

**МЕТАБОЛИЗМ
И
ОСНОВЫ
БИОЭНЕРГЕТИКИ**

Живые системы (клетка □ организм) – открытые системы: обмениваются с окружающей их средой **материей, энергией (и информацией)**.

Метаболизм – высокоинтегрированный и целенаправленный процесс, реализующийся в форме последовательных мультиферментных реакций, которые обеспечивают обмен веществом и энергией между живой системой и средой её обитания.

Специфические функции метаболизма:

- **Извлечение энергии из окружающей среды** (хим. энергию из орган. веществ, либо энергию квантов солнечного света) и **аккумуляция этой энергии** в форме макроэргических связей АТФ и восстановительной способности НАДФН;
- **Использование энергии АТФ и НАДФН** для биосинтеза de novo биомолекул (химическая работа), а также для выполнения осмотической, механической и электрической работы;
- Синтез и распад **молекул «специального» назначения** (гормонов, медиаторов, цитокинов, факторов роста, кофакторов и пр.).

Процесс жизнедеятельности связан с выполнением следующих видов работы:

- 1. Механическая работа.** Организм и его части движутся, преодолевая сопротивление среды.
- 2. Химическая работа.** Синтез биоорганических молекул (разрыв одних хим. связей и образование других).
- 3. Осмотическая работа.** Создает и поддерживает разность концентраций ионов или молекул.
- 4. Электрическая работа.** Создает и поддерживает разность электрических потенциалов.

Метаболизм объединяет противоположно направленные процессы: **катаболизм** и **анаболизм**.

Катаболизм – ферментативное *расщепление* сложных, полимерных молекул (жиров, углеводов, белков) на простые компоненты (лактат, ацетат, аммиак, мочеви́на) входе **преимущественно реакций окисления**. На определенных стадиях процесс сопровождается выделением **свободной энергии**.

Большая часть **свободной энергии** аккумулируется (**не запасается**) в форме энергии фосфоангидридных связей молекулы АТФ (главное высокоэнергетическое соединение). Меньшая часть извлечённой свободной энергии аккумулируется в форме атомов водорода в молекулах НАДФН.

Анаболизм – ферментативный синтез полимерных молекул из сравнительно простых по химическому строению предшественников (прекурсоров). Как всякий синтез, **анаболизм потребляет свободную энергию**, которая поставляется молекулами АТФ и НАДФН.

Вновь синтезированные биомолекулы необходимы для обновления структурно-функциональных элементов клеток и тканей. **Преимущественно происходят реакции восстановления.**

Амфиболические пути - объединяют пути синтеза и распада (**ПФП, ЦТК**).

Катаболизм и анаболизм протекают в клетках одно-
временно.

Они пространственно разделены (разобщены) путем **компарментализации** и/или с помощью **различных условий катализа** (требуется разные ферменты и коферменты, ферменты имеют различную локализацию).

Скорости реакций катаболизма и анаболизма **регулируются независимо**.

Метаболический путь – последовательность химических реакций, катализируемых мультиферментными системами (от 2 до 20 ферментов).

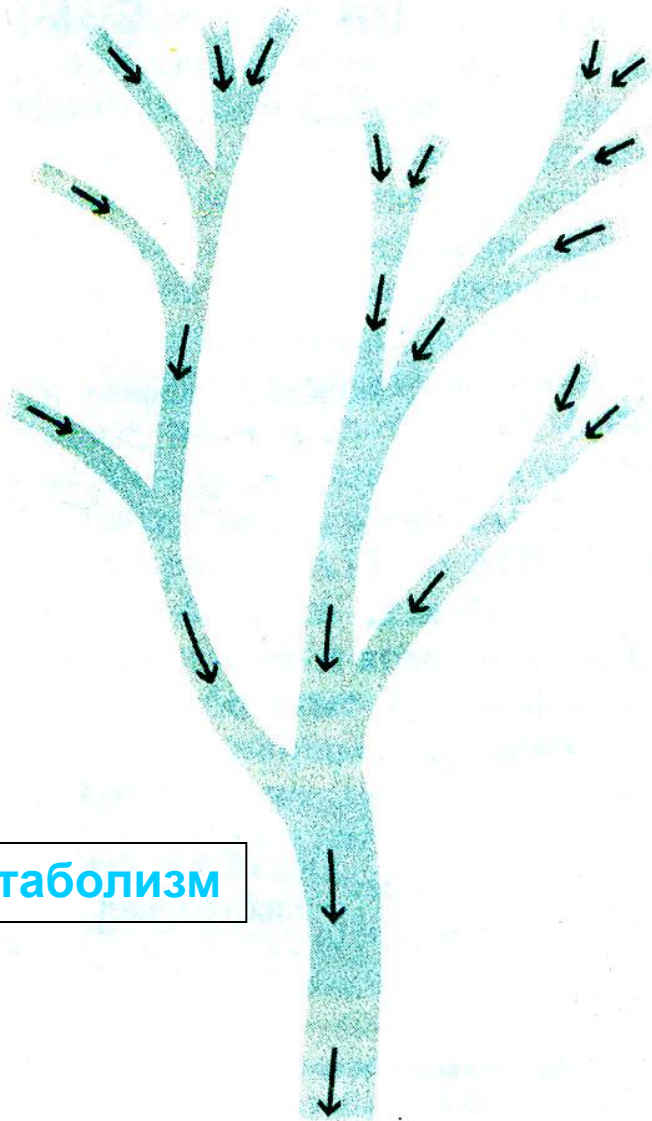
Все ферменты пути действуют **совместно, в определенной последовательности**: Р одной реакции становится S следующей реакции и т.д.

Продукты последовательных превращений – образуют **промежуточные продукты (метаболиты)**.

В основном, метаболические пути бывают **линейными** или **циклическими**.

Активность любого метаболического пути **регулируют несколько «ключевых» ферментов**: они катализируют необратимые химические реакции. Эти реакции определяют направление биохимических превращений. (**Иначе, по закону действующих масс, продукты начнут превращаться в исходные молекулы**).

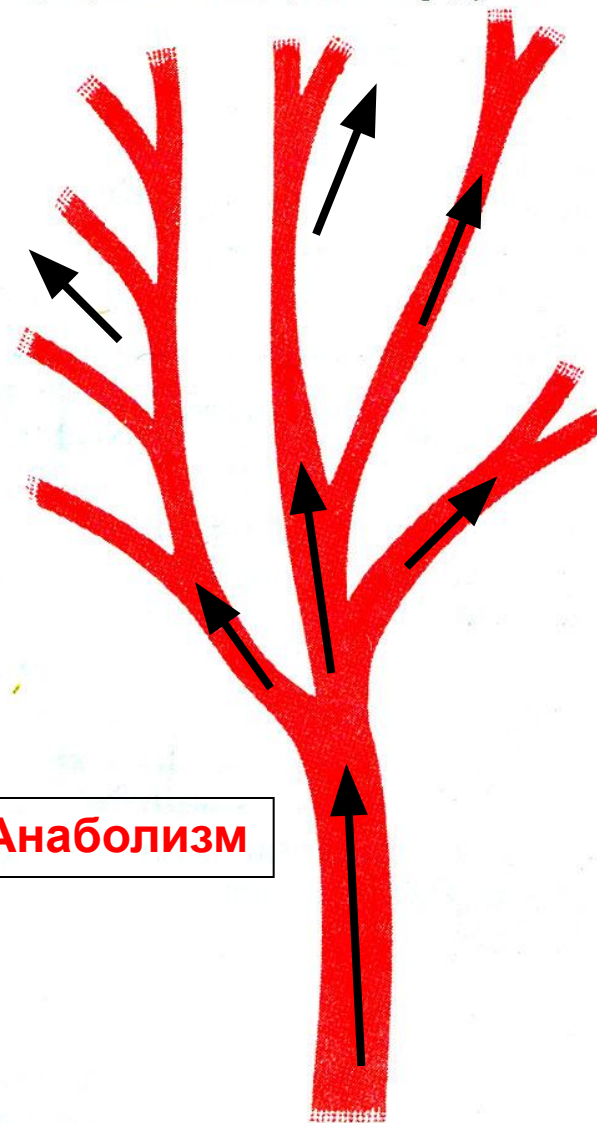
Сходящиеся катаболические пути



Катаболизм

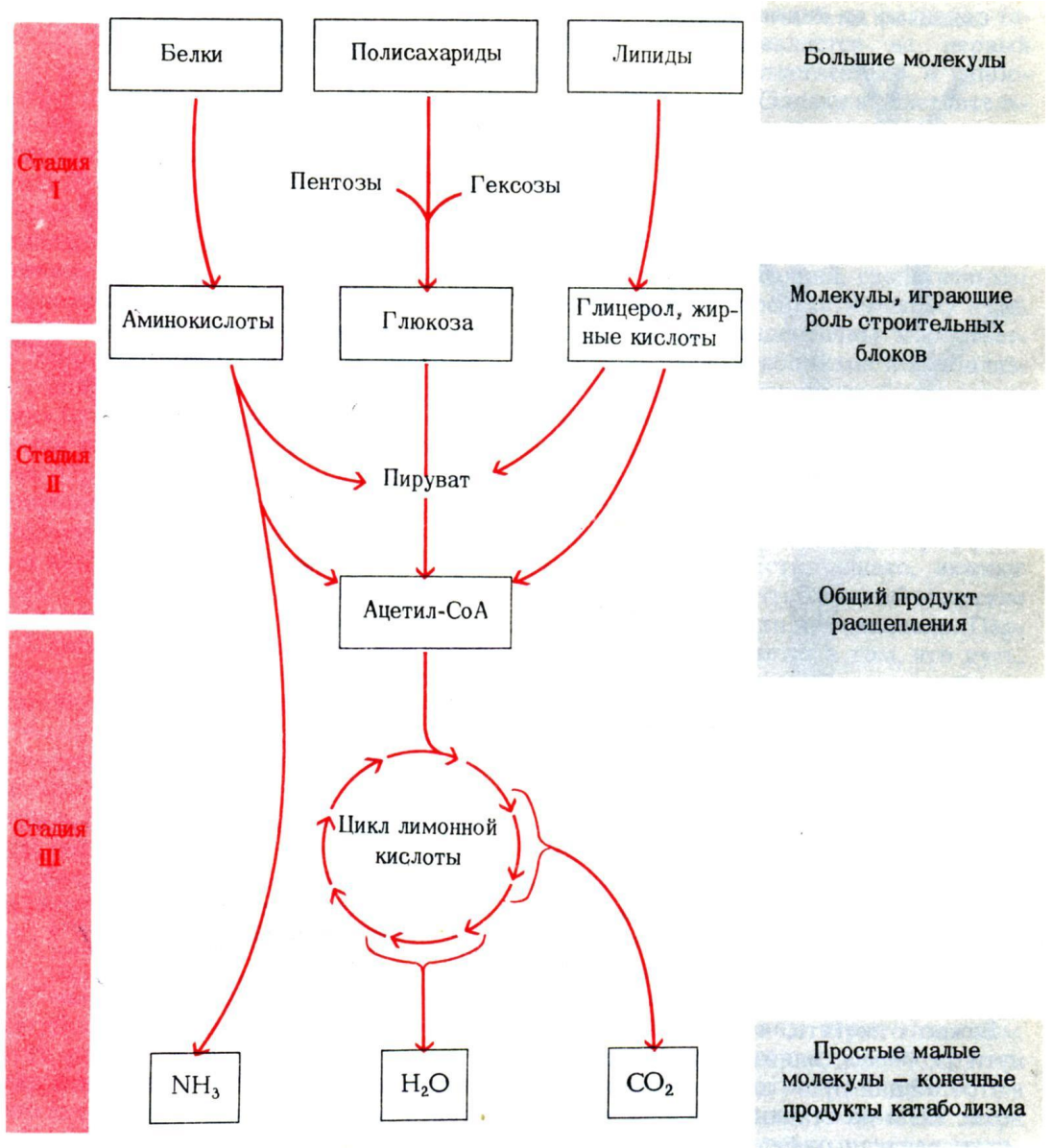
Конечные продукты катаболизма

Расходящиеся биосинтетические пути – из небольшого числа предшественников образуется много разных продуктов



Анаболизм

Предшественники продуктов биосинтеза



Три стадии катаболизма и анаболизма

Итог Стадии I: разбор на строительные блоки.

Итог Стадии II: появление единственного продукта Ацетил-КоА.

Итог Стадии III: конечные продукты катаболизма: CO_2 и H_2O

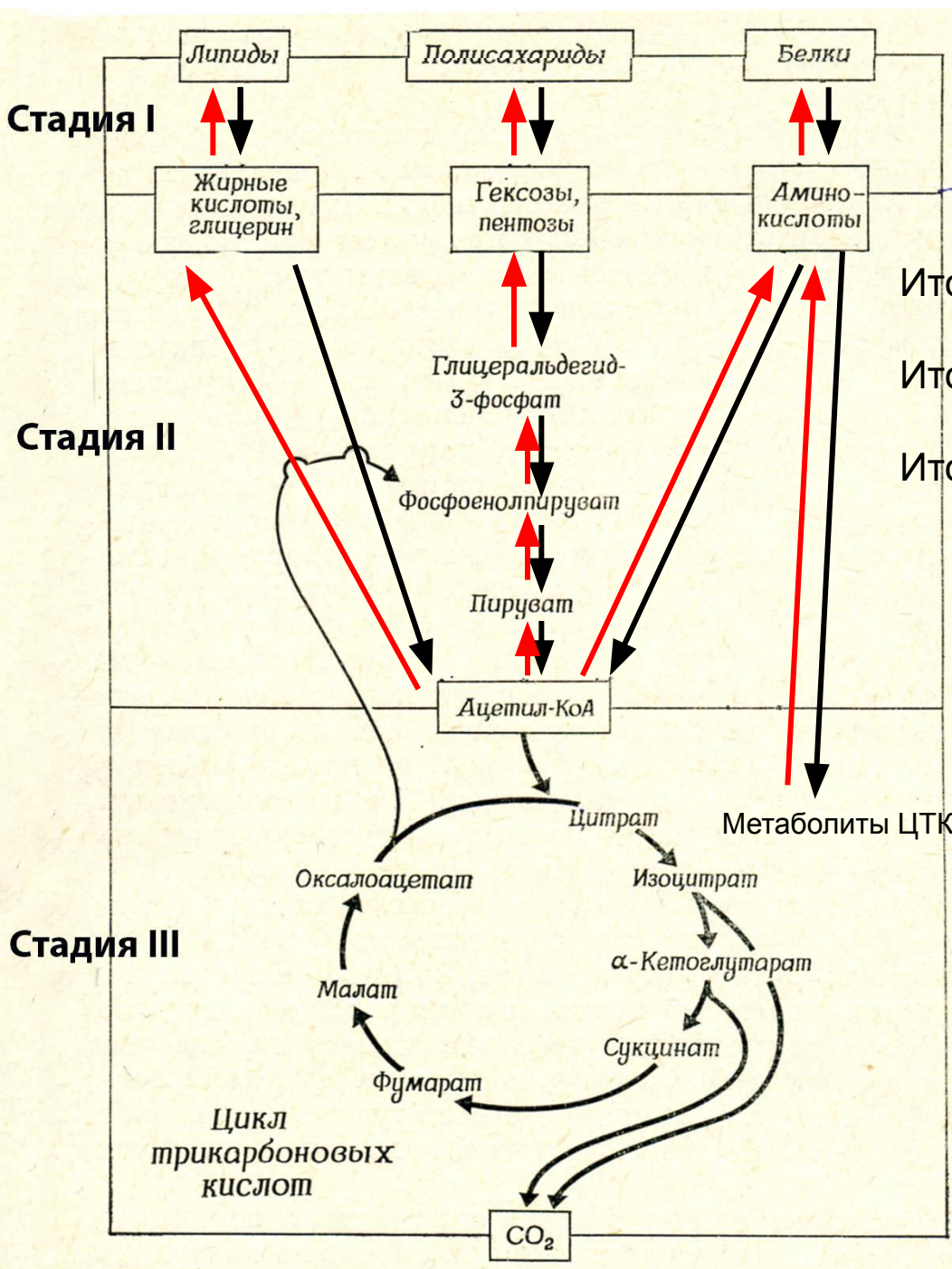
Последняя стадия катаболизма, одновременно является первой стадией анаболизма.

Т.о., ЦТК – пример амфиболического метаболического пути.

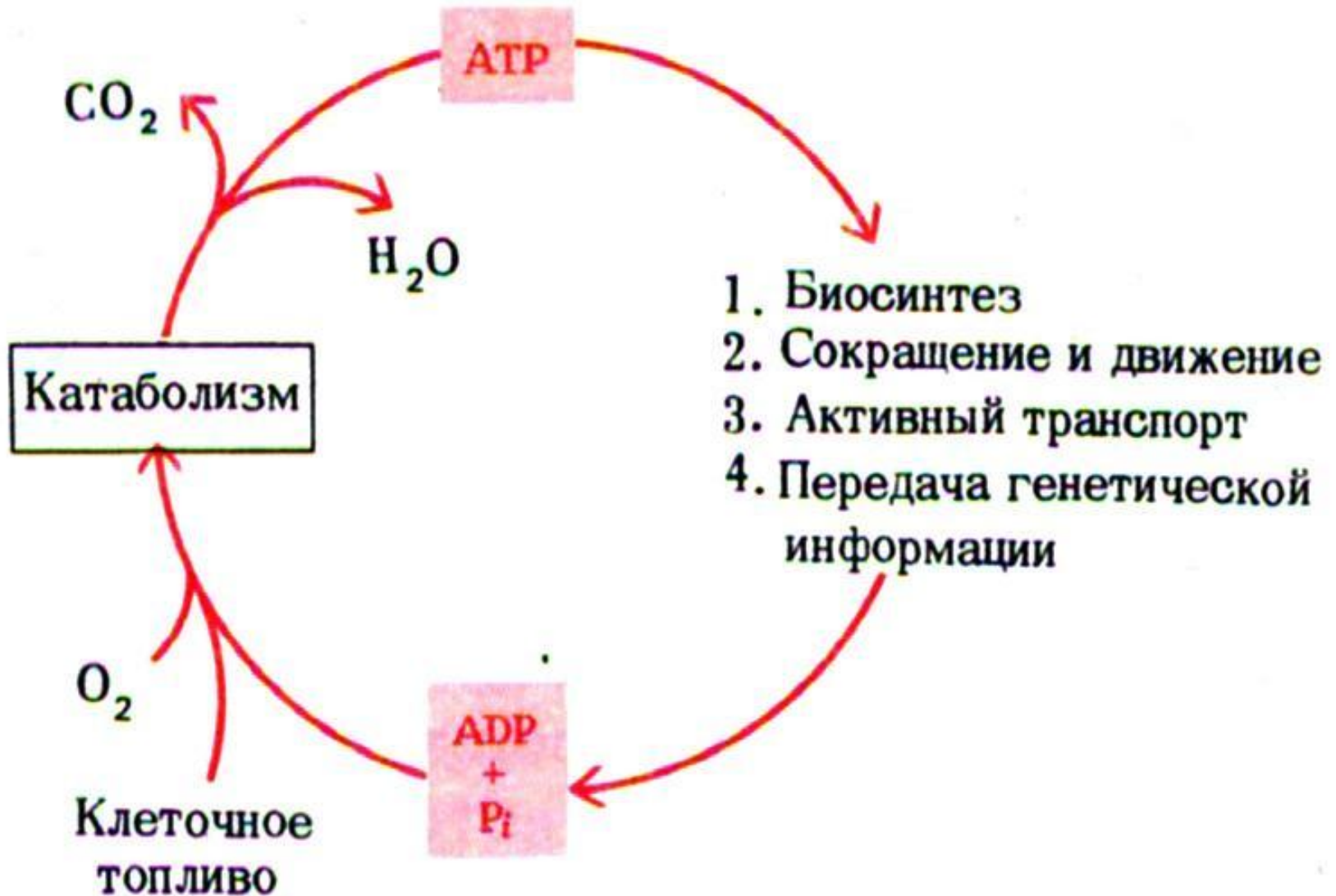
→ катаболизм

→ анаболизм

— обход необратим. стадий



Катаболизм и анаболизм в основе процессов жизнедеятельности



Формы аккумуляции энергии в клетке:

1. **АТФ.** Другие нуклеозид-трифосфаты: **Гуанозин-ТФ**, **Уридин-ТФ** и **Цитидин-ТФ**. Содержатся в небольших количествах, имеют сходную с АТФ величину ΔG° гидролиза. Поставляют энергию в строго определенные биосинтетические пути:



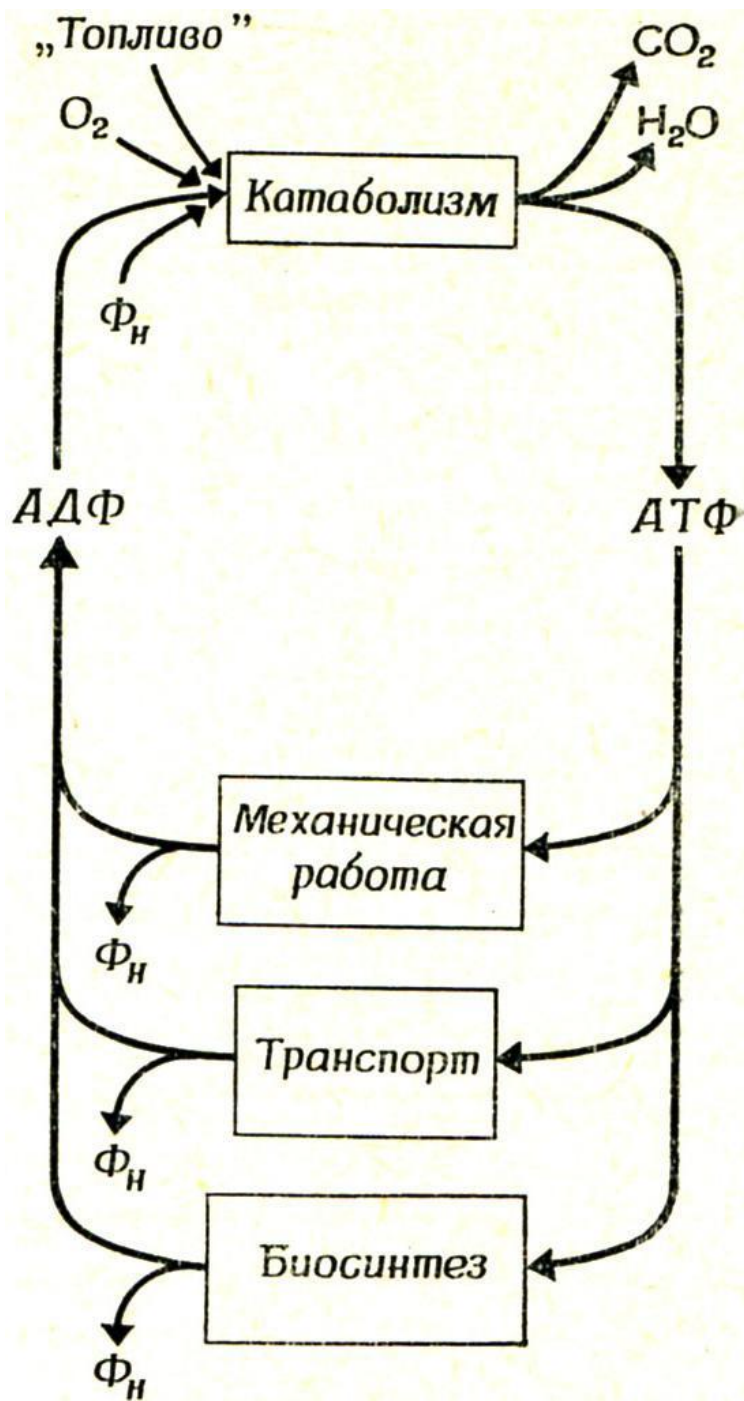
АТФ постоянно образуется и потребляется. Это главный *непосредственно используемый* донор свободной энергии в биосистемах.

2. Пиридиновые и флавиновые нуклеотиды: НАДН, НАДФН и ФАДН₂.

2.1. **НАДН и ФАДН₂** – специфические переносчики Н от окисляемых «топливных» молекул в дыхательную цепь митохондрий, где синтезируется основная часть АТФ (более 90%).

2.2. **НАДФН** – главный донор Н для биосинтетических путей: молекулы субстратов биосинтетических реакций более окислены по сравнению с продуктами. Поэтому, помимо энергии АТФ требуются восстановительные эквиваленты. (Восстановительный биосинтез).

3. Трансмембранный градиент протонов (H^+) на внутренней мембране митохондрий, создаваемый дыхательной цепью.



Энергетический цикл в клетке

Цикл АТФ – АДФ

В результате катаболического расщепления химических связей в молекулах «топлива», высвобождается свободная энергия, которая аккумулируется (не запасается) в форме химической энергии – энергии фосфоангидридной связи молекулы АТФ.

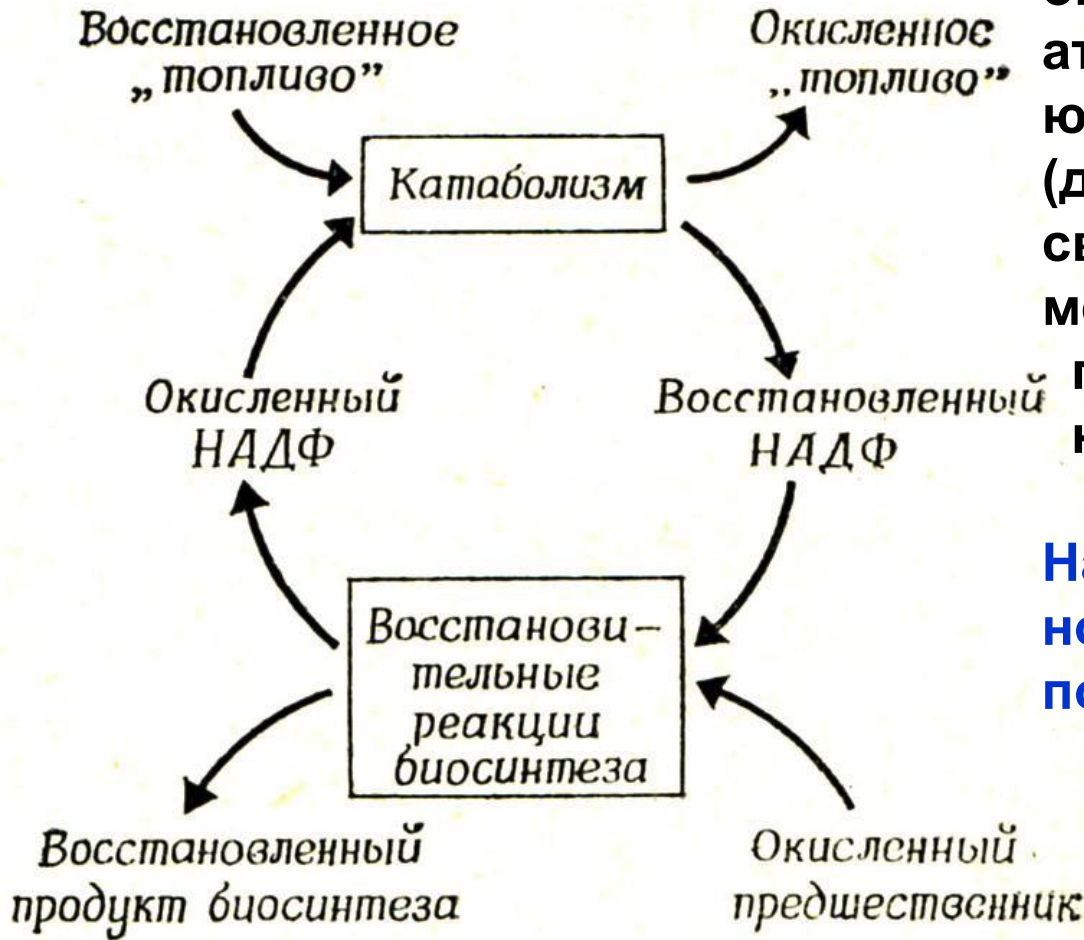
Свободная энергия (ΔG) – часть общей энергии (ΔE), которая может быть использована для совершения работы (при $P = \text{const.}$ и $T = \text{const.}$)

- $\Delta E = \Delta G + T\Delta S$
- где: $T\Delta S$ – тепловой эффект реакции.
- Живые системы изотермичны!!!
- Использование тепловой энергии для совершения хим. и мех. работы невозможно.

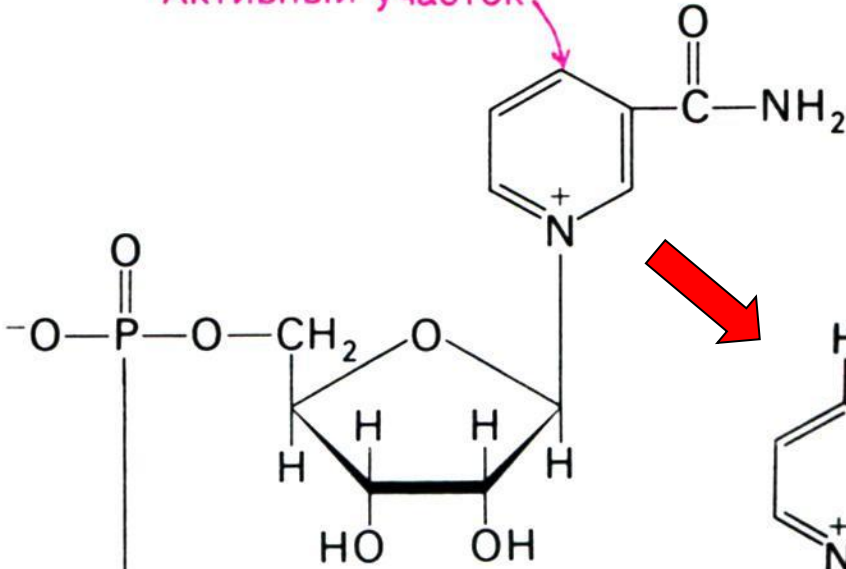
Передача восстановительной способности через НАДФН

В катаболических реакциях окисления, от S отнимаются атомы H. Эти атомы передаются в реакции биосинтеза (для восстановления двойных связей) с помощью кофакторов – переносчиков H, главный из них НАДФН. Менее значимым является ФАД.

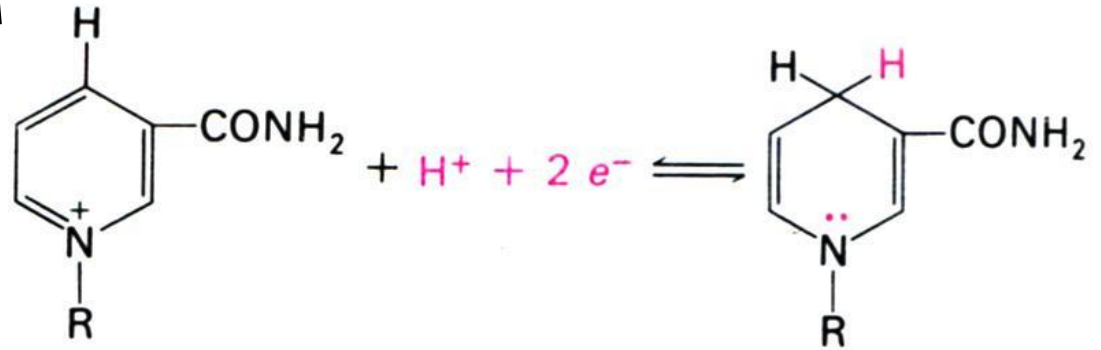
На схеме – передача восстановительной способности посредством НАДФН.



Активный участок



НАД⁺, НАДФ⁺ / НАДН, НАДФН



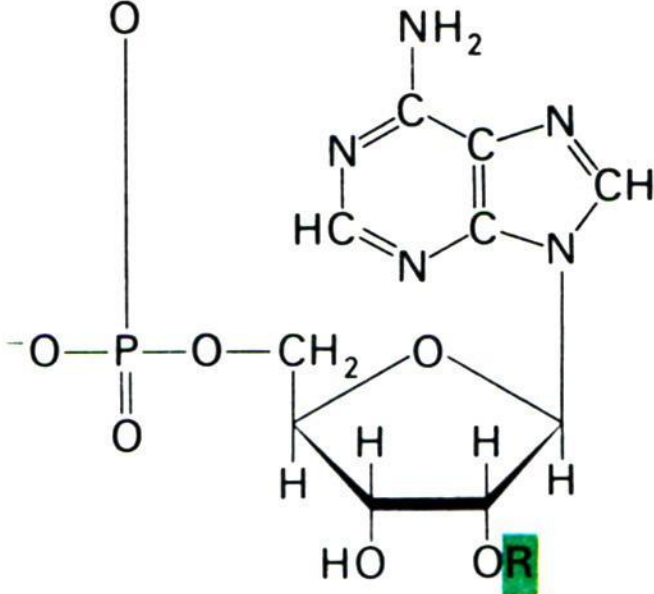
НАД⁺, НАДФ⁺

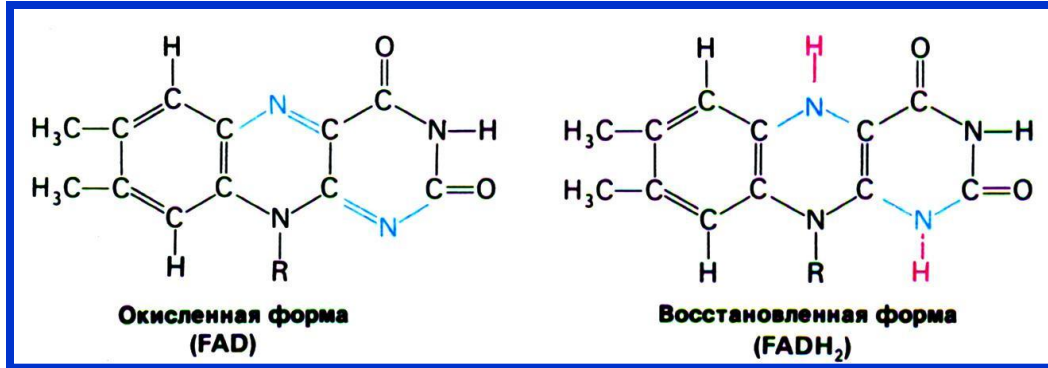
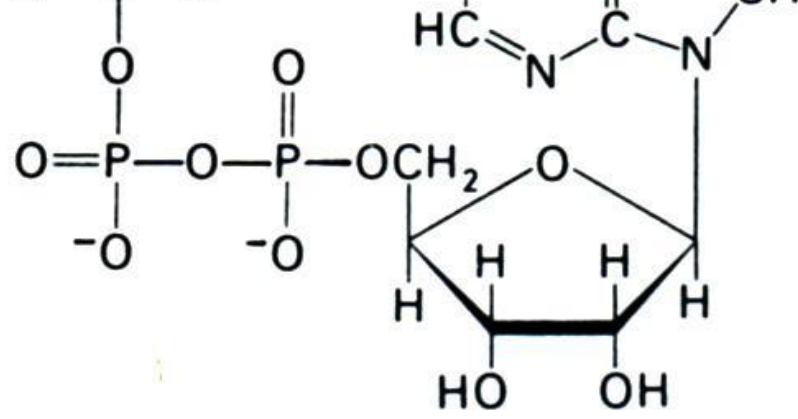
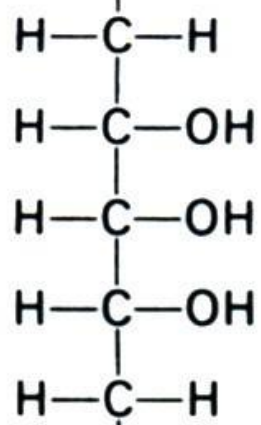
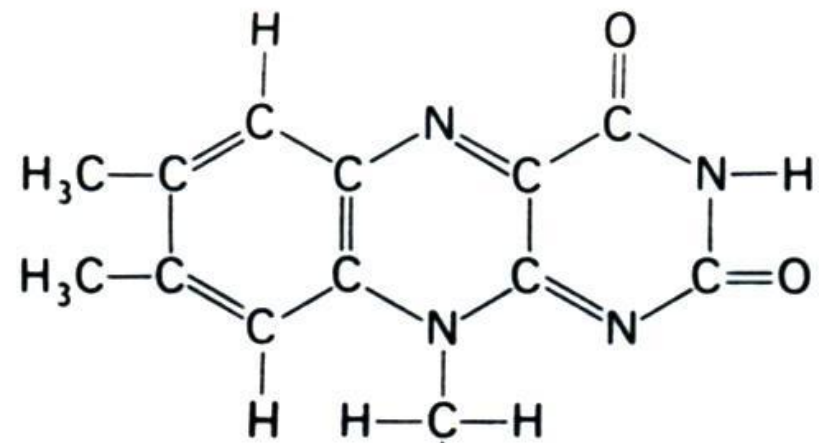
НАДН, НАДФН

При окислении субстрата никотинамидное кольцо принимает H^+ и e^-

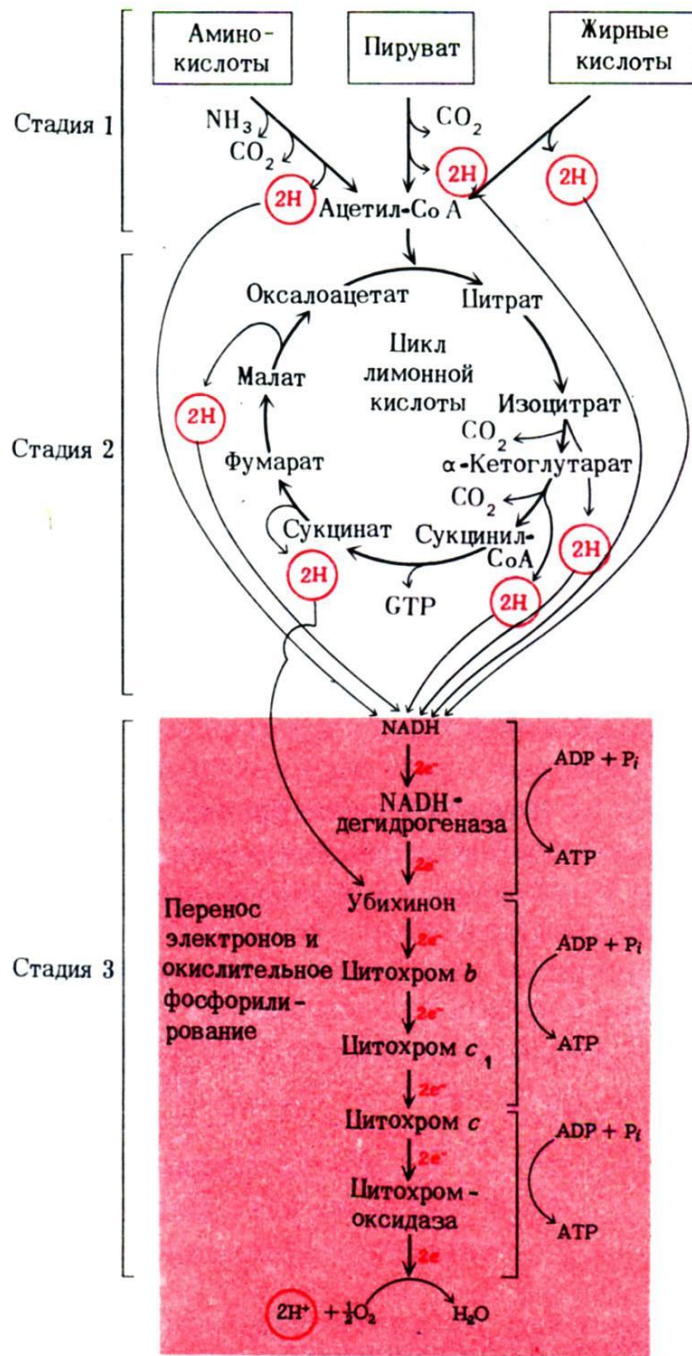
В молекуле НАД⁺ R = H

В молекуле НАДФ⁺ R = PO₃²⁻





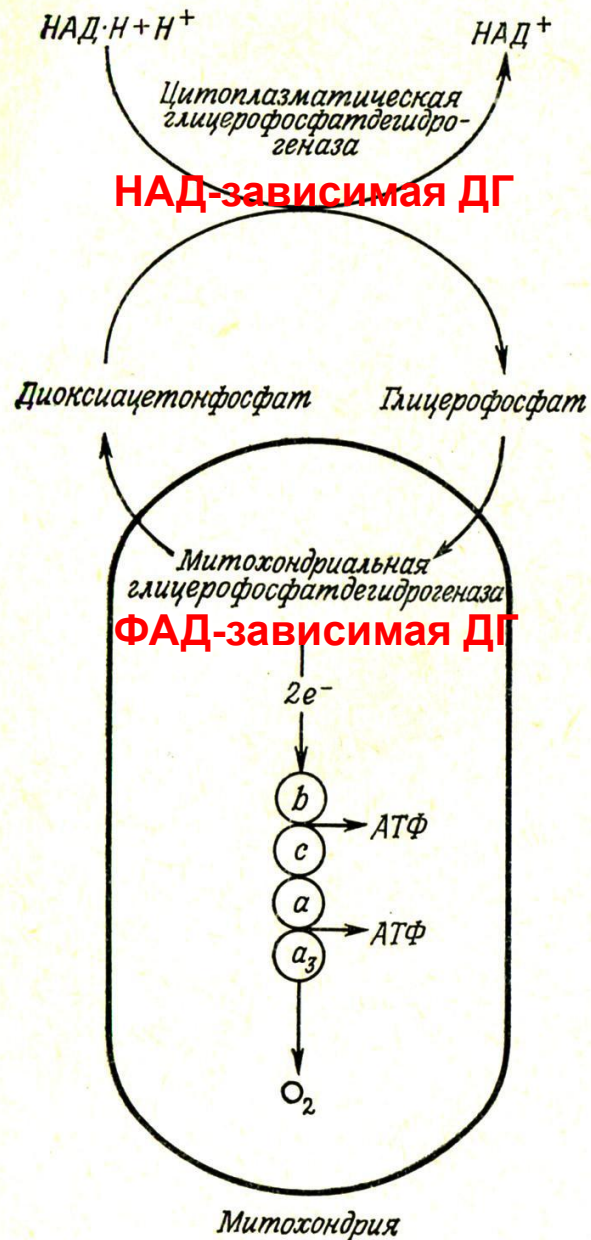
ФАД⁺



Происхождение атомов Н, отщепляемые различными дегидрогеназами на I и II стадиях катаболизма.

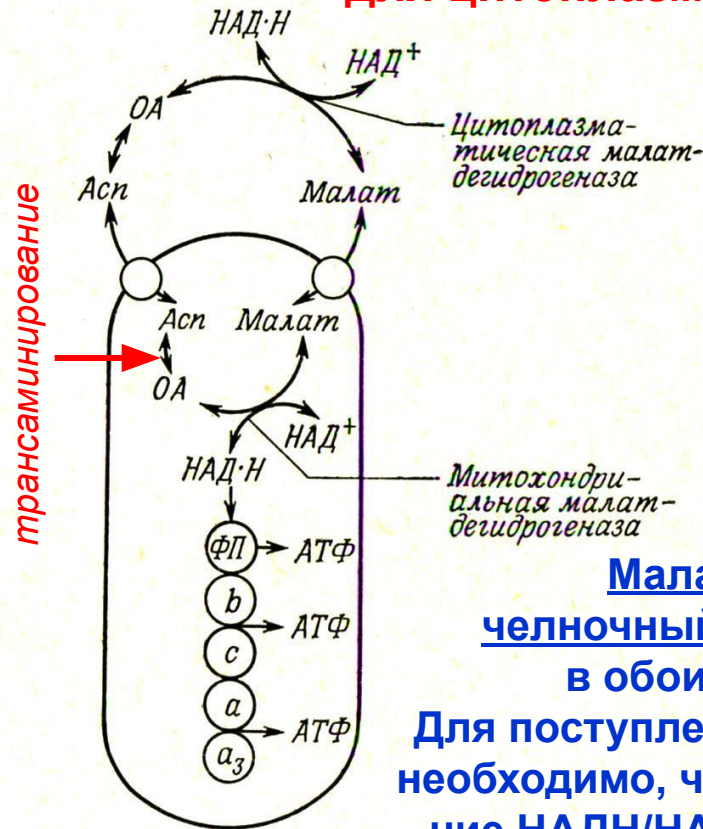
Эти атомы Н переносят НАДН и ФАДН₂ в дыхательную цепь, где происходит разделение зарядов (H^+ и e^-) и в результате окислительного фосфорилирования синтезируется основное количество АТФ.

Челночный механизм – способ доставки атомов Н из цитоплазматического НАДН в дыхательную цепь митохондрий.



Глицерофосфатный челночный механизм (односторонний)

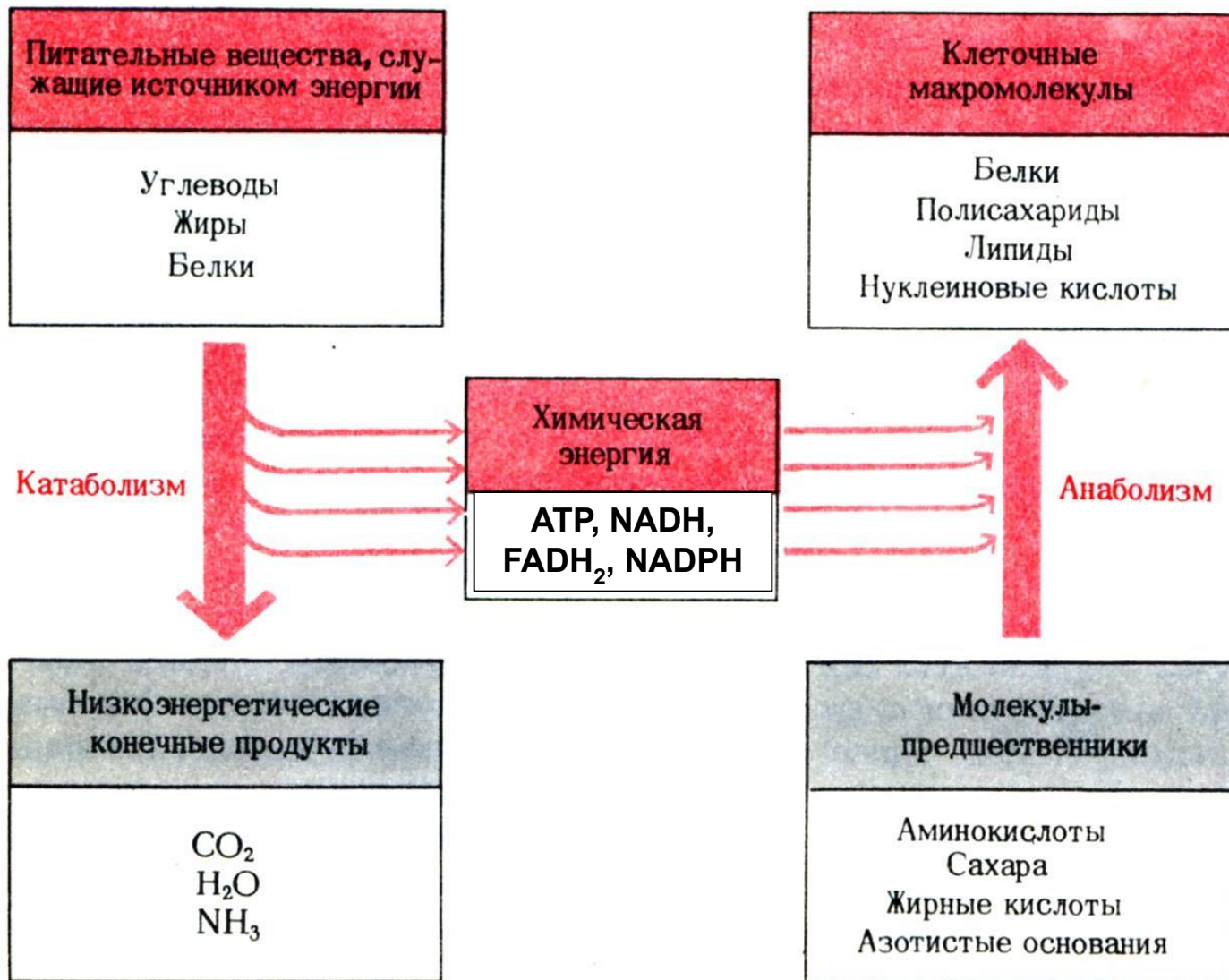
Мембрана митохондрий непроницаема для цитоплазматического НАДН



Малат-аспаратный челночный механизм (работает в обоих направлениях).

Для поступления цитозольного НАДН необходимо, чтобы в цитозоле отношение НАДН/НАД⁺ было больше, чем в матриксе митохондрий.

Энергетические взаимосвязи между катаболическими и анаболическими путями



Согласно определению В.П.Скулачева:

Биоэнергетика – раздел биохимии (биологии), изучающая превращение энергии внешних ресурсов в биологически полезную работу.

Законы биоэнергетики Липмана

I закон биоэнергетики: катаболические процессы сопровождаются аккумуляцией энергии (в основном – АТФ). Все анаболические процессы сопровождаются потреблением энергии АТФ.

II закон биоэнергетики: последовательное сокращение многообразия источников энергии до унифицированной молекулы (ацетил-КоА), позволяет достигнуть единообразия процессов преобразования энергии (ЦТК
 дыхательная цепь митохондрий).

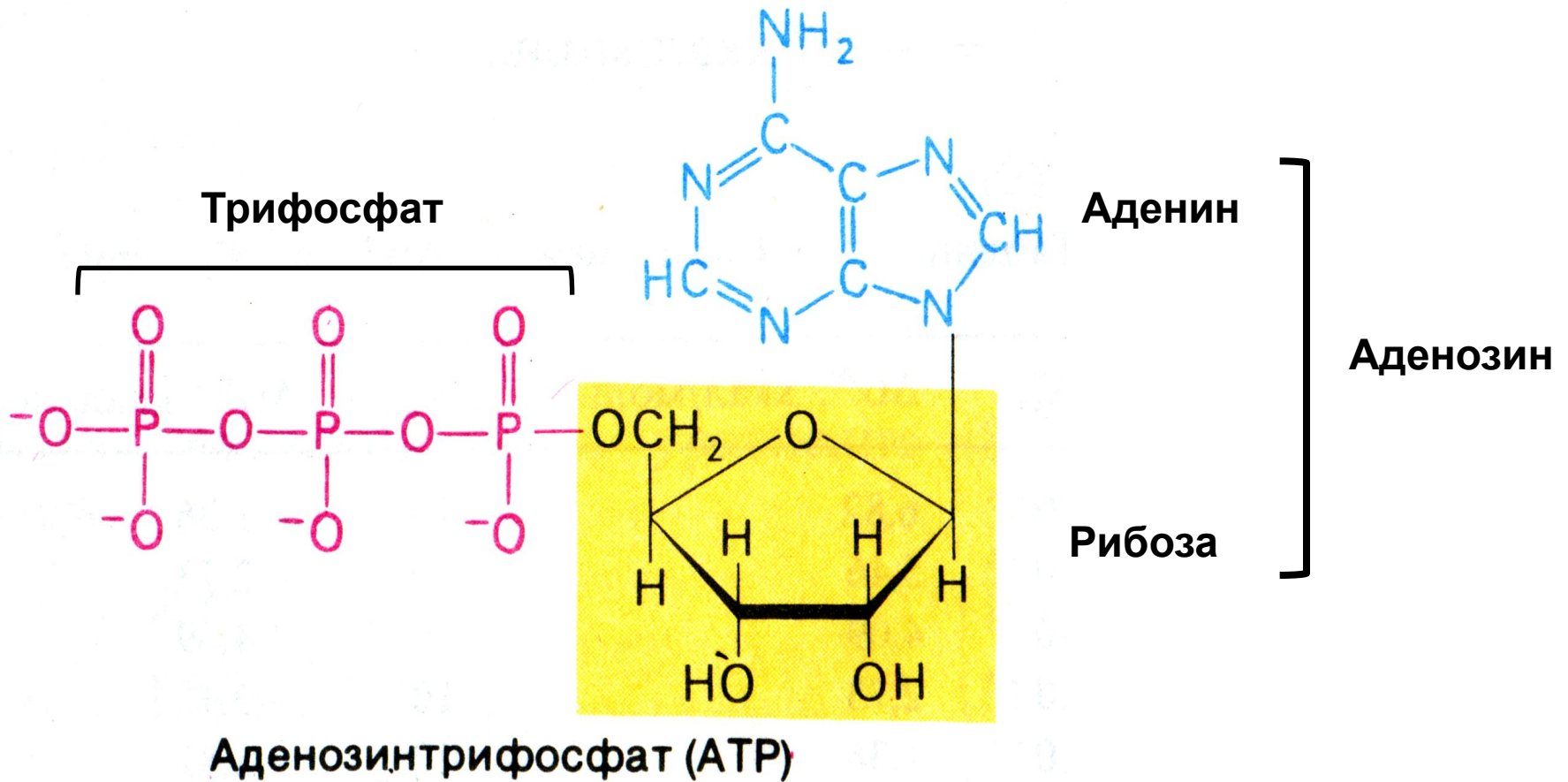
Система **АТФ** \rightleftharpoons **АДФ + Фн** работает как центральный переносчик свободной энергии.

1929 г. – **Фиске** и **Суббароу** выделили АТФ из кислого экстракта мышц.

1948 г. – **Тодд** подтвердил строение молекулы АТФ с помощью химического синтеза.

1938 – 1941 гг. – **Липман** и **Калькар** доказали, что АТФ играет центральную роль в переносе химической энергии в клетке.

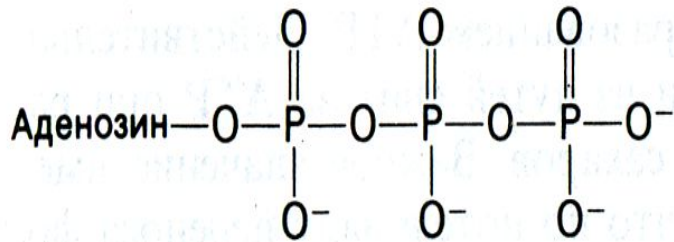
АТФ – универсальная энергетическая «валюта» в биосистемах



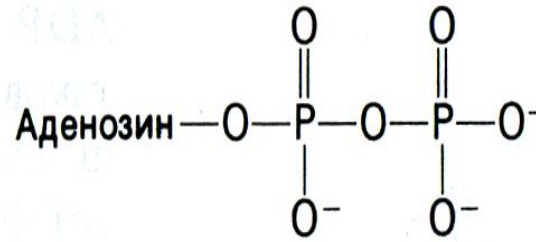
Молекулы АТФ и АДФ при нейтральном значении

pH существуют в виде анионов:

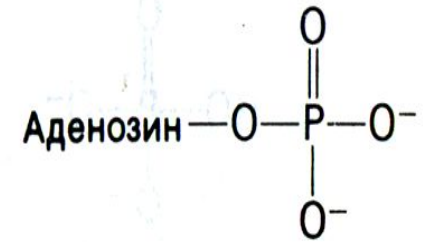
АТФ⁴⁻ (точнее АТФ^{3,8-}) и **АДФ³⁻**



**Аденозинтрифосфат
(АТФ)**

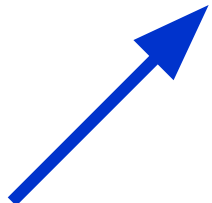
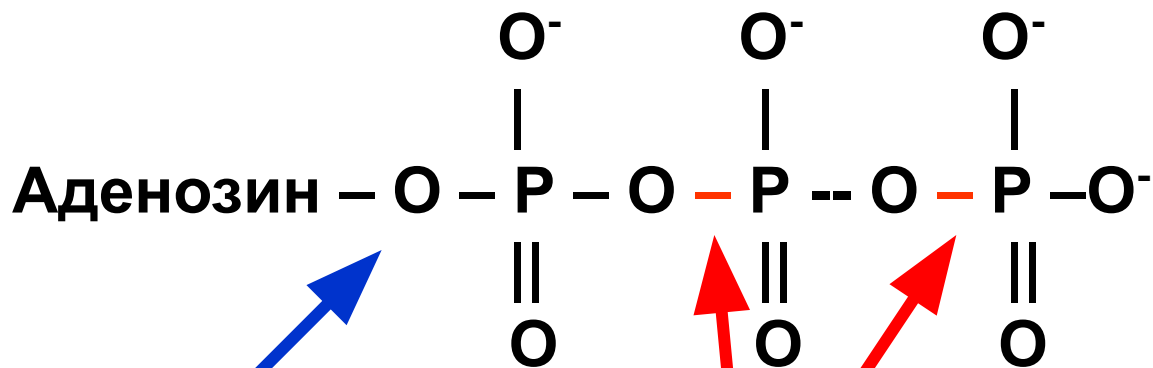


**Аденозиндифосфат
(АДФ)**

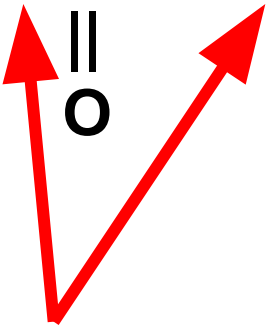


**Аденозинмонофосфат
(АМР)**

q = 3,8⁻ в молекуле АТФ обусловлен тем, что три крайних гидроксила диссоциируют полностью, а оставшийся гидроксил – только на 75 – 80%.

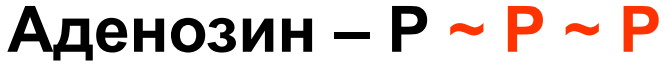


Сложноэфирная связь



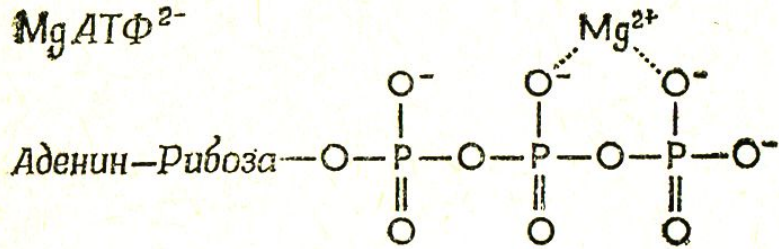
Две фосфоангидридные связи

Липман предложил термин «**высокоэнергетическая фосфатная связь**» (макроэргическая связь) и «**высокоэнергетические фосфатные группы**», которые он предложил обозначать символом (~):

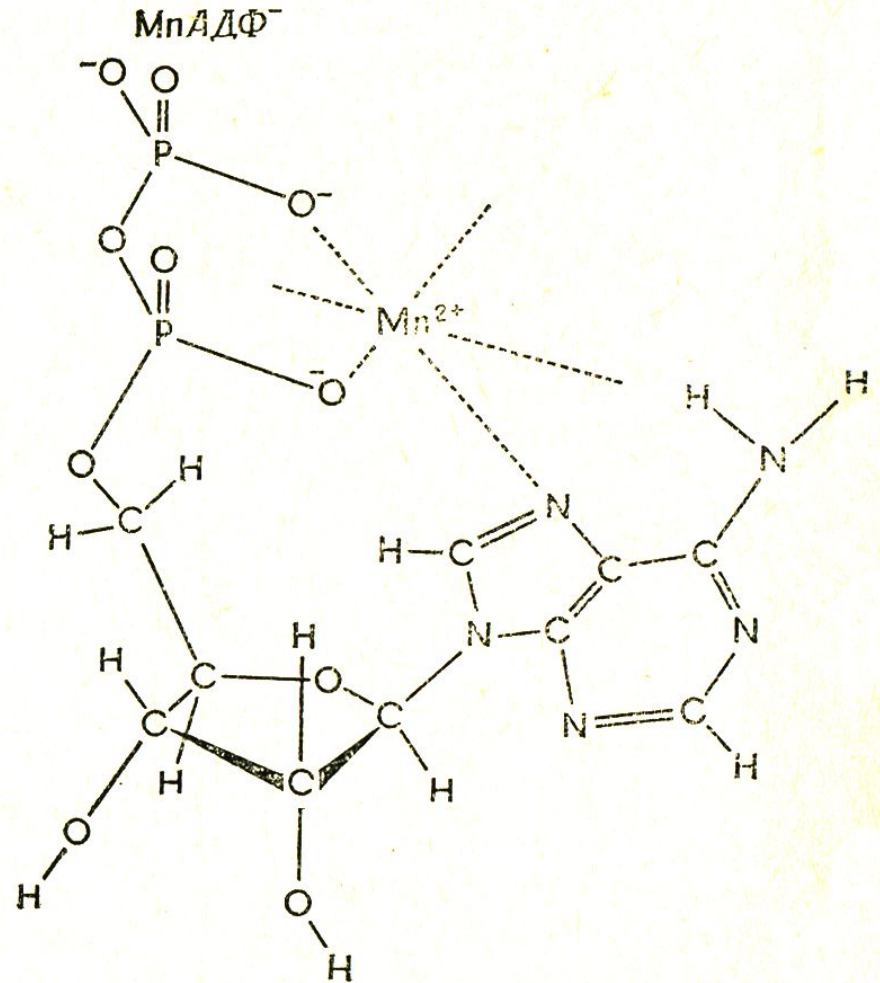
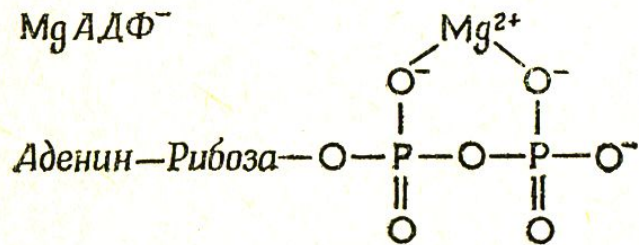


АТФ и АДФ всегда связаны с Mg^{2+} и Mn^{2+} (сродство АТФ к Mg^{2+} в 10 раз больше). Отсутствие этих ионов полностью исключает участие АТФ и АДФ в энергетическом цикле.

$MgATP^{2-}$



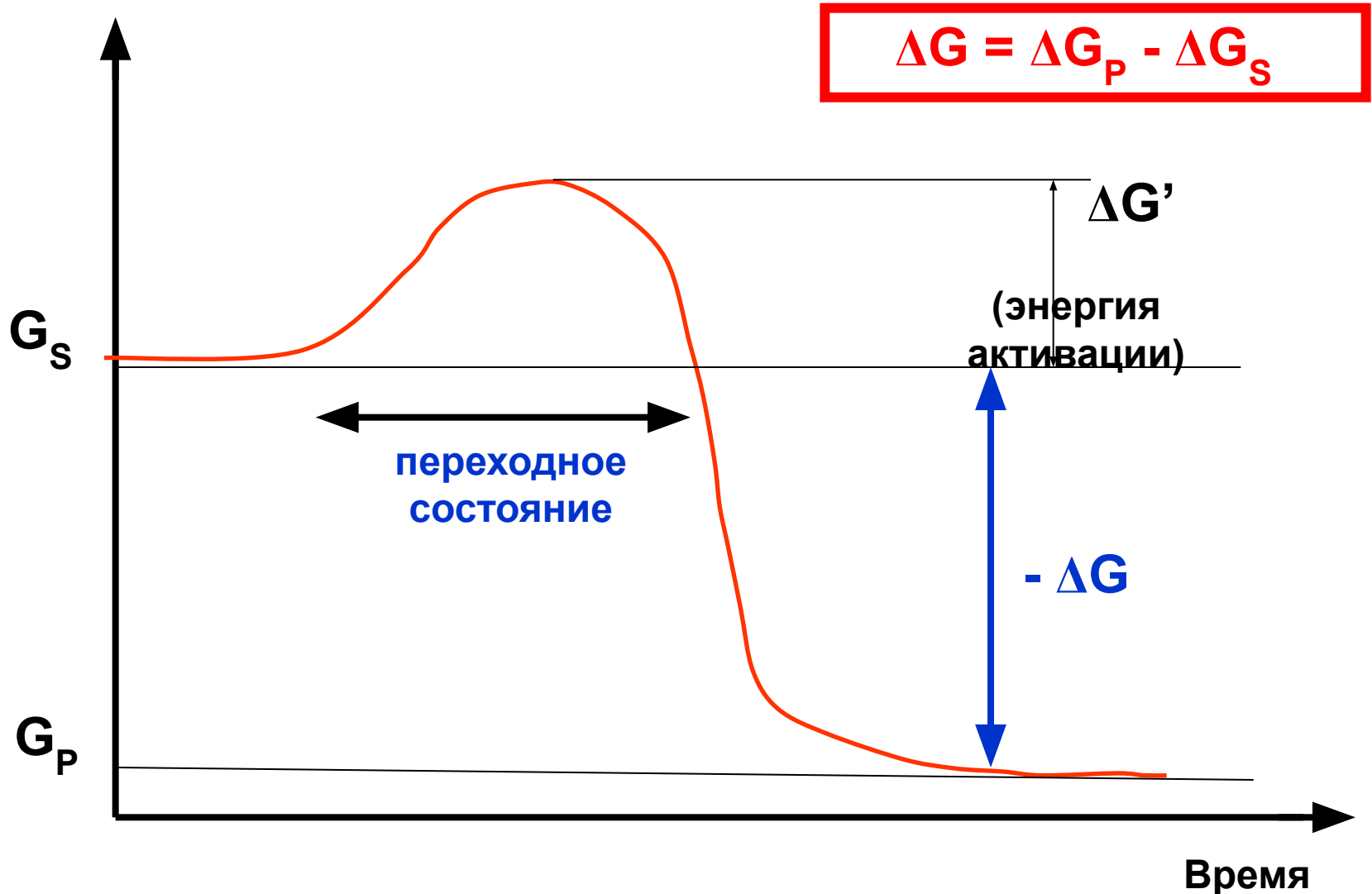
$MgADP^{-}$



Изменение свободной энергии компонентов спонтанно протекающей химической реакции:



ΔG участников реакции



Спонтанные химические процессы протекают до тех пор, пока не достигнут состояния равновесия:



Согласно закону действующих масс, константа равновесия (*Keq*) будет:

$$Keq = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

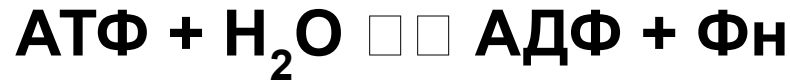
Рассчитать величину изменения свободной энергии (ΔG) конкретного химического превращения можно:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Keq$$

где: ΔG° – изменение стандартной свободной энергии, то есть в **стандартных условиях**: $[S]$ и $[P] = 1$ моль/л, $T^\circ = 37^\circ\text{C}$, pH 7,0
 $P = 1$ атм. и $[\text{Mg}^{2+}]_{\text{избыт.}}$

Стандартная свободная энергия гидролиза АТФ (ΔG°):

Установлено, что ΔG° для реакции гидролиза концевой фосфоангидридной (макроэргической) связи АТФ:



- $\Delta G^\circ \text{ АТФ} = -7,3 \text{ ккал/моль}$
- Для любого конкретного вещества, вступающего в химическую реакцию, ΔG° является константой.

* * *

В живых системах не обнаружен фермент, который мог бы катализировать гидролиз АДФ согласно уравнению:



Чему равно изменение свободной энергии (ΔG) гидролиза АТФ в интактных клетках?

ΔG° АТФ = - 7,3 ккал/моль (определено в стандартных условиях).

В клетке [АТФ], [АДФ] и [Фн], во-первых, не равны между собой; во-вторых, они намного меньше 1 моль/л; в-третьих, рН также отличается от 7,0 (рН 7,35 – 7,4).

Если учесть реальные значения вышеперечисленных параметров в интактном эритроците, то расчет покажет, что **ΔG АТФ = - 12,4 ккал/моль**

Для большинства клеток ΔG АТФ лежит в диапазоне: от **-12** до **-16 ккал/моль**

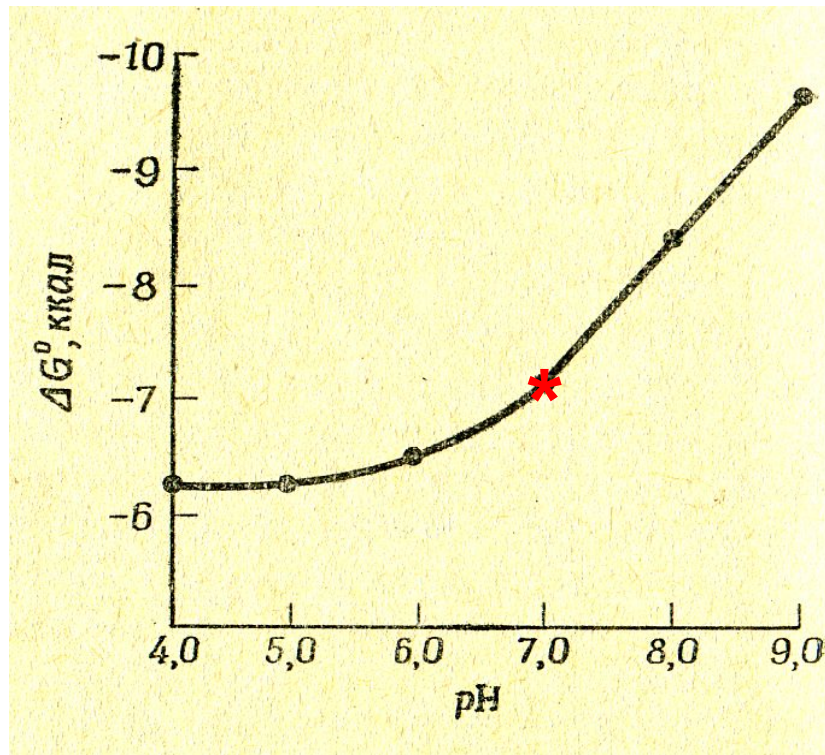
Причины относительно высокой ΔG° гидролиза АТФ

Три структурных фактора:

1. При $\text{pH} = 7,0$ молекула АТФ полностью ионизирована (АТФ^{4-}):
$$\text{АТФ}^{4-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{АДФ}^{3-} + \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$$

равновесия реакции сдвинуто вправо.
2. В трифосфате АТФ высока плотность $-q$, что приводит к их сильному взаимоотталкиванию. После гидролиза конечной фосфатной связи это взаимоотталкивание ослабевает, а продукты (АДФ^{3-} и Фн^{2-}), несущие одноименный заряд, не позволяют вновь образовать АТФ.
3. Продукты гидролиза АТФ (АДФ^{3-} и Фн^{2-}) имеют структуру, для которой характерен переход части электронов на низкоэнергетические уровни. Поэтому **запас свободной энергии продуктов существенно меньше**, чем в негидролизованной АТФ.

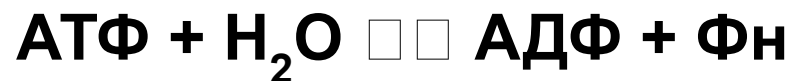
Величина ΔG° гидролиза АТФ существенно зависит от изменения рН в диапазоне от 5 до 9



Защелачивание среды приводит к снижению ΔG° (уменьшается степень диссоциации гидроксидов в трифосфате и уменьшаются силы электростатического отталкивания).

Защелачивание среды вызывает рост ΔG° , (степень диссоциации увеличивается, достигая максимальной степени, следовательно, силы электростатического отталкивания будут проявляться в максимальной степени).

При «классическом» гидролизе АТФ теряет одну концевую ортофосфатную группу - **ортофосфатное расщепление** АТФ:



$$(\Delta G^\circ = - 7,3 \text{ ккал/моль})$$

Происходит также **пирофосфатное расщепление** АТФ - отщепляется пирофосфат :



$$(\Delta G^\circ = - 7,7 \text{ ккал/моль})$$

Пример: активация ЖК, когда образуется КоАэфир ЖК.



Показателем энергетического статуса клетки служит энергетический заряд (ЭЗ) по Д. Аткинсону:

$$\text{Энергетический заряд (ЭЗ)} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

$\frac{1}{2}$ ADP – молекула содержит 1 фосфоангидридную связь, а ATP – 2 таких связи

ЭЗ = 0, когда в системе есть только АМФ

ЭЗ = 1, когда в системе есть только АТФ

В большинстве типов клеток **ЭЗ = 0,80 – 0,95**

АТФ-синтезирующие пути ингибируются высоким ЭЗ

АТФ-потребляющие пути активируются высоким ЭЗ

АТФ – непосредственно используемый донор свободной энергии. Это не форма запасания свободной энергии. **АТФ постоянно синтезируется и постоянно расходуется. В физиологических условиях внутриклеточная концентрация АТФ варьирует в очень узком диапазоне значений.**

В клетке есть резервный запас свободной энергии в форме **высокоэнергетических фосфорилированных соединений (фосфагенов). Они обмениваются фосфорилом с АДФ в результате чего образуется молекула АТФ. Эти реакции катализируются **специфическими киназами** (класс фосфотрансферазы):**



Изменение стандартной свободной энергии (ΔG°) гидролиза биологически значимых высокоэнергетических фосфорилированных соединений - фосфагенов

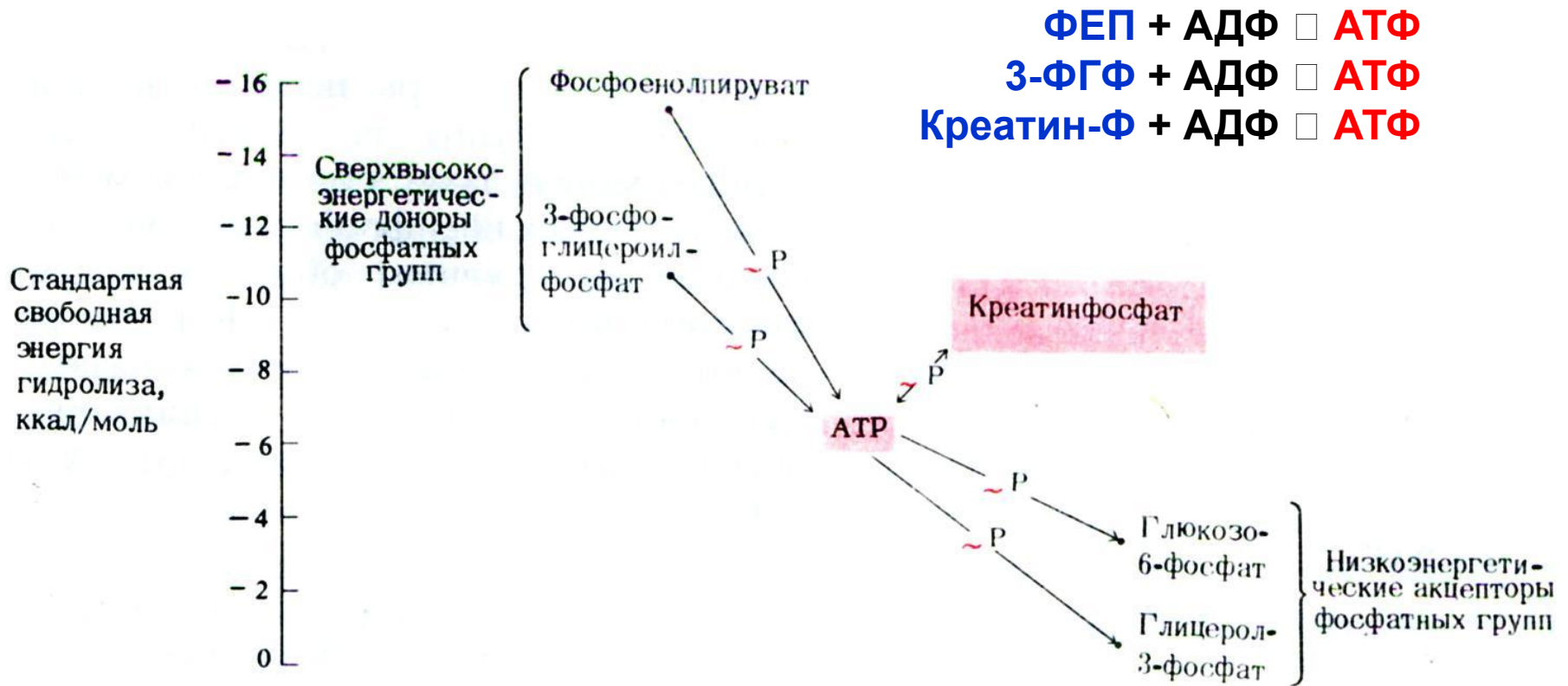
Соединение	ΔG° , ккал/моль
Фосфоенолпируват	-14,8
Карбамоилфосфат	-12,3
Ацетилфосфат	-10,3
Креатинфосфат	-10,3
Пирофосфат	-8,0
АТФ (до АДФ)	-7,3
Глюкозо-1-фосфат	-5,0
Глюкозо-6-фосфат	-3,3
Глицерол-3-фосфат	-2,2

Условная граница проходит на уровне глюкозо-1-фосфата.

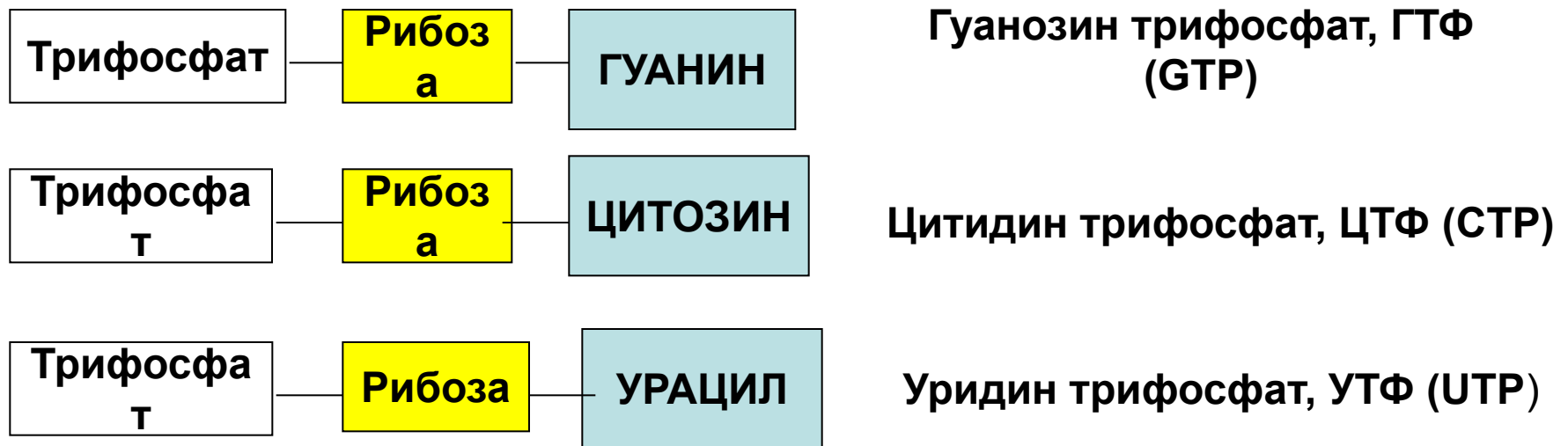
Фосфоенолпируват и 3-фосфоглицерат - сверхвысокоэнергетические соединения. Наряду с креатинфосфатом их называют фосфагенами.

АТФ занимает промежуточное положение на шкале, что обуславливает его функцию – **служить посредником при переносе фосфатных групп от высокоэнергетических соединений к их акцепторам** – лежащим на шкале ниже АТФ.

Перенос фосфатных групп от фосфогенов (доноров фосфатных групп) через АДФ к различным соединениям - акцепторам



Перенос высокоэнергетических фосфатных групп, помимо АТФ, происходит с помощью других нуклеозид-5'-трифосфатов

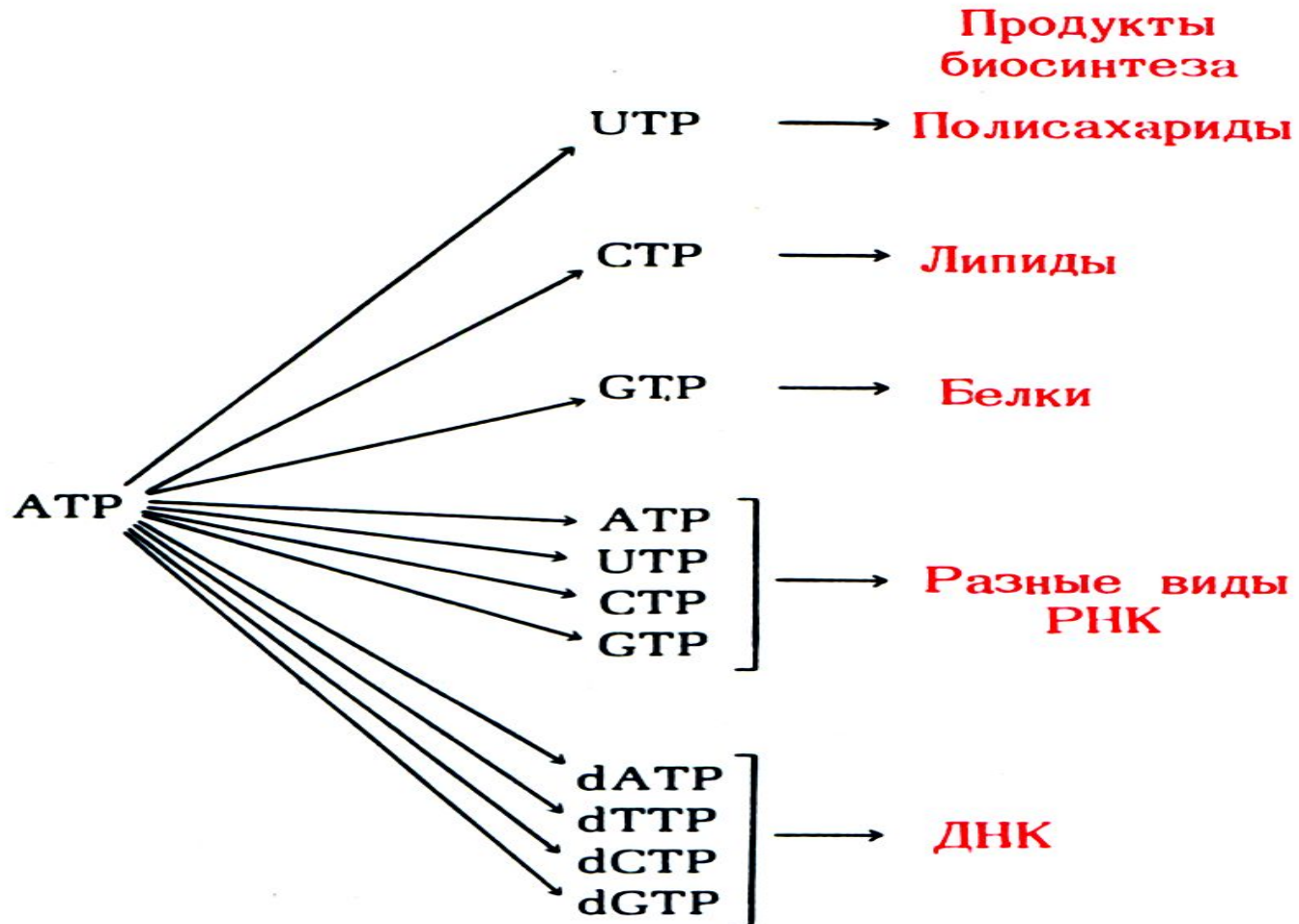


Эти нуклеозид-5'-трифосфаты содержатся в клетках в значительно меньших количествах, чем АТФ, но имеют такую же величину ΔG° гидролиза.

Нуклеозид-5'-трифосфаты используются в строго специфических биосинтезах. Свои концевые фосфатные группы они получают от АТФ. Процесс катализируют **нуклеозиддифосфокиназы**. В общем виде уравнение этой реакции:



Различные нуклеозид-5'-трифосфаты служат каналами, по которым энергия от АТФ направляется на специфические биосинтезы

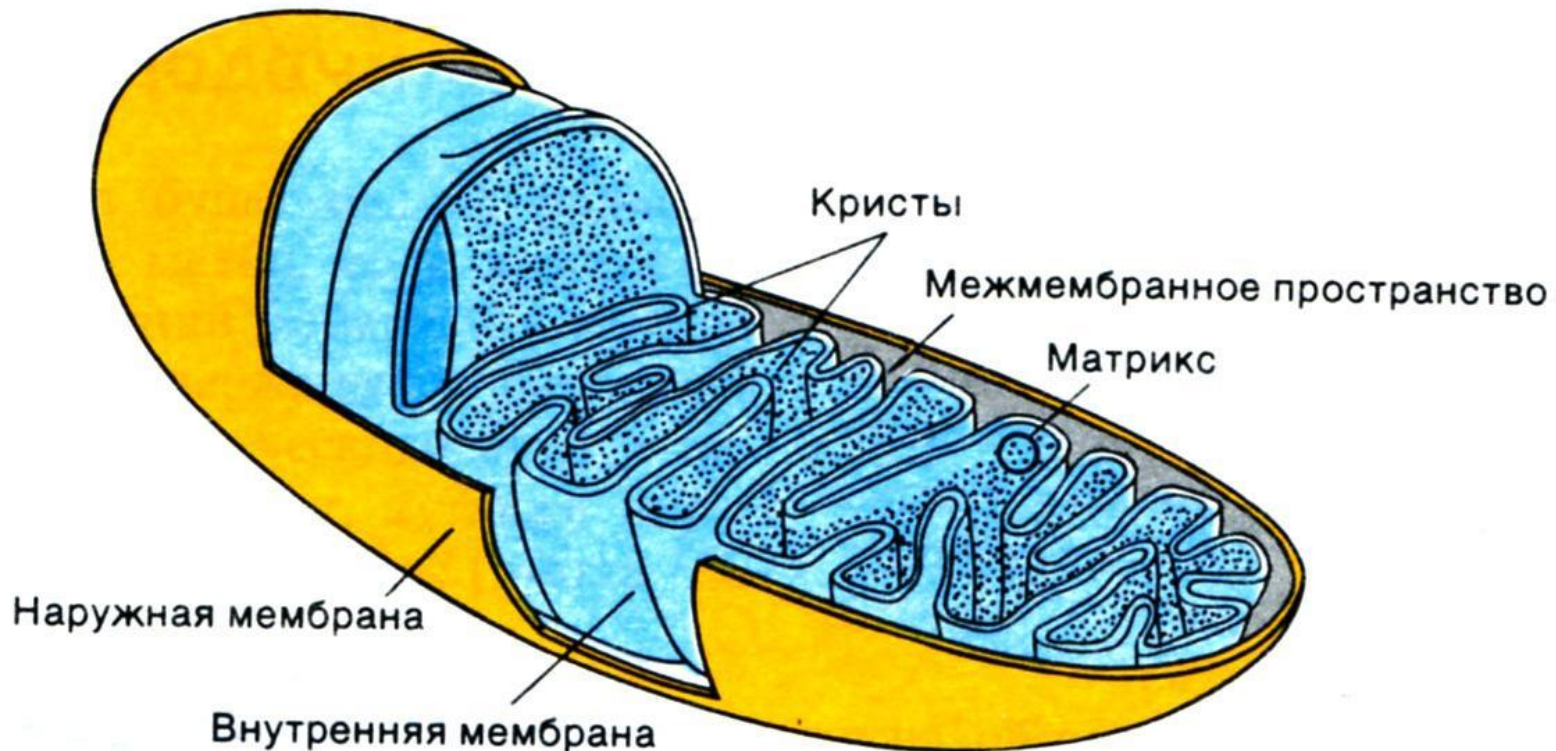


Окислительное фосфорилирование

ОФ – процесс образования АТФ, сопряженный с транспортом e^- по цепи переносчиков от НАДН (ФАДН_2) к O_2 .

Митохондрия имеет двойную мембрану [Паллад и Сьёстранд – электронная микроскопия].

ОФ происходит в митохондриях, во внутреннюю мембрану которых «встроена» цепь переносчиков e^- .



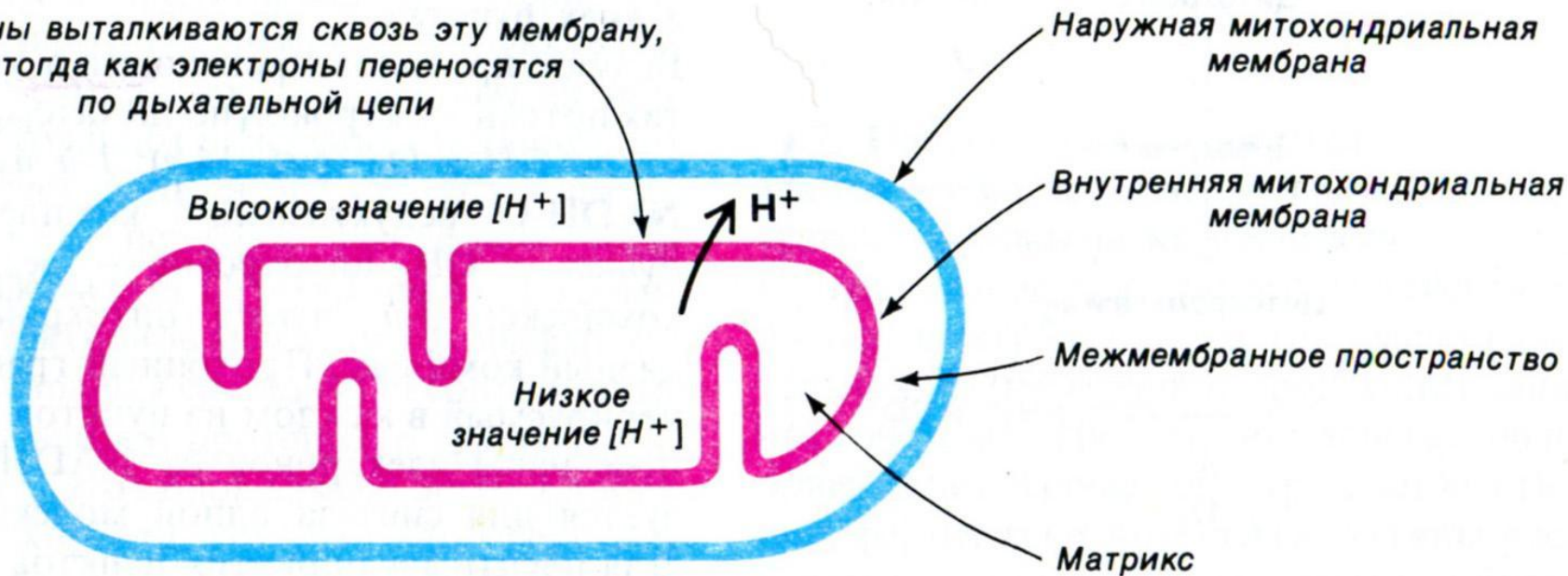
Атомы водорода доставляются в дыхательную цепь с помощью НАДН и ФАДН₂ (в основном из ЦТК и β-окисления ЖК), где происходит разделение зарядов.

е⁻ движутся вдоль дыхательной цепи к О₂, а Н⁺ выбрасываются в межмембранное пространство.

Формируется трансмембранный электро-химический градиент Н⁺ (ΔμН⁺): «+» снаружи, «-» внутри.

Энергия этого градиента – движущая сила для синтеза АТФ в митохондриях.

Протоны выталкиваются сквозь эту мембрану, тогда как электроны переносятся по дыхательной цепи



Во внутренней мембране митохондрий находятся переносчики e^- , составляющие дыхательную цепь, и ферменты, синтезирующие АТФ из АДФ и Фн (**H^+ -АТФ-синтетазы**). Переносчики являются сложными белками на долю которых приходится до 75% массы внутренней мембраны органелл [*Кеннеди и Лениджер в конце 40-х годов XX века разработали метод выделения митохондрий из тканей и доказали существование переносчиков e^-*].

Свойства внутренней мембраны митохондрий

Эта мембрана не проницаема для H^+ и большинства ионов, пиридиновых нуклеотидов, а также для многих незаряженных молекул.

Во внутренней мембране находятся:

1. Высокоспецифичный переносчик – **адениннуклеотидтранслоказа**: обеспечивает перенос цитозольного АДФ в матрикс митохондрий с одновременным переносом АТФ из матрикса в цитозоль (антипорт).
2. Высокоспецифичный переносчик для **пирувата**.
3. Переносчик для **карнитиновых эфиров длинноцепочечных жирных кислот**.
4. Сукцинатдегидрогеназа.

Переносчики H^+ и e^- в дыхательной цепи организованы в форме **пяти** структурно обособленных **комплексов**, которые функционально связаны между собой.

Электронпереносящие комплексы, составляющие дыхательную цепь



Эти комплексы можно выделить из митохондрий в виде функциональных ансамблей.

Последовательность переносчиков e^- в дыхательной цепи находится **в строгом соответствии с величиной их окислительно-восстановительного потенциала (E_o , вольт).**

Стандартные E'_o основных окисл.-восст. пар дыхательной цепи:

НАДН / НАД ⁺	-0,32 В
цитохром <i>b</i>	-0,07 В
цитохром <i>c</i>	+0,22 В
H ₂ O / ½ O ₂	+0,82 В

Восстановители (доноры e^-) имеют $-E_o$, в то время как окислители (акцепторы e^-) имеют $+E_o$.

Окисл.-восст. пары с $-E_o$ будут отдавать e^- окисл.-восст.парам с $+E_o$. **Этим определяется направление переноса e^- вдоль дыхательной цепи.**

ΔG° , обусловленное переносом пары e^- вдоль дыхательной цепи к O_2

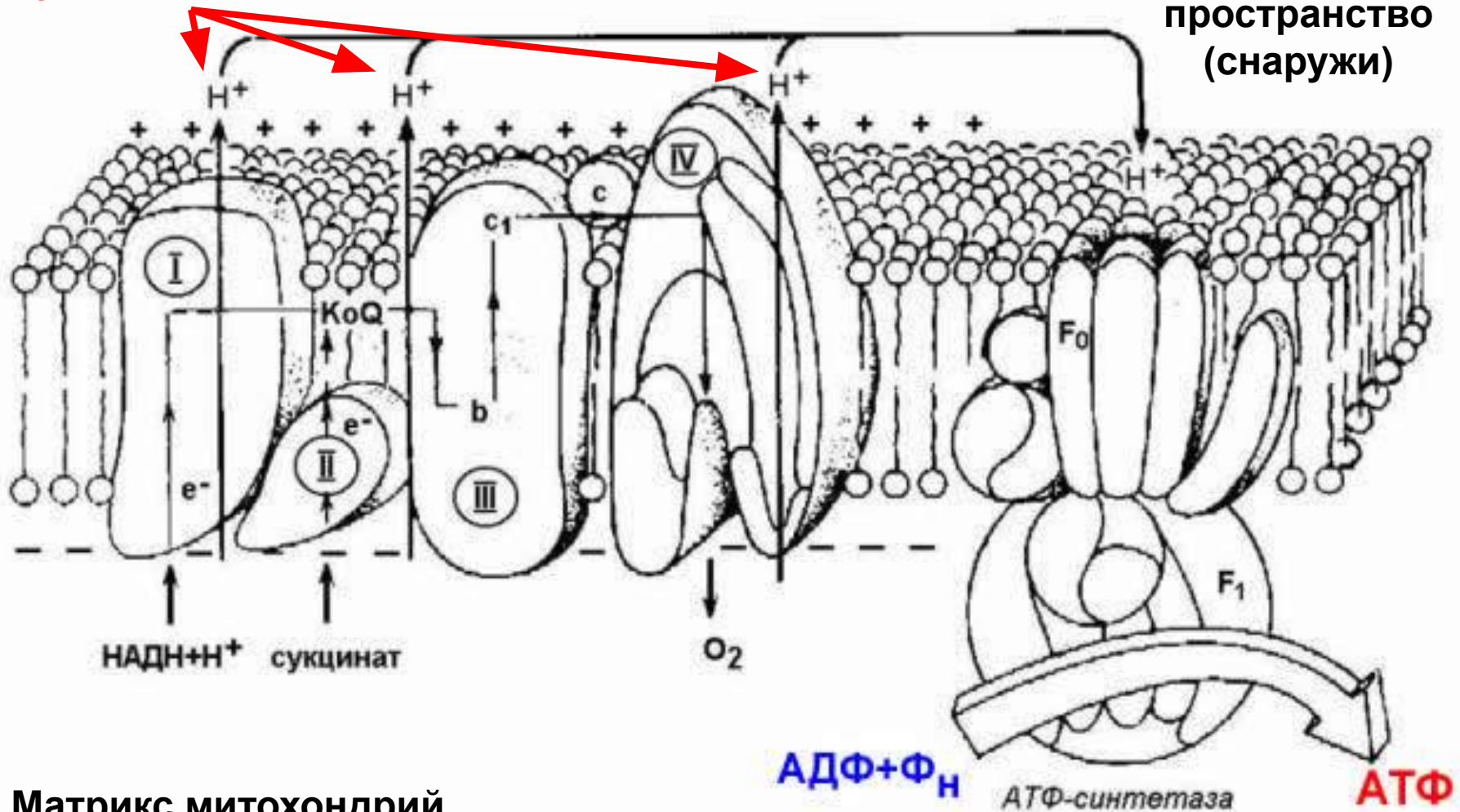
Установлено 3 участка, где величина ΔG_0 достаточна для синтеза молекулы АТФ.



Характерная локализация отдельных комплексов, цитохрома с и АТФ-синтетазы во внутренней мембране митохондрий

Пункты выброса H^+

Межмембранное пространство (снаружи)

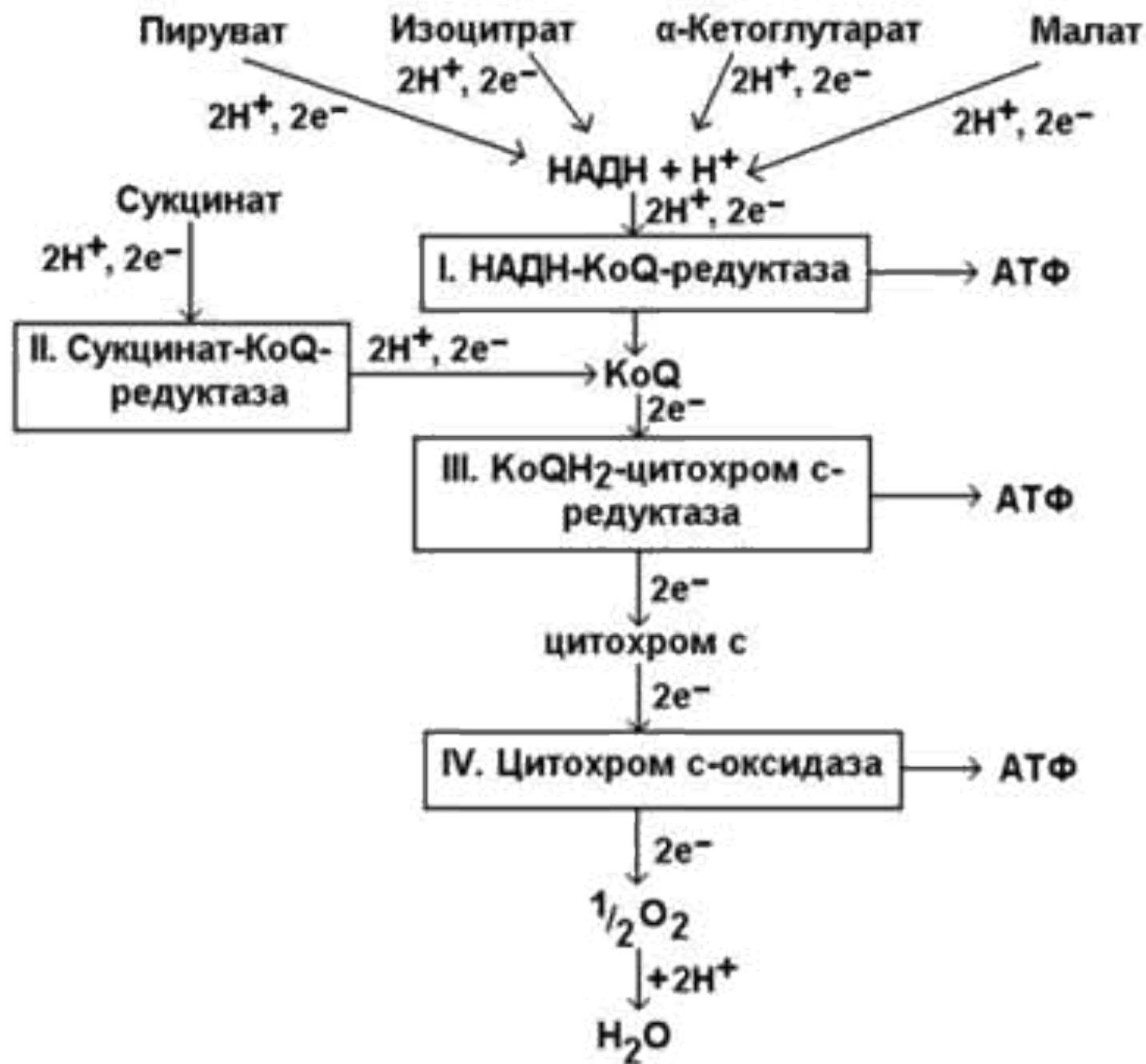


Матрикс митохондрий (внутри)

АДФ+Ф_Н

АТФ-синтетаза

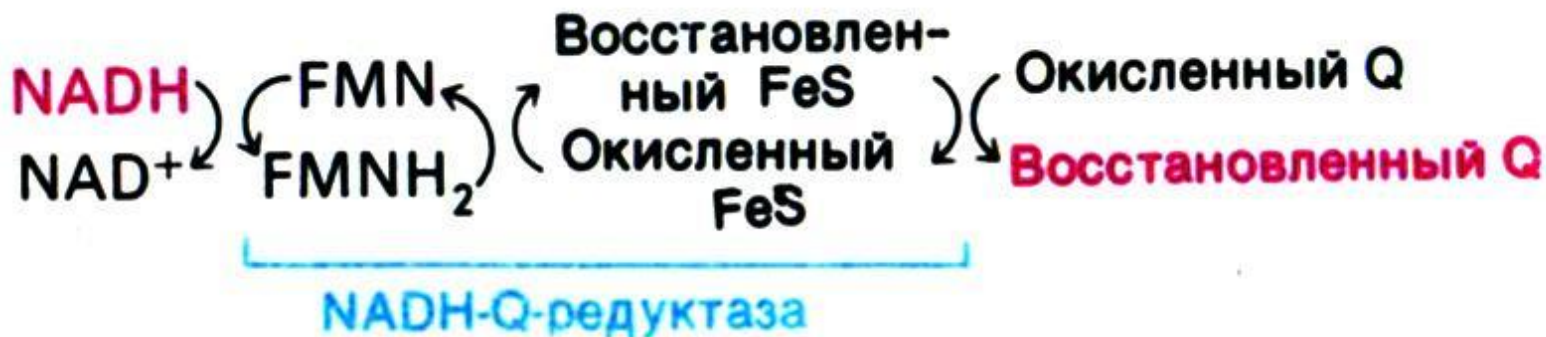
АТФ



СТРОЕНИЕ КОМПЛЕКСОВ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

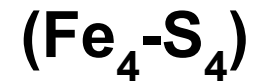
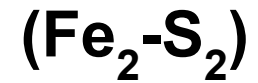
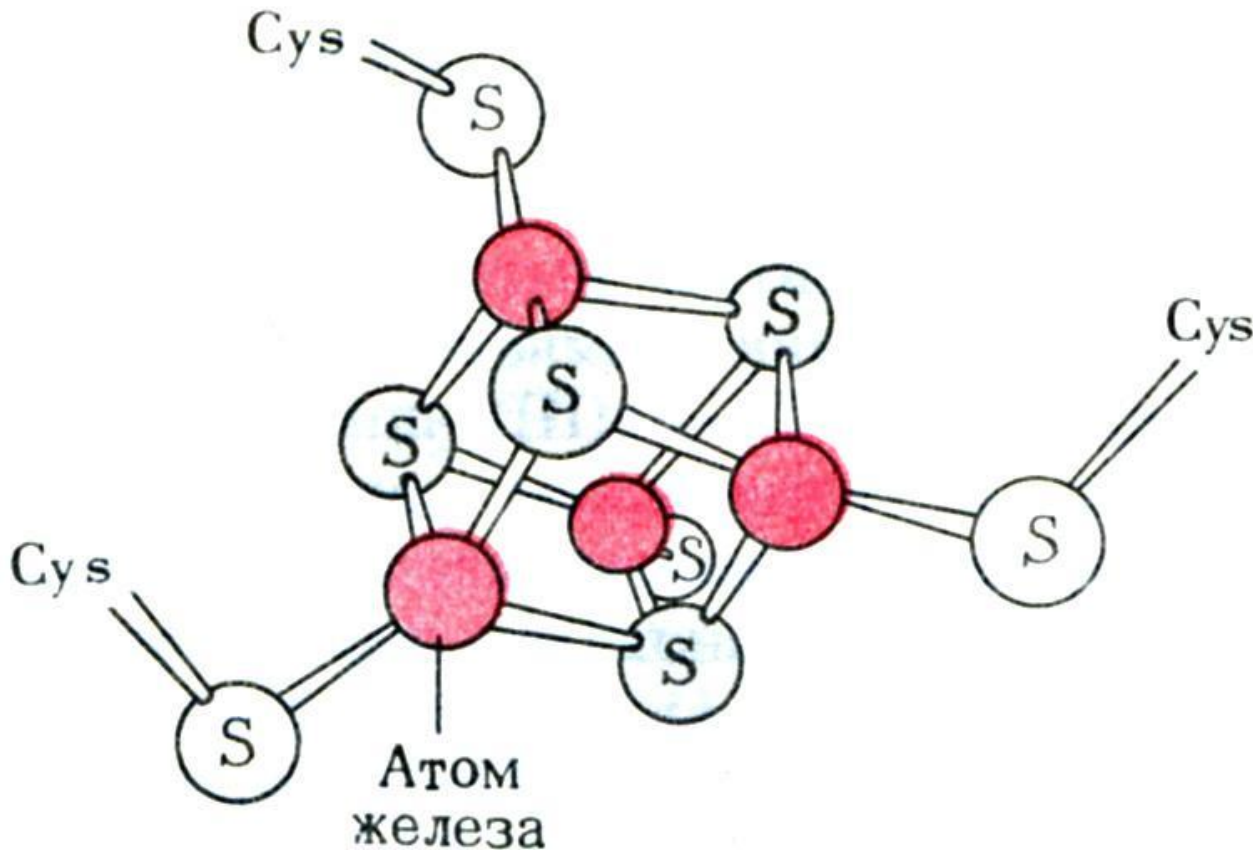
Комплекс I – НАДН : убихинон оксидоредуктаза (НАДН-ДГ).

Сначала $2 e^-$ от НАДН передаются на простетическую группу дегидрогеназы – на **флавинмононуклеотид (ФМН)**. Затем $2 e^-$ поступают в **Fe-S центры** (содержится 2 вида центров). Далее $2 e^-$ передаются на **кофермент Q (коэнзим Q)**.



Пространственное расположение атомов Fe и S в железо-серных центрах

Количество атомов **Fe** и **S** отличается в центрах различных типов, но всегда число Fe = числу S.



Комплекс II – Сукцинат: убихинон оксидоредуктаза (Сукцинат-ДГ = СДГ)

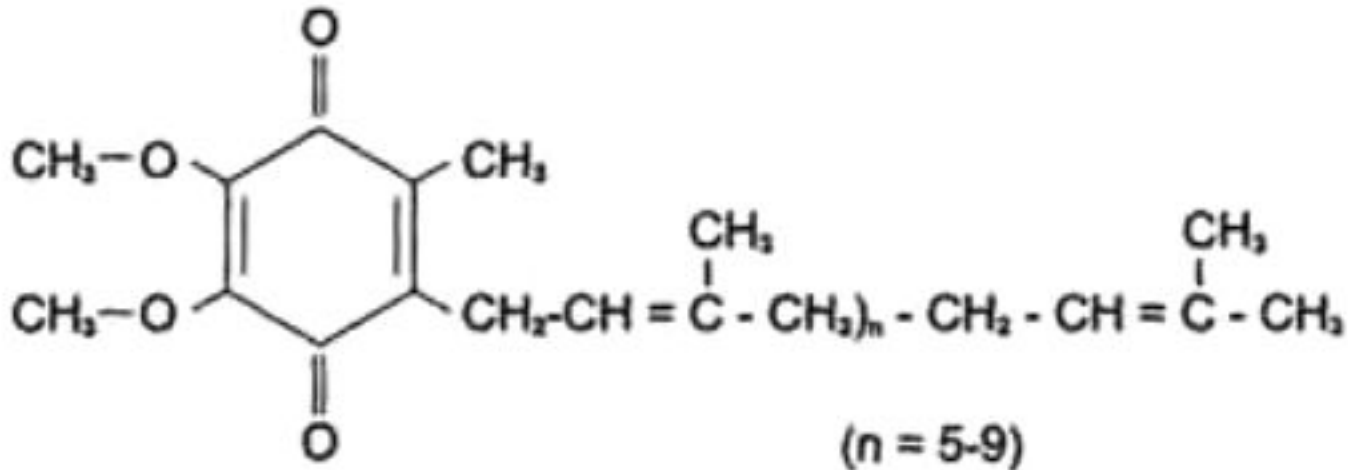
СДГ – флавопротеин, содержит ковалентно связанный **ФАД** (простетическая группа) и 2 **Fe-S центра**. В ходе реакции сукцинат дегидрируется с образованием фумарата:



Отщеплённые от сукцината 2H^+ и 2e^- передаются на **КОЭНЗИМ Q**.

Кофермент Q (коэнзим Q)

Производное хинона с изопреноидной цепью. **Убихинон** (от *ubiquitous* – повсеместный) – широко распространен в биосистемах. У животных число изопреновых единиц = 10 (Q_{10}). Изопреноидная цепь обеспечивает высокую неполярность молекуле Q_{10} , что позволяет его молекуле быстро диффундировать в толще мембраны. Q_{10} – единственный переносчик e^- , который не имеет ковалентной связи с белком.



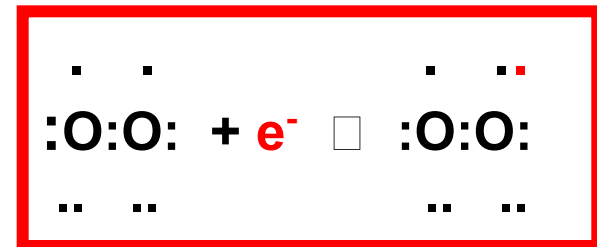
Убихинон (кофермент Q)

Кофермент Q – принимает H^+ и e^- от **I** и **II** комплексов и является их высокомолекулярным переносчиком далее на **цитохромный сегмент** дыхательной цепи.

Взаимодействие H^+ и e^- с Q_{10} происходит в два этапа, через образование **семихинона – свободного радикала**.



Возможна реакция одноэлектронного восстановления O_2 с образованием **супероксидного анион-радикала кислорода**:
 $семихинон^* + O_2 \rightleftharpoons *O_2^-$



Комплекс III – Убихинол : цитохром с оксидоредуктаза

Содержит **цитохромы b** и **c₁**, а также **Fe-S центры**.
Переносит e⁻ от коэнзима QH₂ (убихинола) на **цитохром b**, затем на **Fe-S центр**, затем на **цитохром c₁** и далее – на **цитохром c**.

Поскольку убихинол приносит 2 e⁻, то он передаёт их уа 2 молекулы цитохрома b. Fe в составе гема может одномоментно принять только 1 e⁻.

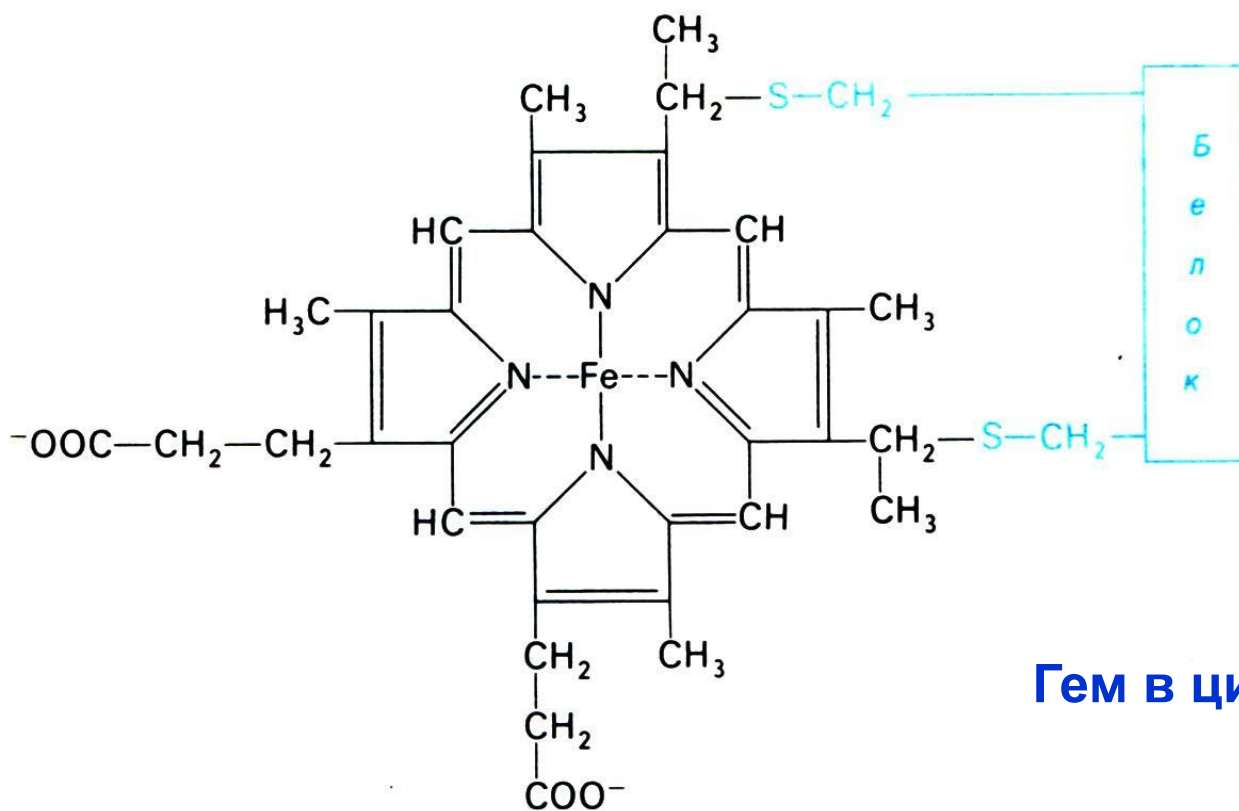
Цитохром c - водорастворимый мембранный гемопротейд. Обращен на внешнюю поверхность внутренней мембраны митохондрий, легко отделяется от неё.

Этот цитохром, подобно Q₁₀, является переносчиком e⁻ между III и IV комплексами дыхательной цепи.

Цитохромы – железосодержащие гемопротеиды, участвующие в переносе e^- [Кейлин, 1925]. Простетическая группа – **гем**.

В **цит. с** и **с₁** гем ковалентно связан с белком, в **цит. b** – нет ковалентной связи с белком.

В процессе переноса e^- происходит: $Fe^{3+} \rightleftharpoons Fe^{2+}$



Гем в цитохромах с и с₁.

Комплекс IV – цитохром с-оксидаза (цитохромоксидаза)

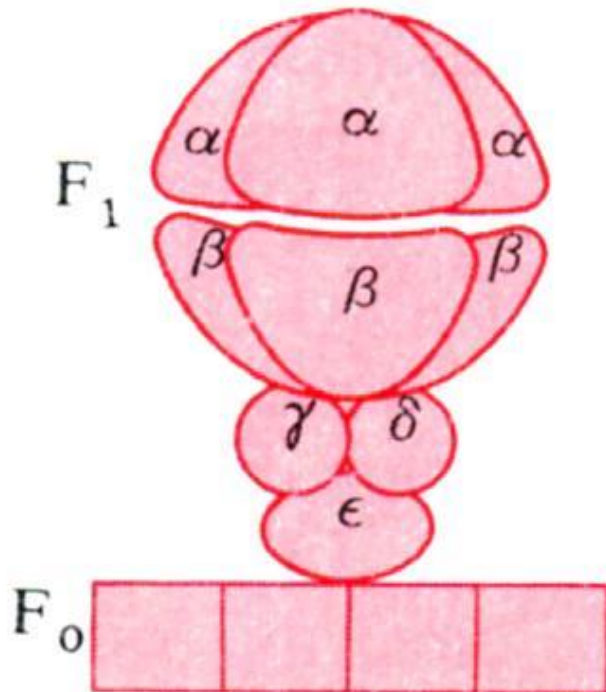
Содержит **цитохромы а и а₃**. Их геммы отличаются от цитохромов с и с₁ по строению боковых углеводородных цепей. **Цитохром а₃** содержит **Cu** (2+ ↔ 1+).

Восстановленный **цитохром с** отдает e⁻ сначала на **цитохром а**, затем на **цитохром а₃** и далее – на O₂.
Происходит реакция:



Комплекс V – АТФ – синтетаза (F_0F_1 -АТФаза)

Фермент, катализирующий синтез АТФ из АДФ и Фн. F_1 обращен в матрикс митохондрий, F_0 (о – олигомицин – специфический ингибитор этого фактора.) – встроен во внутреннюю мембрану, содержит канал для H^+ .



В очищенном и изолированном виде F_1 может расщеплять АТФ на АДФ и Фн – отсюда название F_1 -АТФаза).

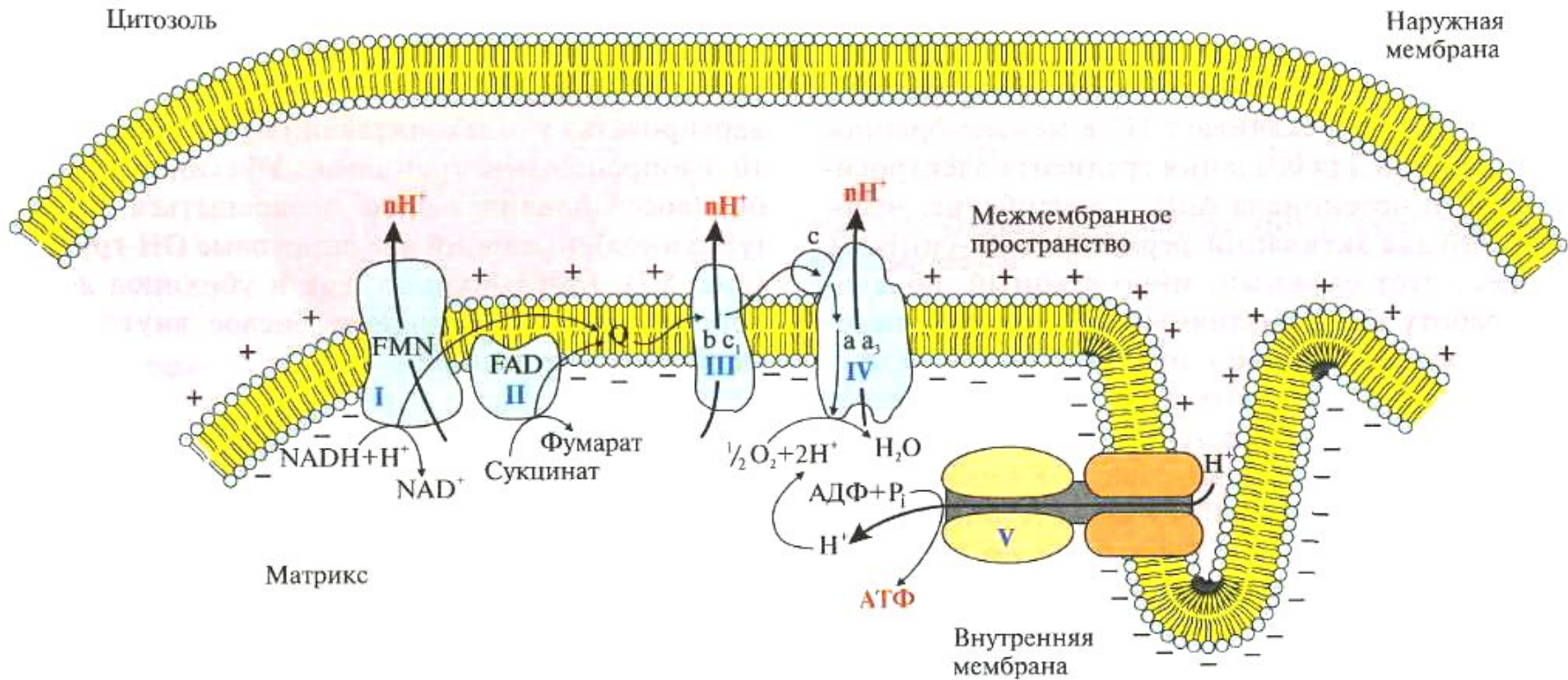


Рис. 5.8. Структурная организация митохондриальной ЦПЭ

Комплексы ЦПЭ: I – NADH-дегидрогеназа; II – сукцинатдегидрогеназа; III – QH₂-дегидрогеназа; IV – цитохром с-оксидаза; Комплекс V – АТФ-синтаза

Эволюция взглядов на механизмы сопряжения дыхания с фосфорилированием

В начале 30-х годов XX века **Энгельгардт** (СССР) высказал идею о сопряжении между фосфорилированием АДФ и аэробным дыханием. Правильность идеи была подтверждена после 1937 г. после открытия ЦТК. **Белицер** и **Калькар** (Дания) показали *in vitro*, что при окислении интермедиатов ЦТК из среды инкубации исчезал Фн, который далее обнаруживался в составе АТФ и др. органических фосфатов. При этом цианид (ингибитор дыхания) – отменял эффект такого фосфорилирования. Следовательно, фосфорилирование АДФ связано с дыханием (а не с гликолизом) и является механизмом аэробного извлечения энергии из «питательных» веществ.

В 1940 г. **Белицер** установил, что в результате переноса $2e^-$ от субстрата к O_2 образуется более 1 молекулы АТФ: отношение Р/О около 3.

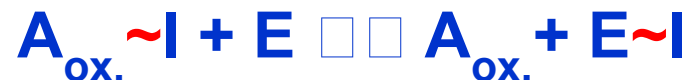
В 1948 – 50 гг. **Лумис** и **Липман** описали эффект 2,4-ДНФ: с его помощью можно разобщить дыхание и фосфорилирование – останавливается синтез АТФ, а дыхание сохраняется и даже усиливается.

В 1948 г. **Кеннеди** и **Лениджер** впервые показали, что изолированные митохондрии способны реализовать окислительное фосфорилирование (синезировать АТФ в ходе окисления метаболитов ЦТК). Фактически, эти исследователи экспериментально доказали гипотезу **Белицера**.

Гипотезы о механизмах окислительного фосфорилирования

1. Гипотеза химического сопряжения.

В основе концепция, согласно которой перенос e- происходит в виде серии последовательных реакций, имеющих промежуточный продукт, содержащий высокоэнергетическую связь:



A, B –переносчики e-; **I** - фактор сопряжения; **E** – фермент для синтеза АТФ

За всю историю существования этой гипотезы и поисков промежуточного высокоэнергетического соединения (**Аох.~I**) – **его так и не удалось обнаружить.**

Гипотеза не учитывала факта: окислительное фосфорилирование происходит только в препарате **нативных митохондрий** – замкнутая мембранная структура.

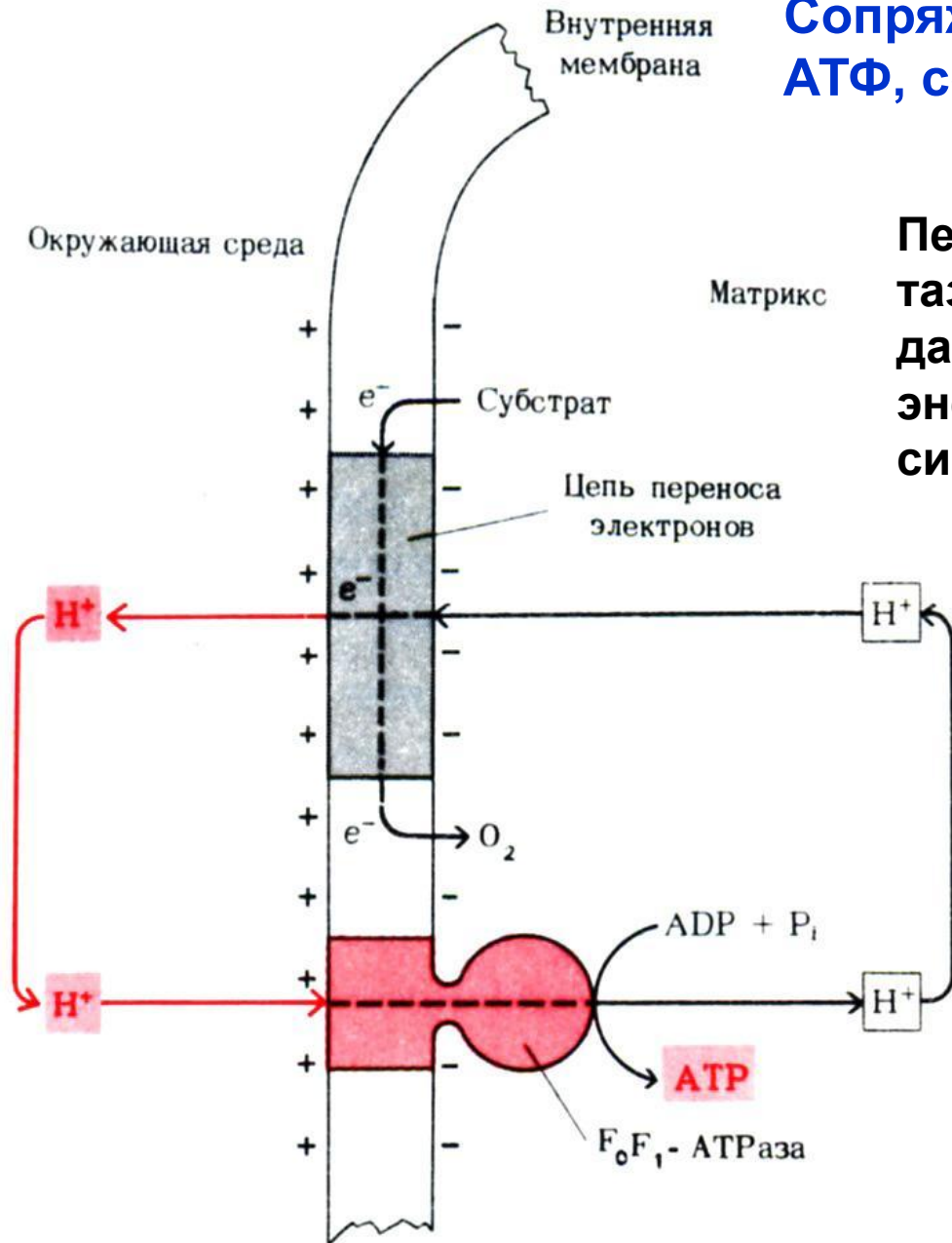
2. Химио-осмотическая гипотеза (Питер Митчел, 1961)

Основные положения:

- Наличие замкнутой мембраны, непроницаемой для H^+ .
- Дыхательная цепь митохондрий осуществляет разделение зарядов: e^- движутся к O_2 , а H^+ выбрасываются наружу – создаётся трансмембранный электро-химический градиент H^+ .
- Энергия градиента используется для синтеза АТФ из АДФ и Фн с участием АТФ-синтетазы (градиент – движущая сила для образования АТФ).

2,4-ДНФ, как липофильное соединение, встраивается в мембрану митохондрий и образует искусственные каналы для H^+ . Градиент рассеивается, дыхание сохраняется, но синтез АТФ прекращается.

Сопряжение переноса e^- с синтезом АТФ, согласно химио-осмотической гипотезе



Переход H^+ через канал АТФ синтазы (вдоль градиента) сопровождается выделением свободной энергии, которая используется для синтеза АТФ.

Между матриксом митохондрий и цитоплазмой совершается непрерывный круговорот H^+ , движимый переносом e^- по дыхательной цепи.