

ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава РФ
Кафедра биохимии

Дисциплина: Биохимия

ЛЕКЦИЯ № 4

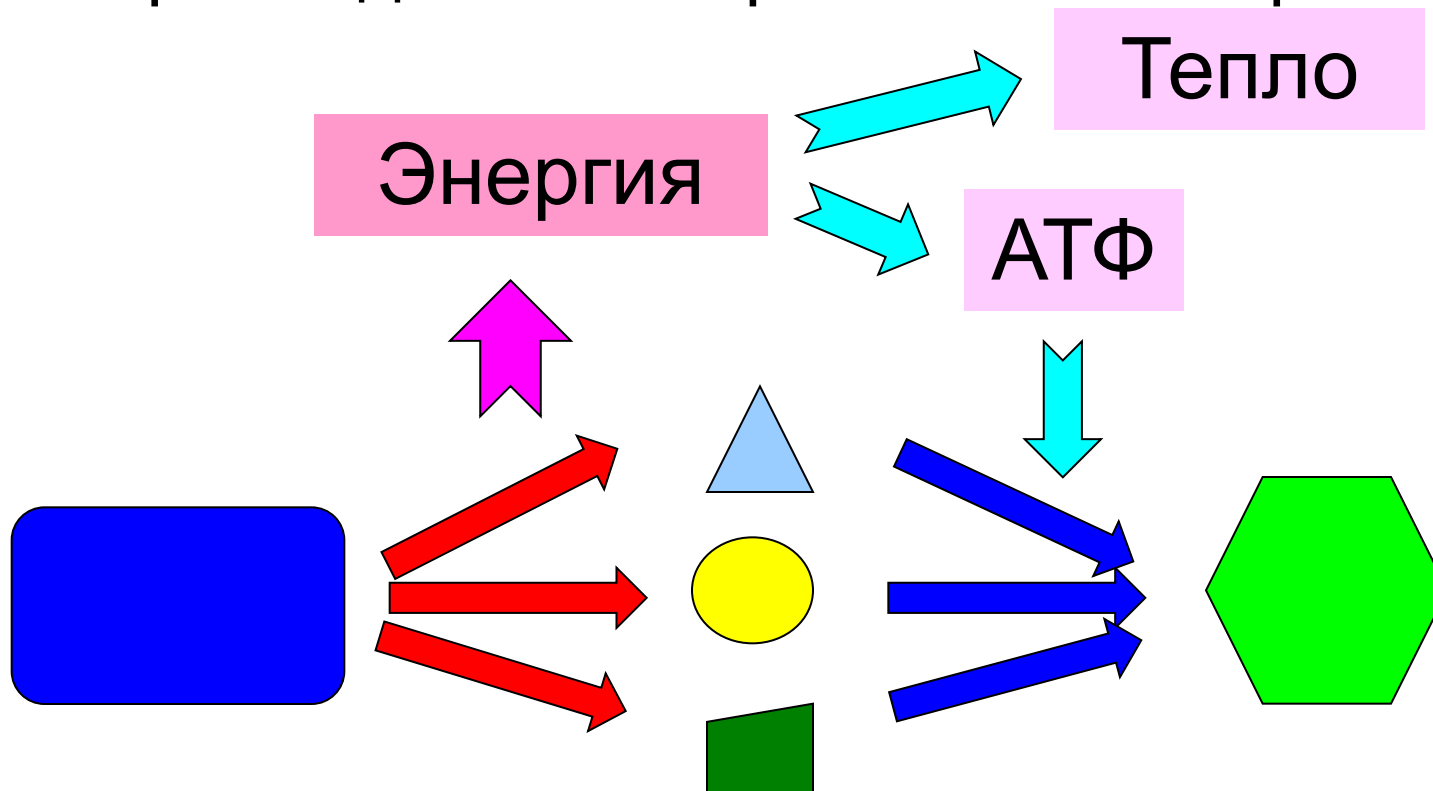
Биологическое окисление-1

Лектор: Гаврилов И.В.
Факультет: лечебно-профилактический,
Курс: 2

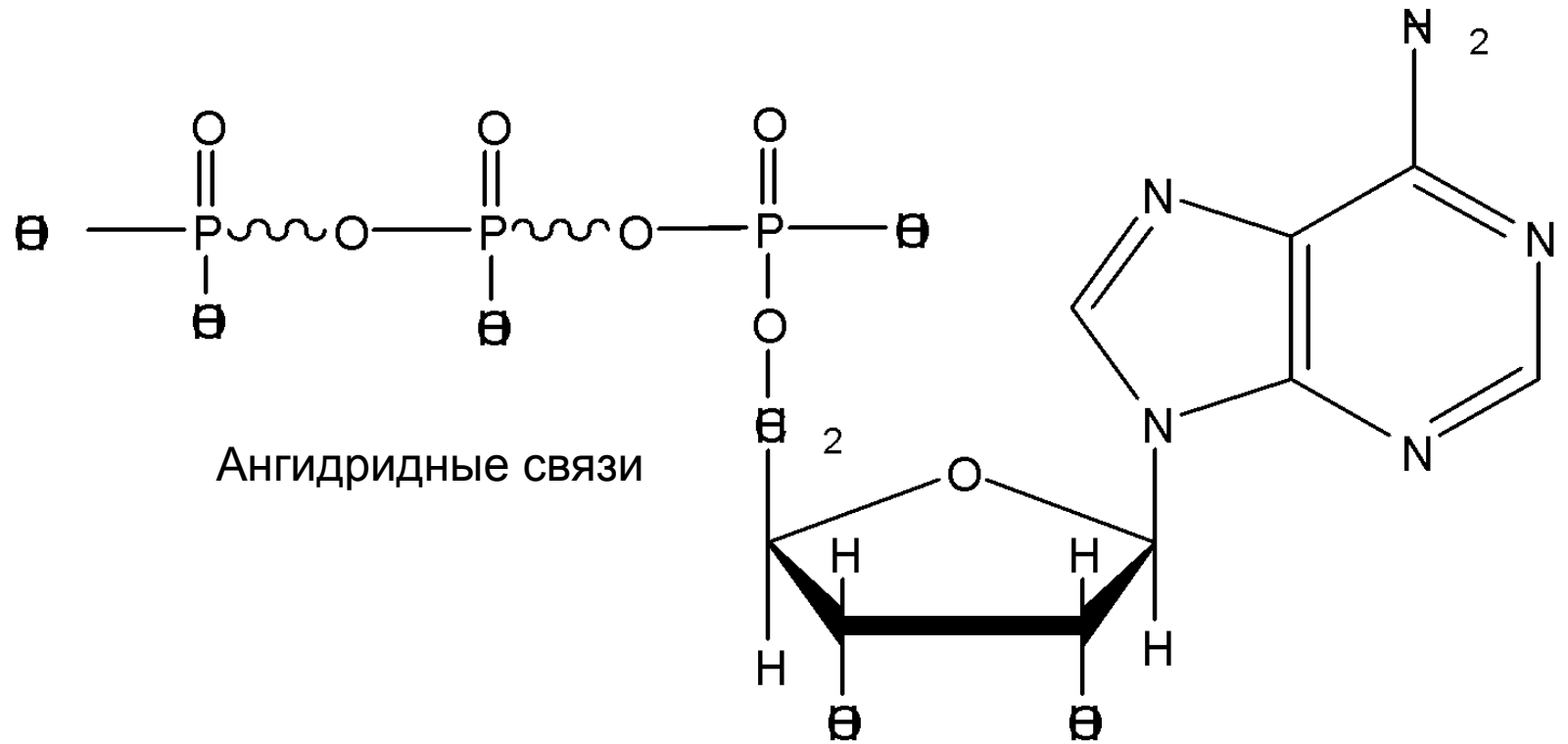
Екатеринбург, 2014г

Обмен энергии

- **Катаболизм** – реакции, в которых сложные вещества распадаются на более простые. Сопровождаются выделением энергии.
- **Анаболизм** – реакции, в которых из простых веществ синтезируются сложные вещества. Сопровождаются потреблением энергии.



АТФ



Синтез АТФ

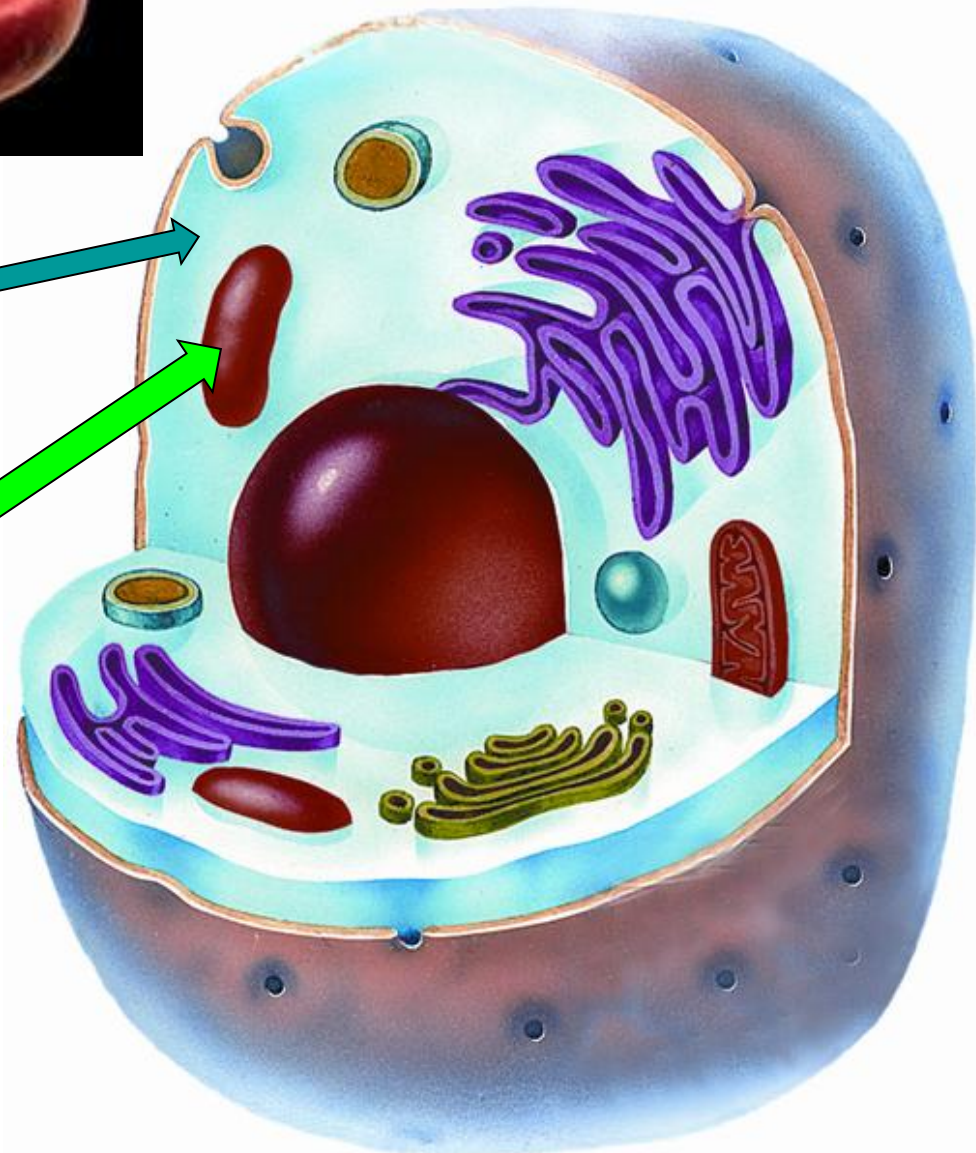


Синтез АТФ
в цитоплазме

гликолиз

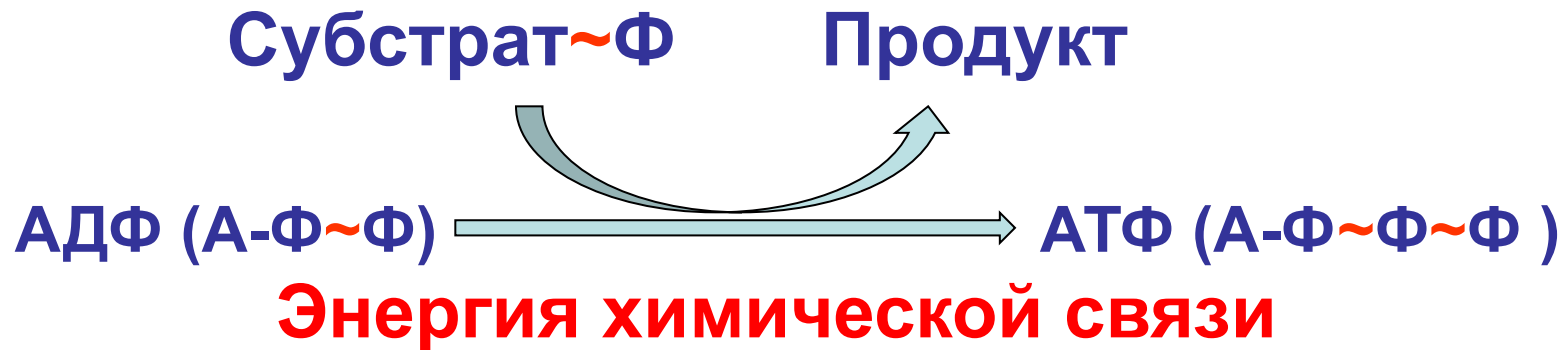
Синтез АТФ
в митохондриях

β -окисление ЖК
Цикл Кребса
Цепь ОФ

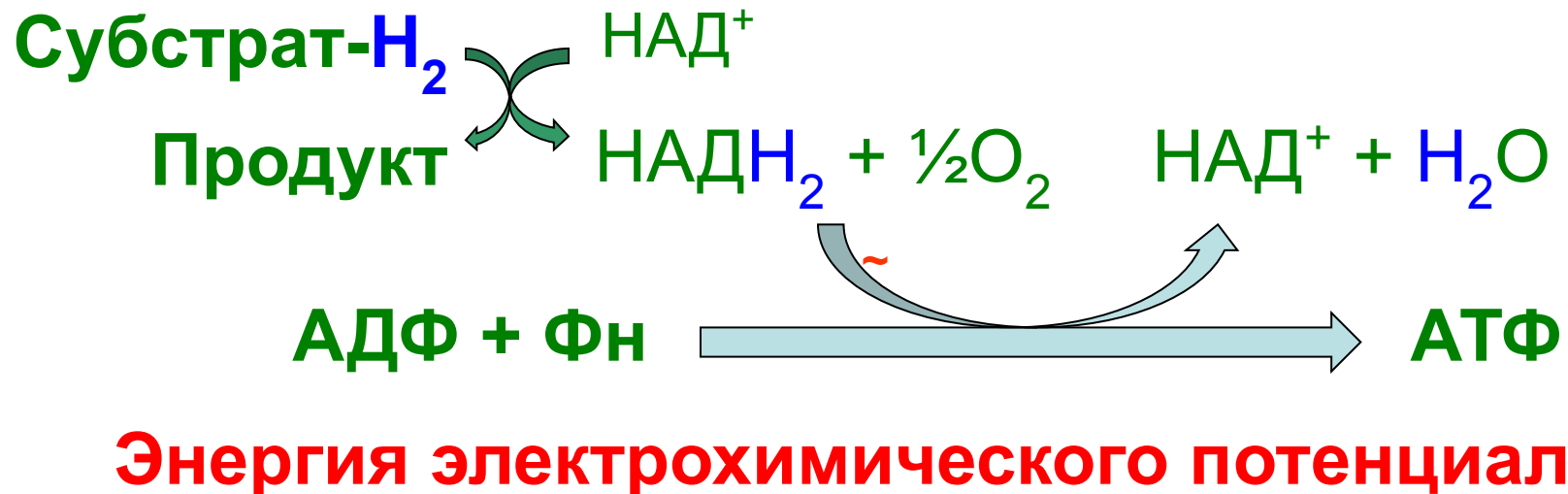


Механизмы синтеза АТФ

1. Субстратное фосфорилирование



2. Окислительное фосфорилирование



Митохондрии

Ключевую роль в энергетическом обмене клетки играют митохондрии

1. **Наружная мембрана** (содержит белок порин – поры 2-3нм, высокая проницаемость молекул до 5кДа. Также есть переносчики для крупных молекул)
2. **Межмембранное пространство** (10-20нм, состав похож на цитоплазму)
3. **Внутренняя мембрана** (имеет складки, содержит белки 70% (ферменты ЦОФ, транспортные), фосфолипид **кардиолипин с 4 ЖК, непроницаема для протонов**)
4. **Матрикс** (до 50% белков: ферменты ЦТК, β -окисления ЖК, АТ и др., мтДНК, мтРНК, рибосомы)



История развития учения о биологическом окислении

I. Антуан Лоран Лавуазье (1743 – 1794) – французский химик – в 1777г. впервые правильно истолковал явление горения как процесс соединения веществ с O_2 . Т.к. горение и дыхание сопровождаются потреблением O_2 и выделением CO_2 , он предположил что, в их основе лежит один процесс.

Но у дыхания были существенные отличия от горения, идёт:

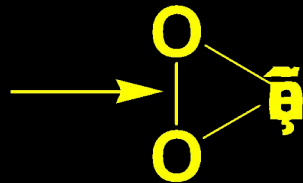
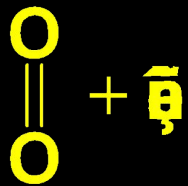
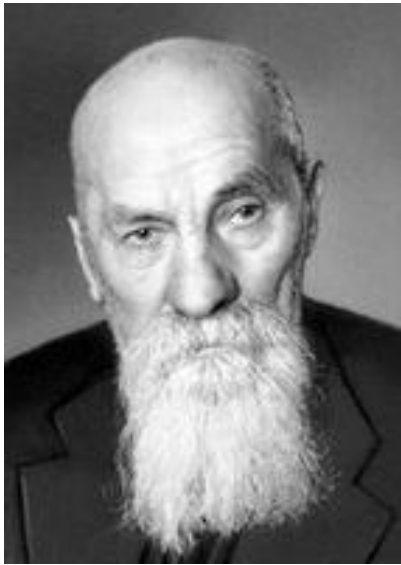
- ✓ при низкой температуре;
- ✓ без пламени;
- ✓ в присутствии воды.



В конце XIX века русские исследователи А.Н. Бах и В.И. Палладин, работая независимо друг от друга, предложили 2 основные теории для объяснения процессов, протекающих в ходе биологического окисления.

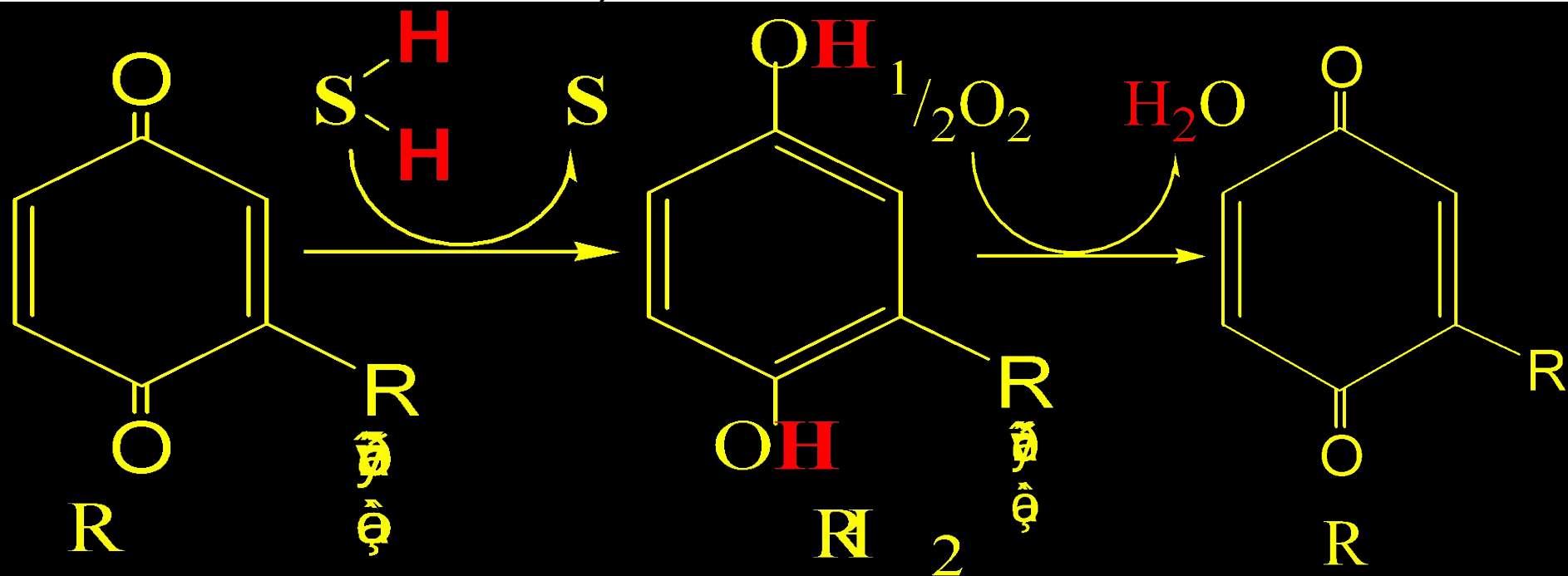
II. Алексей Николаевич Бах (1857 – 1946).

В 1897г сформулировал «ПЕРЕКИСНУЮ ТЕОРИЮ МЕДЛЕННОГО ОКИСЛЕНИЯ», согласно которой молекула O_2 сначала активируется в результате разрыва одной его связи (-O-O-) и присоединения к органическим веществам – оксидазам. Активированный O_2 при взаимодействии с окисляемым веществом образует перекись.



II. В.И. Палладин (1859–1922) – русский ученый ботаник и биохимик – создал теорию «АКТИВАЦИИ ВОДОРОДА», предположив, что окисление субстратов может происходить в 2 стадии:

- ✓ Анаэробная фаза: особые вещества хромогены (R) отщепляют H от субстратов и восстанавливаются (RH_2).
- ✓ Аэробная фаза: Восстановленные хромогены RH_2 передают H на O_2 .



IV. В дальнейшем значительный вклад в исследование БО внесли ряд и других учёных.

Вот некоторые из них:

✓ Кейлин Дейвид (1881-1963) открыл цитохромы.

Установил, что они способны передавать H^+ и e^- с окисляемого S на O_2 .

✓ Шенбайн показал, что БО – каталитический процесс, в котором используется активный кислород.

✓ Отто Генрих Варбург открыл фермент

(E) – цитохромоксидазу, работающую на

заключительном этапе БО. Процесс БО

представляет не только процессы

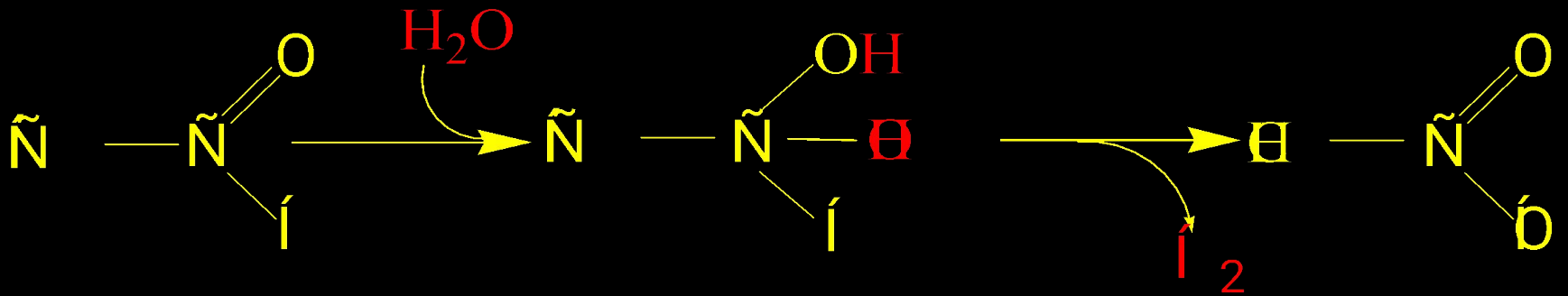
дегидрирования, но и активирования O_2

железосодержащими E.





✓ Генрих Отто Виланд установил, что процесс окисления может реализоваться в анаэробных условиях с использованием элементов воды.



Современные представления о биологическом окислении

Согласно современной теории БО:

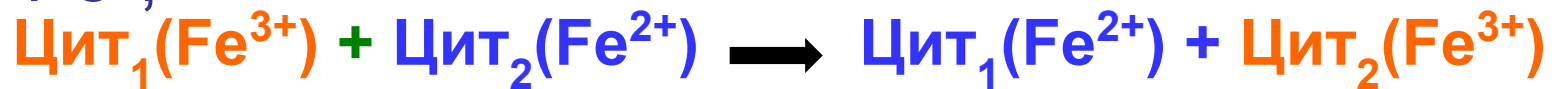
1. окисление происходит как в аэробных, так и в анаэробных условиях;
2. в аэробных организмах существует несколько путей использования O_2 ;
3. реакции БО необходимы для:
 - ✓ получения энергии;
 - ✓ синтеза новых веществ;
 - ✓ разрушения чужеродных веществ;
4. БО является сложным, многостадийным процессом, в котором ведущую роль играют ферменты - оксидоредуктазы.

Основные понятия БО

Окислительно-восстановительные реакции

(ОВР) – реакции, в которых меняется степень окисления субстрата за счет присоединения / отщепления:

1) 1 e⁻;



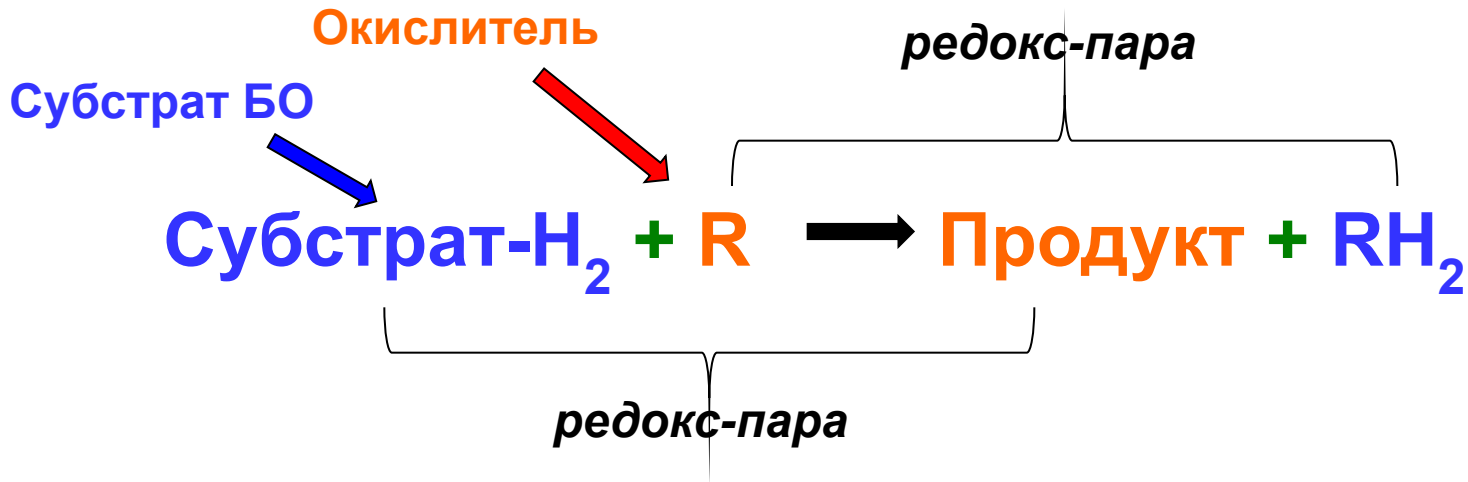
2) 2e⁻ и 2H⁺;



3) атомов кислорода



В ОВР вступают 2 вещества и 2 вещества образуются. Одно вещество окисляется другое восстанавливается:



Окисленная и восстановленная формы одного соединения, образуют сопряженную окислительно-восстановительную или **редокс-пару**

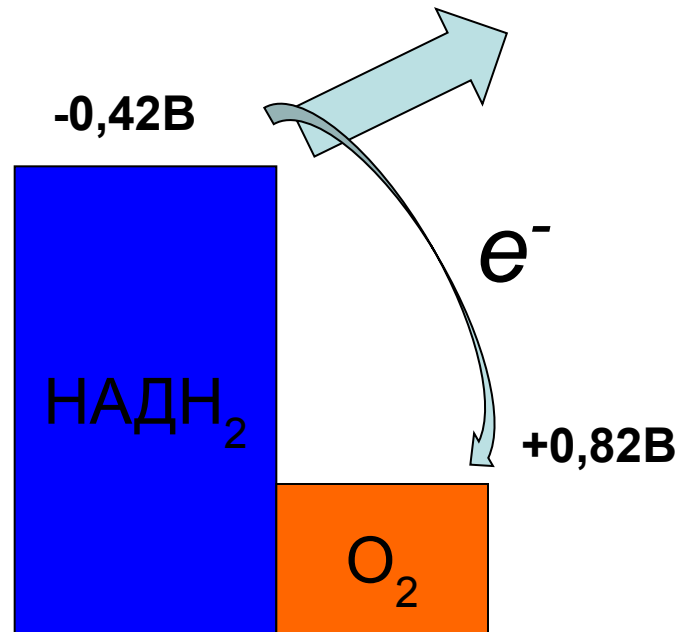
Редокс-пары отличаются сродством к e^- , мерой сродства служит окислительно-восстановительный потенциал, или редокс-потенциал: **E_o'** (Вольт)

Каждое вещество обладает определенным запасом **внутренней энергии (E)**.

Часть внутренней энергии, которая может быть использована для совершения полезной работы, называют **свободной (G)**.

$$\Delta G = E_{o'}(\text{SH}_2/\text{S}) - E_{o'}(\text{R}/\text{RH}_2)$$

$$\Delta G = -1,12 = 0,82 - (-0,32)$$



Биологическое окисление (БО) - совокупность окислительно-восстановительных реакций в живых клетках.

Особенности реакций БО:

- протекают в **аэробных** и **анаэробных** условиях;
- катализируются оксидоредуктазами;
- являются многостадийным процессом;
- Существует несколько путей их использования: основной - синтез **АТФ** (90%), а также синтез новых веществ, разрушения ксенобиотиков и продуктов метаболизма.

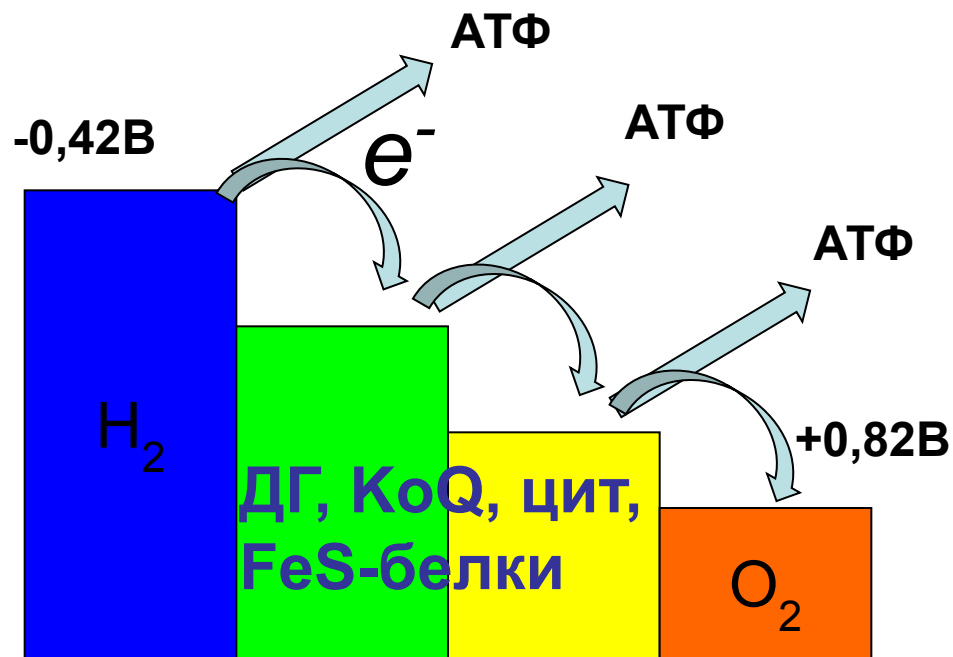
Субстрат БО – вещество, способное отдавать электрон. (вещества, способные вступать в реакции окисления) **Субстрат-Н₂**

✓ Дыхательная цепь – цепь переноса электронов.

В переносе электронов от субстратов БО к O_2 принимают участие:

1. НАД– и НАДФ– зависимые ДГ;
2. ФАД– и ФМН– зависимые ДГ;
3. Цитохромы;
4. Коэнзим Q;
5. Белки, содержащие негеминовое железо.

Дыхательная цепь – цепь переноса e^-



Пути использования O_2 в клетке

В настоящее время выделено 4 основные пути использования O_2 в организме:

1. Оксидазный путь

Функция: 90% O_2 используется для синтеза АТФ;

2. Моноксигеназный путь (Обеспечивает включение 1 атома кислорода в молекулу субстрата)

Функции:

- ✓ синтез новых веществ (стероидные гормоны),
- ✓ обезвреживание ксенобиотиков и токсических продуктов обмена в митохондриях и ЭПР;

3. Диоксигеназный путь (Обеспечивает включение молекулы кислорода в молекулу субстрата)

Функция:

- ✓ деградация АК;
- ✓ синтез новых веществ;

4. Свободно-радикальный путь

Функции:

- ✓ внутриклеточное пищеварение;
- ✓ разрушение бактерий, вирусов, онко- и стареющих клеток;
- ✓ образование БАВ.

Этапы унифицирования энергии пищевых веществ и образования субстратов тканевого дыхания

Омыляемые

Углеводы

Белки

липиды

Жирные
кислоты

Глицерин

Глюкоза

Аминокислоты

П и р у в а т

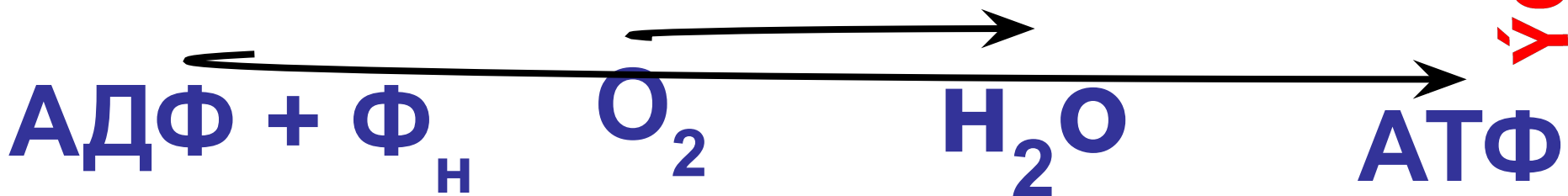
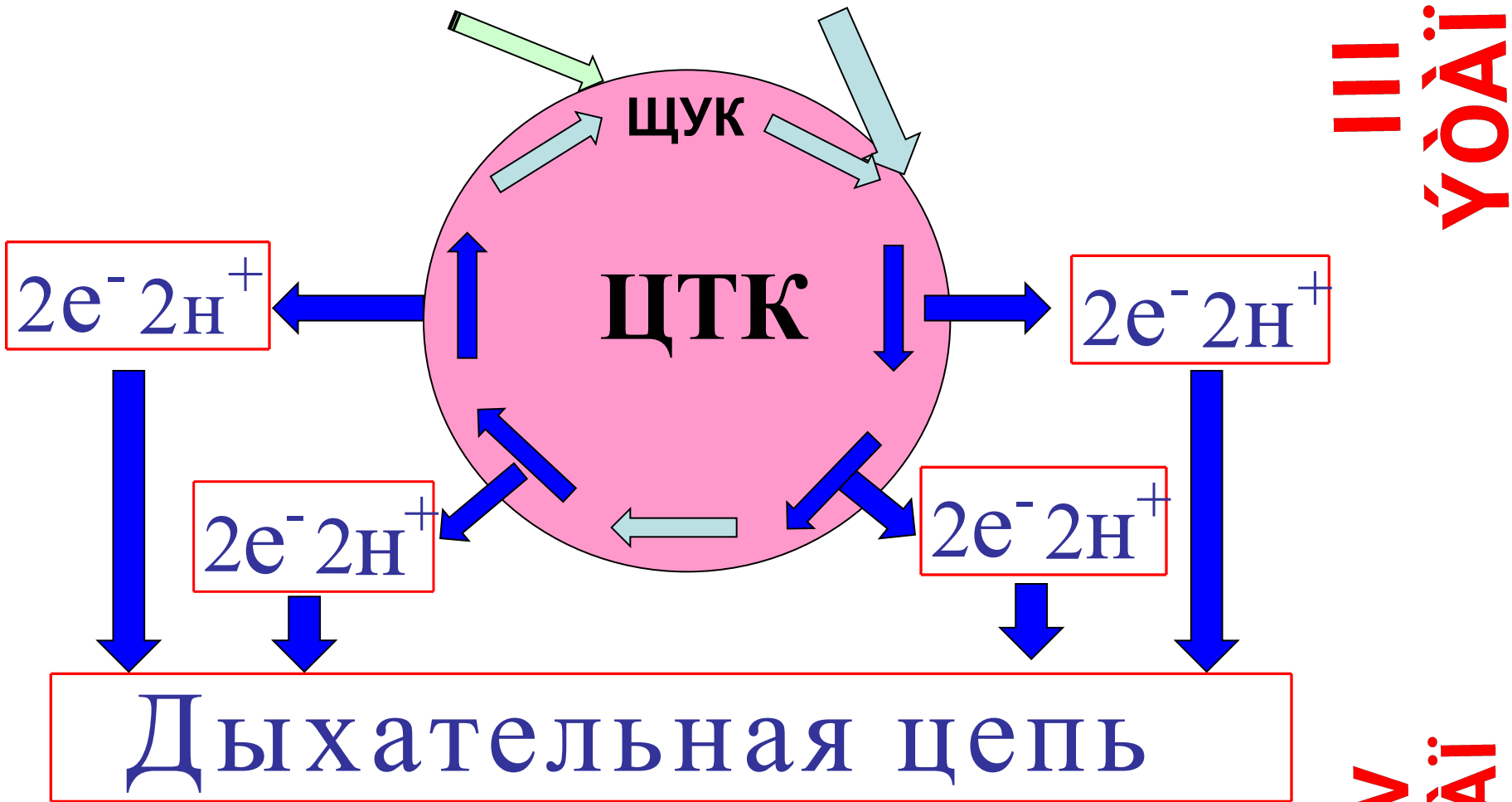
А ц е т и л - К о А

HS-CoA

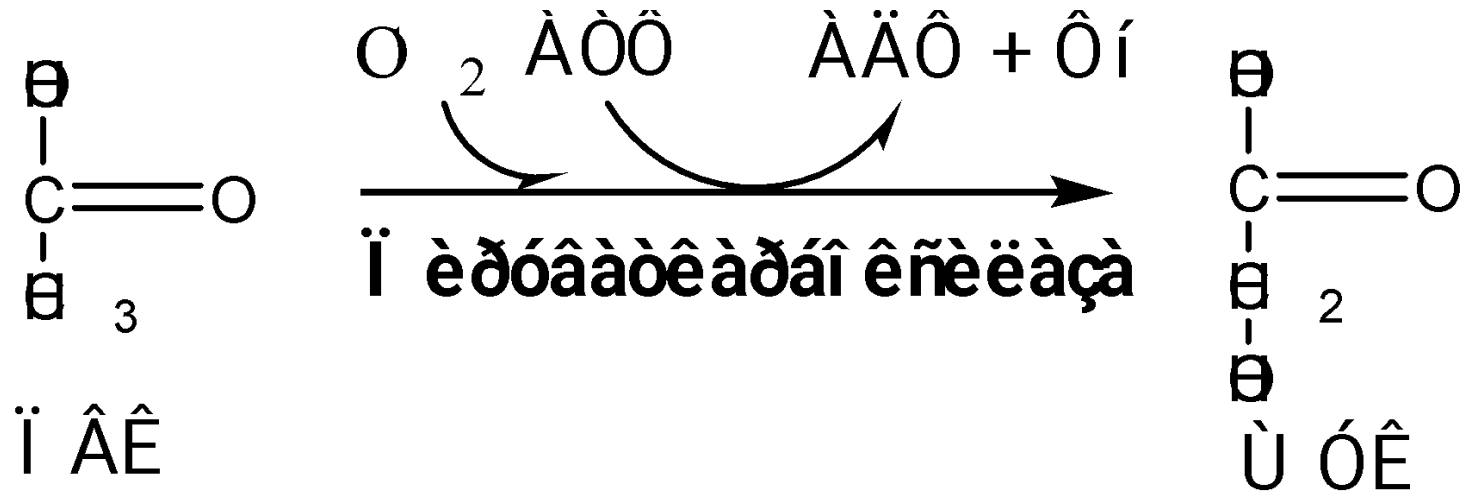
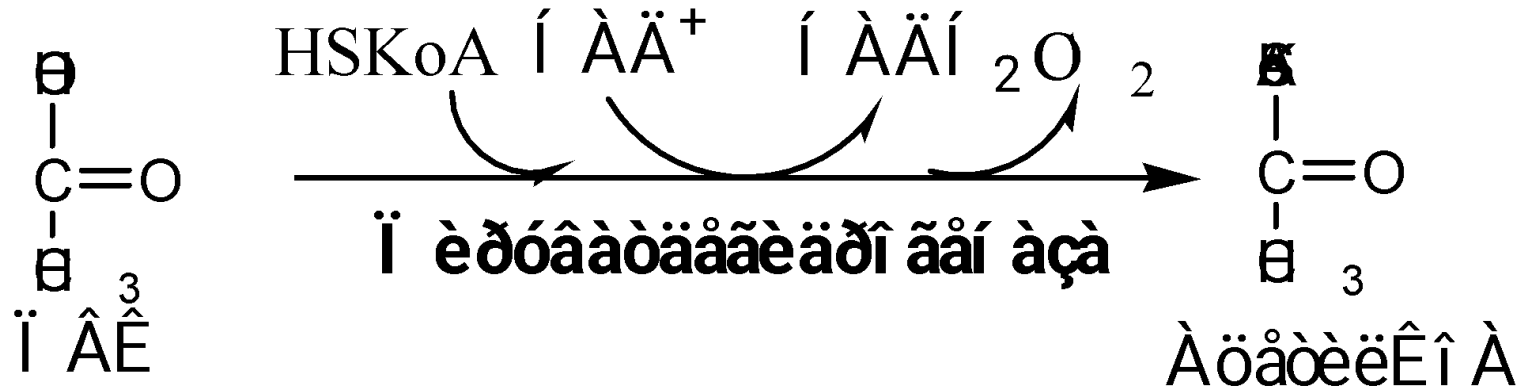
I
YÖÄI

II
YÖÄI

ПВК → Ацетил-КоА



II этап. Образование Ацетил-КоА

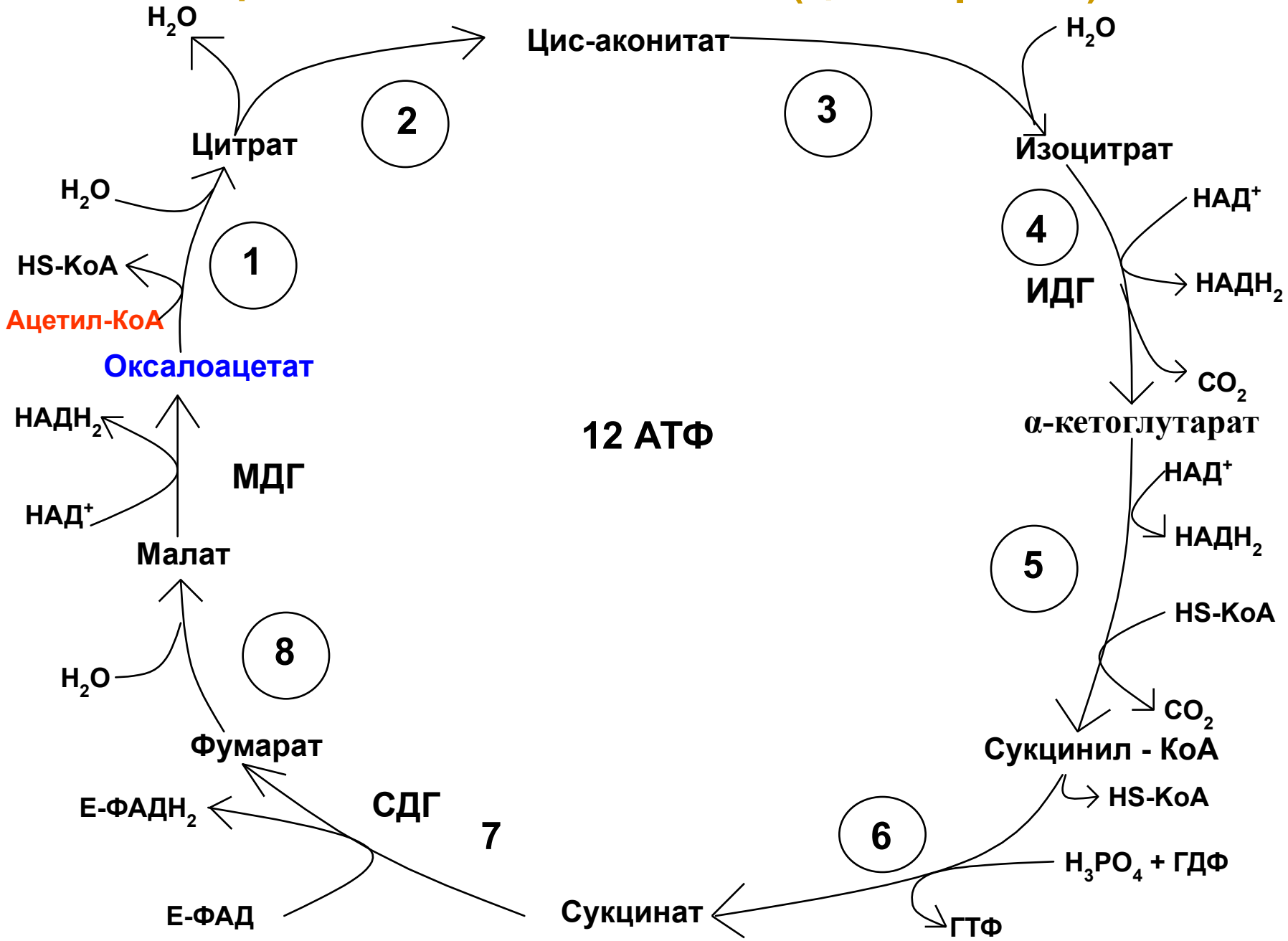


III этап. Цикл Кребса

(цикл трикарбоновых кислот)

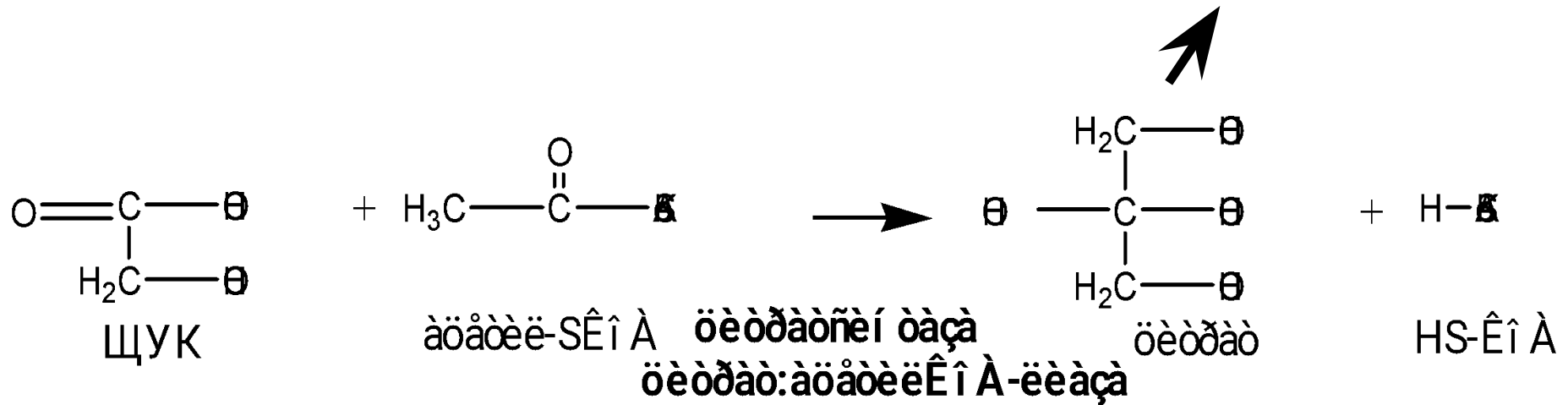
- ✓ ЦТК является процессом окисления Ацетил–КоА - универсального продукта катаболизма углеводов, белков и омыляемых липидов;
- ✓ ЦТК протекает в митохондриях с участием 8 ферментов, которые локализованы в матриксе в свободном состоянии, или на внутренней поверхности внутренней мембраны;
- ✓ В ЦТК участвуют 5 витаминов В1, В2, РР, пантотеновая кислота и липоевая кислота в виде коферментов тиаминпирофосфата, ФАД, НАД+, КоА и липоата.

Цикл лимонной кислоты (цикл Кребса).



1. Цитратсинтазная реакция

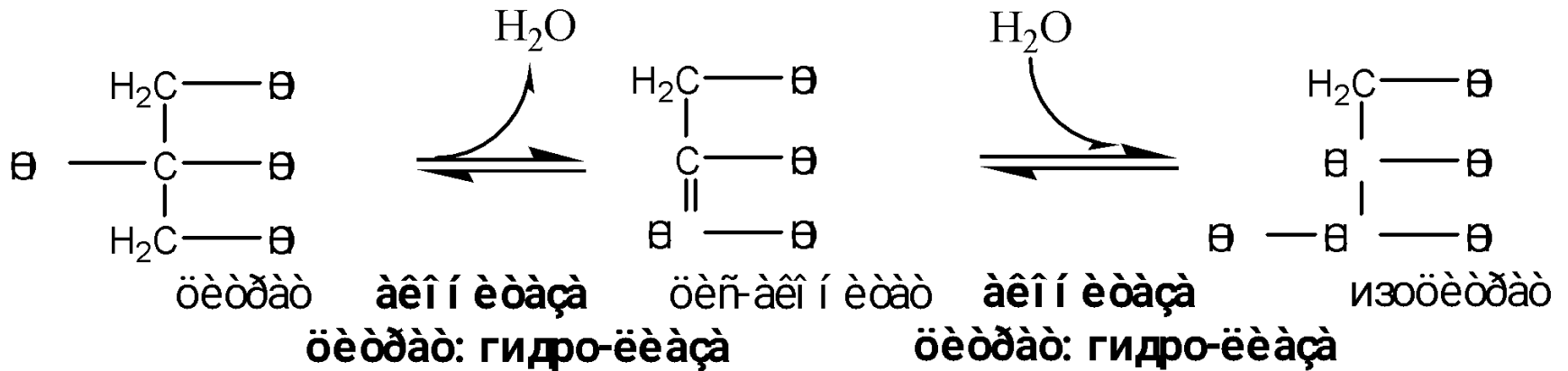
Синтез жирных кислот, ТГ, ФЛ



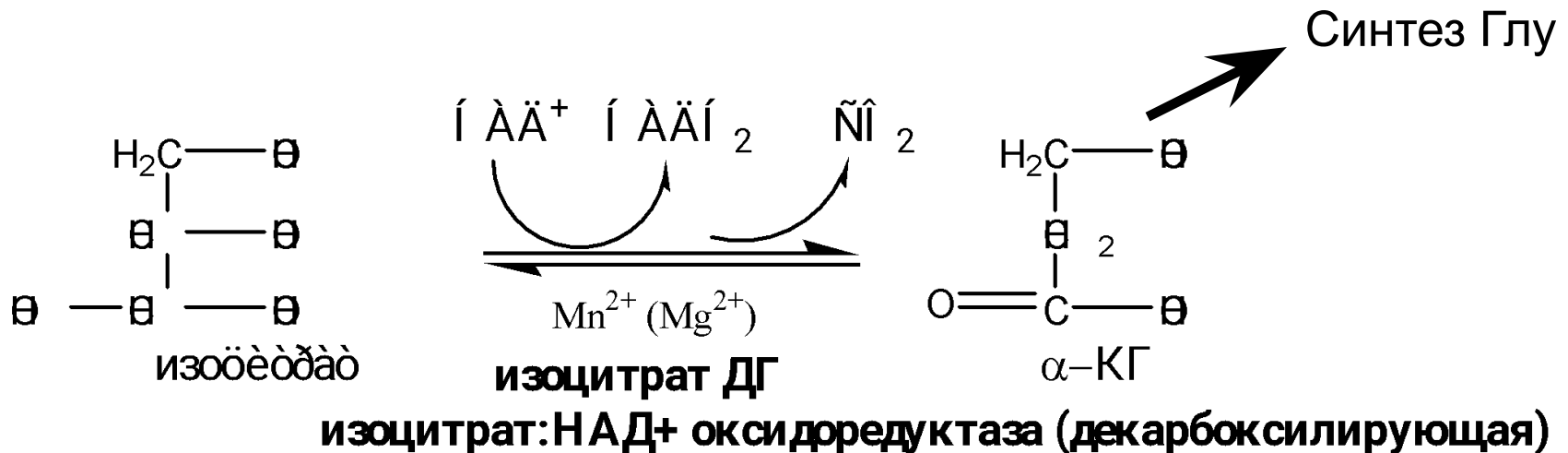
✓ Активаторы: ЩУК, НАД⁺, АМФ, АДФ;

✓ Ингибиторы: АТФ, НАДН₂, Сукцинил-КоА, цитрат.

2. Аконитазная реакция



3. Изоцитратдегидрогеназная реакция



✓ Самая медленная реакция ЦТК

4. α -Кетоглутаратдегидрогеназная реакция

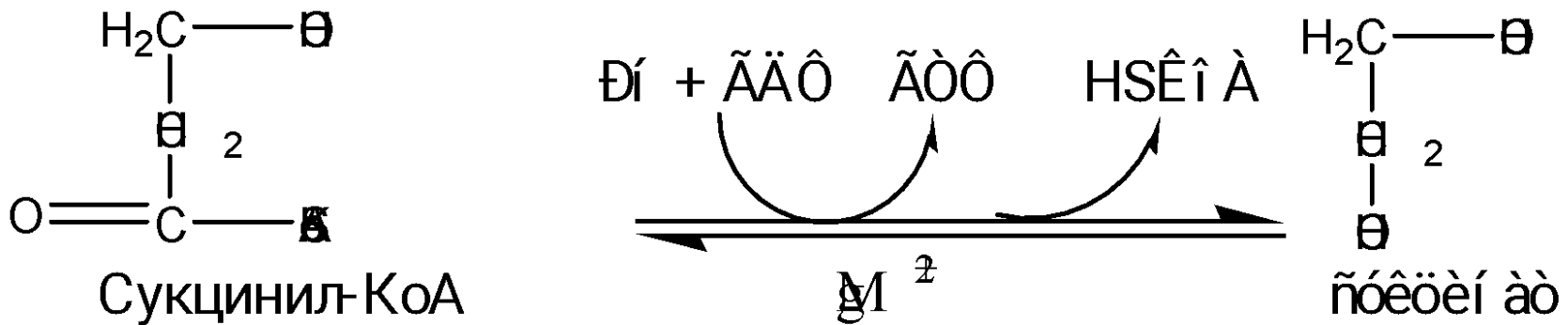
Синтез гема



α -КГ:НАД⁺ оксидоредуктаза (декарбоксилирующая)

- ✓ Активаторы: ионы Ca;
- ✓ Ингибиторы: АТФ, сукцинил-КоА, НАДН₂;
- ✓ α -КГДГ комплекс состоит из 3 ферментов и содержит 5 коферментов: тиаминдифосфат, кофермент А, липоевая кислота, НАД⁺, ФАД.

5. Сукцинил-КоА-синтетазная реакция



Сукцинил-КоА-синтетаза
пóëöëí àò:НКoА-лигаза (ГТФ-ГДФ+Рн)

Субстратное фосфорилирование

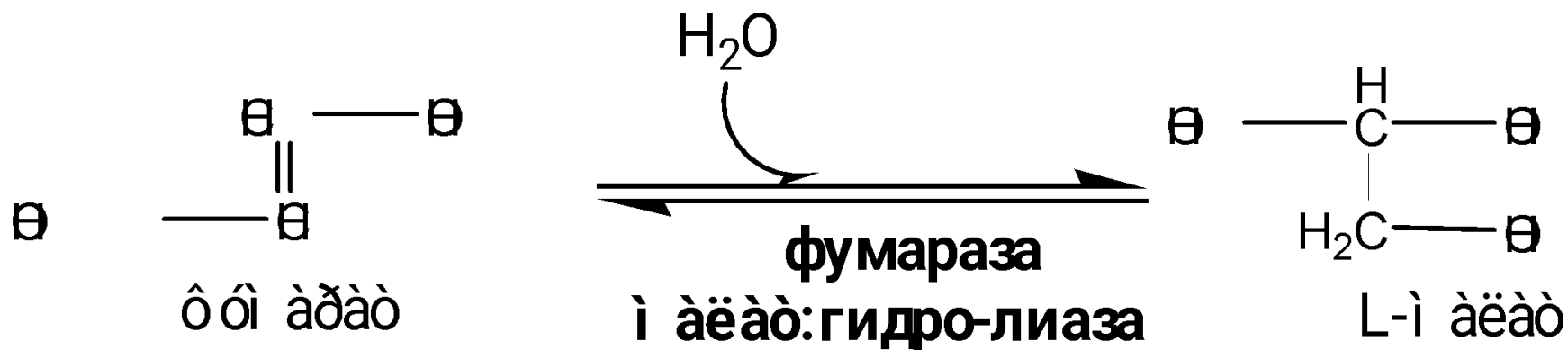
- ✓ Это - единственная стадия ЦТК, в ходе которой генерируется высокоэнергетическая фосфатная связь на субстратном уровне;
- ✓ Это реакция субстратного фосфорилирования.

6. Сукцинатдегидрогиназная реакция



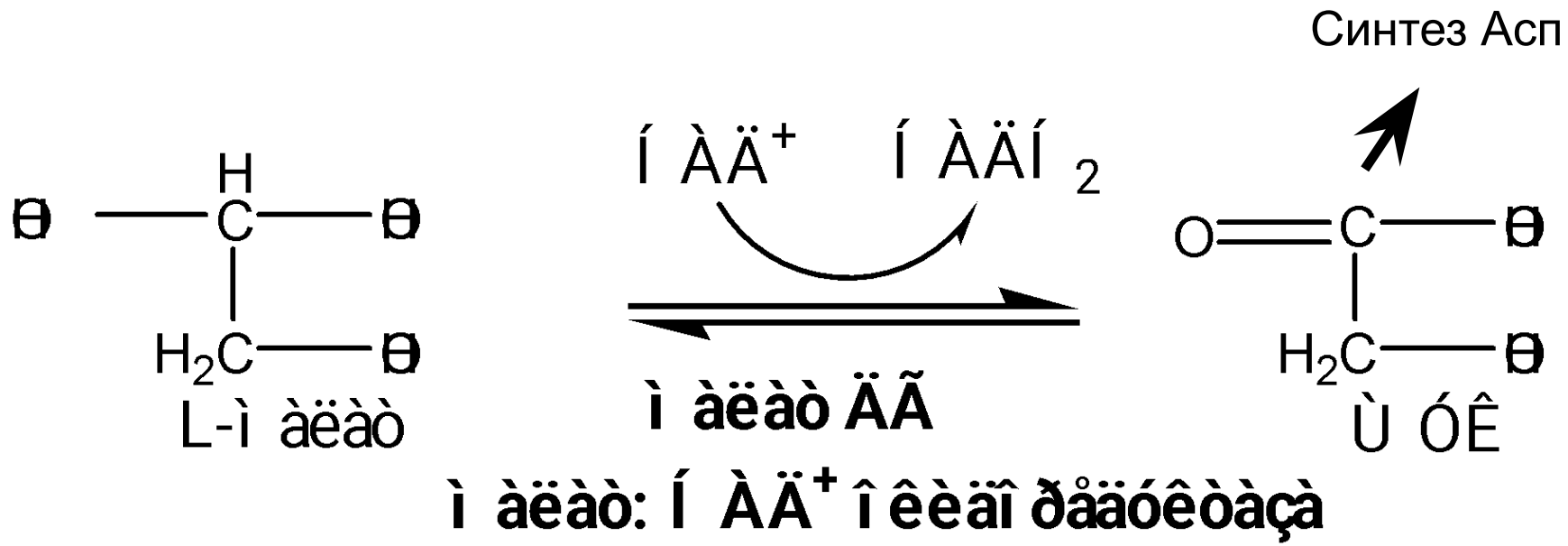
- ✓ СДГ является флавопротеином, состоящим из 2 субъединиц: Fe_2S_2 и Fe_4S_4 , одна из которых связана с ФАД;
- ✓ Ингибитор: ЦУК и Сукцинил-КоА.

7. Фумаразная реакция



- ✓ Фумараза специфична к L-изомеру малата;
- ✓ Она катализирует присоединение компонентов молекулы воды по двойной связи фумарата в транс-конфигурации;

8. Малатдегидрогеназная реакция



✓ Ингибитор: НАДН₂

Активатор: НАД⁺

Энергетический баланс одного оборота ЦТК

- В 4 ОВР ЦТК образуются 3 НАДН₂ и 1 ФАДН₂, которые направляются далее в дыхательную цепь окислительного фосфорилирования.
- В процессе окислительного фосфорилирования из 1 НАДН₂ образуется 3 АТФ, из 1 ФАДН₂ – 2 АТФ.
- Из ГТФ, образующейся в ЦТК, синтезируется 1 АТФ:
$$\text{ГТФ} + \text{АДФ} \rightleftharpoons \text{ГДФ} + \text{АТФ}$$
- Таким образом, за 1 цикл ЦТК из 3 НАДН₂, 1 ФАДН₂ и 1 ГТФ получается 12 АТФ.

Регуляция ЦТК

- 1. Регуляторные (ключевые, лимитирующие) ферменты:**
 1. Цитратсинтаза
 2. изоцитрат ДГ
 3. α -КГ ДГ
 4. СДГ
- 2. Ингибирует – НАДН₂ и АТФ,** которые являются продуктами ЦТК и дыхательной цепи
- 3. Активируют – НАД⁺ и АДФ**
- 4. Первая - пусковая реакция ЦТК зависит от концентрации ЩУК, Ацетил-КоА**

5. Стимулирует ЦТК гормон инсулин,
а ингибирует – глюкагон
6. O_2 активирует ЦТК, переводя
восстановленные формы НАДН₂, ФАДН₂ в
окисленные
7. Аммиак связывает α -КГ и цикл блокируется

Биологическое значение ЦТК

- 1. образование водородных эквивалентов, которые в цепи ОФ обеспечивают синтез АТФ;**
- 2. выполняет ведущую роль в:**
 - ✓ глюконеогенезе;
 - ✓ переаминировании и дезаминировании АК;
 - ✓ синтезе жирных кислот и липогенезе;
 - ✓ синтезе гема.
- 3. интегрирует все виды обмена веществ**

IV этап. Окислительное фосфорилирование

История окислительного фосфорилирования



В 1966г. английский ученый Питер Денис Митчелл сформулировал хемиосмотическую гипотезу объясняющую принцип окислительного фосфорилирования.

В 1979г. - Нобелевская премия

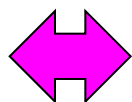
Положения хемиосмотической теории

- цепь реакций, осуществляющихся в процессе дыхания, представляет собой последовательность сменяющих друг друга протонов и электронов.
- Белковые носители таким образом организованы во внутренней митохондриальной мембране, что переносят протоны через мембрану.
- Поскольку митохондриальная мембрана не допускает пассивного тока протонов, в процессе дыхания генерируется электрохимическая разность потенциалов – мембранный потенциал.
- Под ее действием протоны с внешней поверхности стремятся назад во внутриклеточное пространство. Именно этот поток протонов, который можно сравнить с электрическим током в батарее, и выполняет всю работу.

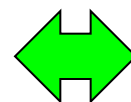
Окислительное фосфорилирование

Протекает на внутренней мембране митохондрий

Окисления



Электрохимический потенциал



Фосфорилирования

МЕЖМЕМБРАННОЕ ПРОСТРАНСТВО

Комплекс I

Комплекс III

Комплекс IV

nH^+ \longrightarrow nH^+

\longrightarrow nH^+

\longrightarrow nH^+

-0,30В

+0,04В

+0,23В

+0,25В

+0,55В

ФМН
5 FeS

e^-

QH_2

e^-

e^-

e^-

$НАДН_2$ $НАД^+$

nH_2O nOH^-

-0,32В

Комплекс II

МАТРИКС

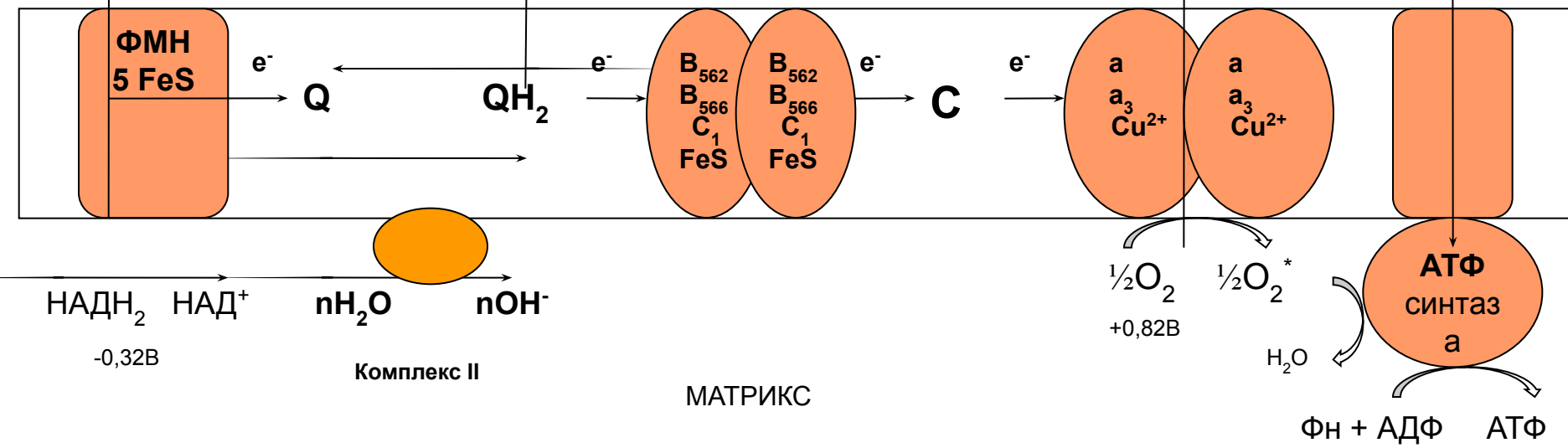
$\frac{1}{2}O_2$
+0,82В

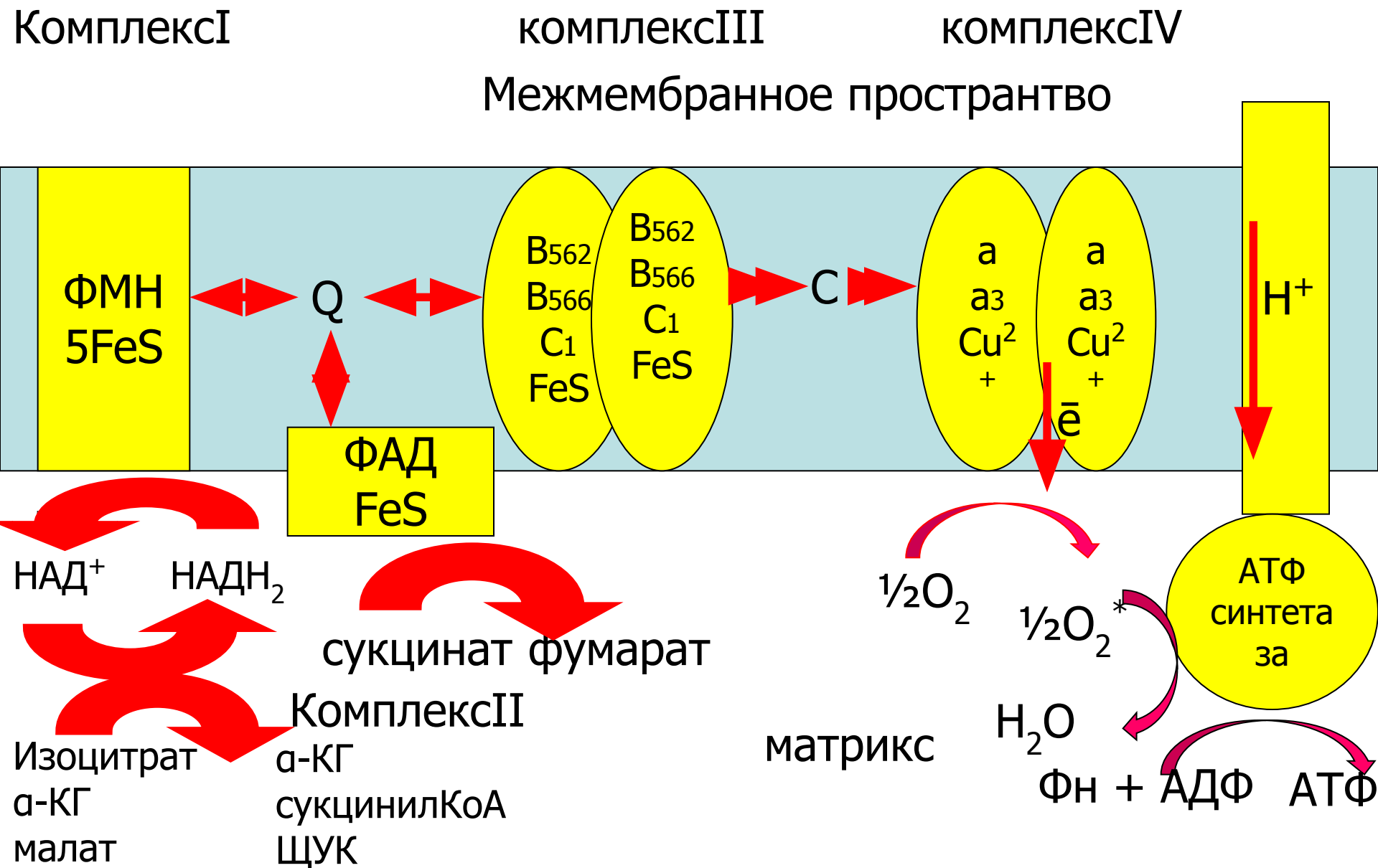
$\frac{1}{2}O_2^*$

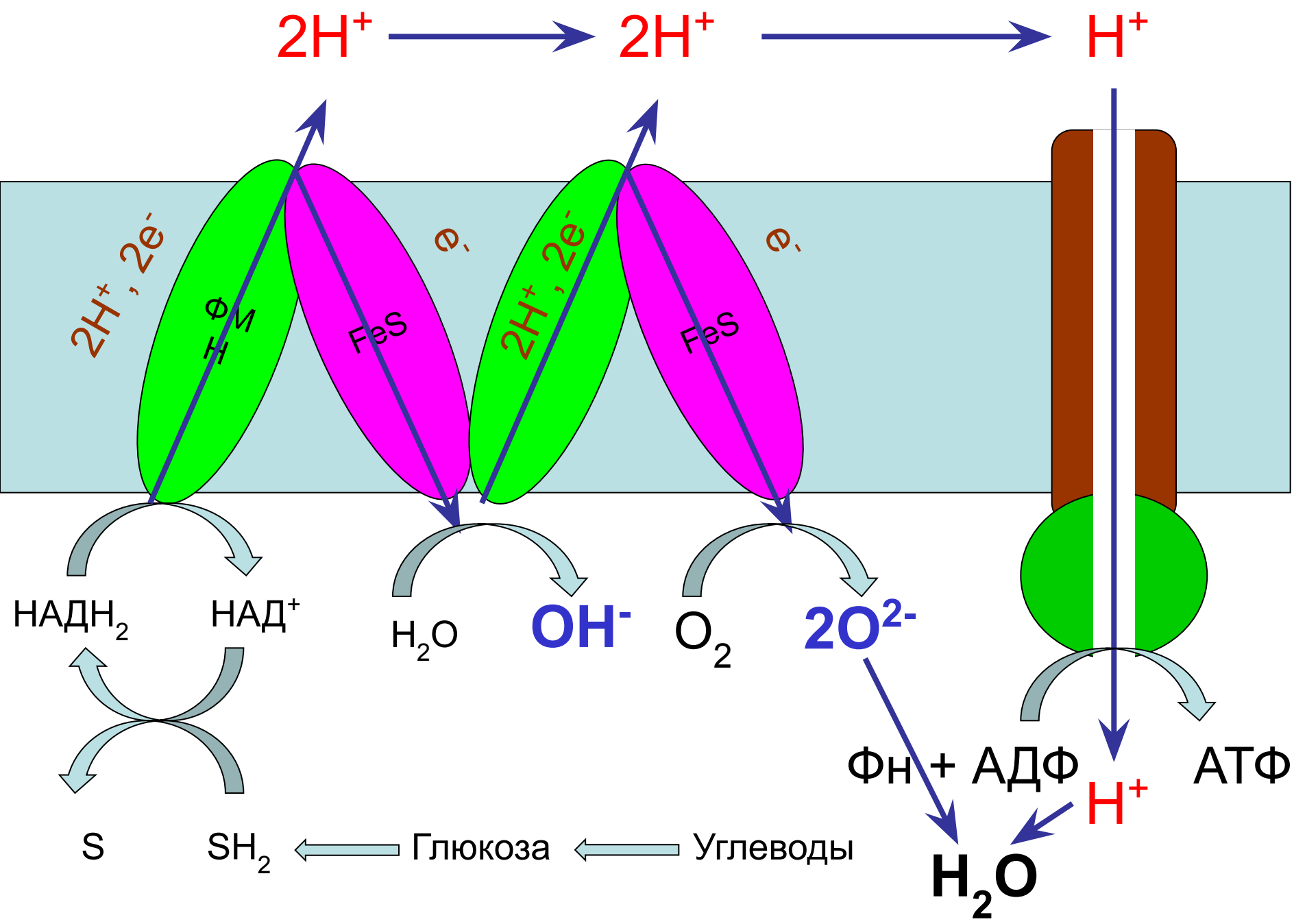
H_2O

АТФ
синтаза
а

ФН + АДФ \longrightarrow АТФ

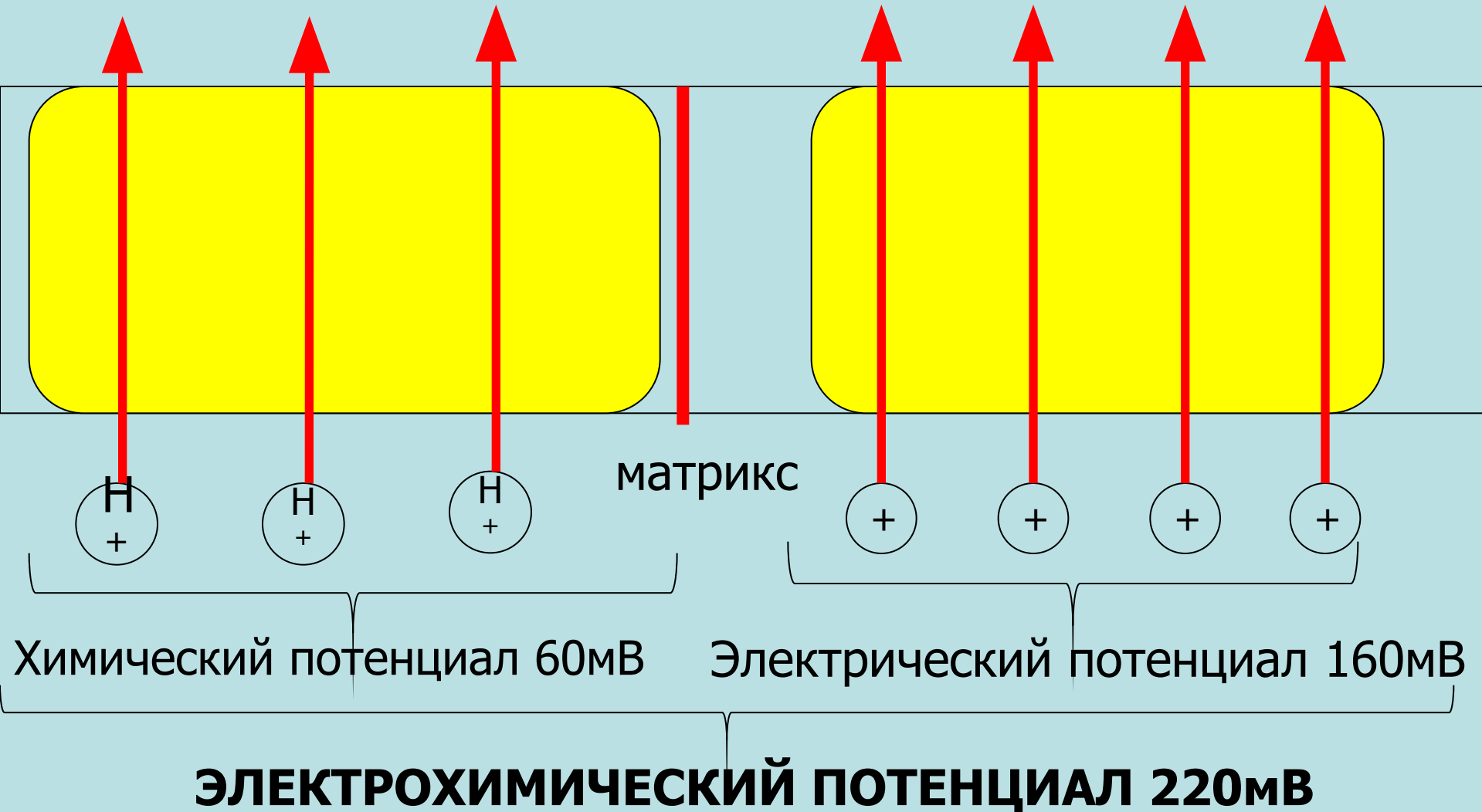




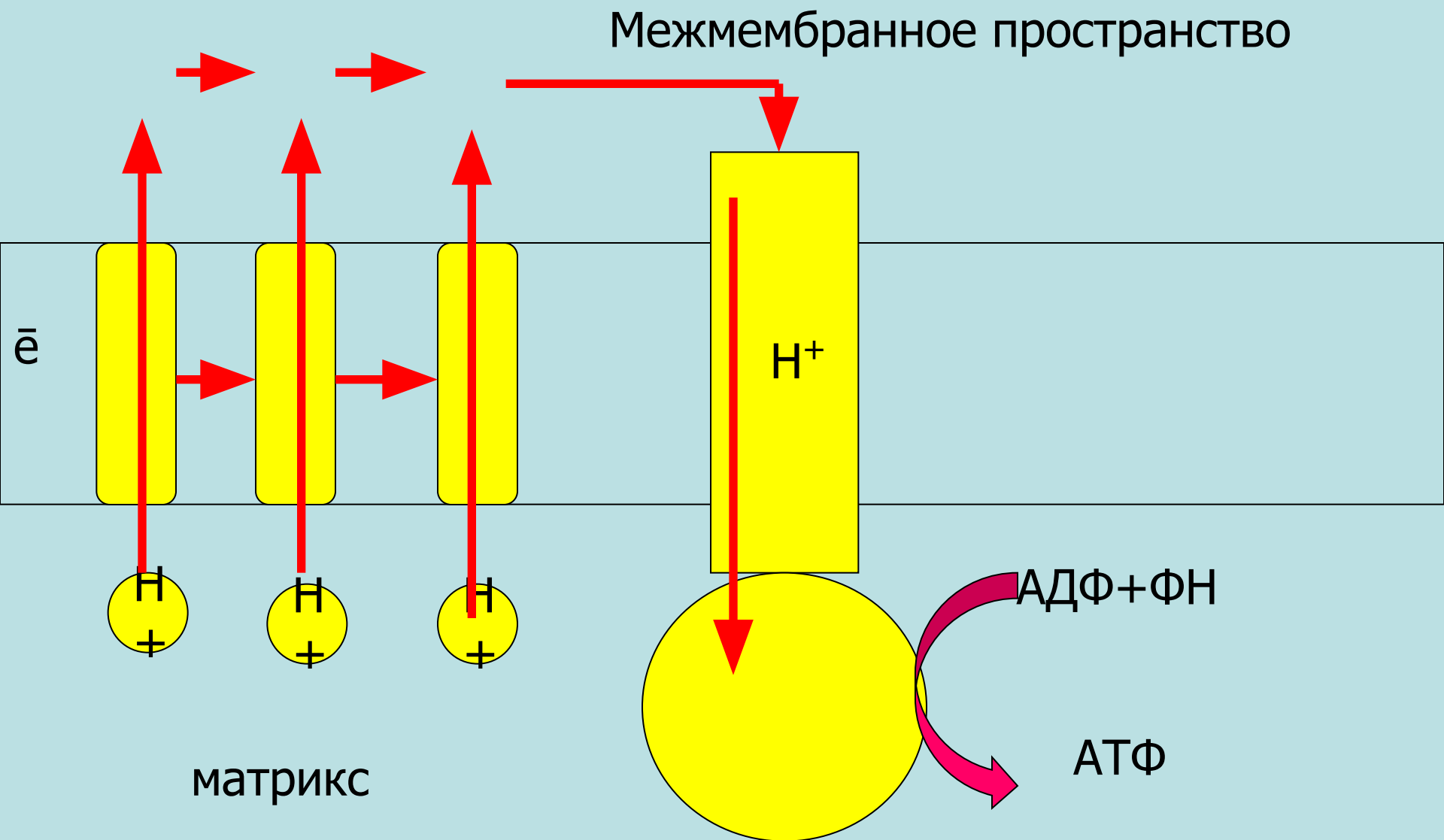


ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ ПОТЕНЦИАЛ

Межмембранное пространство

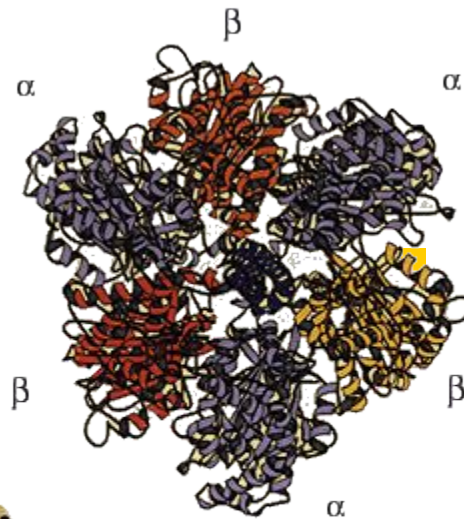
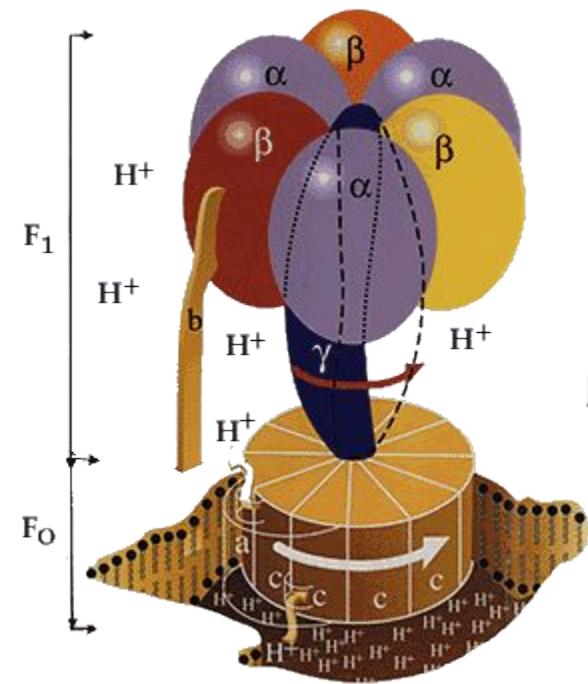


ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ



Модель F1 и F0 компонентов АТФ-синтазы – молекулярной машины

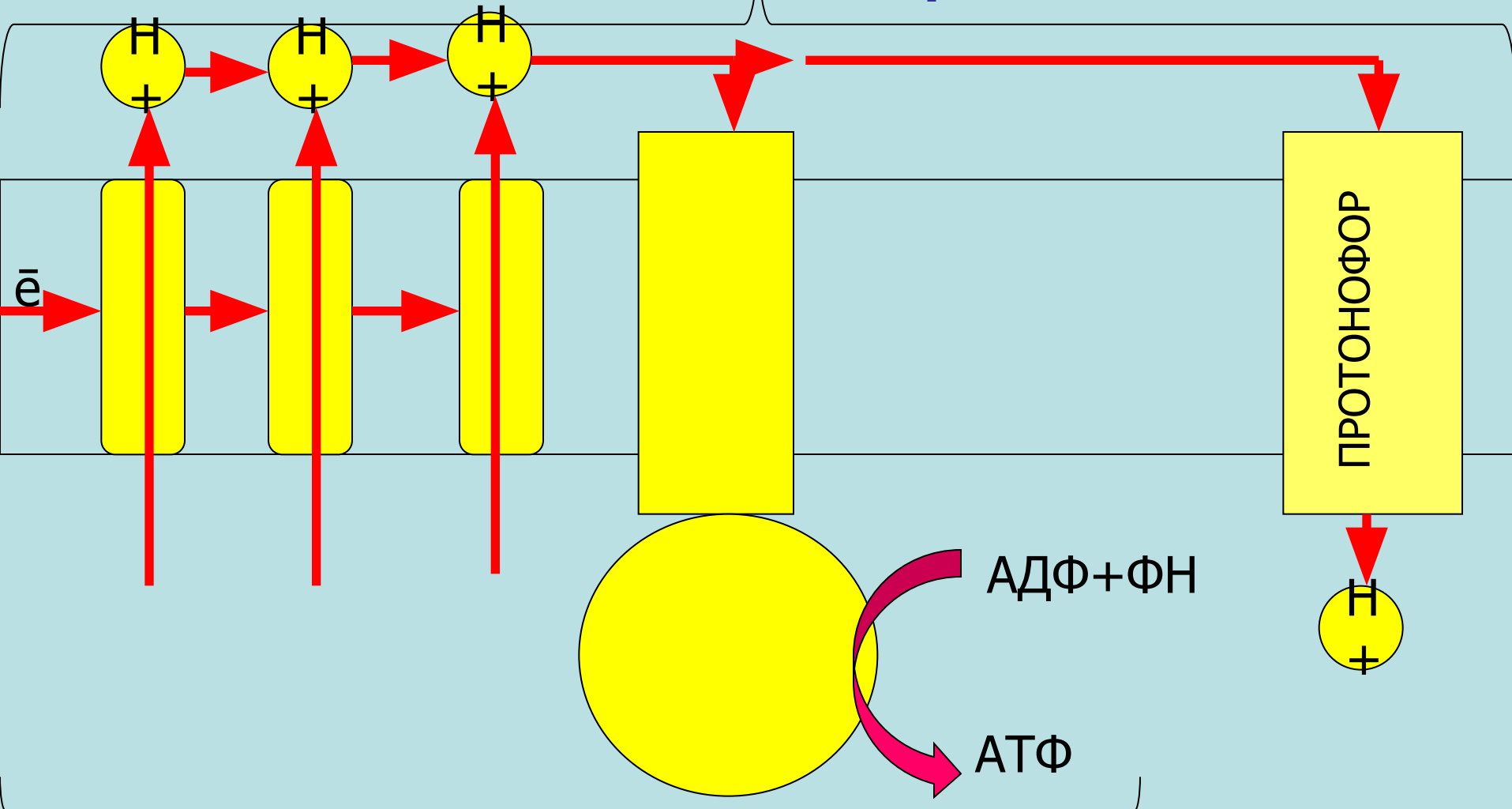
- а, б, альфа, бета и дельта субъединицы образуют статор машины
- с, гамма и ипсилон субъединицы образуют ротор



F₁ viewed from below

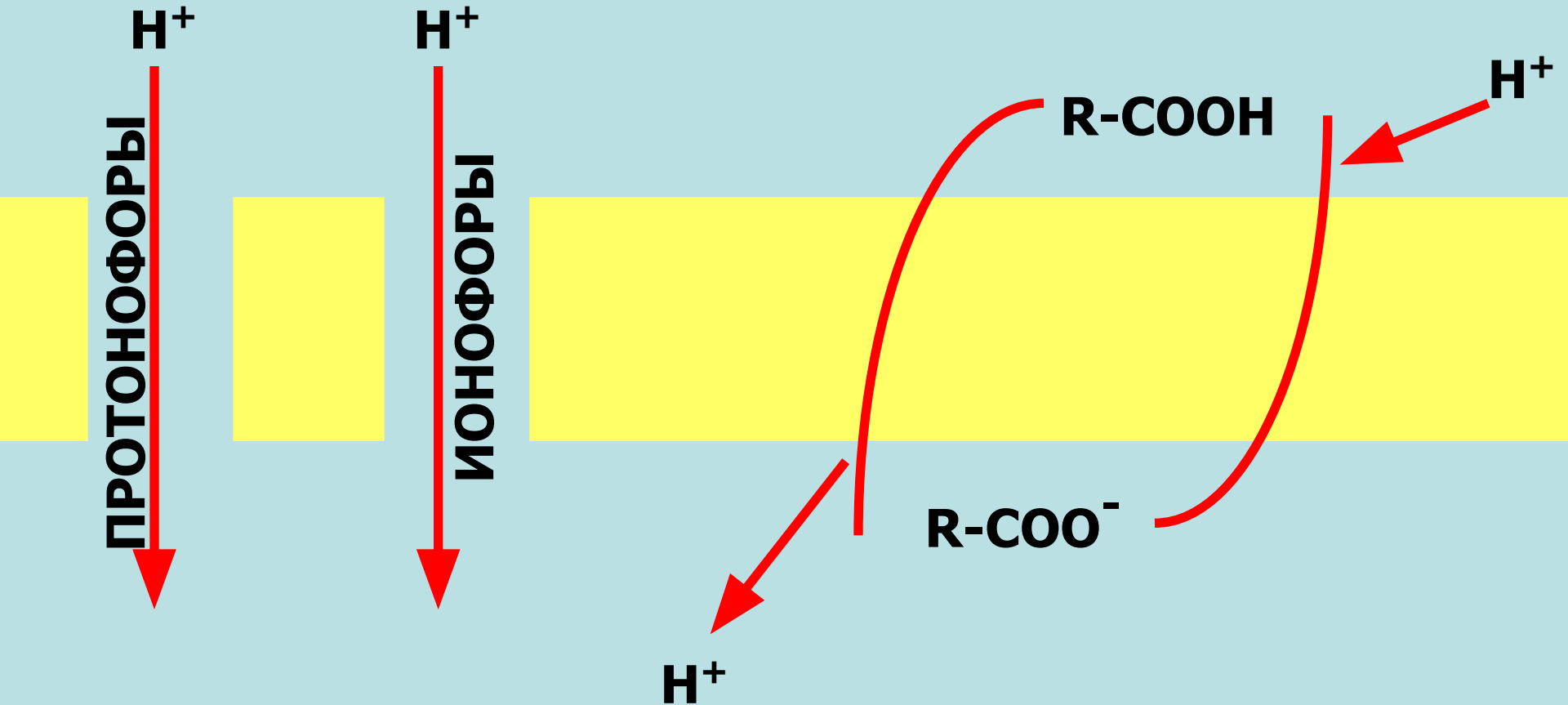
Сопряжение и разобщение Окислительного фосфорилирования

разобщение



сopряжение

Разобщители дыхания и фосфорилирования



2,4-Динитрофенол

- **2,4-динитрофенол является классическим разобщителем окислительного фосфорилирования. При действии на митохондрии стимулирует их дыхание, но ингибирует сопряженное с ним фосфорилирование, т.е. синтез АТФ из АДФ и фосфата.**

Дыхательный контроль

- Зависимость интенсивности дыхания митохондрий от концентрации АДФ.

В результате дыхательного контроля скорость синтеза АТФ соответствует потребностям клетки в энергии.

Общее содержание АТФ в организме 30—50 г Молекула АТФ «живёт» меньше минуты.

В сутки у человека синтезируется 40—60 кг АТФ и столько же распадается.

Спасибо за внимание!