

**Окислитель-
ное
фосфори-
рование
создает
условия для
АТФ-универ-
сальной
формы энергии
в живых
организмах**

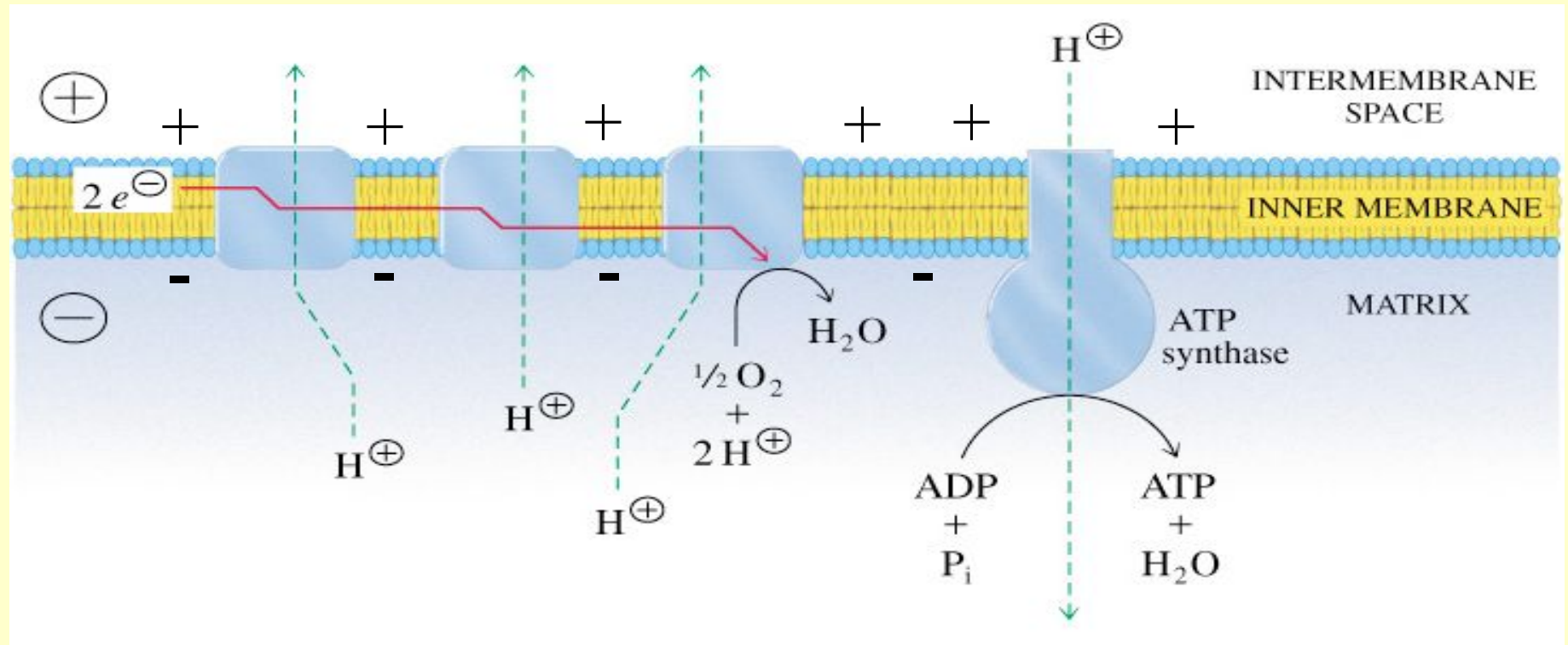
ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ



Хемиосмотическая теория

- Предложена **Питером Митчелом** в 1960 (Нобелевская премия, 1978)
- Хемиосмотическая теория: **транспорт электронов и синтез АТФ объединены протонным градиентом через внутреннюю мембрану митохондрий**





1. Необходима **интактная митохондриальная мембрана**
2. Транспорт электронов через ЭТЦ генерирует **протонный градиент**
3. **АТФ синтаза** катализирует фосфорилирование АДФ в реакции, которая обеспечивается прохождением H^+ через внутреннюю мембрану в матрикс

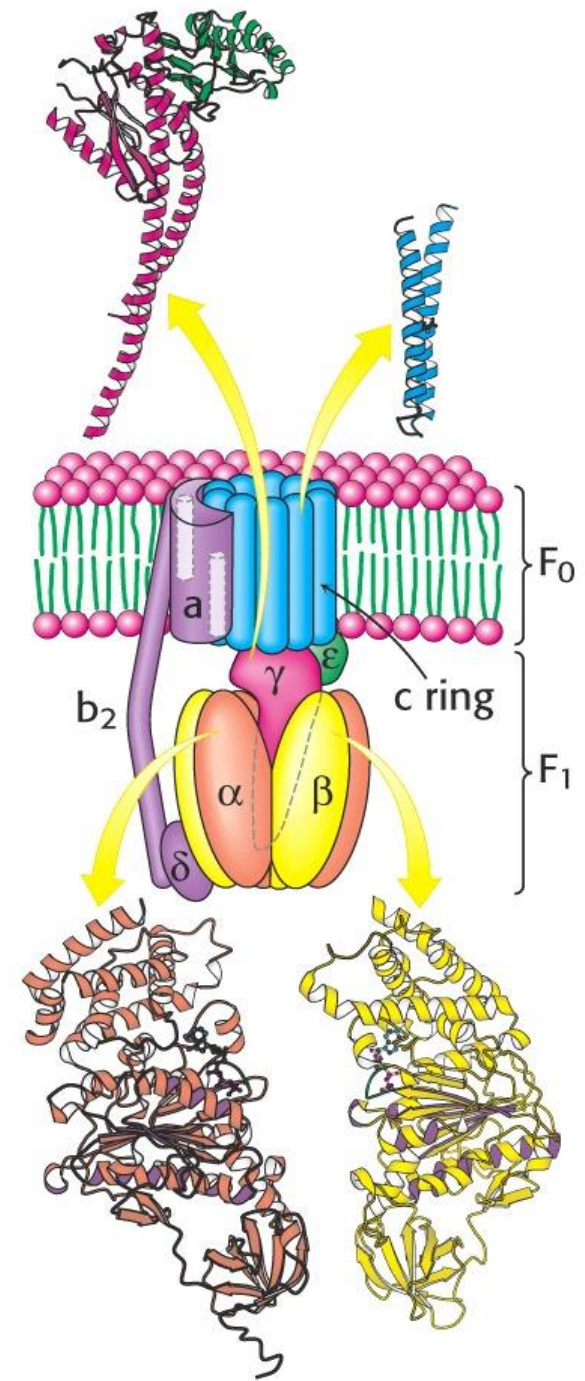
АТФ синтаза

Две субъединицы, F_0 и F_1

F_1 содержит каталитические субъединицы, где АДФ и P_i связываются.

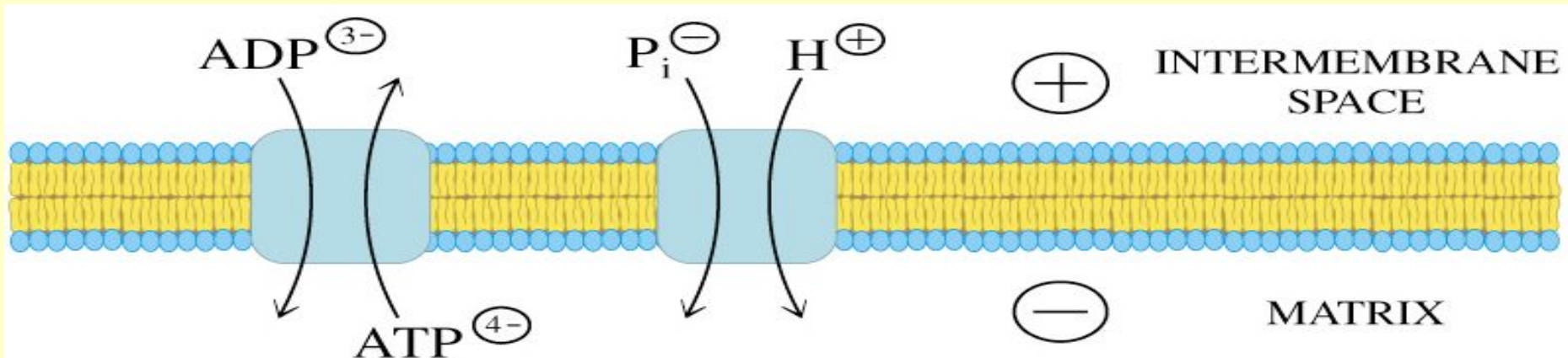
F_0 пронизывает мембрану и служит как протонный канал.

Энергия, которая освобождается при прохождении протонов используется для синтеза АТФ.



Активный транспорт АТФ, АДФ и P_i через внутреннюю митохондриальную мембрану

- АТФ должен транспортироваться в цитозоль, а АДФ и P_i - в матрикс
- АДФ/АТФ переносчик меняет митохондриальное АТФ на цитозольное АДФ
- Фосфат ($H_2PO_4^-$) транспортируется в матрикс за механизмом симпорта 3 H^+ .
- Переносчик фосфата снижает ΔpH .



РЕГУЛЯЦИЯ ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

Сопряжение тканевого дыхания с окислительным фосфорилирование

Транспорт электронов тесно связан с фосфорилированием.

АТФ не может быть синтезировано путем окислительного фосфорилированием если нет энергии освобожденной при электронном транспорте.

Электроны не проходят через электрон-транспортную цепь если АДФ не фосфорилируется к АТФ.

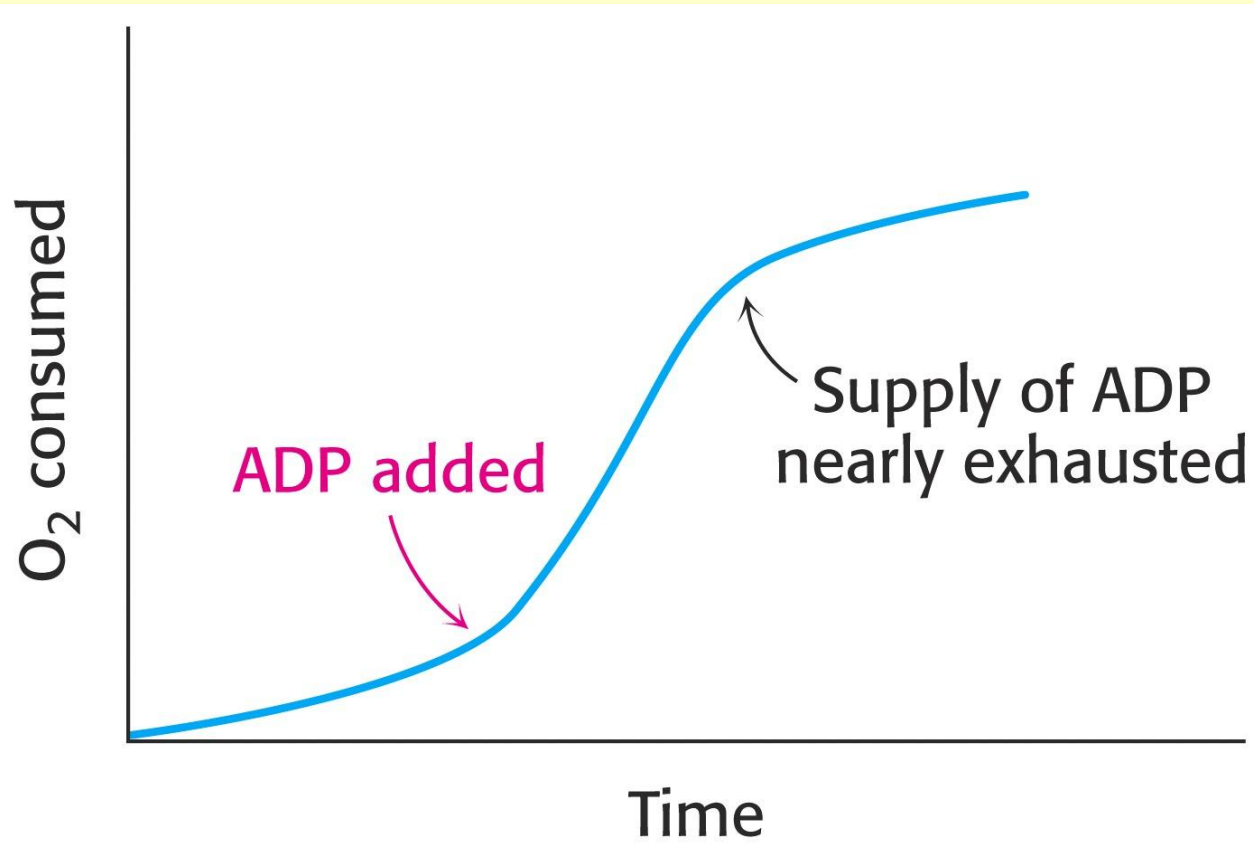
Основные регуляторы: НАДН, O_2 , АДФ

Внутримитохондриальное соотношение АТФ/АДФ является контрольным механизмом

Високое соотношение ингибирует так как АТФ аллостерически связывается с комплексом IV

Дыхательный контроль

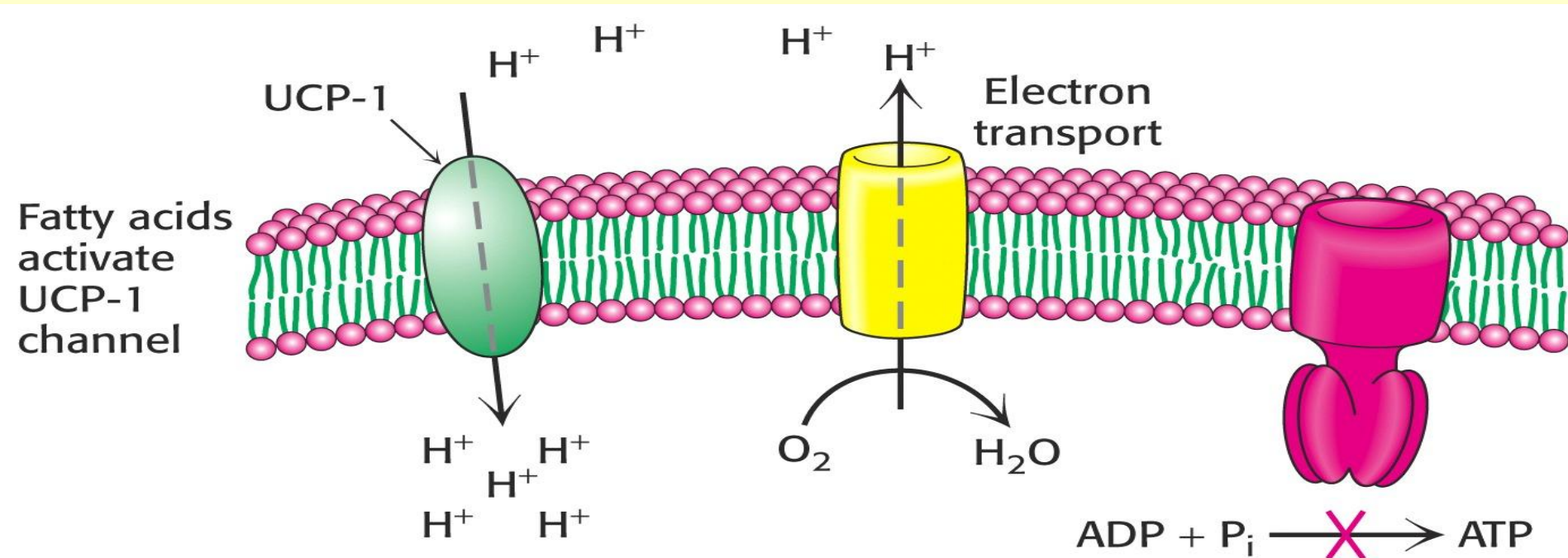
Регуляция скорости окислительного фосфорилирования с помощью уровня АДФ называется *дыхательным контролем*.



Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

Внутренняя митохондриальная мембрана содержит *разобщительный белок*.

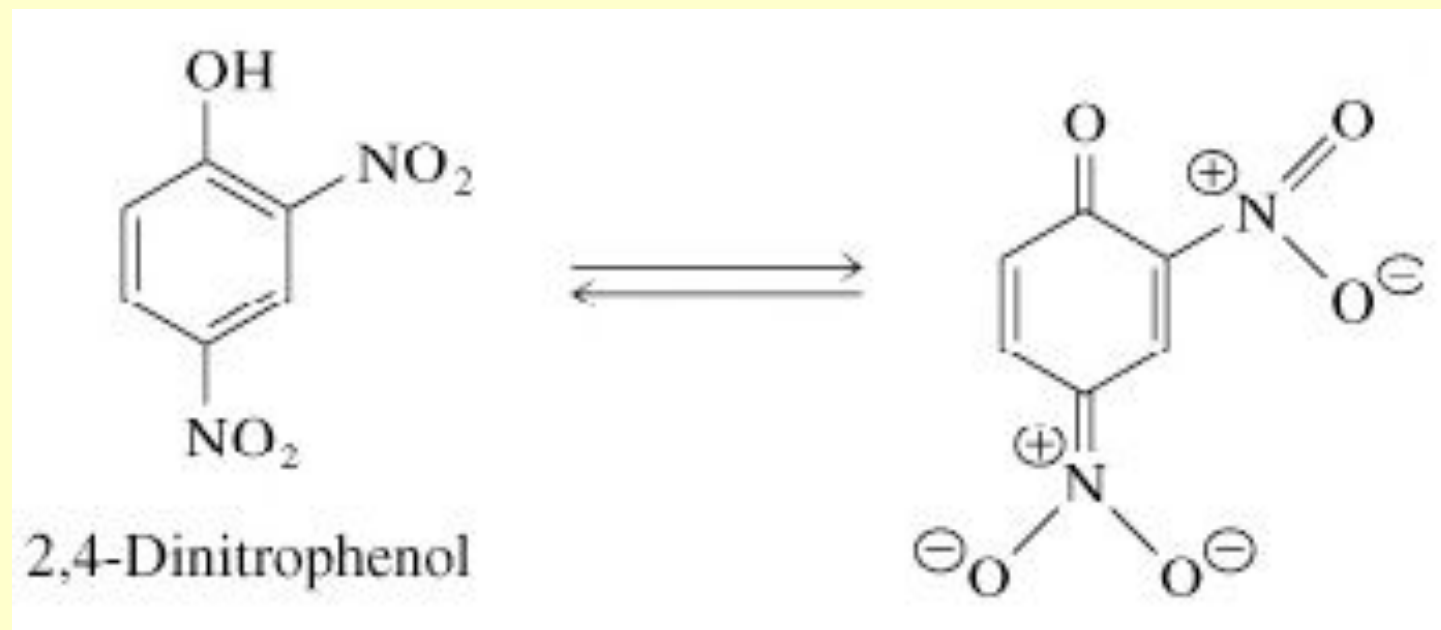
Разобщительный белок образует канал для перехода протонов из цитозоля в матрикс.



Разобщители

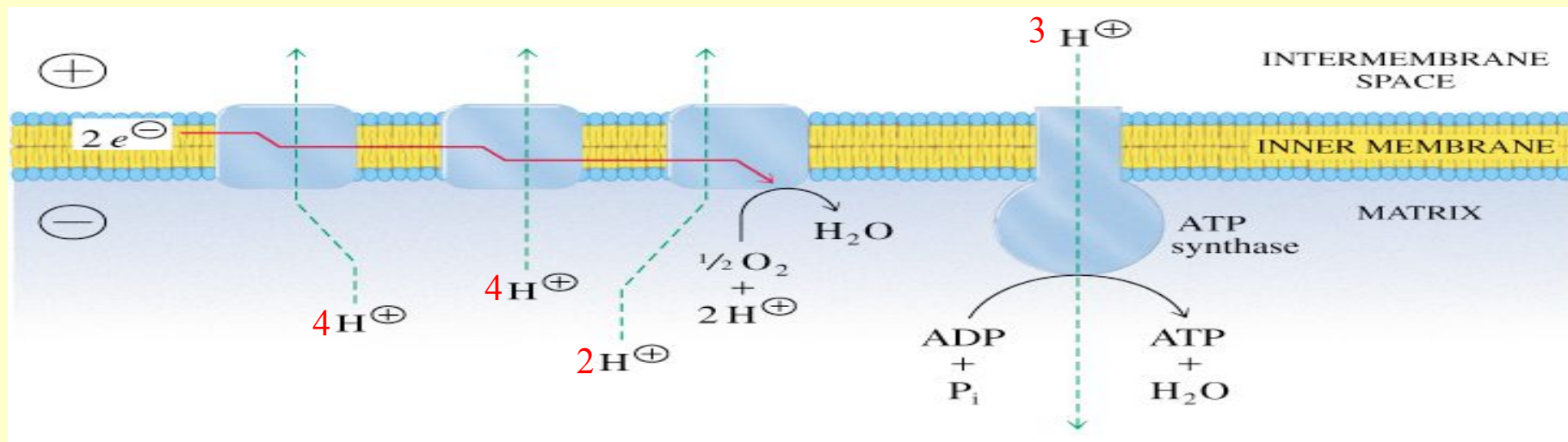
- Разобщители являются жирорастворимыми **слабыми кислотами**
- Разобщители **снижают протонный градиент** транспортируя протоны через мембрану

2,4-Динитрофенол – эффективный разобщитель



Выход АТФ

10 протонов выкачивают из матрикса во время транспорта двух электронов с НАДН к O_2 (комплекс I, III и IV).



Перенесение $3H^+$ необходимо для синтеза одной молекулы АТФ АТФ-синтазой

$1 H^+$ необходимый для транспорта P_i .

$4 H^+$ используется для каждой синтезированной АТФ

Для НАДН: $10 H^+ / 4 H^+ = 2.5$ АТФ

Для ФАДН₂: $6 H^+ / 4 H^+ = 1.5$ АТФ

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ - 1

На протяжении
столетий пекари и
пивовары
используют
превращение
глюкозы в этанол
и CO_2 в процессе
гликолиза в
дрожжах



Гликолиз наиболее ранее открытый и наиболее важный процесс метаболизма углеводов

Гликолиз – метаболический путь, в котором глюкоза превращается в пируват с образованием небольшого количества энергии в форме АТФ и НАДН.

Гликолиз – анаэробный процесс.

Гликолиз осуществляется и в анаэробных и в аэробных организмах.

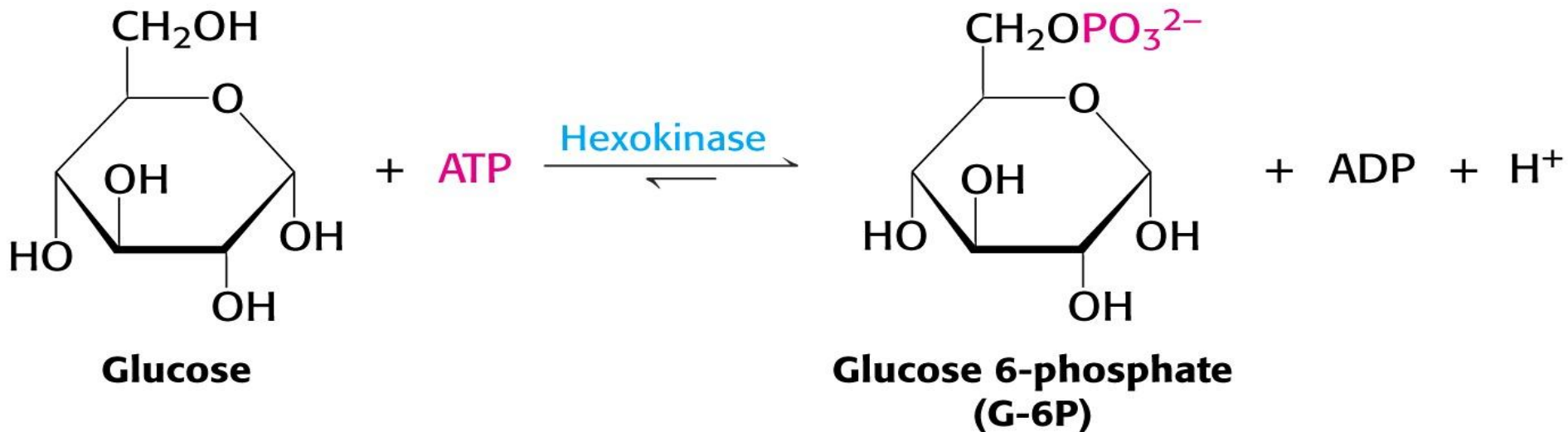
В гликолизе одна молекула глюкозы превращается в две молекулы пирувата.

Гликолиз осуществляется **в цитозоле.**

10 реакций гликолиза

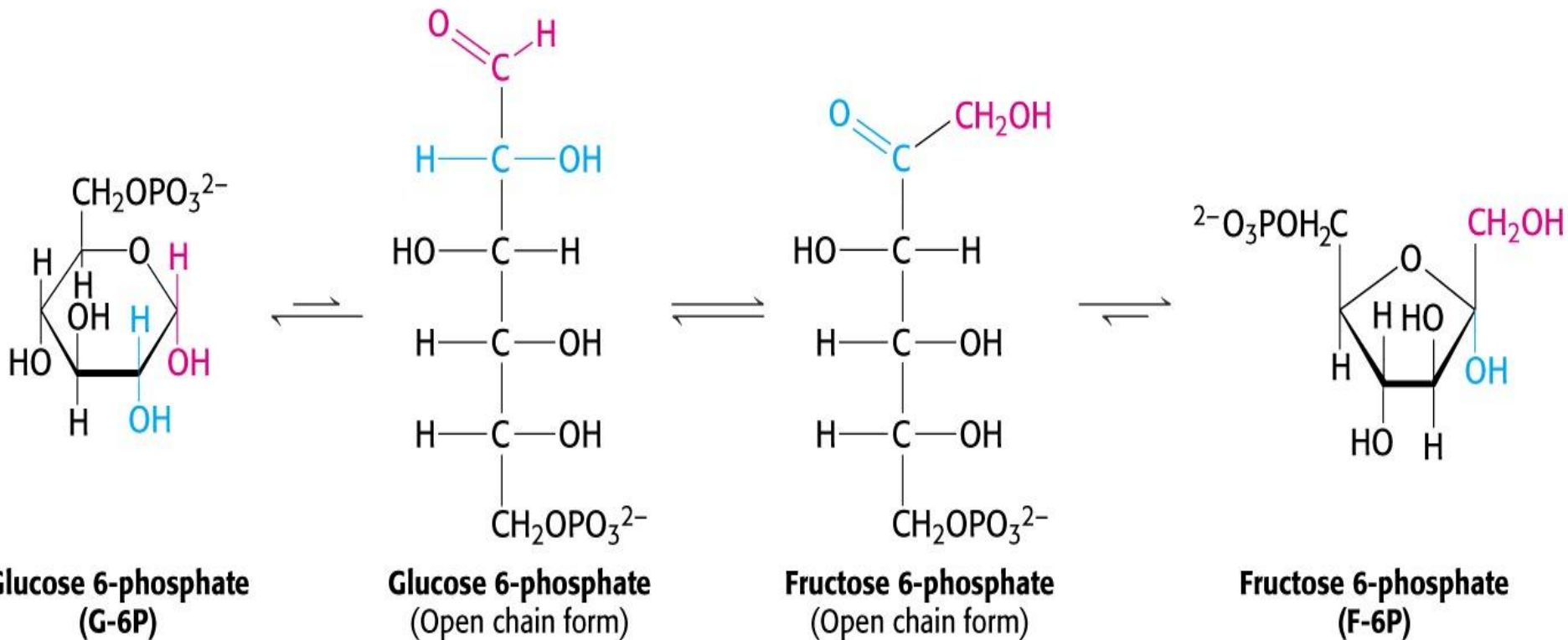
1. Гексокиназа

- Переносит фосфорную группу с АТФ к глюкозе с образованием **глюкозо-6-фосфата**
- Четыре киназы действуют в гликолизе: 1,3,7 и 10
- Все четыре киназы требуют ион Mg^{2+} и похожи по механизму действия



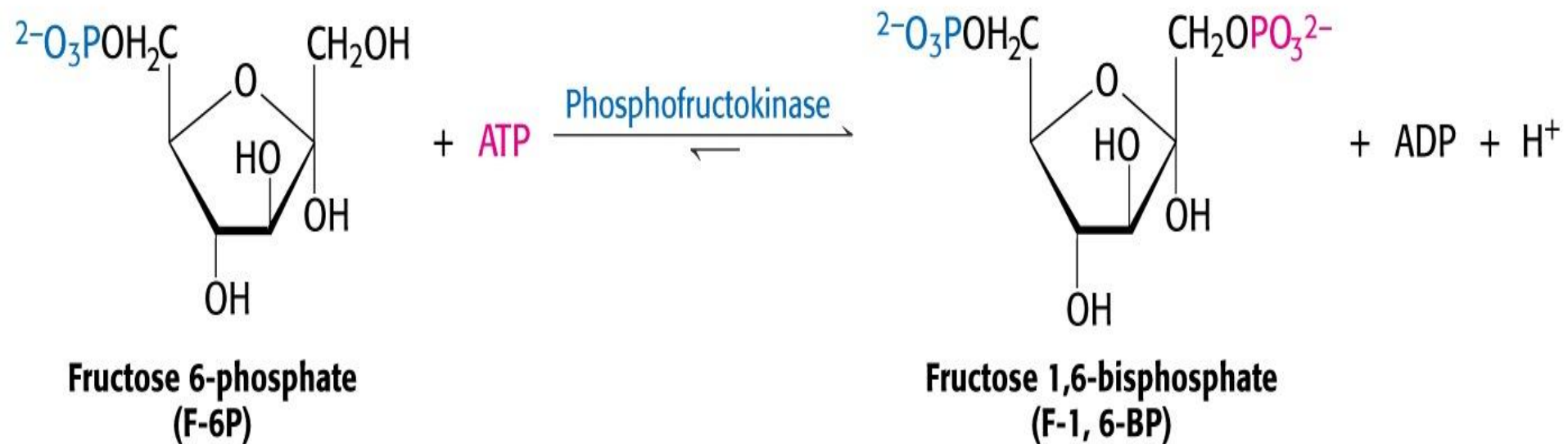
2. Глюкозо-6-фосфат изомераза

- Превращает глюкозо-6-фосфат в фруктозо-6-фосфат



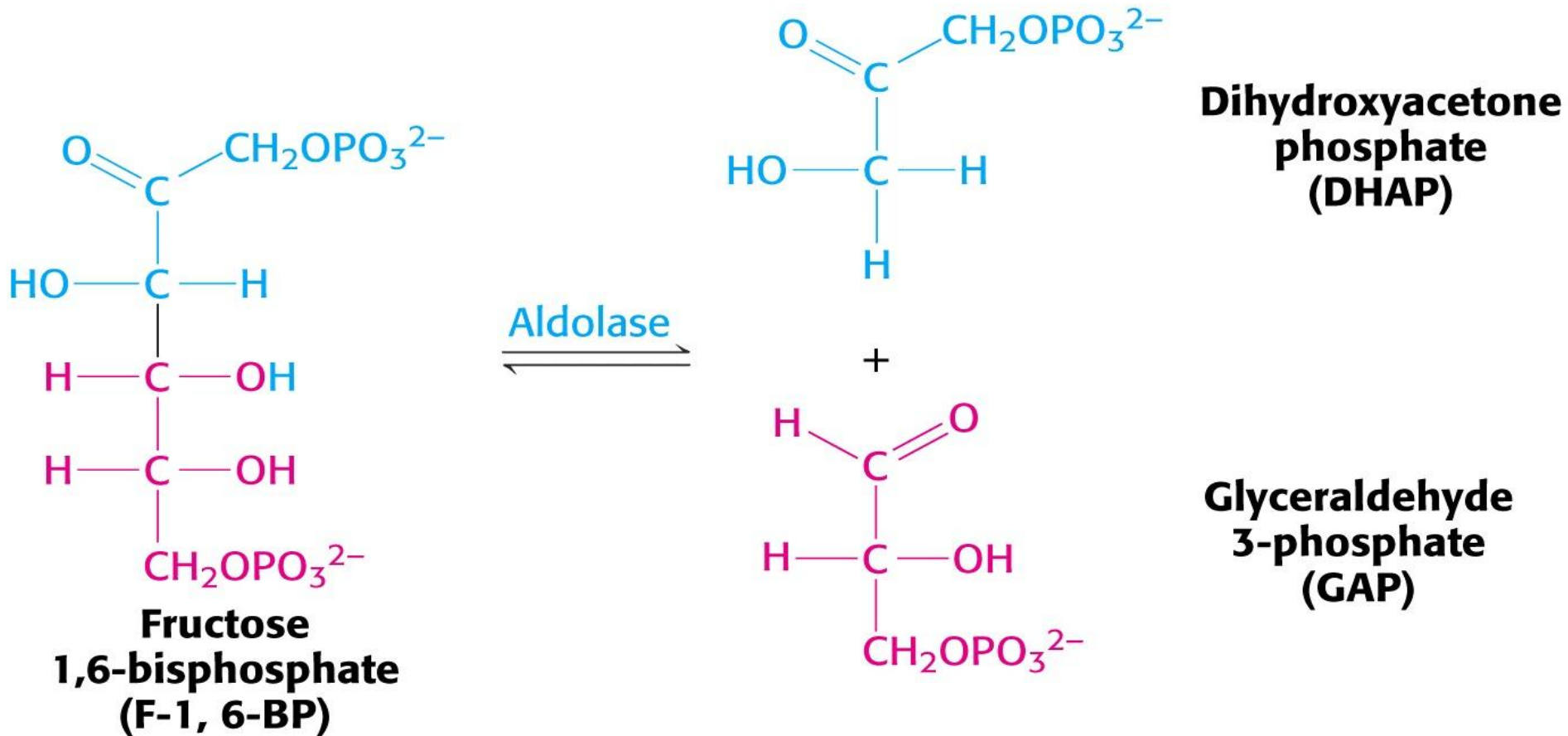
3. Фосфофруктокиназа-1 (ФФК-1)

- Катализирует перенесение фосфорной группы с АТФ к фруктозо-6-фосфату с образованием **фруктозо-1,6-дифосфата**



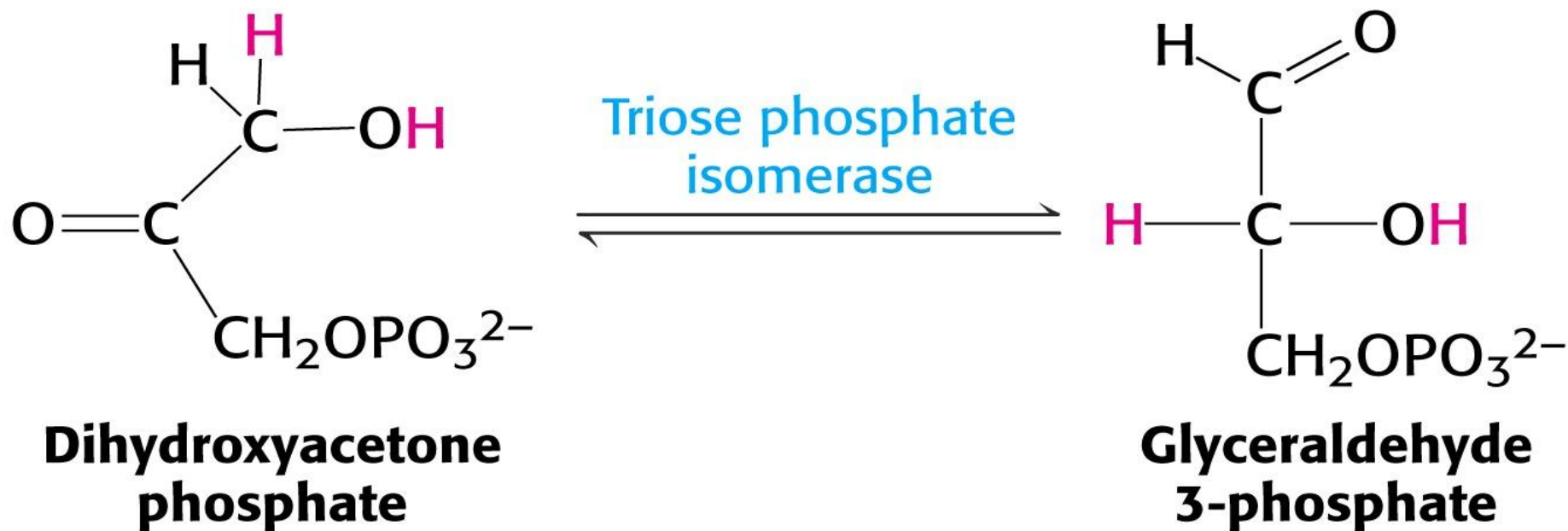
4. Альдолаза

- Расщепляет гексозу - фруктозо-1,6-дифосфат на две триозы: глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат.



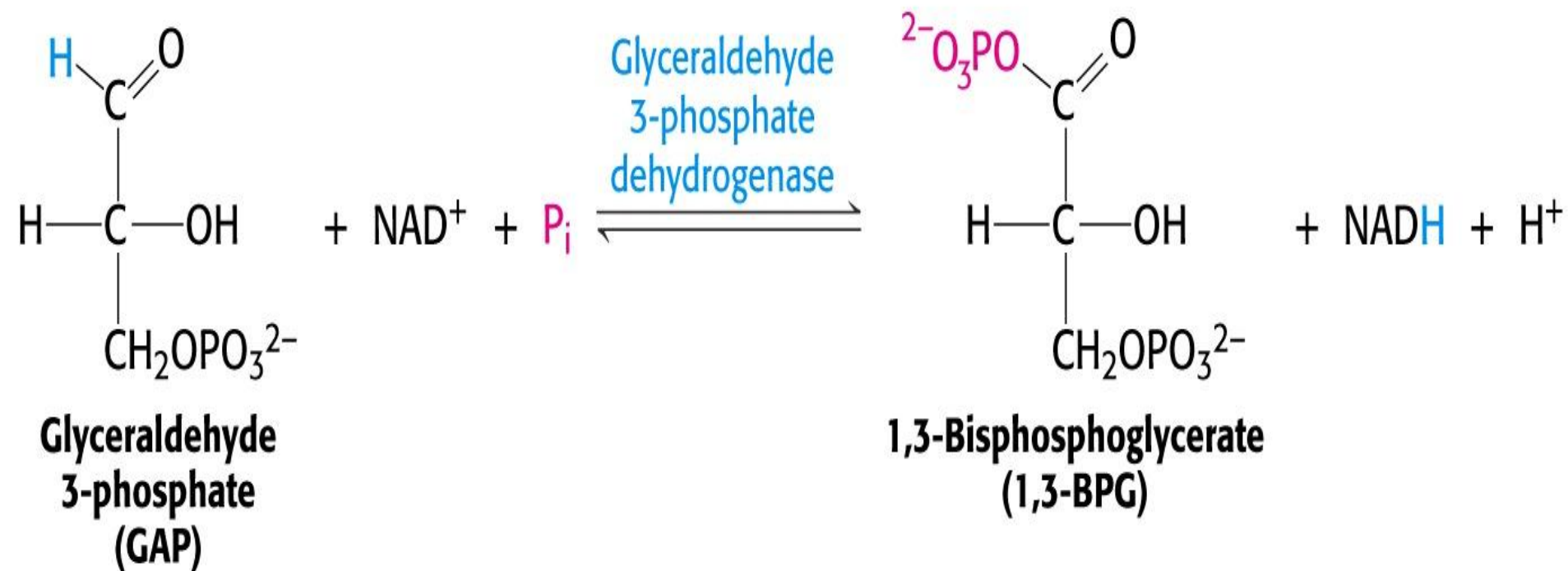
5. Триозофосфат изомераза

- Превращает ДГАФ в ГАФ
- Реакция обратимая. При Равновесии 96% ДГАФ и 4% ГАФ.



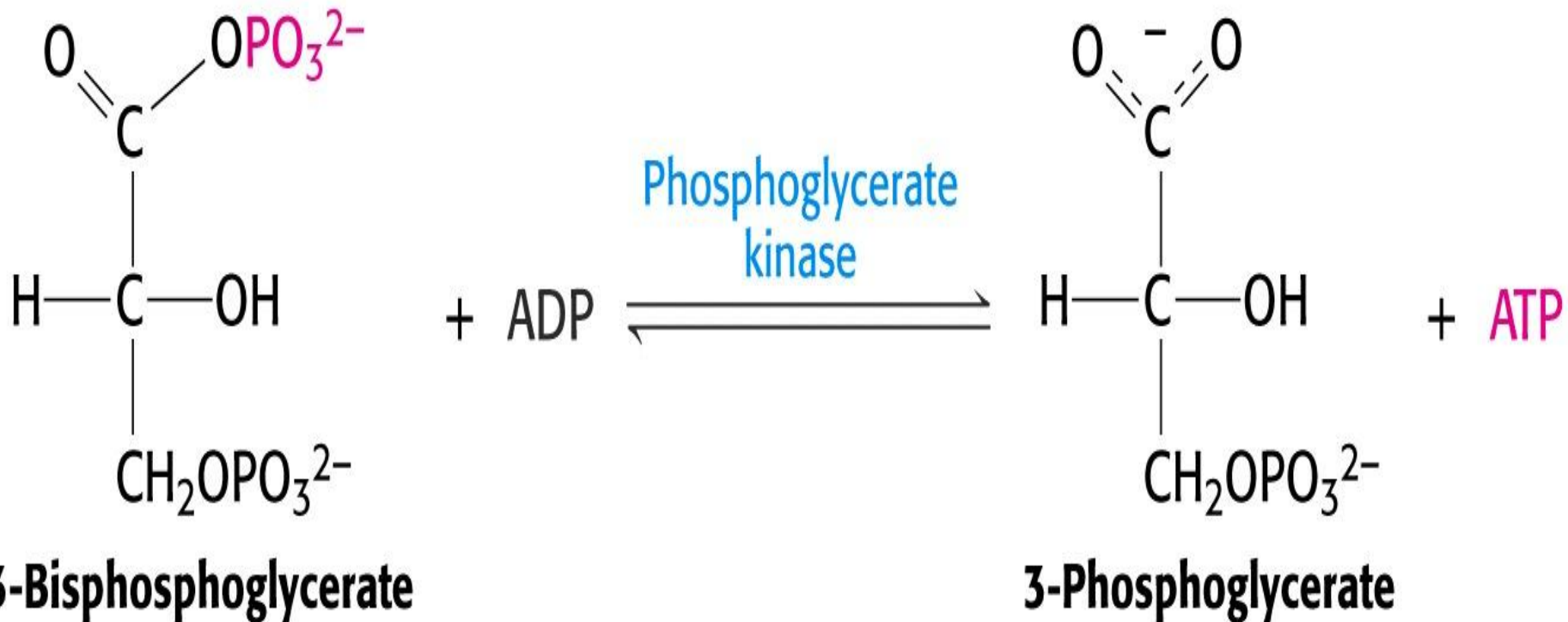
6. Глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназа

- Превращение ГАФ в 1,3-дифосфоглицерат
- Молекула НАД⁺ восстанавливается в НАДН



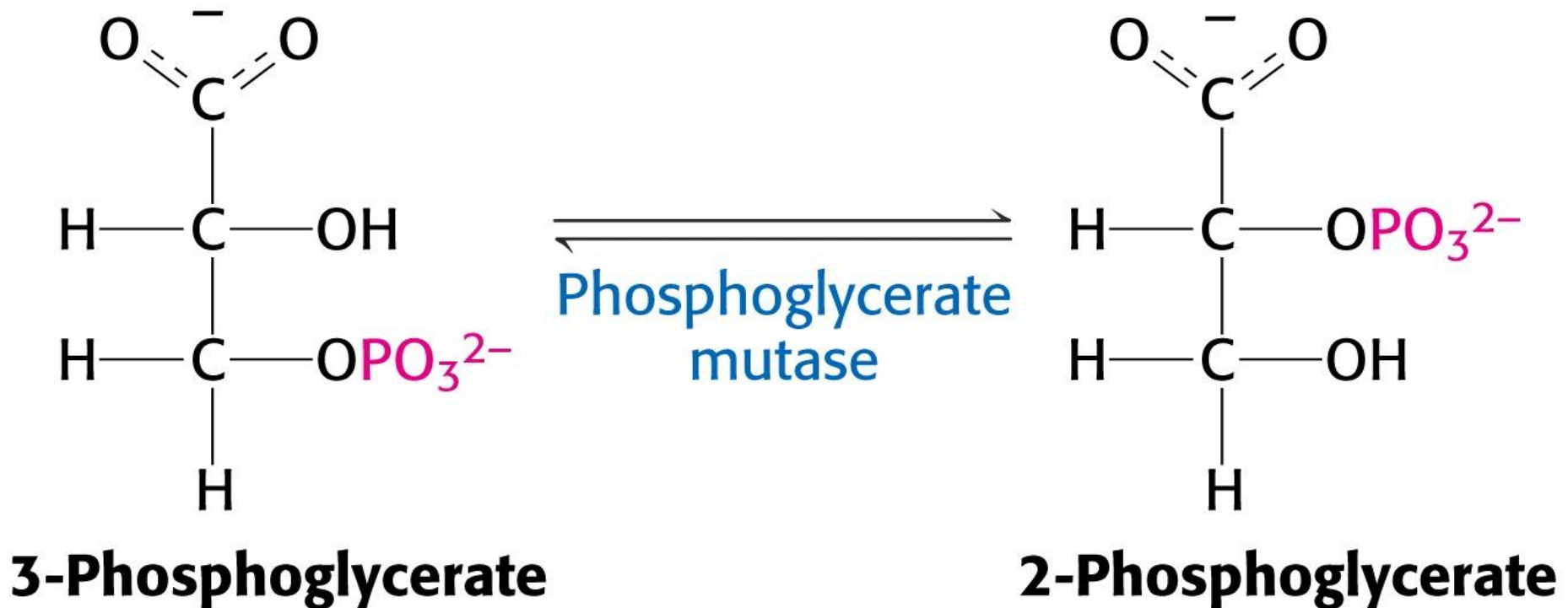
7. Фосфоглицераткиназа

- Переносит фосфатную группу с 1,3-дифосфоглицерата на АДФ с образованием **АТФ** и 3-фосфоглицерата - **субстратное фосфорилирование**



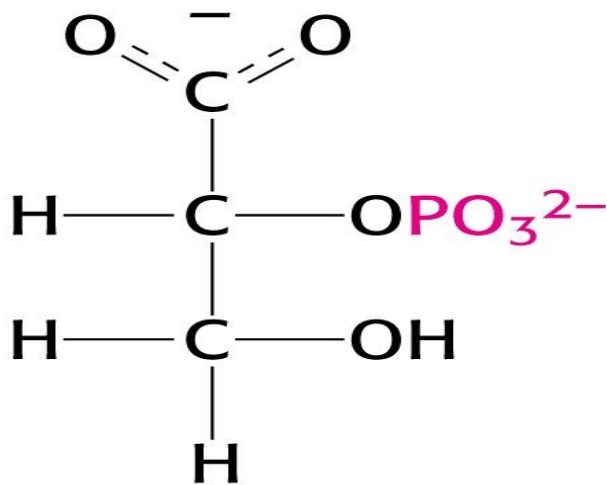
8. Фосфоглицератмутаза

- Катализирует перенесение фосфатной группы с одной части молекулы к другой

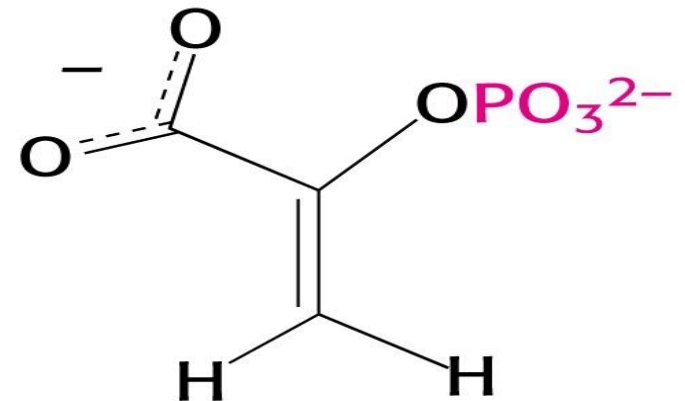
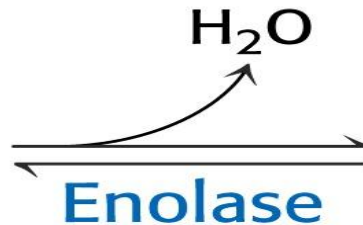


9. Энолаза

- 2-Фосфоглицерат превращается в фосфоэнолпируват
- Фосфоэнолпируват имеет высокий фосфорил-трансферный потенциал



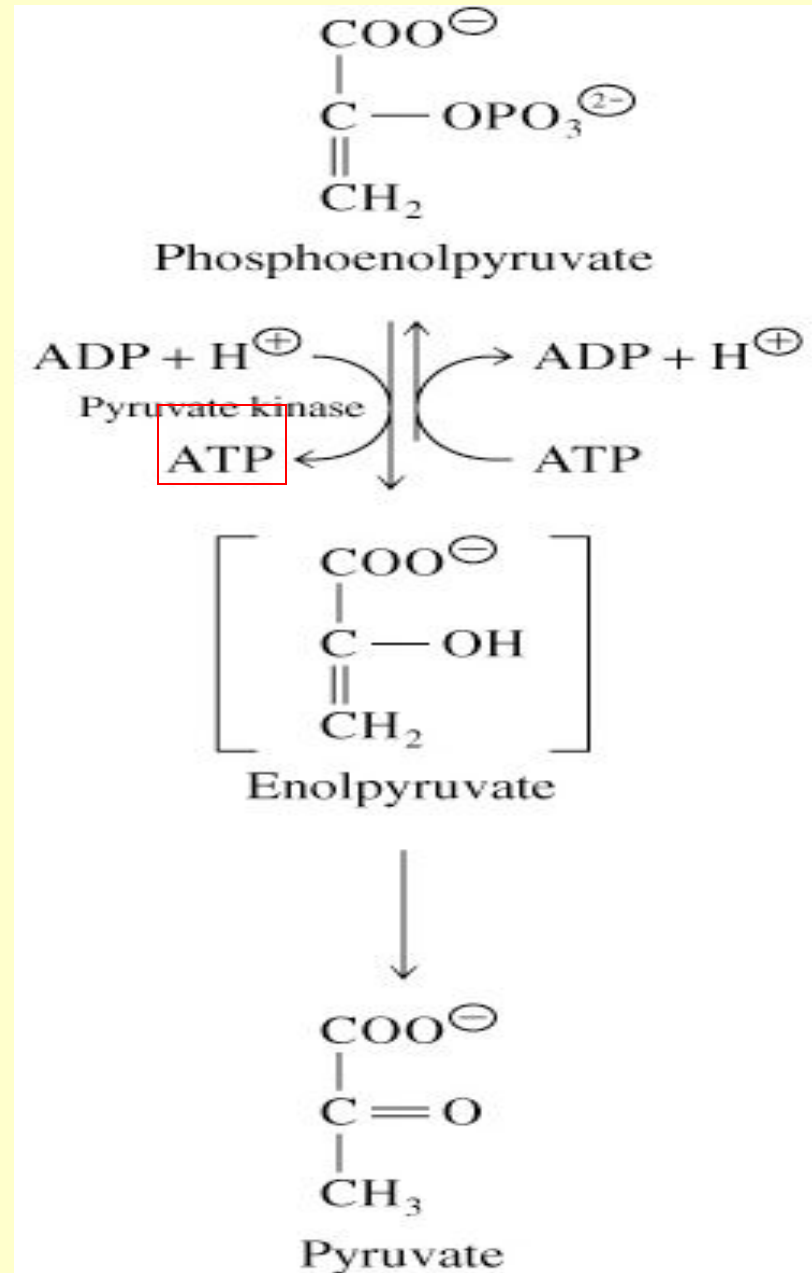
2-Phosphoglycerate



Phosphoenolpyruvate

10. Пируваткиназа

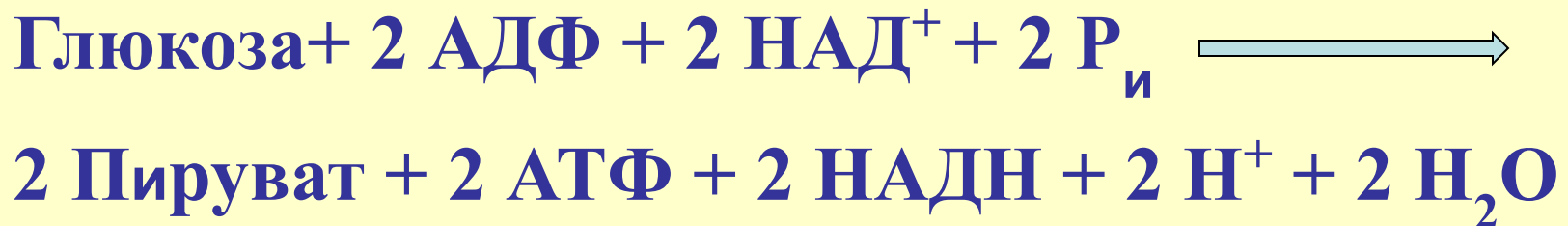
- Катализирует реакцию **субстратного фосфорилирования**:
- Необратимая реакция
- Регуляторная реакция



Общая реакция гликолиза

Во время превращения глюкозы к пирувату:

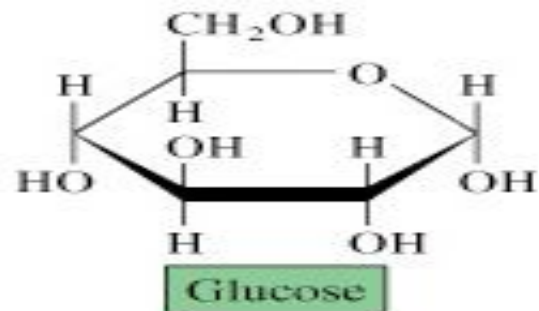
- Две молекулы АТФ вырабатываются
- Две молекулы НАД восстанавливаются с образованием НАДН



Научные исследования ферментации виноградного сахара были первыми исследованиями гликолиза



Судьба пирувата



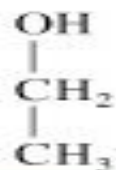
Glycolysis



2 Pyruvate

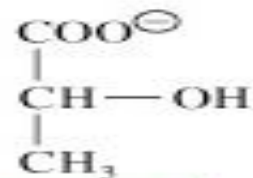
2 CO₂

(b)



2 Ethanol

(c)

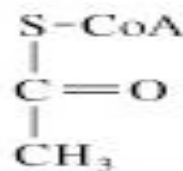


2 Lactate

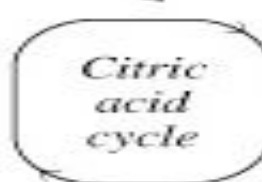
(a)

O₂

2 CO₂



2 Acetyl CoA



O₂

4 CO₂



Метаболизм пирувата к этанолу

Этанол образуется с пирувата в дрожжах и некоторых микроорганизмах в анаэробных условиях.

Две реакции:

1. Декарбоксилирование **пирувата** в **ацетальдегид**.

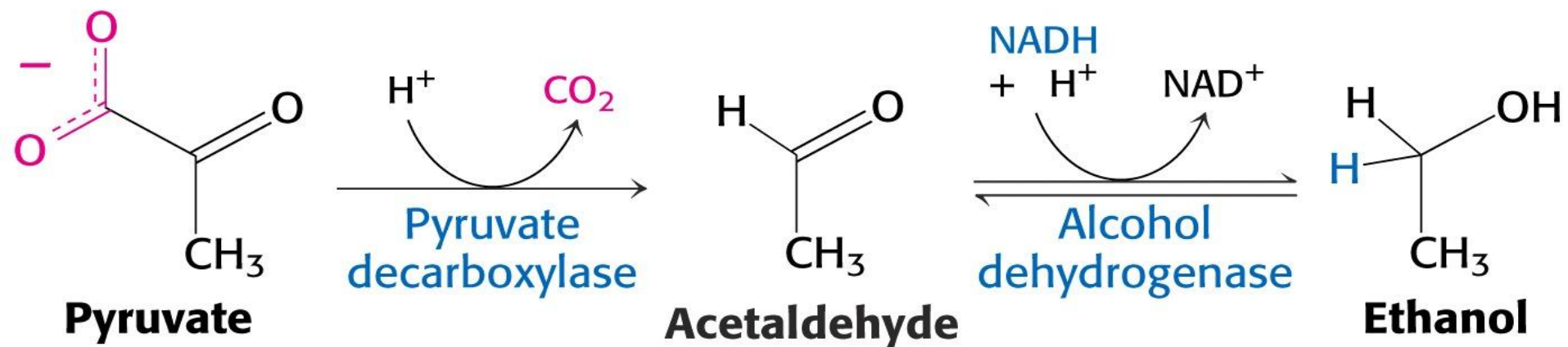
Фермент - **пируватдекарбоксилаза**.

Кофермент - **тиамин пирофосфат** (B_1)

2. Восстановление **ацетальдегида** в **этанол**.

Фермент - **алкогольдегидрогеназа**

Кофермент - **НАДН**.



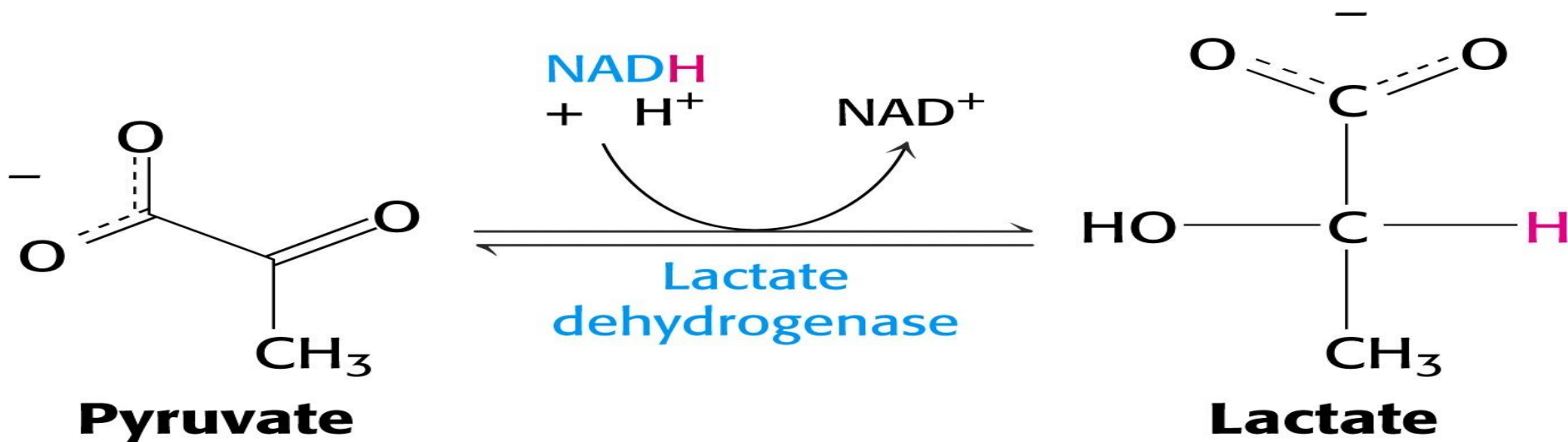
Метаболизм пирувата к лактату

Лактат образуется из пирувата в анаэробных условиях.

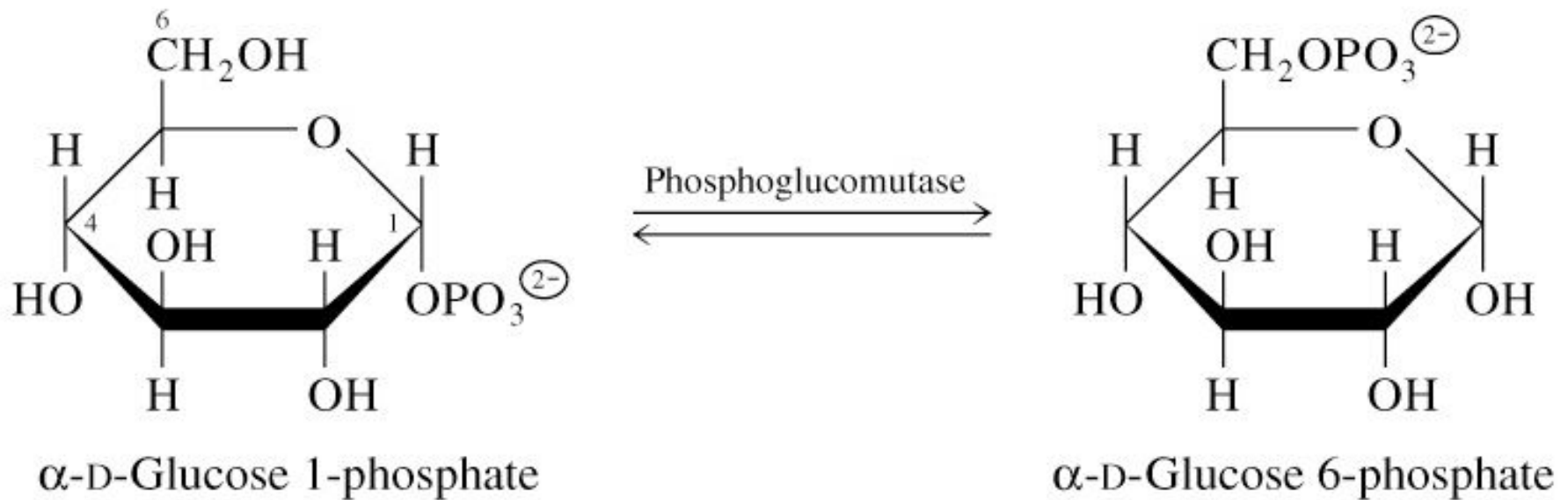
Превращение глюкозы в лактат называется **молочнокислым брожением**.

Фермент - **лактатдегидрогеназа**.

Кофермент - **НАДН**.



Глюкозо-1-фосфат превращается в глюкозо-6-фосфат фосфоглюкомутазой.





Непереносимость молока



Непереносимость лактозы (гиполактазия) обусловлена дефицитом лактазы, которая расщепляет лактозу к глюкозе и галактозе.

Микроорганизмы в толстом кишечнике ферментируют непереваренную лактозу в **молочную кислоту** генерируя метан (CH_4) и водород (H_2) – что приводит к кишечным расстройствам, метеоризму.

Молочная кислота – осмотически активное вещество и задерживает воду в кишечнике, приводит к **диарее**.

Газ и диарея ухудшают **абсорбцию других веществ** (жиров и белков).

Лечение:

- избегать продуктов, которые содержат лактозу;**
- фермент лактаза перорально.**



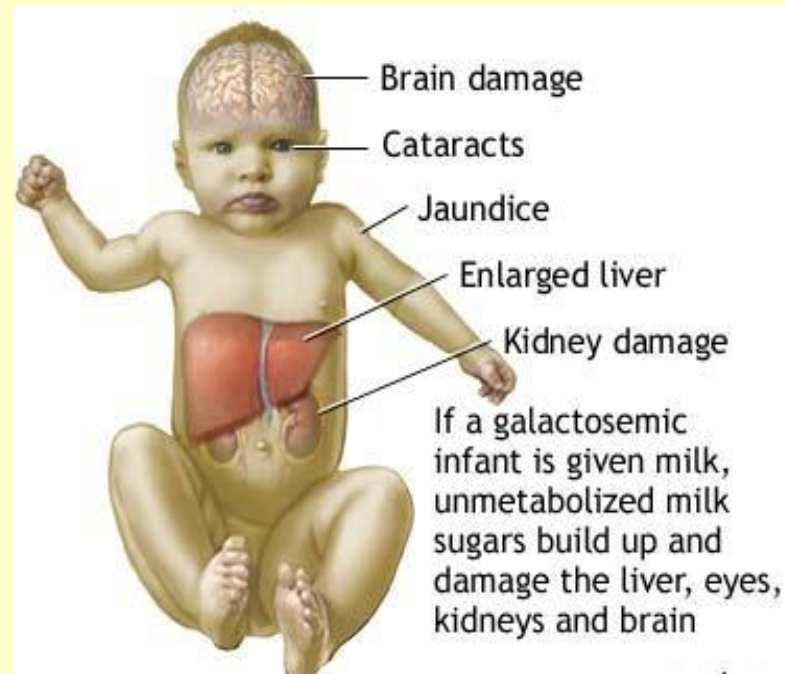
Галактоземия

Нарушение метаболизма галактозы - **галактоземия**.

Классическая галактоземия - это врожденный дефицит **галактозо-1-фосфат уридилтрансферазы**.

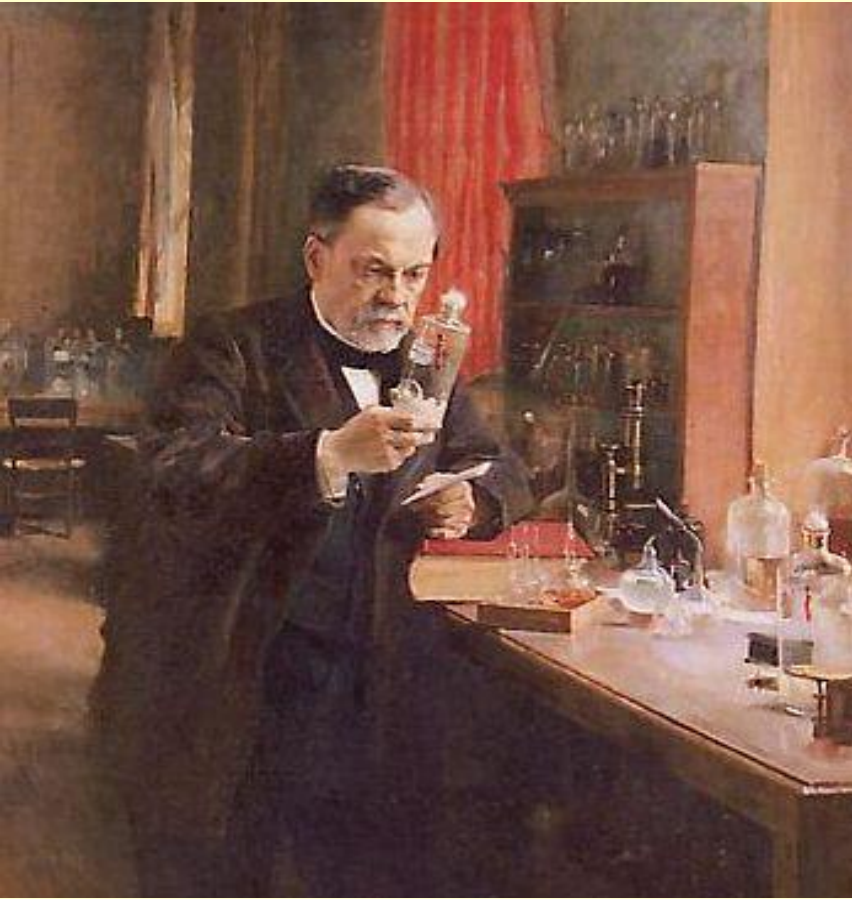
Симптомы:

- рвота, диарея после приема молока,
- увеличение печени, желтуха, цирроз,
- катаракта,
- летаргия и умственная отсталость,
- повышение галактозы в крови,
- появление галактозы в моче.



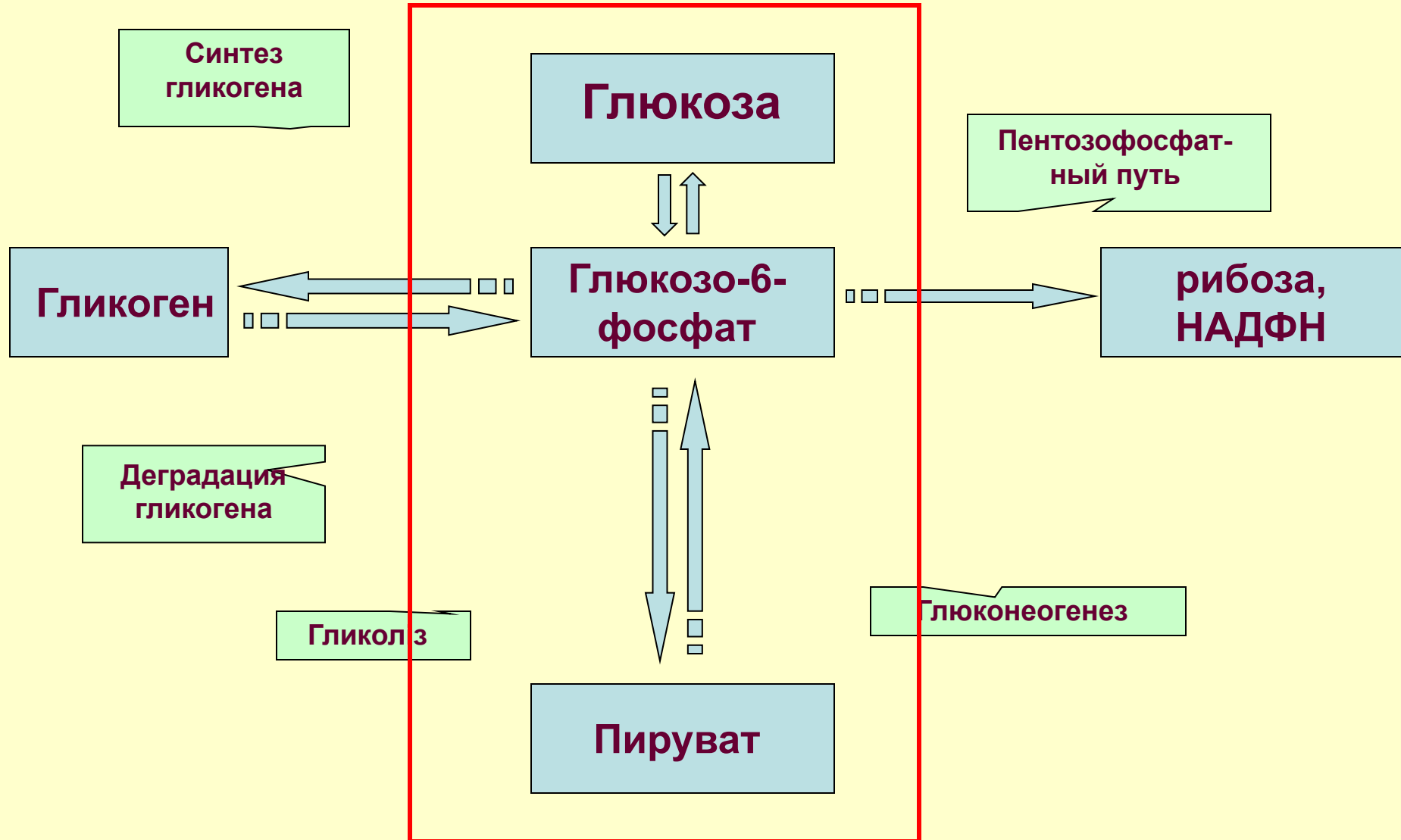
Лечение: исключить галактозу и лактозу из рациона.

Эффект Пастера



- В анаэробных условиях превращение глюкозы к пирувату **намного быстрее**, чем в аэробных
 - **Эффект Пастера** – гликолиз в присутствии кислорода протекает **медленнее**.
- Больше АТФ образуется в аэробных условиях, чем в анаэробных, потому в аэробных условиях меньше глюкозы используется.

Судьба глюкозы в клетке



Все клетки зависят от глюкозы.

Мозг особенно чувствителен к снижению уровня глюкозы (дневная потребность глюкозы для мозга **120 г**).

Эритроциты используют как топливо только глюкозу.

160 г глюкозы необходимо в день для **всего организма**.

Количество глюкозы в **крови 20 г**.

При длительном голодании организм должен синтезировать глюкозу из неуглеводных предшественников



Глюконеогенез – синтез глюкозы из неуглеводных компонентов

- Печень и почки – основные органы синтеза глюкозы
- Основные предшественники: **лактат**, **пируват**, **глицерол** и некоторые **аминокислоты**
- При голодании глюконеогенез поставляет почти всю глюкозу для организма
- Глюконеогенез – универсальный путь.

Глюконеогенез не является обратимым гликолизом

В гликолизе глюкоза превращается в пируват; в глюконеогенезе пируват превращается в глюкозу.

Но, **глюконеогенез не** является обратимым гликолизом.

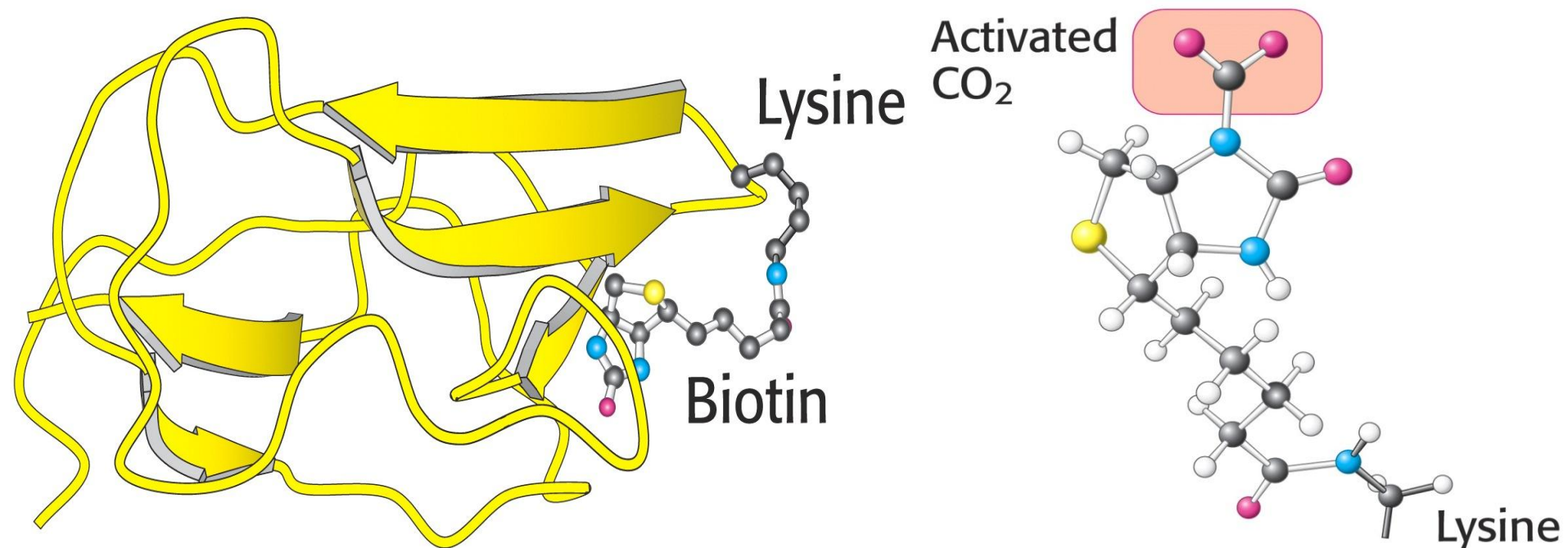
Есть три необратимые реакции в гликолизе – **гексокиназная, фосфофруктокиназная, и пируваткиназная.**

Вурасс I: Пируват → Фосфоэнолпируват

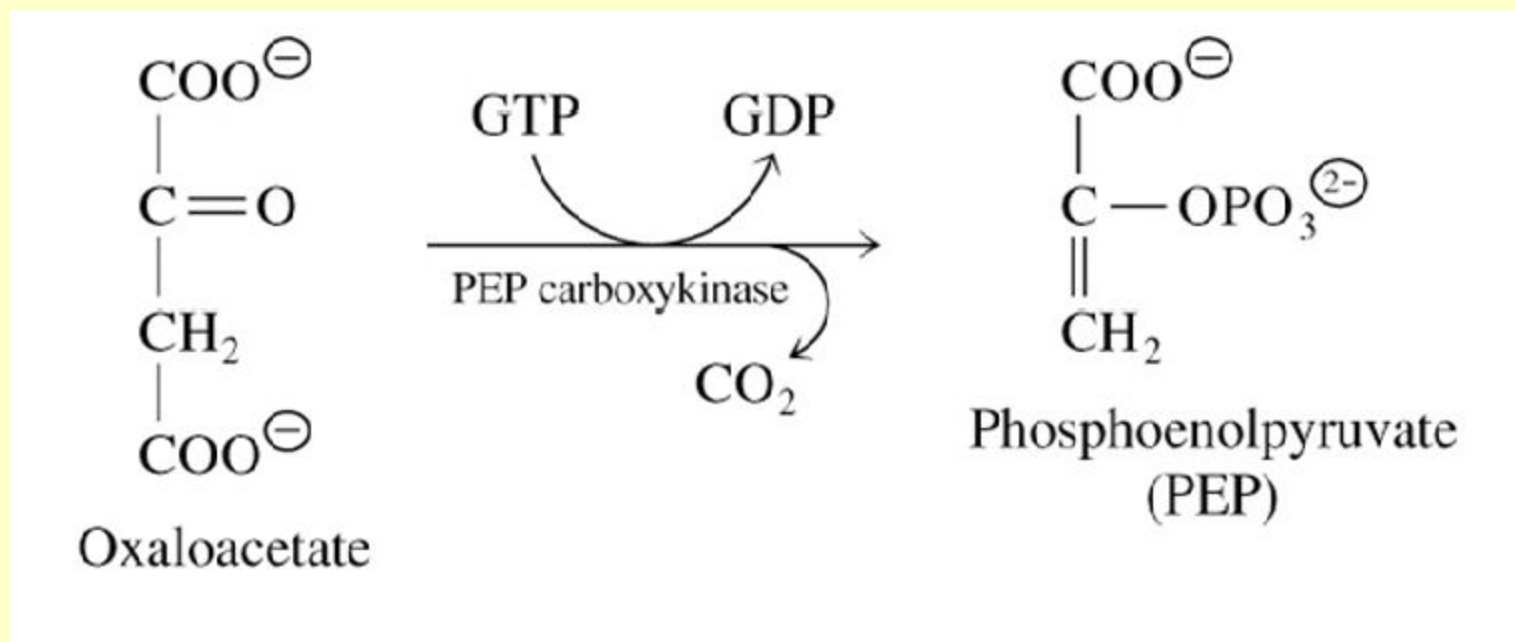
Первый шаг в глюконеогенезе - карбоксилирование **пирувата** в **оксалоацетат**.

Фермент **пируваткарбоксилаза** присутствует ~~только~~ в **митохондриях**.

Пируват транспортируется в митохондрии из цитоплазмы.



Фосфоенолпируват карбоксикиназная реакция

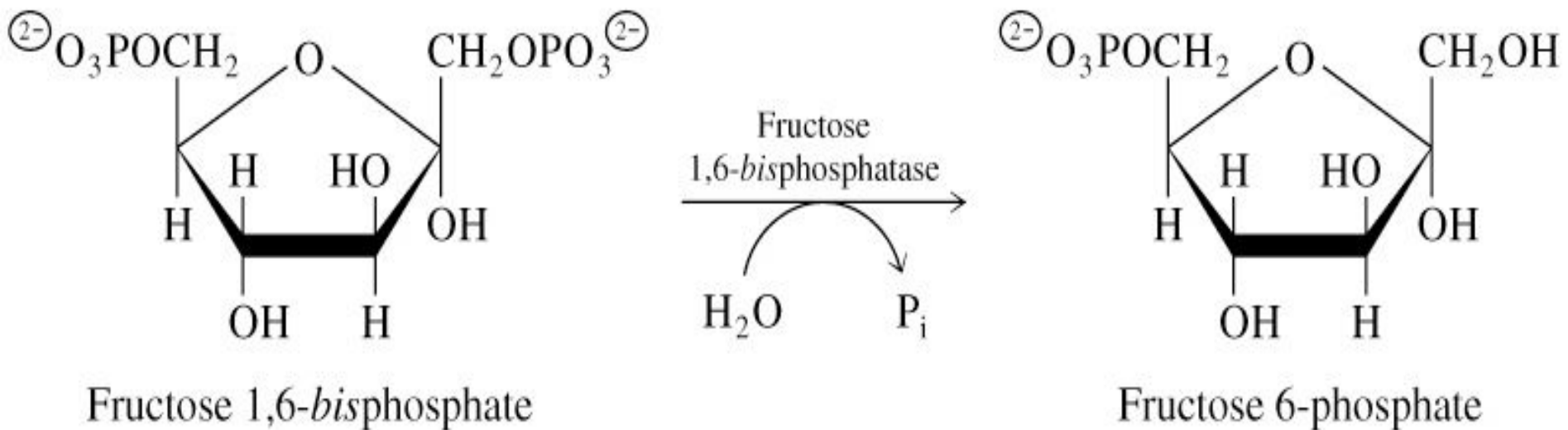


Проходит **в цитозоле**.

Одна молекула **АТФ** и одна молекула **ГТФ** используются для превращения пирувата в фосфоенолпируват.

Вурасс II: Фруктозо-1,6-дифосфат → фруктозо-6-фосфат

- Фермент *фруктозо-1,6-дифосфатаза*



Вурасс III: Глюкозо-6-фосфат → глюкоза

Глюкозо-6-фосфат не может дифундировать из клетки.

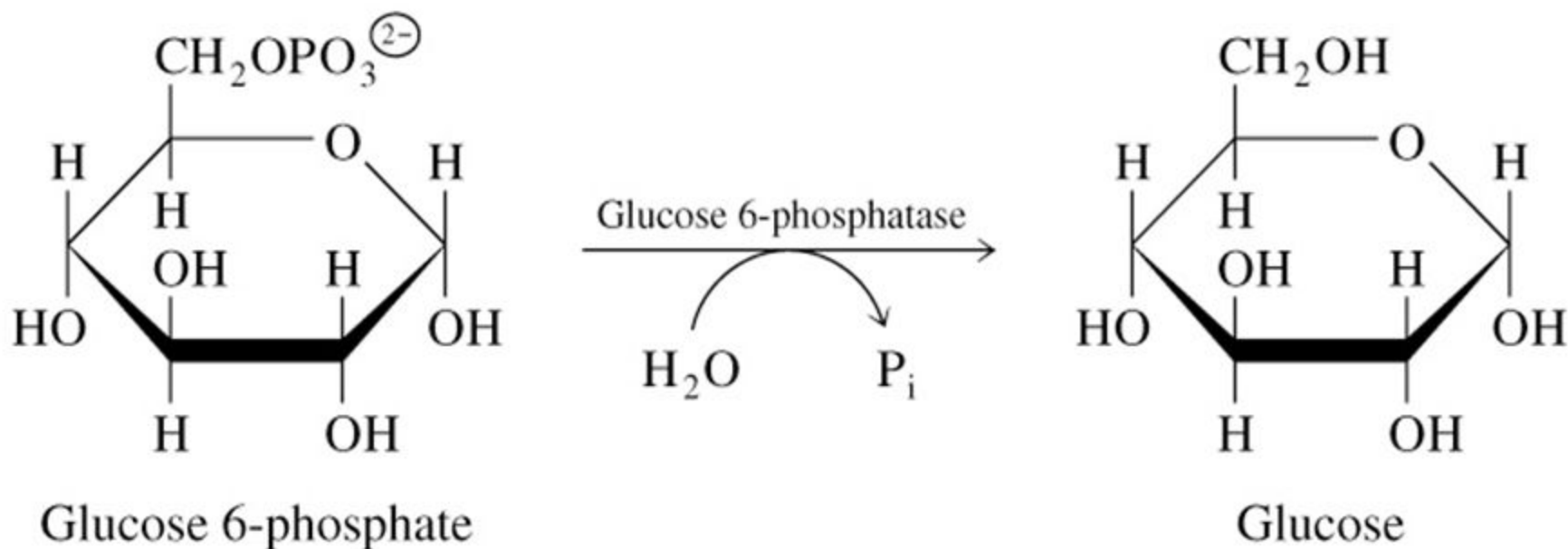
Образование свободной глюкозы регулируется двумя путями:

- фермент, который превращает глюкозо-6-фосфат в глюкозу является регуляторным.

Последняя реакция не осуществляется в цитозоле.

Г-6-Ф транспортируется в **эндоплазматическую сеть**, где гидролиззируется **глюкозо-6-фосфатазой**, которая связана с мембраной ЭС.

Глюкозо-6-фосфатазная реакция



Регуляция глюконеогенеза

Глюконеогенез и гликолиз регулируются **реципрокно** -если один путь в клетке неактивный, второй активируется.

Скорость гликолиза определяется **концентрацией глюкозы**.

Скорость глюконеогенеза определяется **концентрацией предшественников глюкозы**.

Регуляция глюконеогенеза гормонами

Гормоны влияют на экспрессию генов изменяя скорость транскрипции.

Инсулин стимулирует экспрессию **фосфофруктокиназы** и **пируваткиназы**.

Глюкагон ингибирует экспрессию этих ферментов и стимулирует продукцию **фосфоэнолпируваткарбоксикиназы** и **фруктозо-1,6-дифосфатазы**.

Предшественники глюконеогенеза

- Основные предшественники:

(1) Лактат

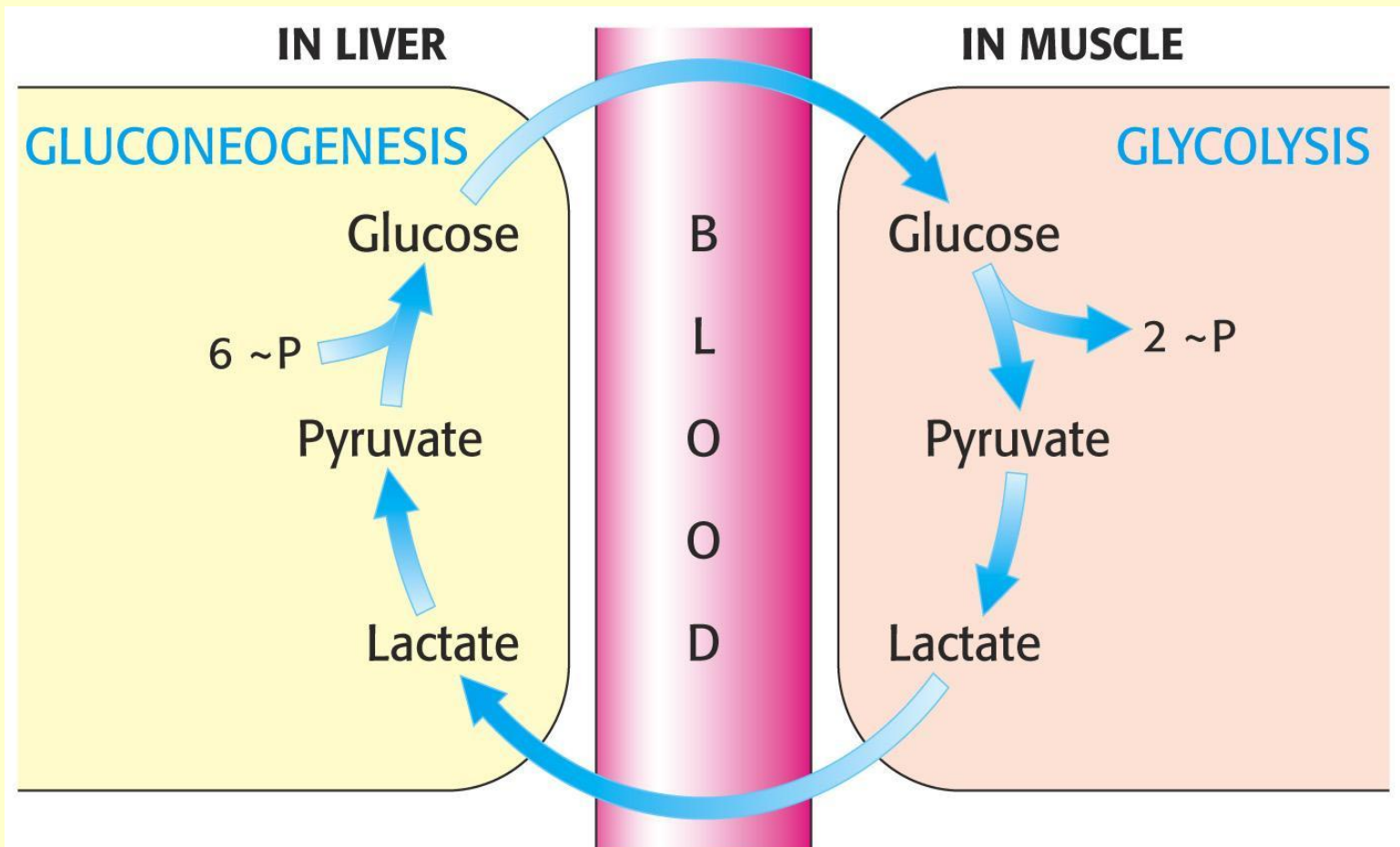
(2) Большинство аминокислот (особенно аланин),

(3) Глицерол (при расщеплении жиров)

Цикл Кори

Печеночная лактатдегидрогеназа превращает лактат к пирувату (субстрат для глюконеогенеза)

Глюкоза, образованная в печени, транспортируется к периферическим тканям с кровью





Пентозофосфатный путь

Роль пентозофосфатного пути

- (1) Синтез **НАДФН** (для биосинтеза жирных кислот и стероидов)
- (2) Синтез **рибозо-5-фосфата** (для биосинтеза ДНК и РНК и некоторых кофакторов)
- (3) Обеспечивает **метаболизм "необычных сахаров"** (4, 5 и 7 карбонов).

В пентозофосфатном цикле **АТФ** не синтезируется.

Регуляция пентозофосфатного пути

Регуляция направленности реакций в пентозофосфатном цикле осуществляется гл. обр. ферментами, участвующими в этом цикле:

избыток того или иного субстрата подавляет активность фермента, катализирующего его синтез, или активирует фермент, катализирующий его трансформацию в другое соединение.

Регуляция пентозофосфатного пути

Следует признать возможным обобщение в один суммарный процесс анаэробной фазы пентозного пути превращения углеводов и гликолиза. При этом роль важнейшего регулятора данного процесса играет эритрозо-4-фосфат. В зависимости от того, происходит ли интенсивное использование фосфопентоз или фосфопентозы образуются в оптимальном избытке, эритрозо-4-фосфат участвует либо в альдолазной реакции с образованием седогептулозо-1,7-дифосфата, либо в транскетолазной реакции с образованием фруктозо-6-фосфата и глюкозо-6-фосфата.

Интенсивность ПФП в различных тканях

Относит. количества глюкозы, превращающиеся через ПФП, неодинаковы в разных тканях. В мышцах скорость пентозофосфатного цикла очень низка, а в печени не менее 30% CO_2 образуется при окислении глюкозы в пентозофосфатном цикле. В др. тканях, где активно проходит биосинтез жирных кислот и стероидов (семенниках, жировой ткани, лейкоцитах, коре надпочечников, молочной железе), доля пентозофосфатного цикла в окислительном метаболизме глюкозы также очень значительна.

Интенсивность ПФП в различных тканях

Интенсивность пентозофосфатного цикла зависит от функцион. состояния ткани и от гормонального статуса (напр., в печени резко снижается при голодании из-за инактивации дегидрогеназ пентозофосфатного цикла и восстанавливается вскоре после кормления). Скорость пентозофосфатного цикла регулируется в первую очередь концентрацией НАДФН. Обе дегидрогеназы пентозофосфатного цикла (р-ции 1 и 3) чувствительны к изменению величины отношения НАДФ/НАДФН: при его величине 0,02 активность дегидрогеназ в печени максимальна, а при величине 0,01 снижается на 90%. Интенсивный пентозофосфатный цикл происходит в эритроцитах, что связано с необходимостью НАДФН-зависимого восстановления глутатиона кофактора глутатионредуктазы эритроцитов.

Недостаточность некоторых ферментов ПФП

Нарушения функционирования некоторых ферментов пентозофосфатного цикла приводят к развитию тяжелых заболеваний человека. Недостаточность глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы в эритроцитах служит причиной лек. гемолитич. анемии, а снижение активности транскетолазы в результате нарушения ее способности связывать тиамин приводит к развитию нервно-психич. расстройства: синдрома Вернике - Корсакова.

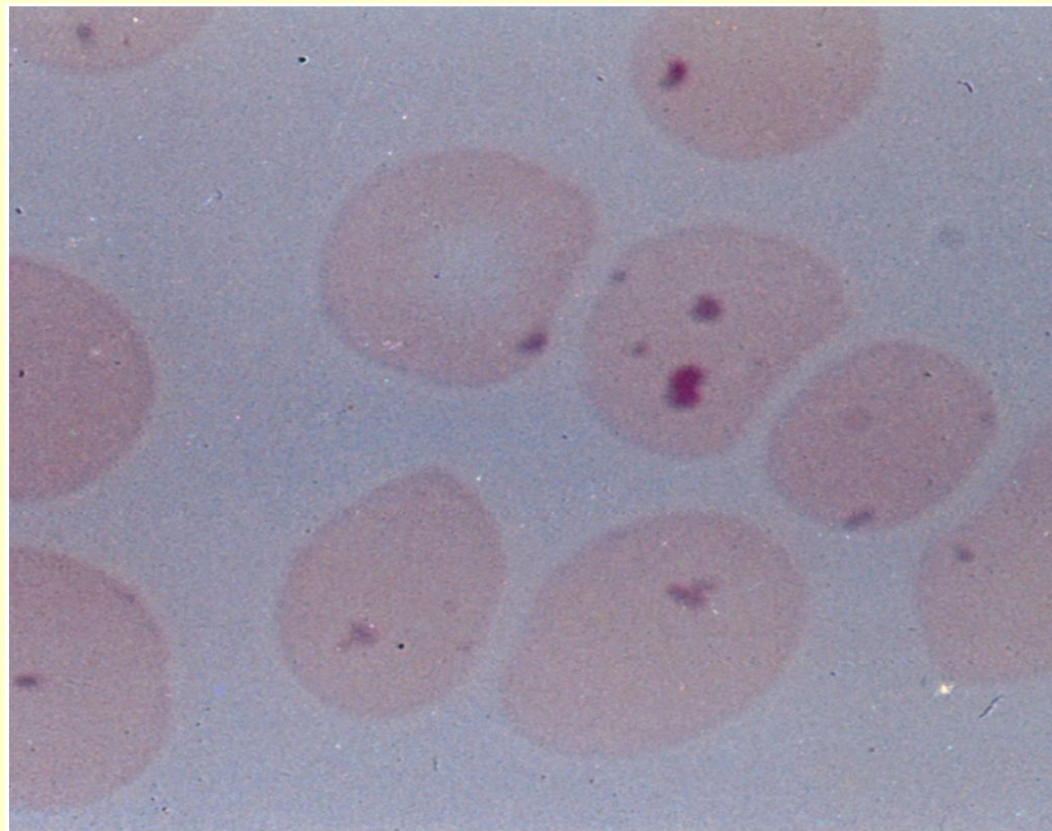
Открытие О. Варбугом в 1931 фермента глюкозо-6-фос-фат-дегидрогеназы, катализирующего первую р-цию пентозофосфатного цикла, сделало возможным его полную расшифровку, к-рую осуществили Г Дикенс, Ф. Липман, Э. Рэкер и Б. Хорекер.

Дефицит глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы -энзимопатия, которая поражает сотни миллионов людей.

10 % людей средиземноморского региона имеют этот генетический дефект.

Эритроциты со сниженным уровнем восстановленного глутатиона более чувствительны к **гемолизу** и легко разрушаются, особенно при **интоксикациях лекарствами** (например, антималярийными препаратами).

В тяжелых случаях массивная деструкция эритроцитов может привести к смерти.



Эритроциты, которые содержат тельца Хейнца.