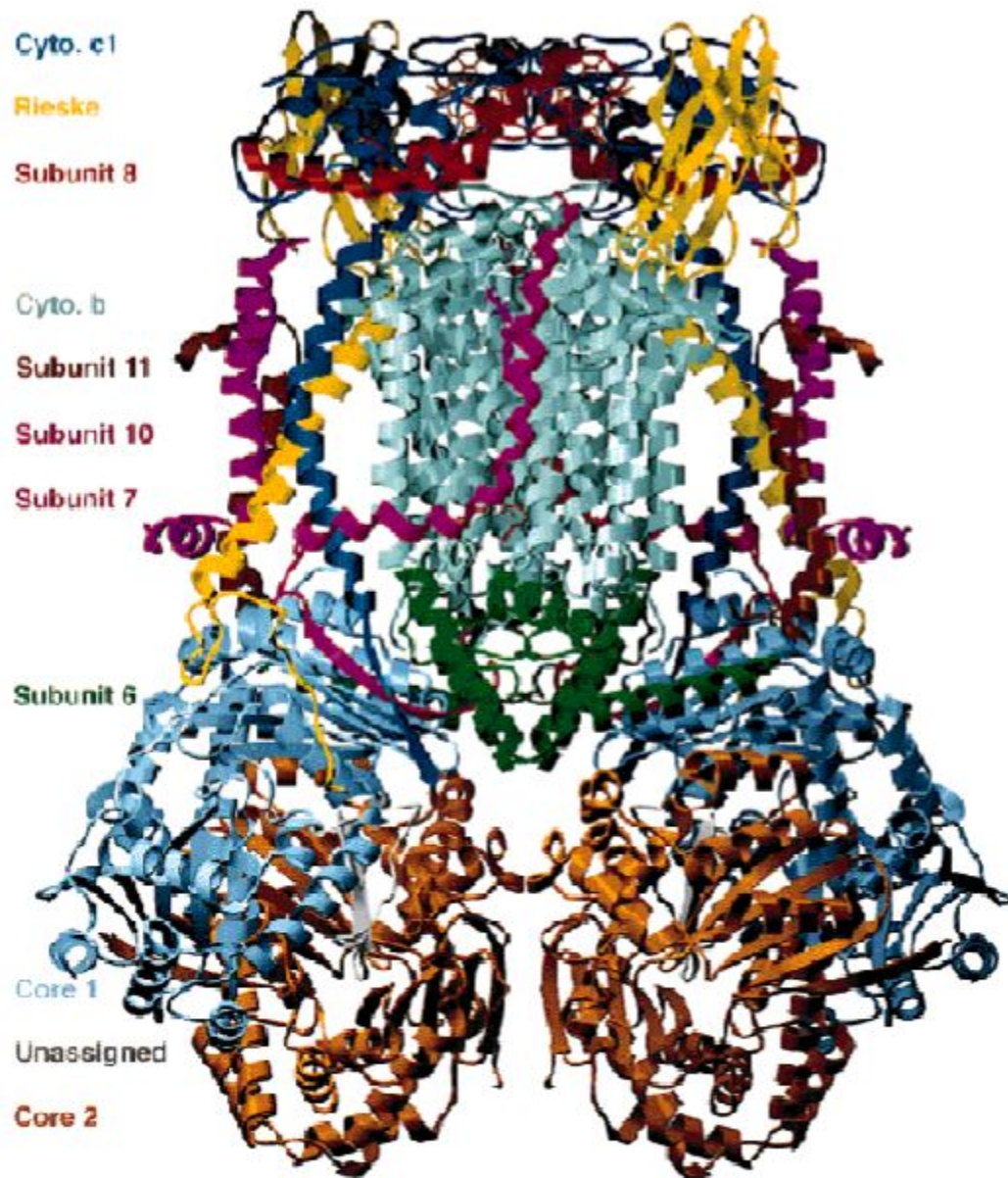
Subunit 7

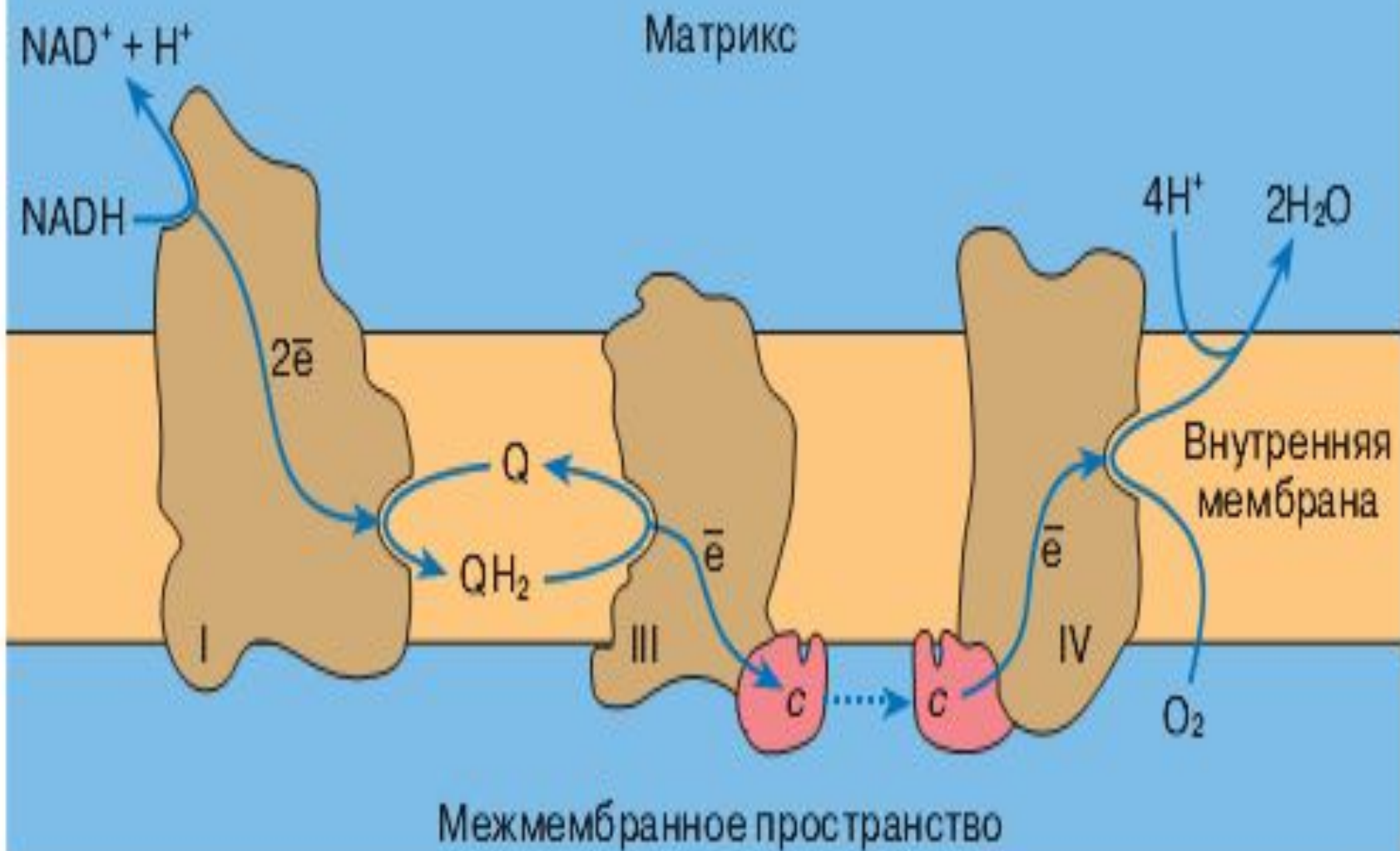
Subunit 6

Core 1

Unassigned

Core 2

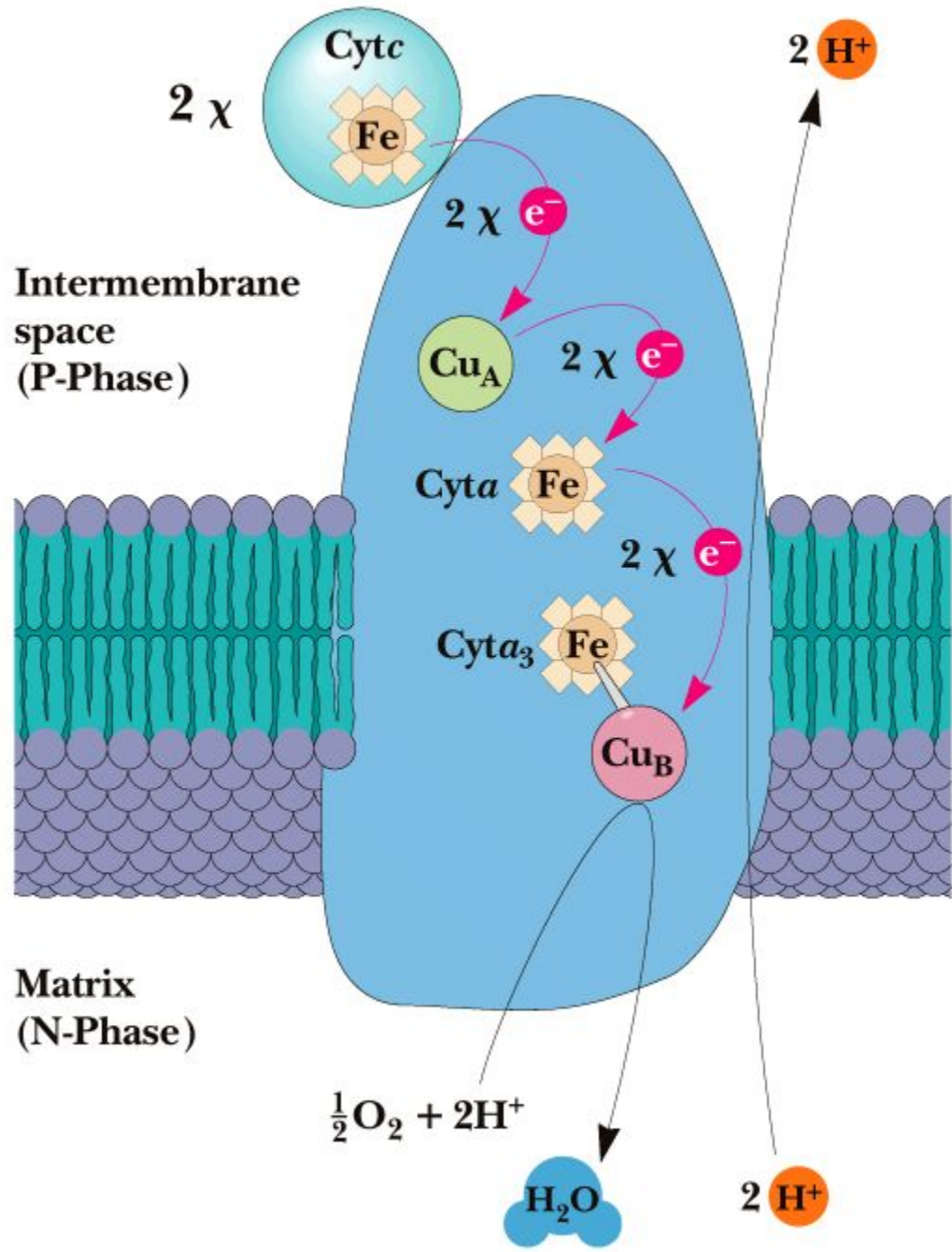




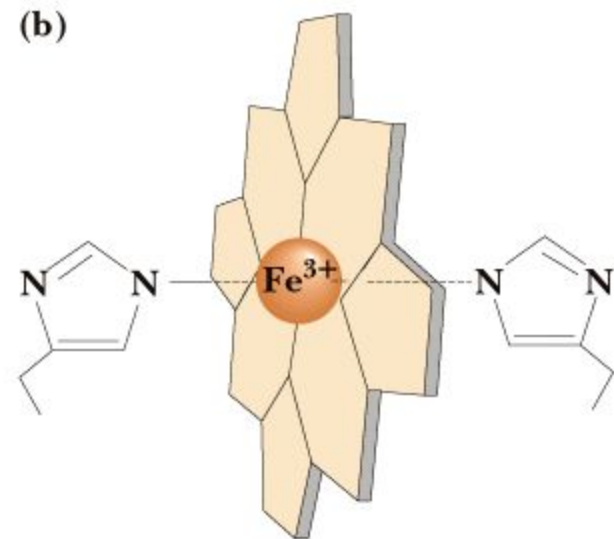
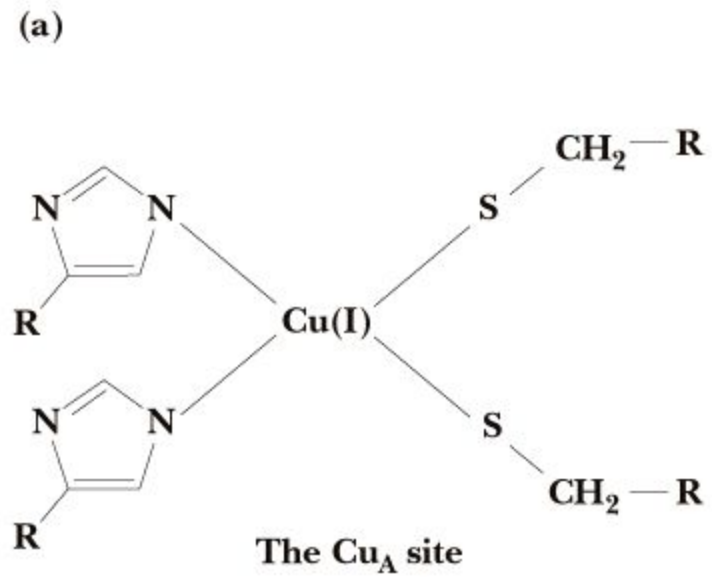
Комплекс IV

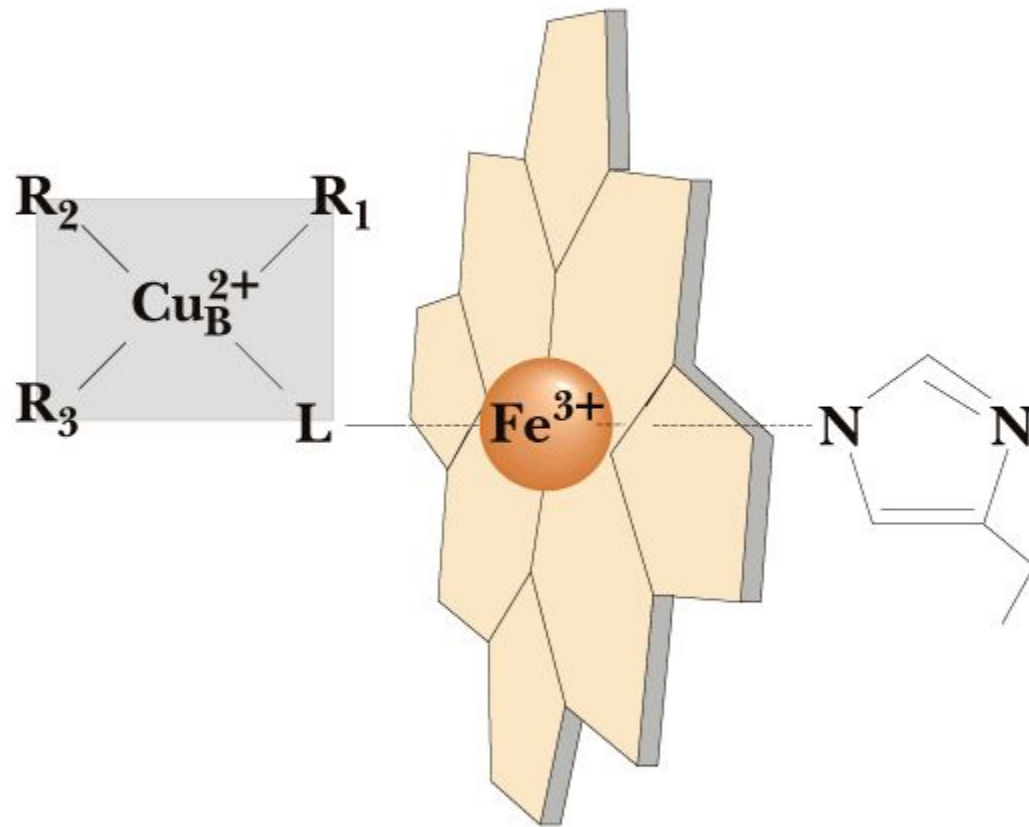
цитохром с оксидаза

- 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.



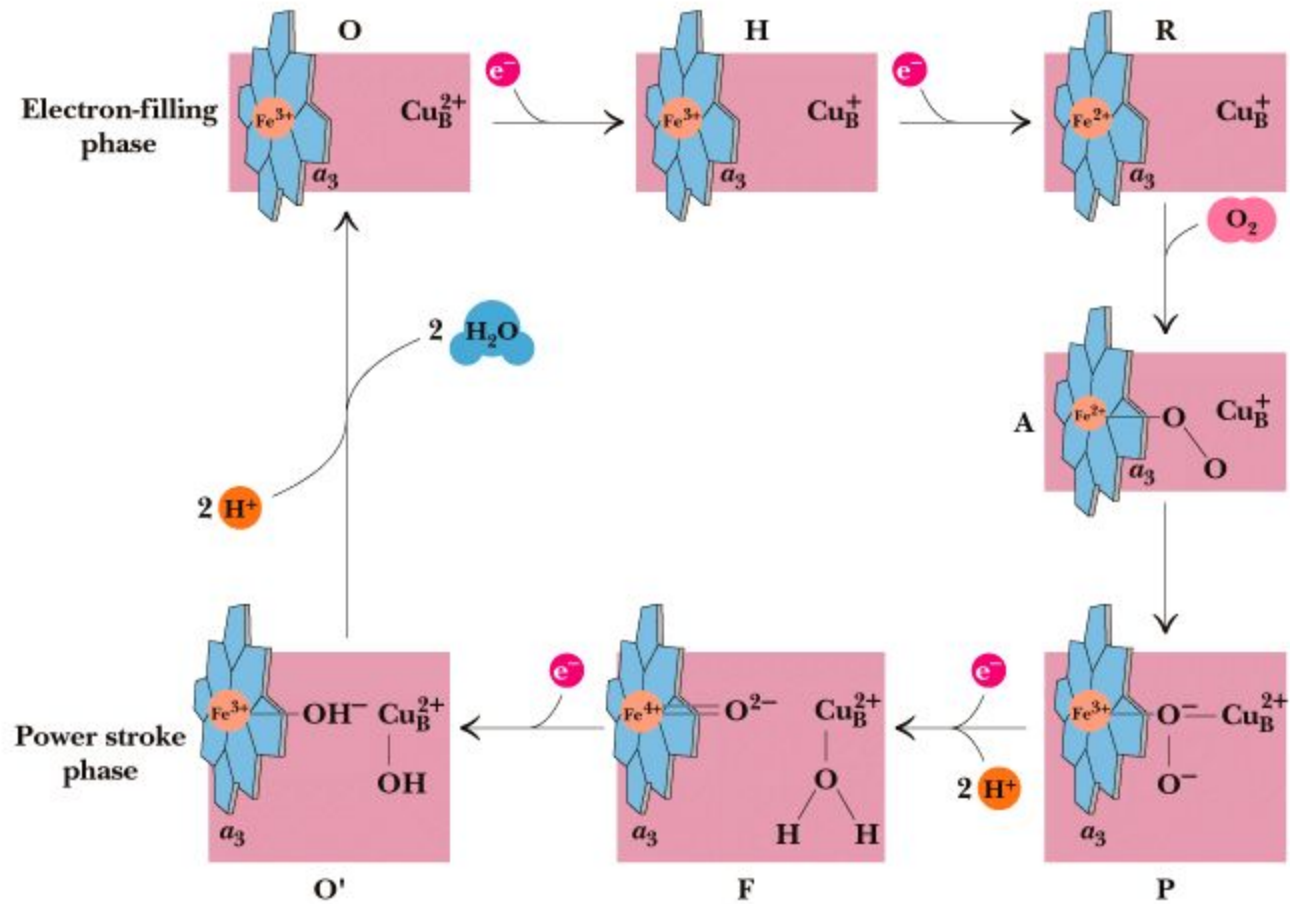
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.18

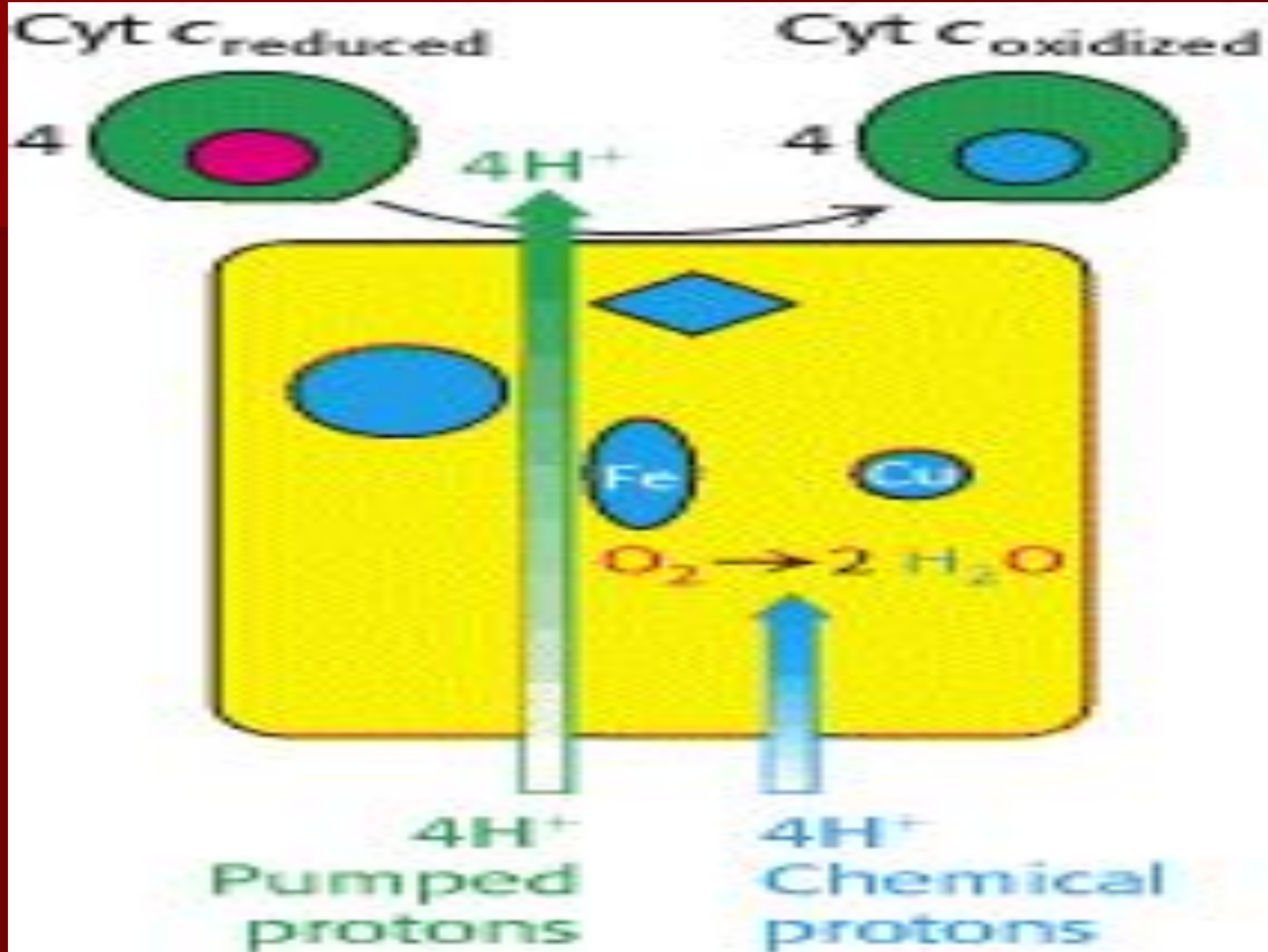




Heme

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
 Figure 21.20

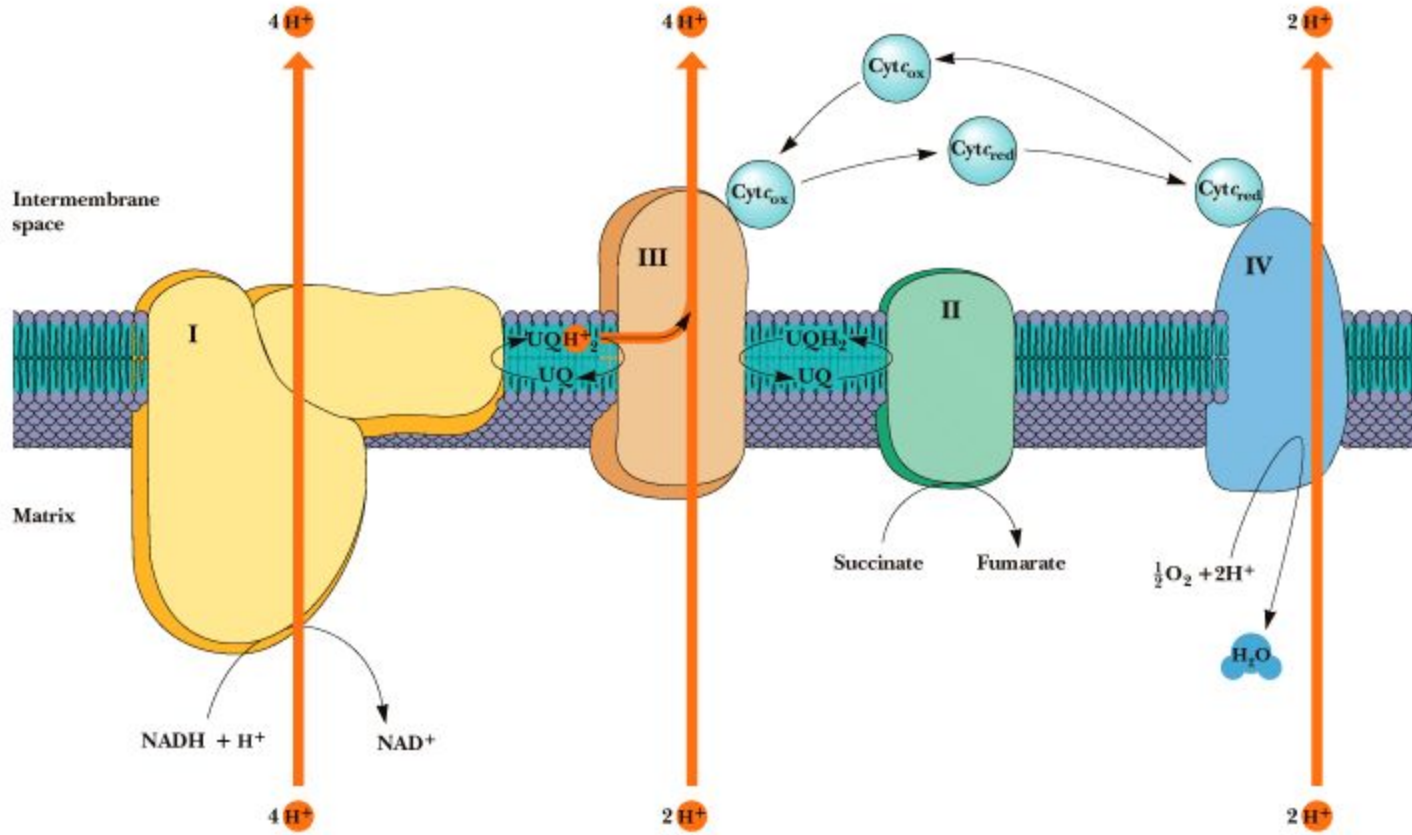




Сопряжение транспорта электронов и окислительного фосфорилирования

- 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.

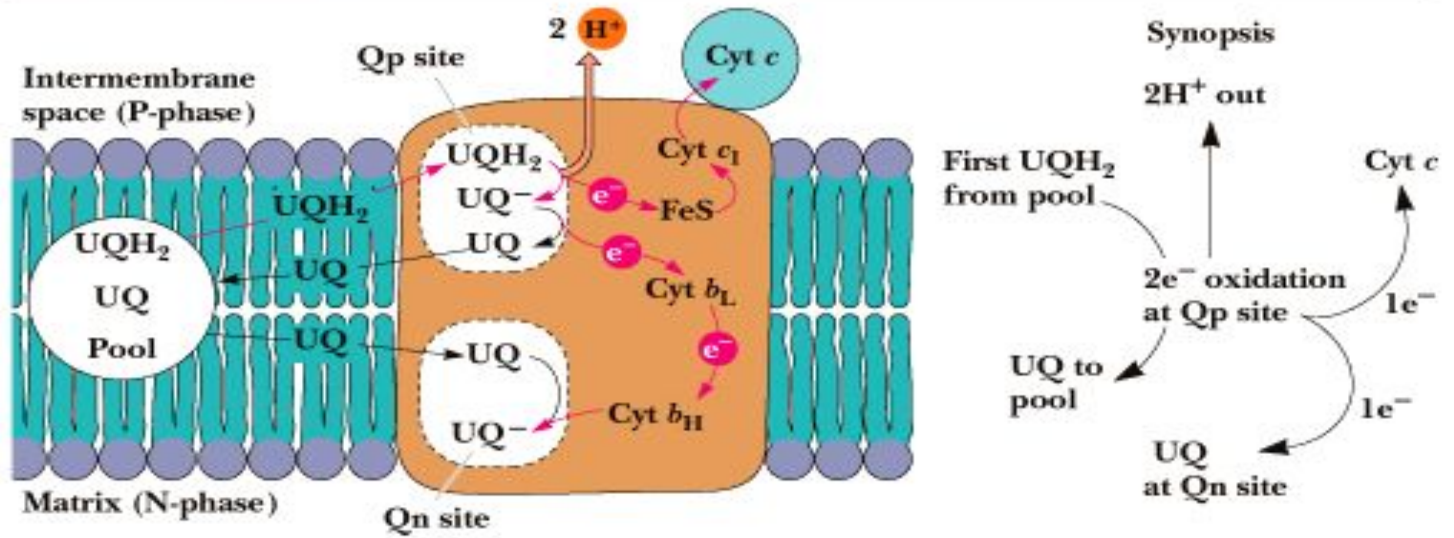
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.21



Q ЦИКЛ

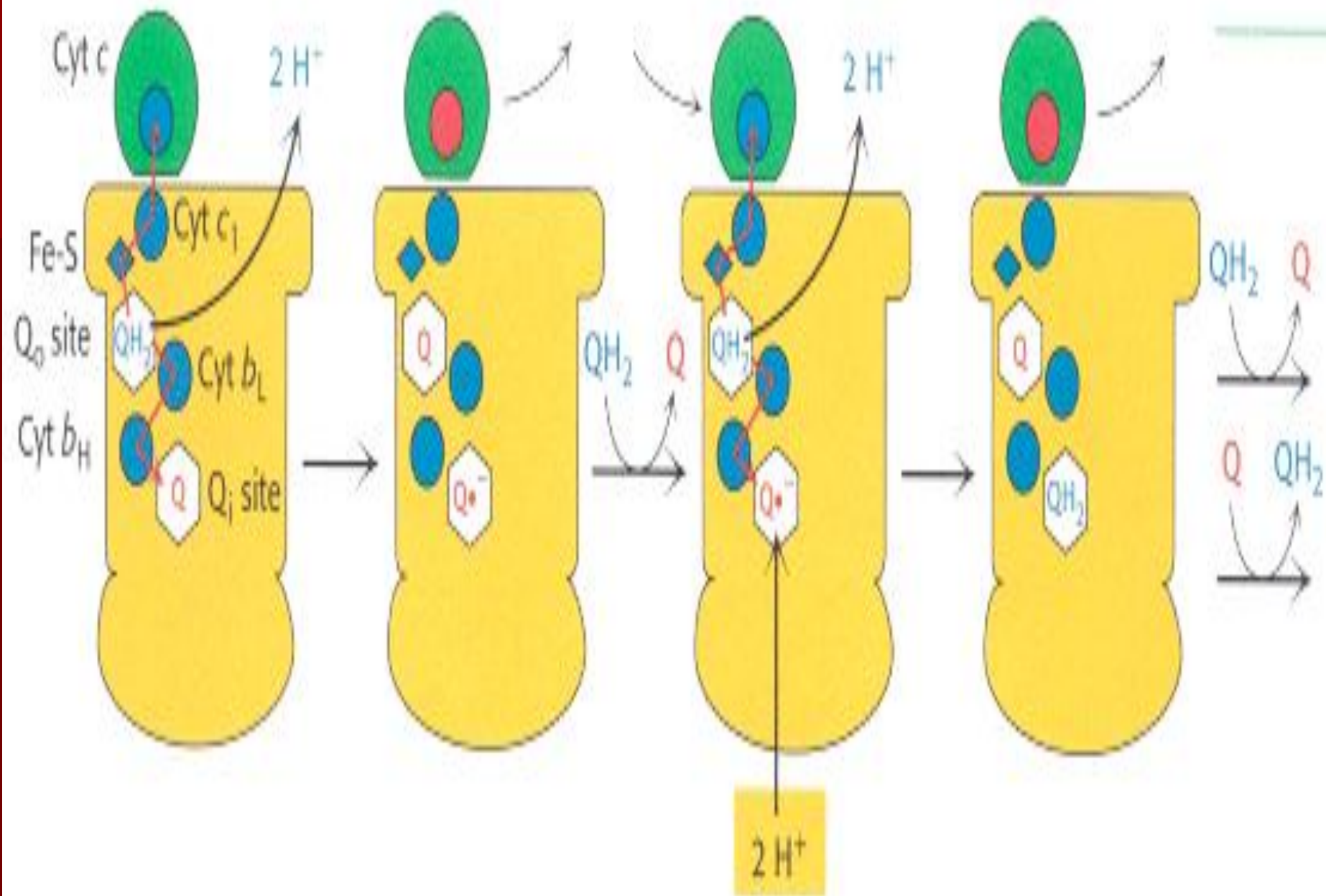
- Происходит передача двух электронов с восстановленной формы коэнзима Q: один на цитохром c, другой на коэнзим Q, образуя полухинон.
- Вновь образованный коэнзим Q диффундирует и замещается новой молекулой QH₂, которая тоже отдает электроны: один на второй цитохром c, второй на полухинон.
- Транспорт второго электрона сопровождается выкачиванием двух протонов из матрикса.

(a) First half of Q cycle

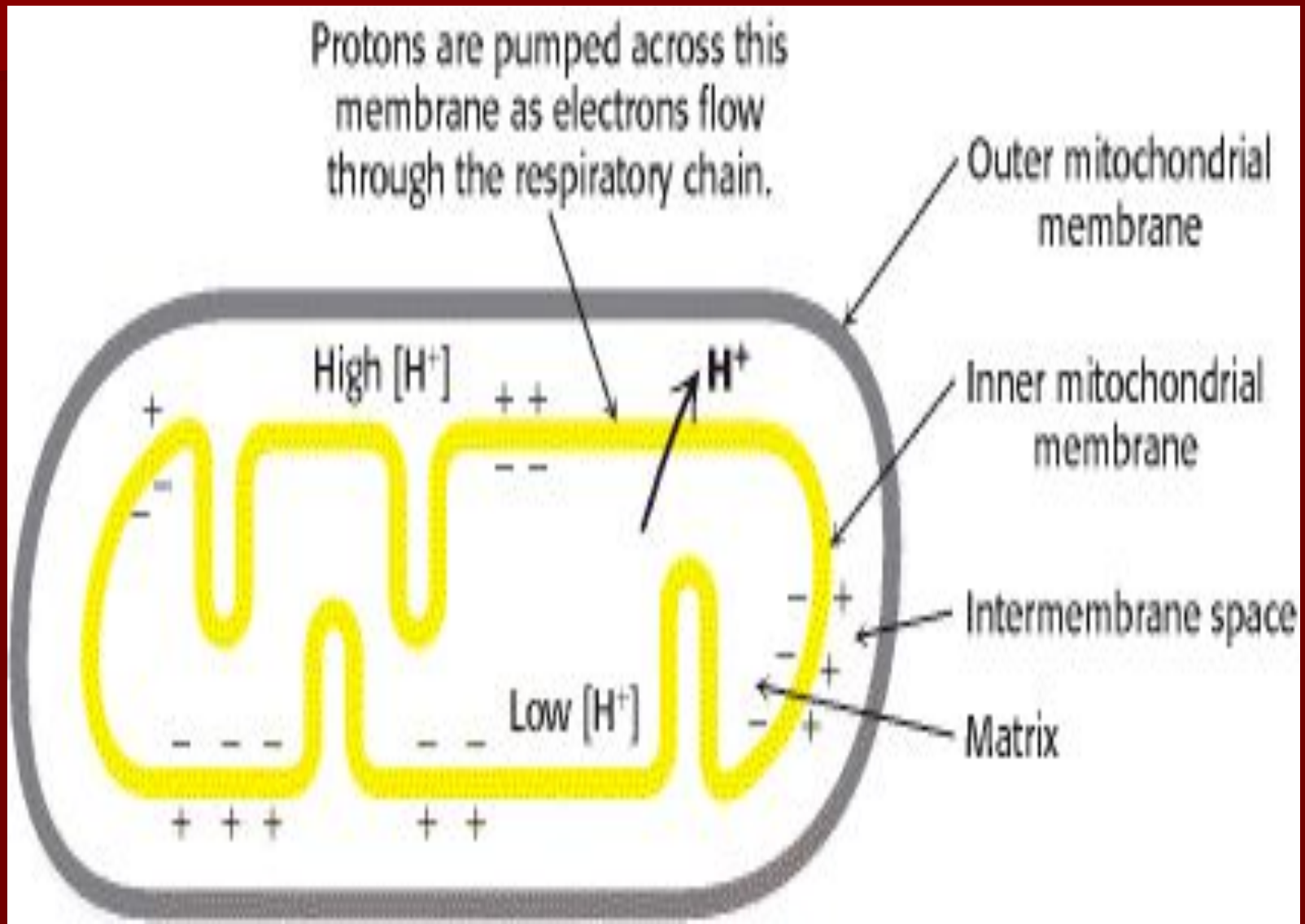


(b) Second half of Q cycle





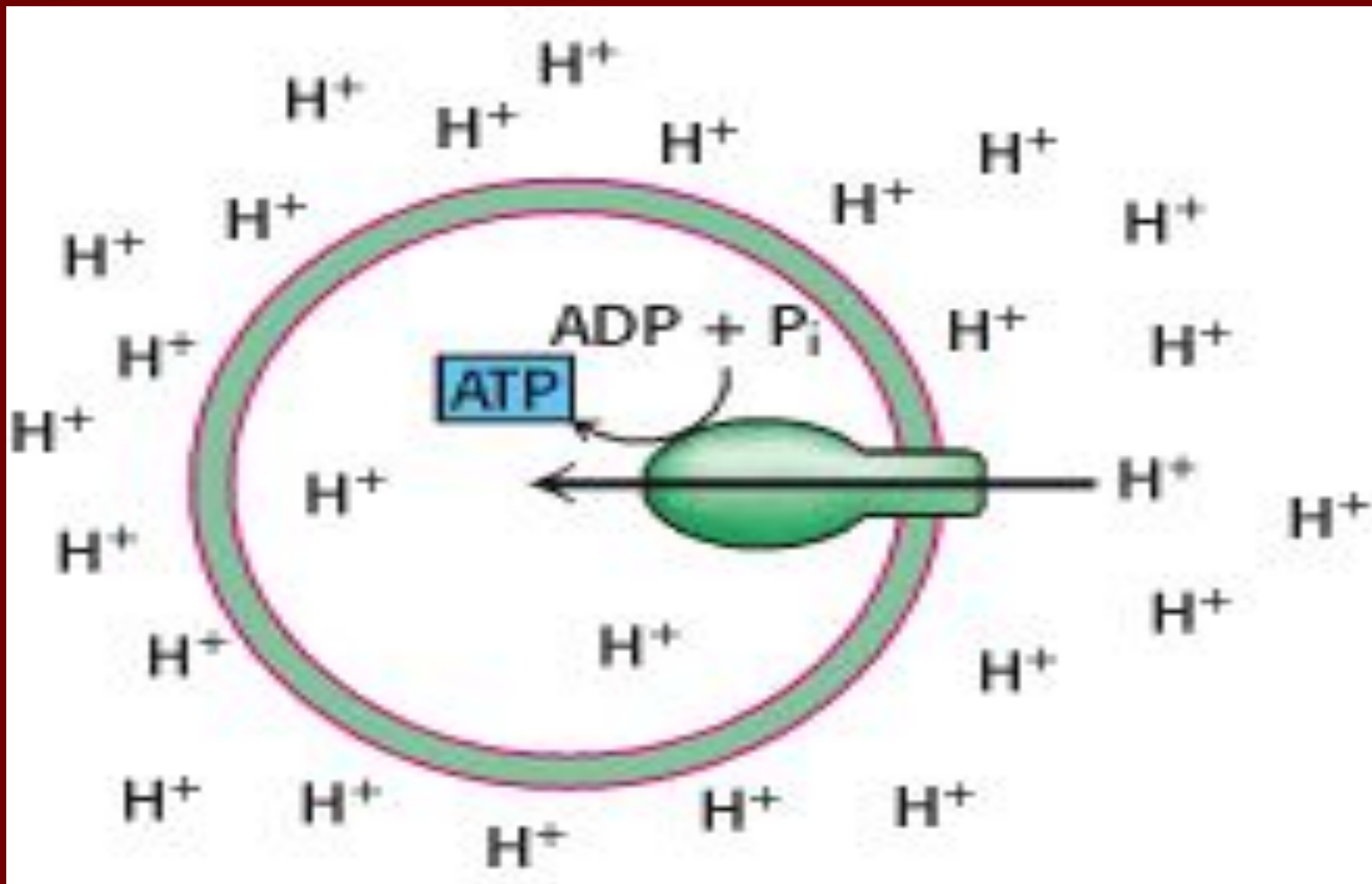
Гипотеза Митчелла



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



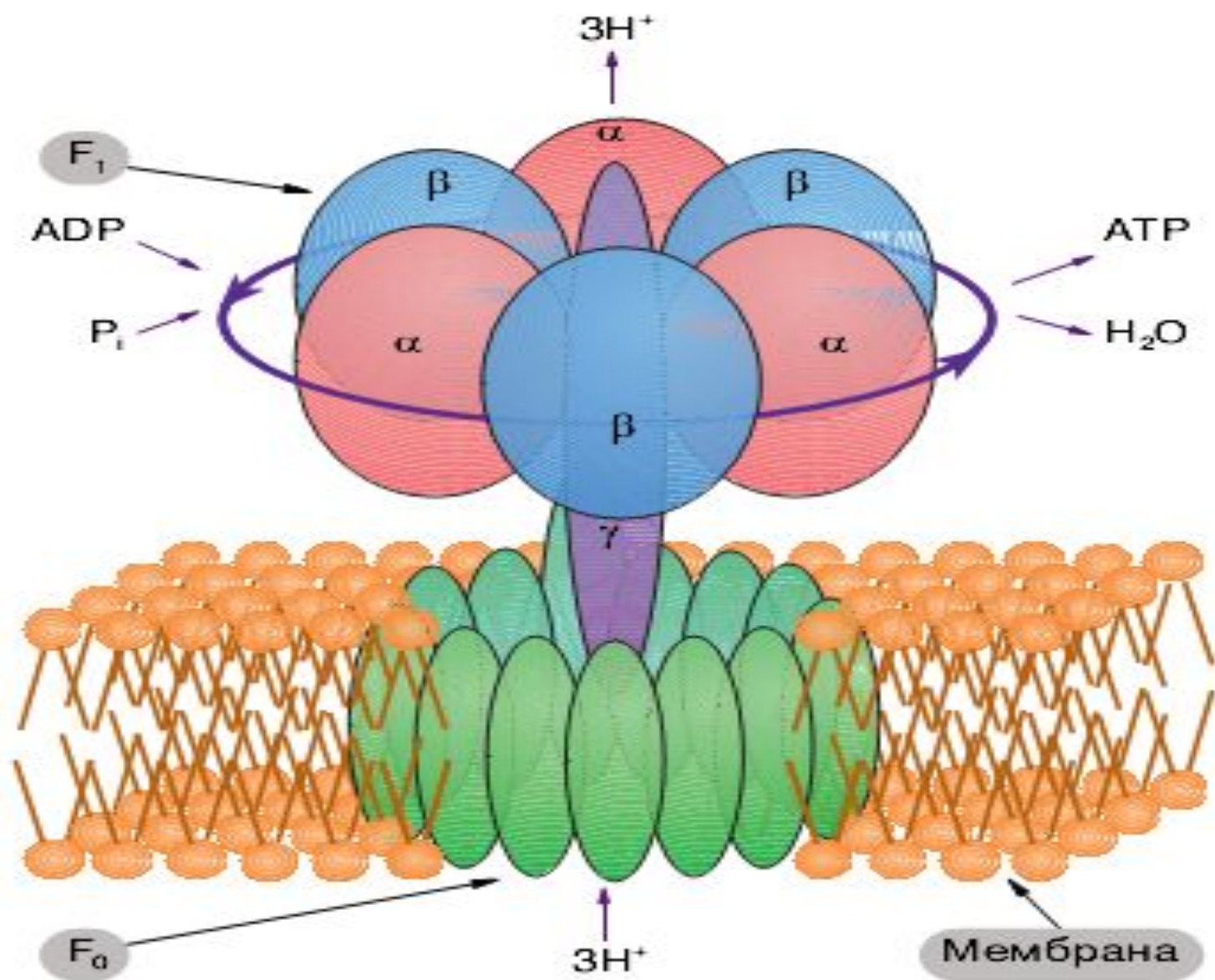
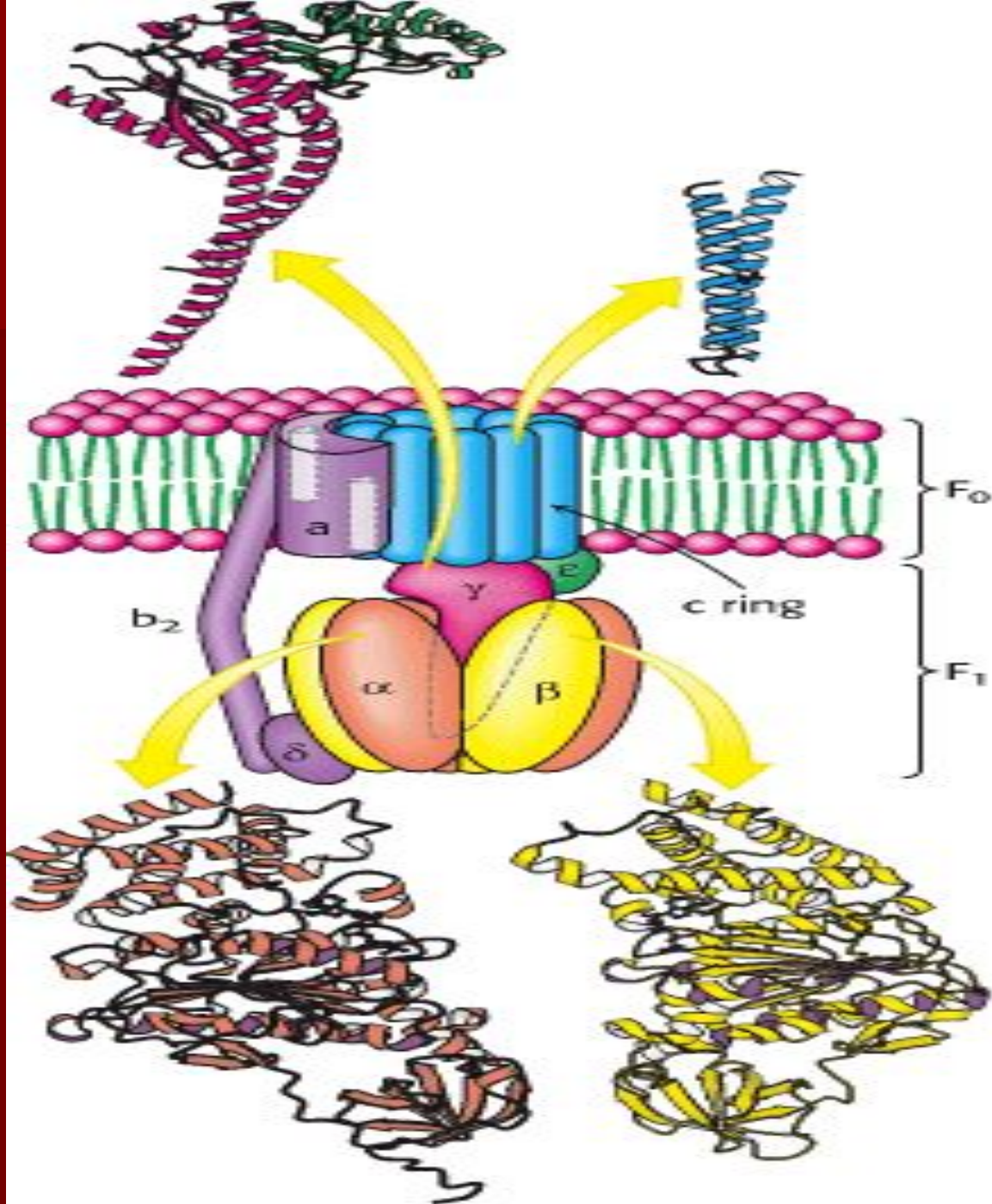
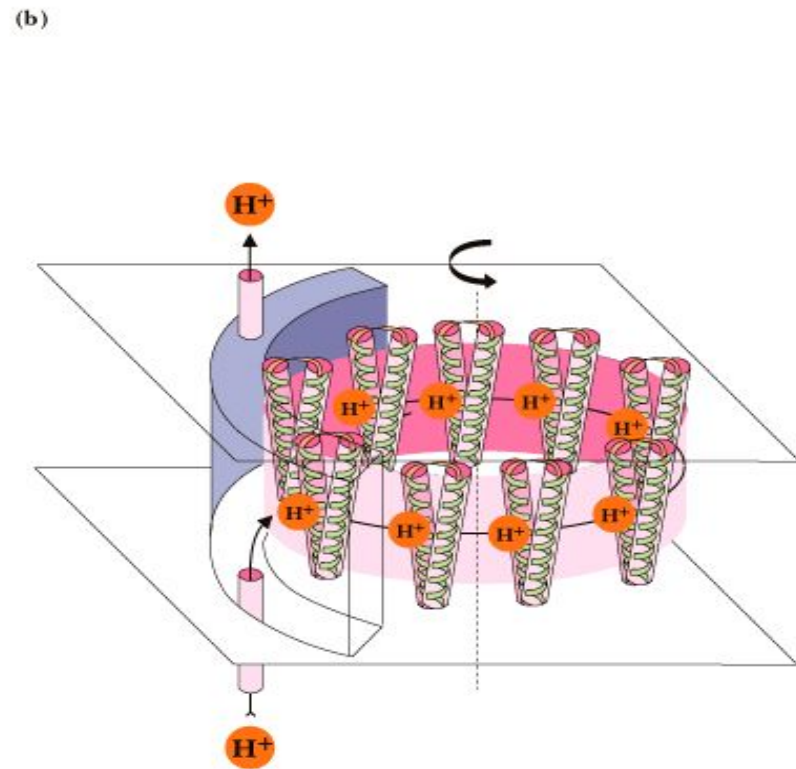
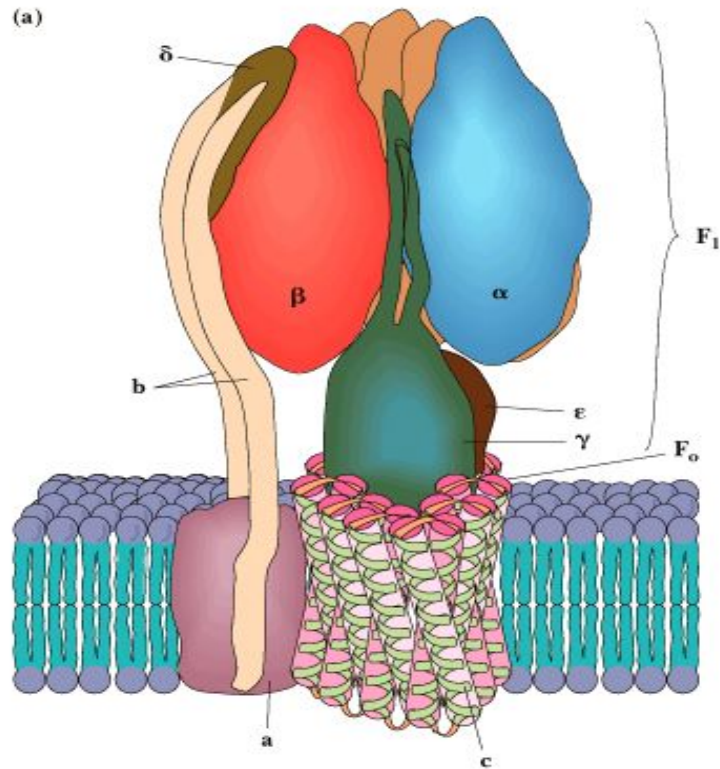


Рис. 3. Пространственное строение H⁺АТФсинтазного комплекса

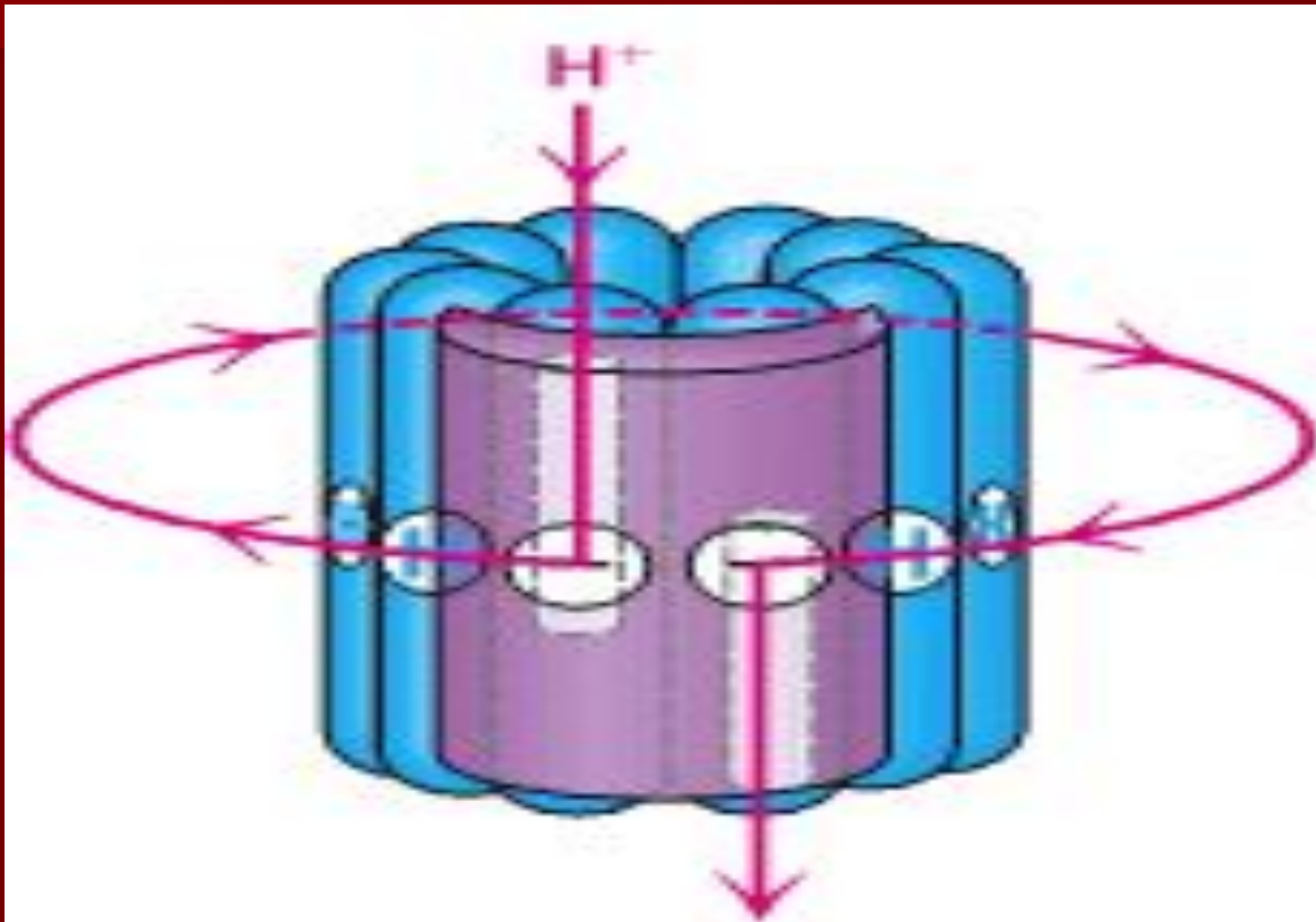


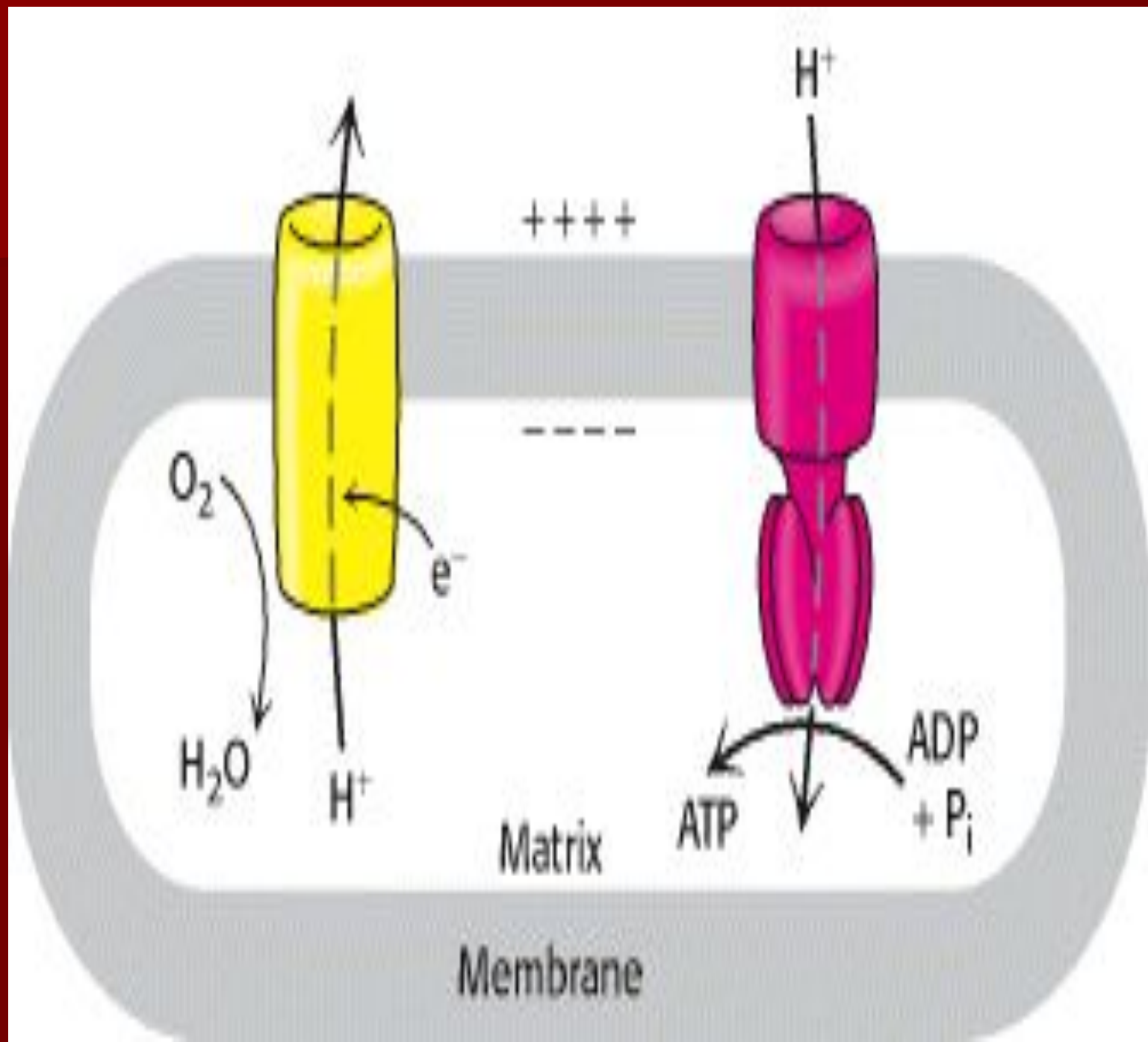
АТФ синтаза

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.25



Конформационные изменения АТФ синтазы



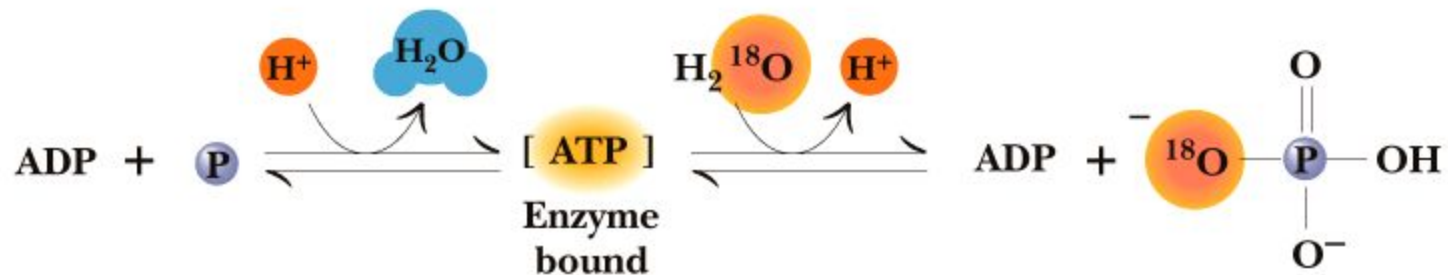


Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.26

In the presence of a proton gradient:



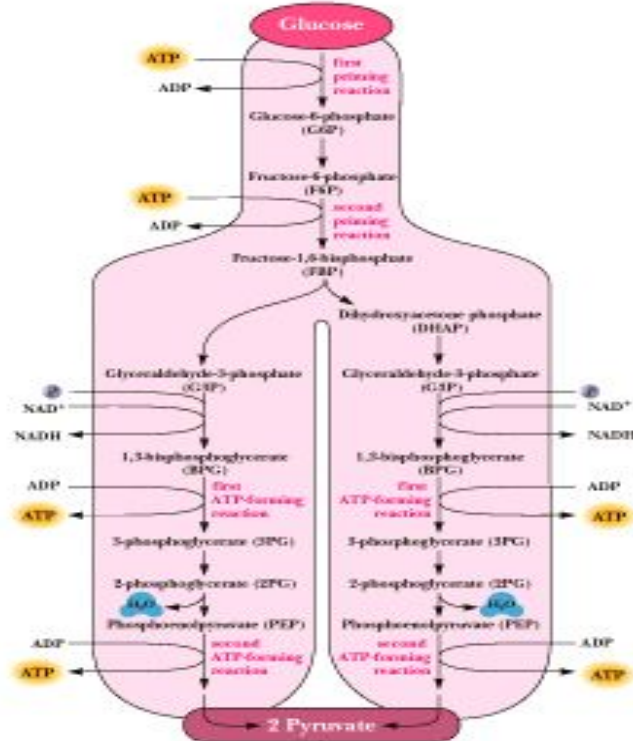
In the absence of a proton gradient:



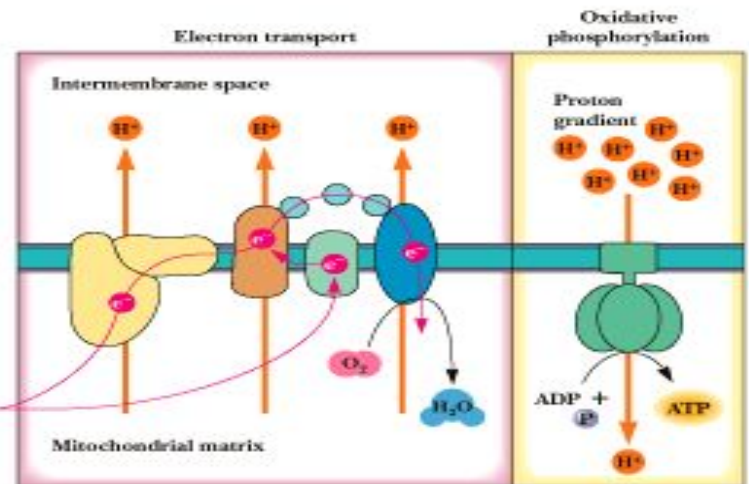
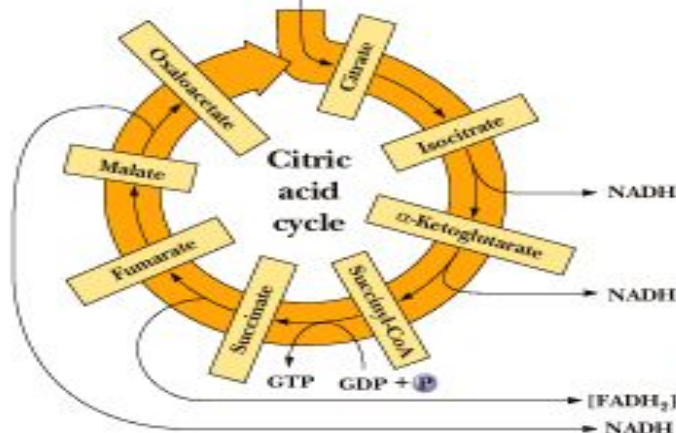
Резюме

- 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

Glycolysis



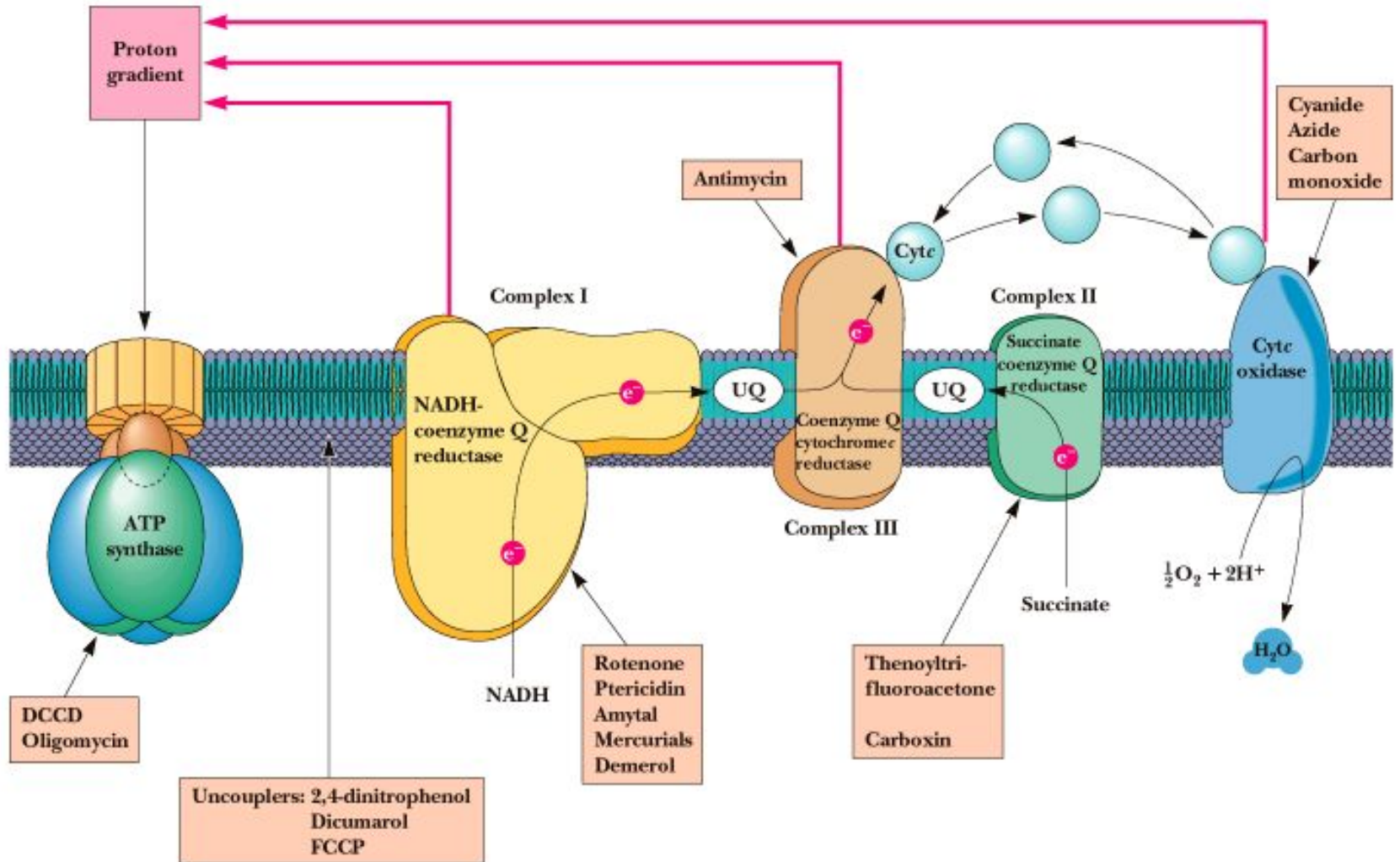
Acetyl-CoA



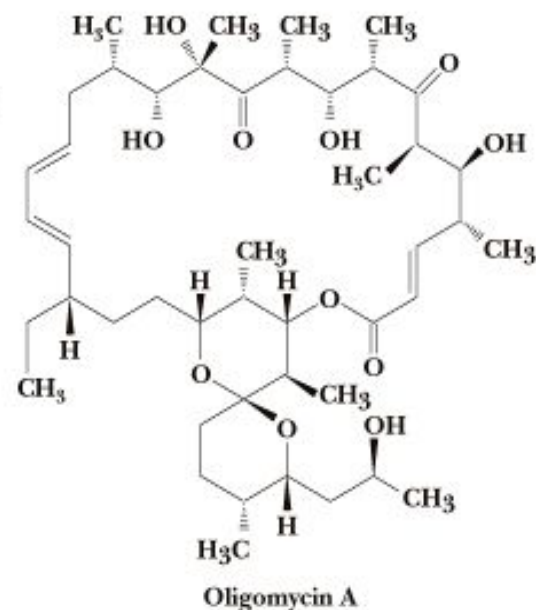
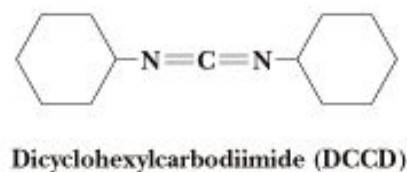
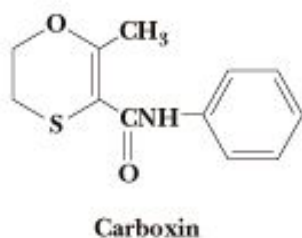
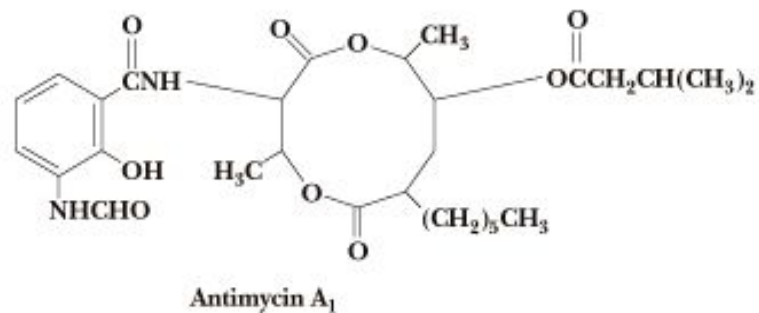
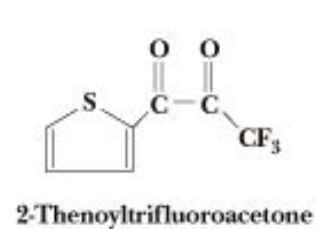
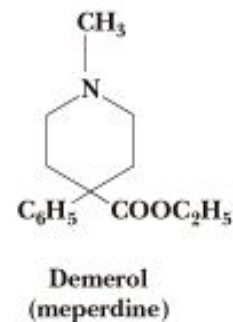
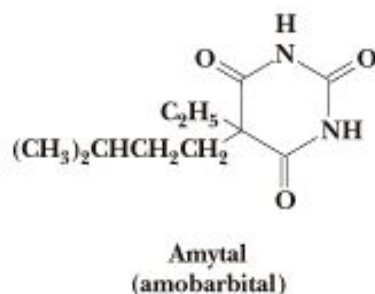
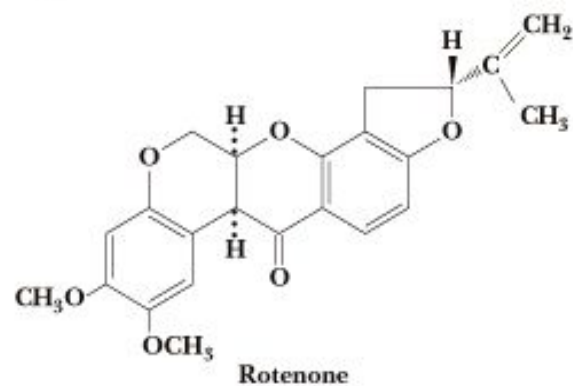
Ингибиторы окислительного фосфорилирования

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

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
 Figure 21.30



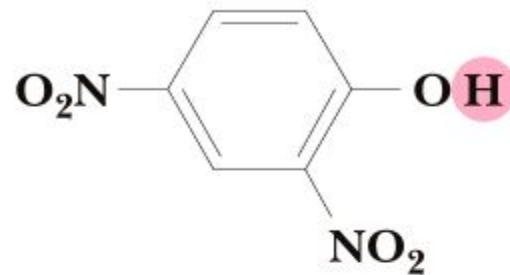
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.29



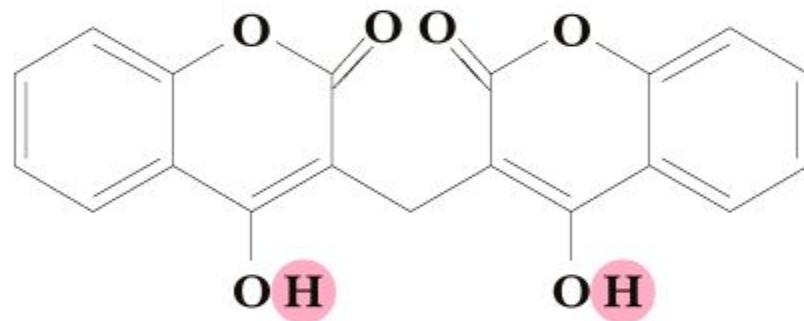
Разобшщители

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

Dinitrophenol

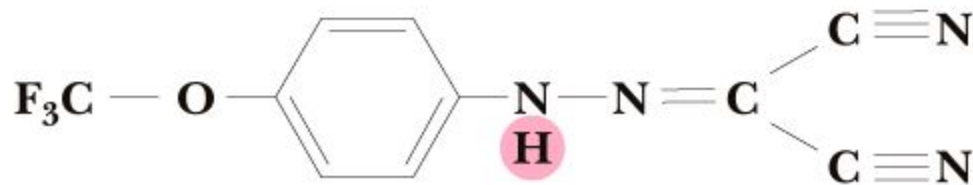


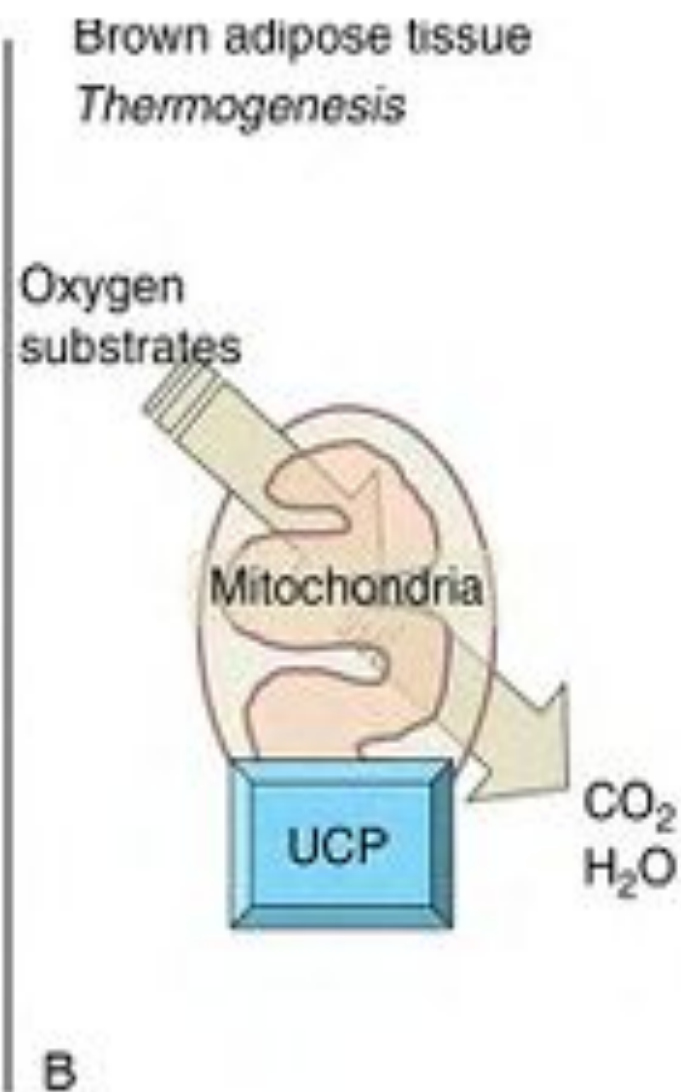
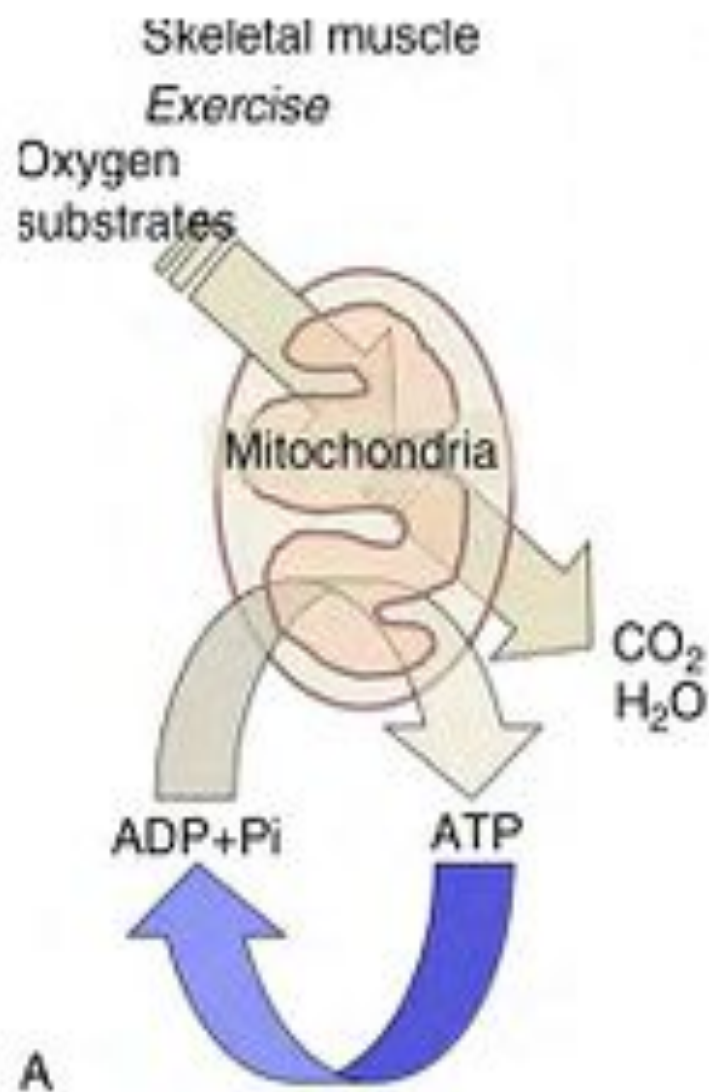
Dicumarol

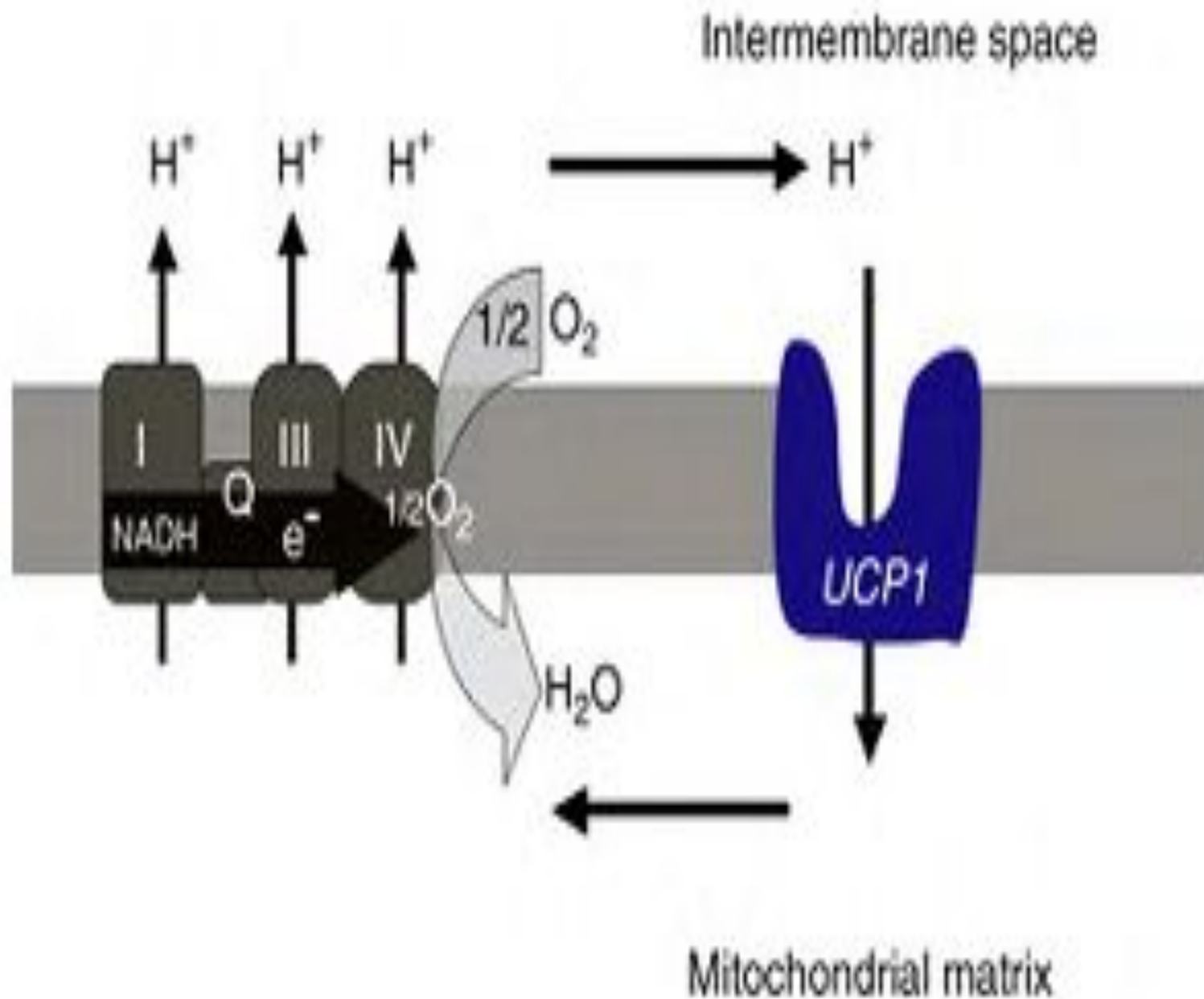


Carbonyl cyanide-p-trifluoromethoxyphenyl hydrazone

—best known as FCCP; for Fluoro Carbonyl Cyanide Phenylhydrazone

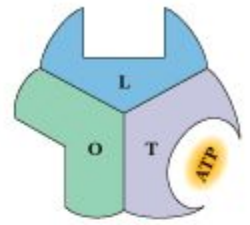




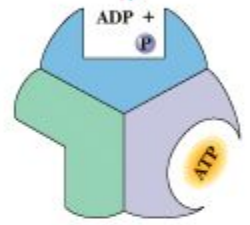


АТФ-АДФ транслоказа

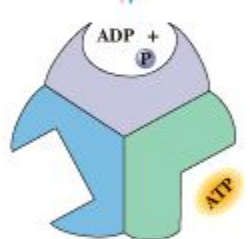
- В большинстве клеток синтез основного количества АТФ происходит в митохондриях, а основные потребители АТФ расположены вне её;
- В мембране есть белок АТФ/АДФ-антипортер, осуществляющий перенос этих метаболитов через мембрану;
- Молекула АДФ поступает в митохондриальный матрикс только при условии выхода 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.



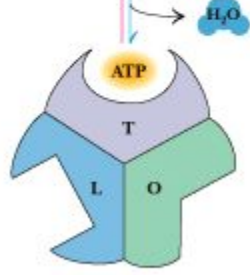
ADP + P_i



Energy



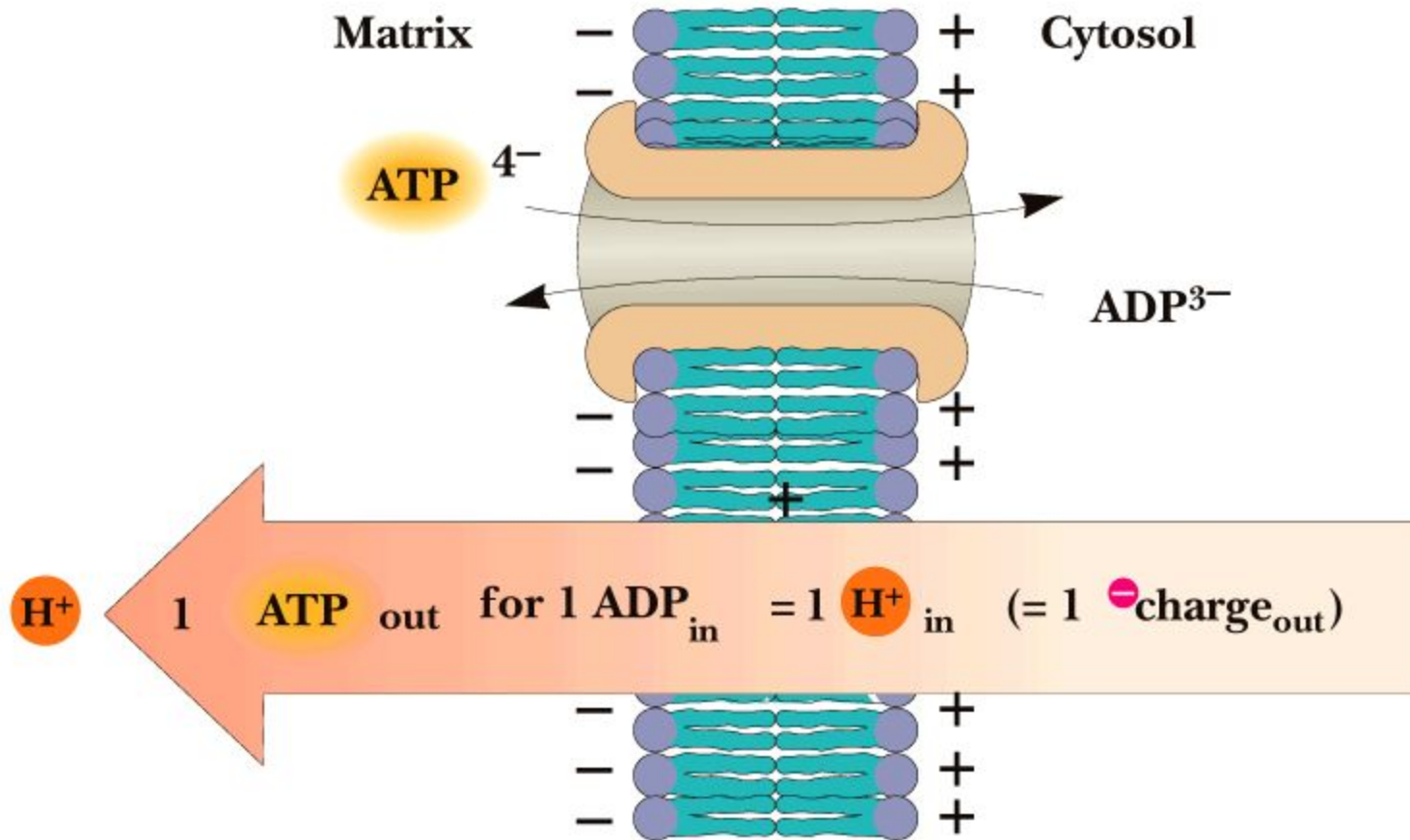
ATP
H₂O



ADP + P_i

Cycle repeats

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 21.32



Коэффициент P/O

- 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.

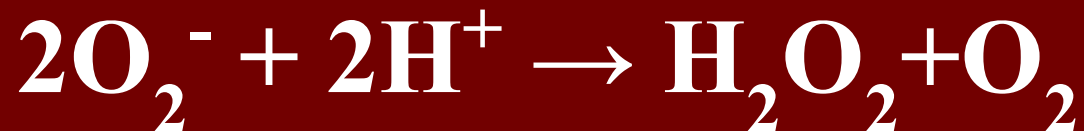
Активные формы кислорода.

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.

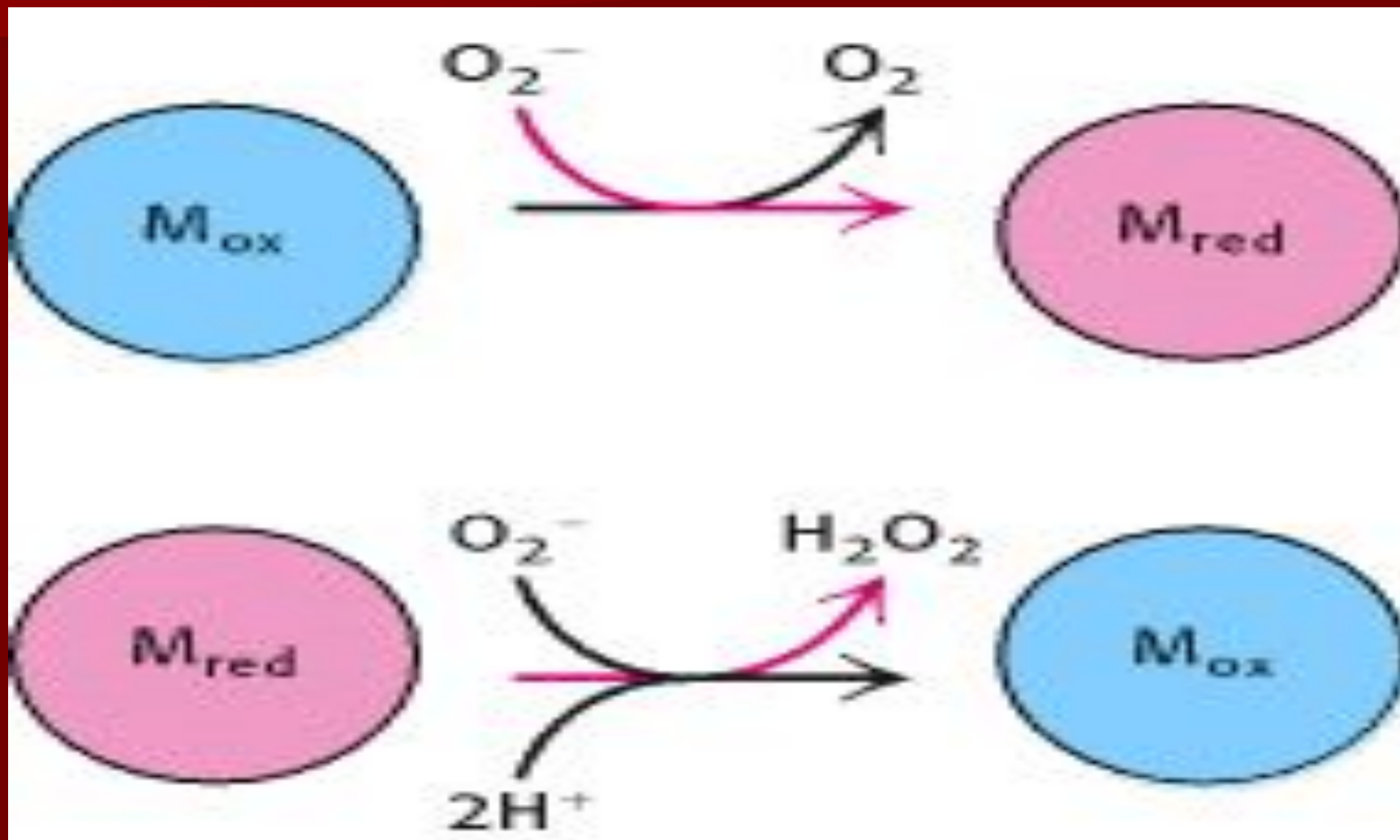
Супероксид ион

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

- Детоксикация O_2^- :



Механизм действия супероксиддисмутазы

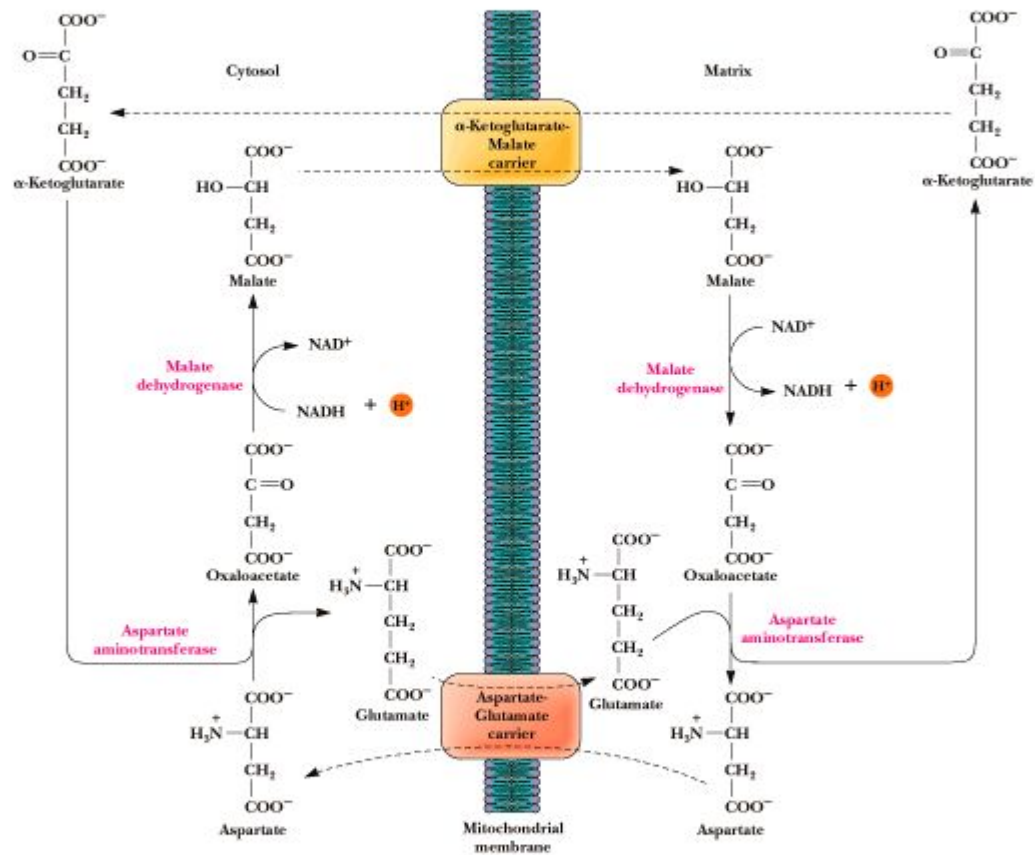


Пероксид водорода

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

