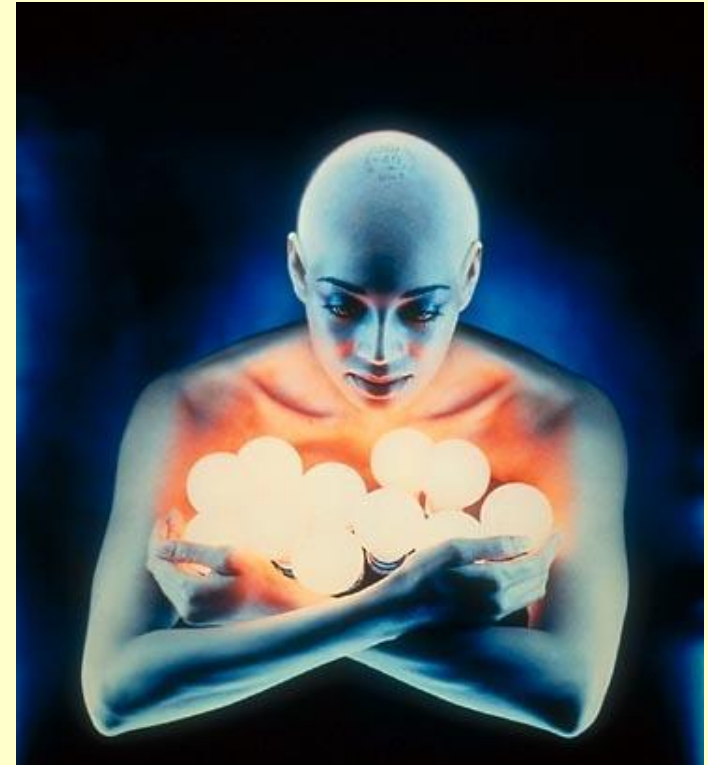


# ОКИСЛИТЕЛЬНОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ

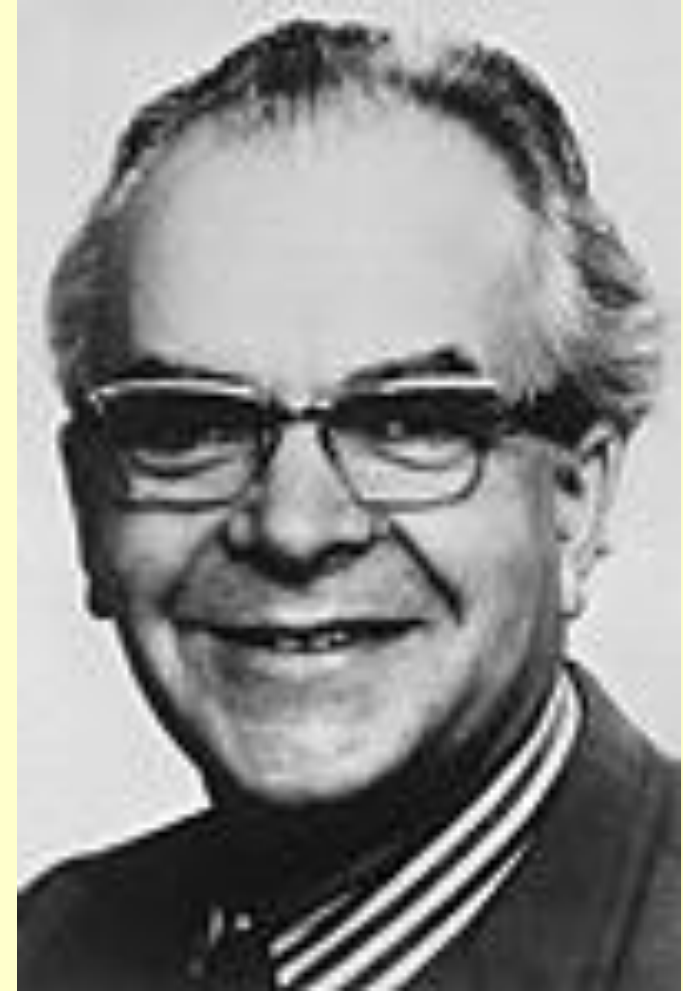


*Окислительное фосфорилирование создает условия для образования АТФ - универсальной формы энергии в живых организмах.*

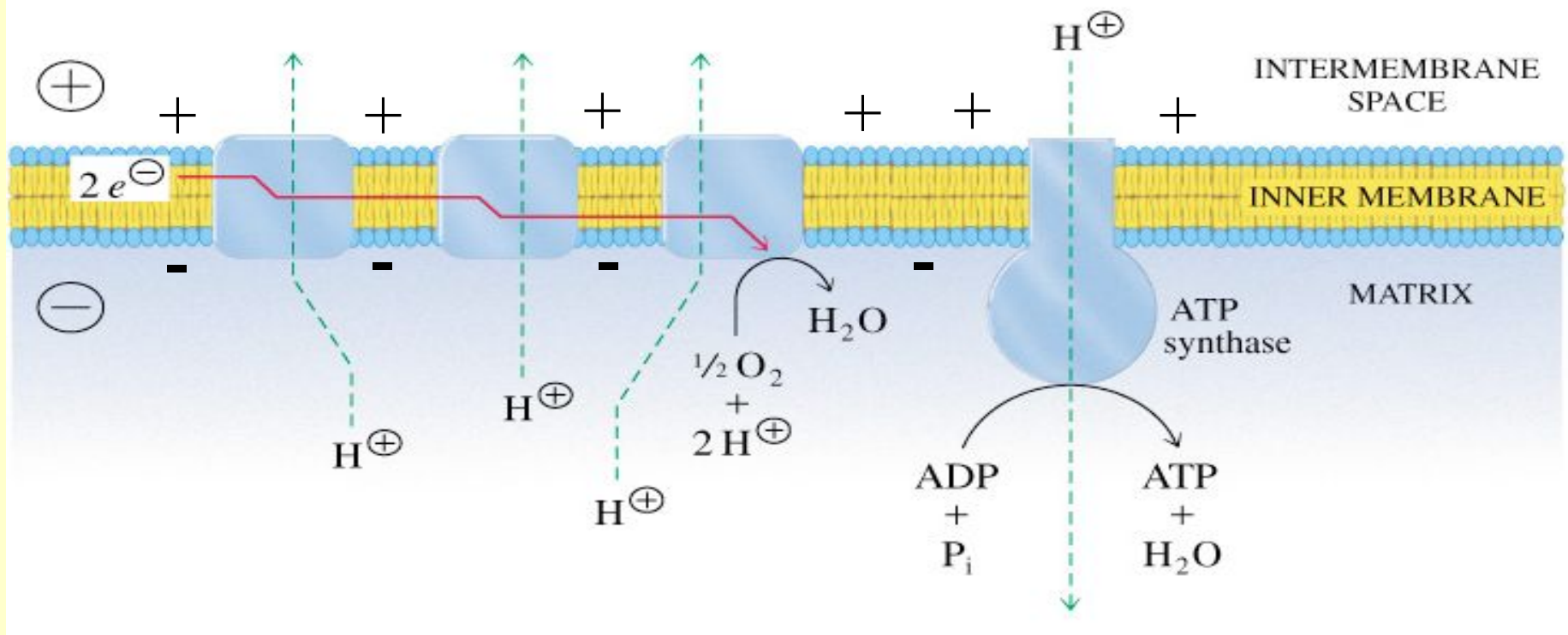
# Хемиосмотическая теория

- 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

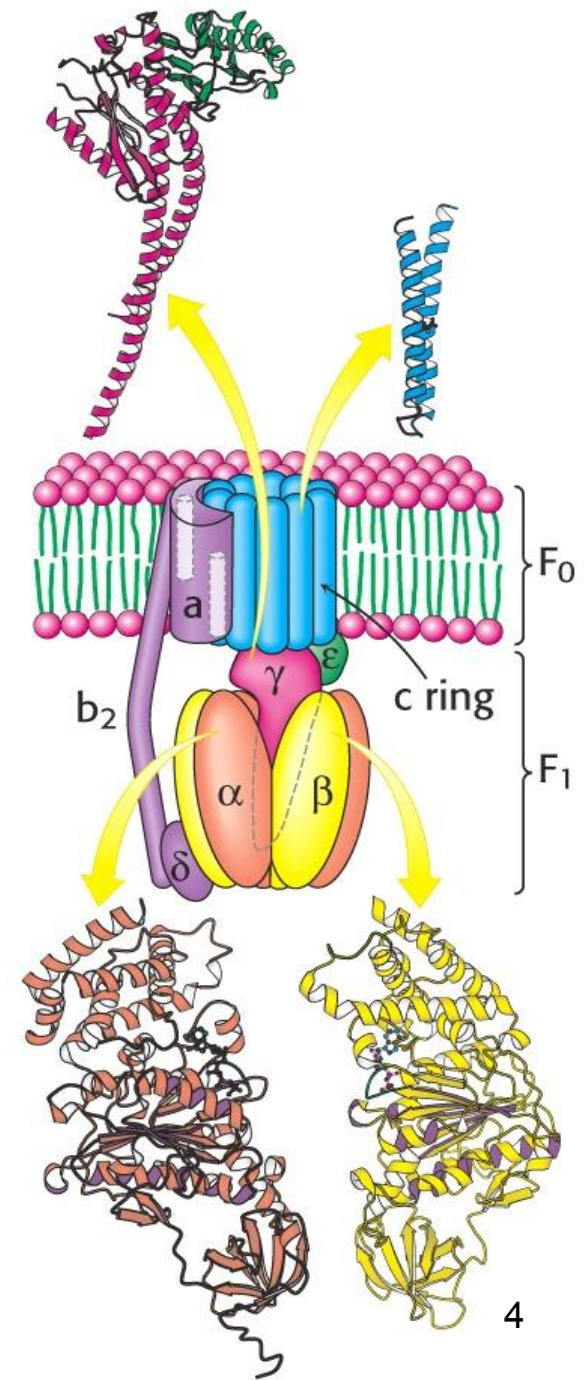
# АТФ синтаза

Две субъединицы,  $F_0$  и  $F_1$

$F_1$  содержит каталитические субъединицы, где АДФ и  $P_i$  связываются.

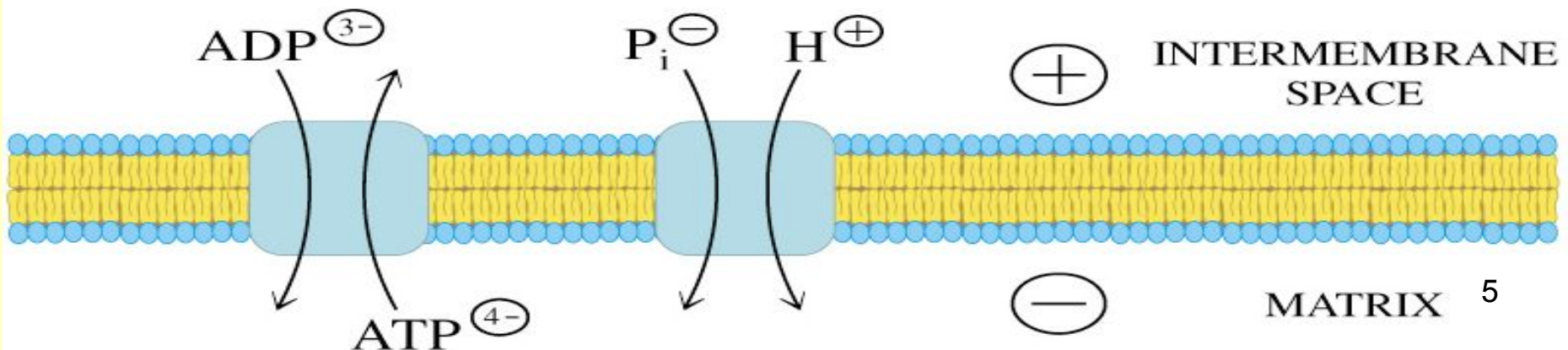
$F_0$  пронизывает мембрану и служит как протонный канал.

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 по механизму симпорта с  $H^+$ .
- Переносчик фосфата снижает  $\Delta pH$ .



# 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**

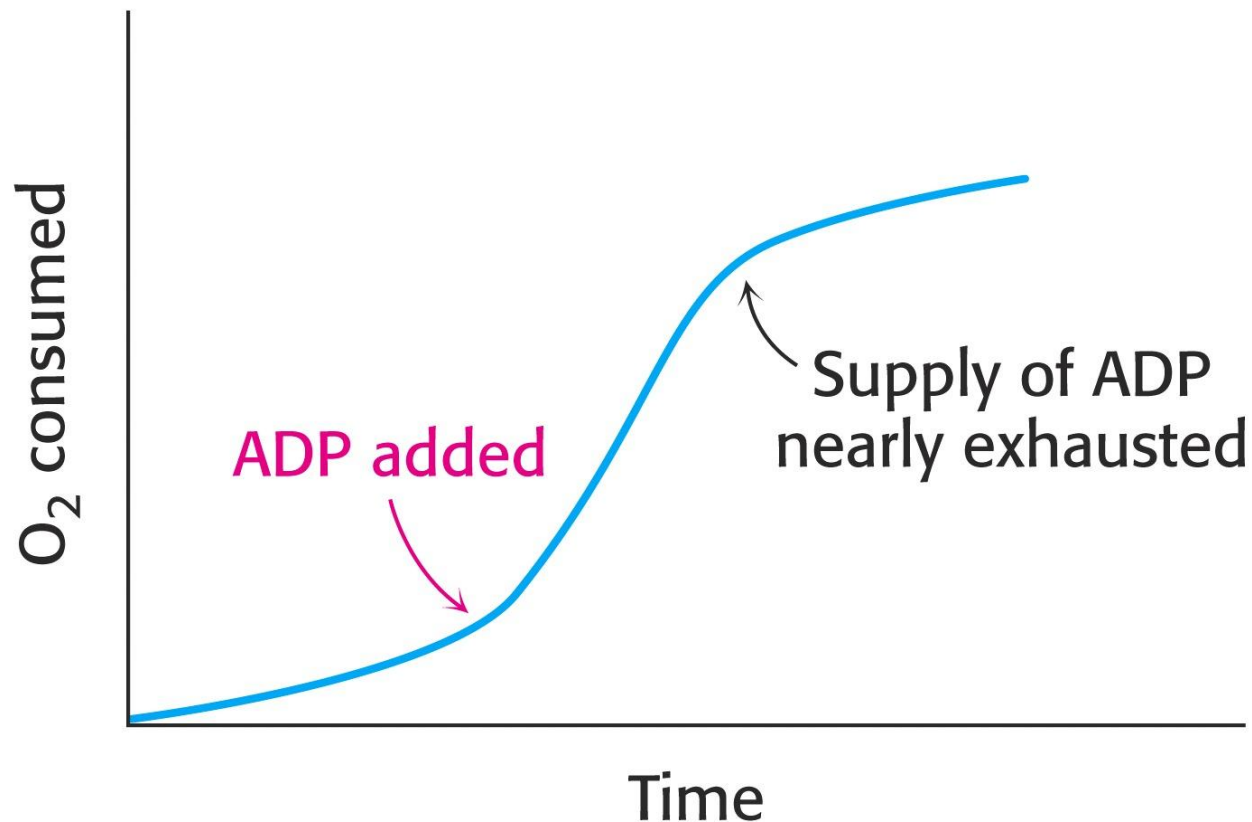
Внутримитохондриальное соотношение **АТФ/АДФ** является **контрольным механизмом**

Высокое соотношение ингибирует так как **АТФ аллостерически связывается с комплексом IV**



## Дыхательный контроль

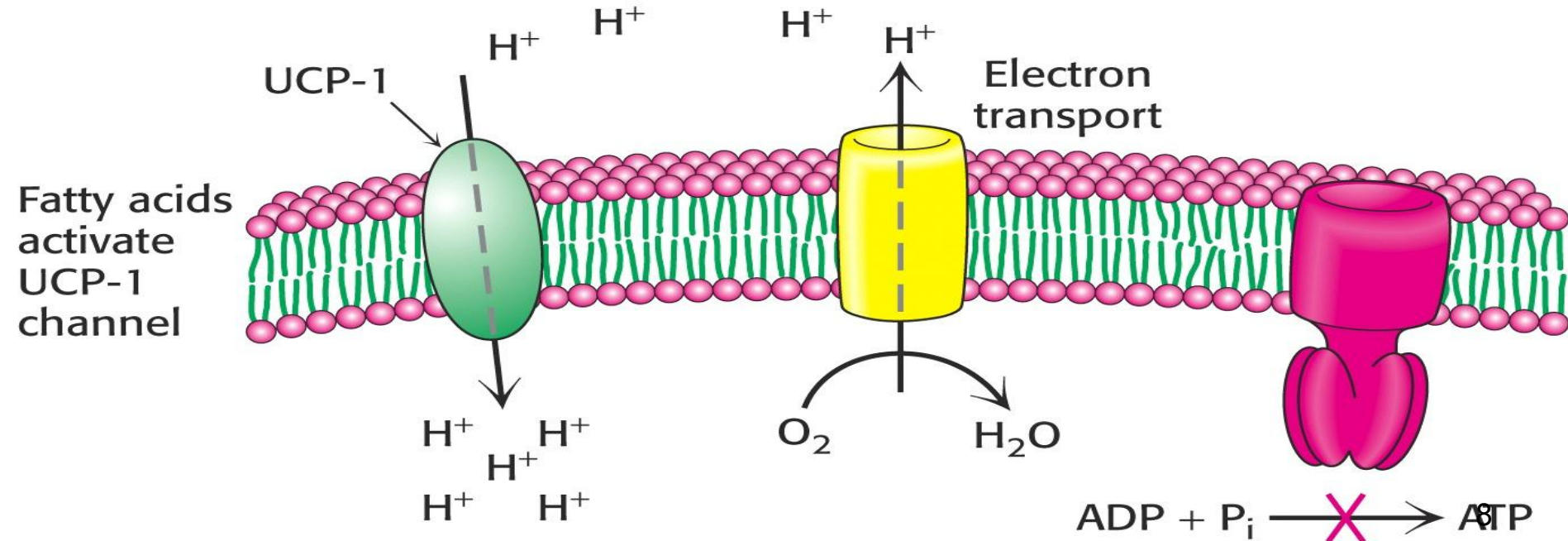
Регуляция скорости окислительного фосфорилирования с помощью уровня АДФ называется *дыхательным контролем*.



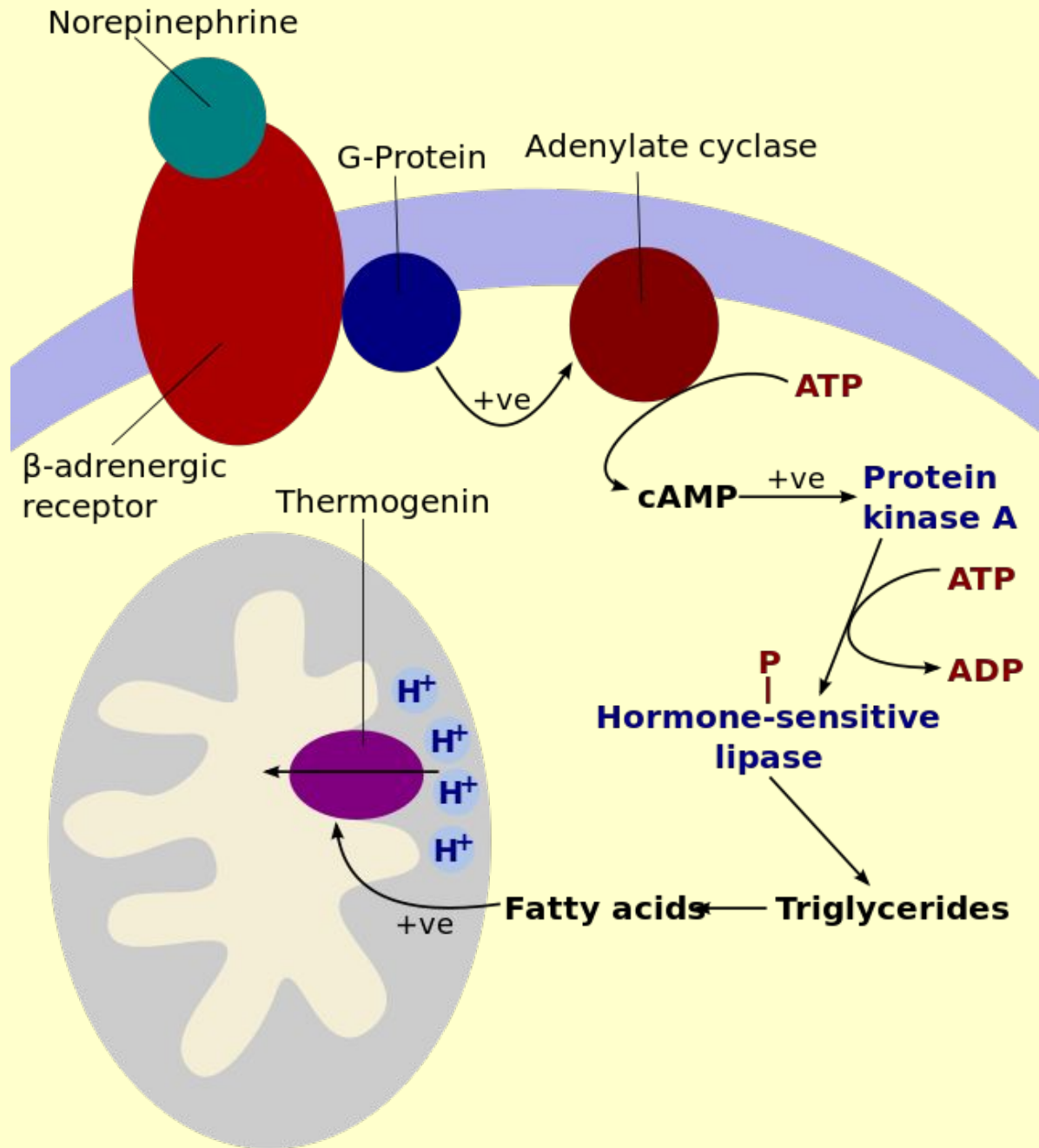
# Разобщение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования

Внутренняя митохондриальная мембрана содержит *разобщительный белок (Термогенин, uncoupling protein)*.

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







**Разобщающие протеины** являются трансмембранными белками, которые уменьшают градиент протонов в окислительном фосфорилировании. Они увеличивают проницаемость внутренней митохондриальной мембраны, позволяя протонам, перенесенным в межмембранное пространство, возвращаться в митохондриальный матрикс. Производство тепла при помощи UCP1 в бурой жировой ткани происходит с разобщением клеточного дыхания и фосфорилирования, то есть быстрое окисление питательных веществ происходит с низкой интенсивностью производства АТФ.

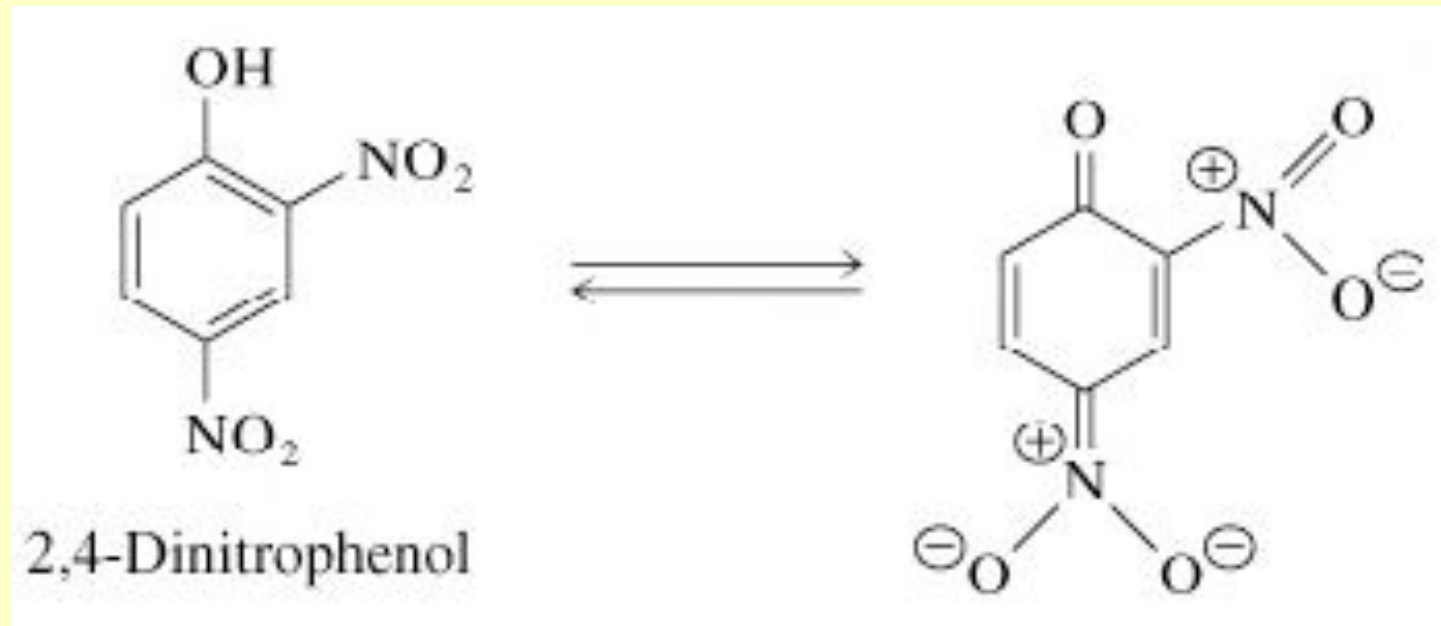
UCP2 обнаруживается в различных тканях и считается, что он участвует в регуляции реактивных форм кислорода.

Были обнаружены другие гомологи UCP1, включая UCP3, UCP4, VMCP1 (он же UCP5).

## Разобшители

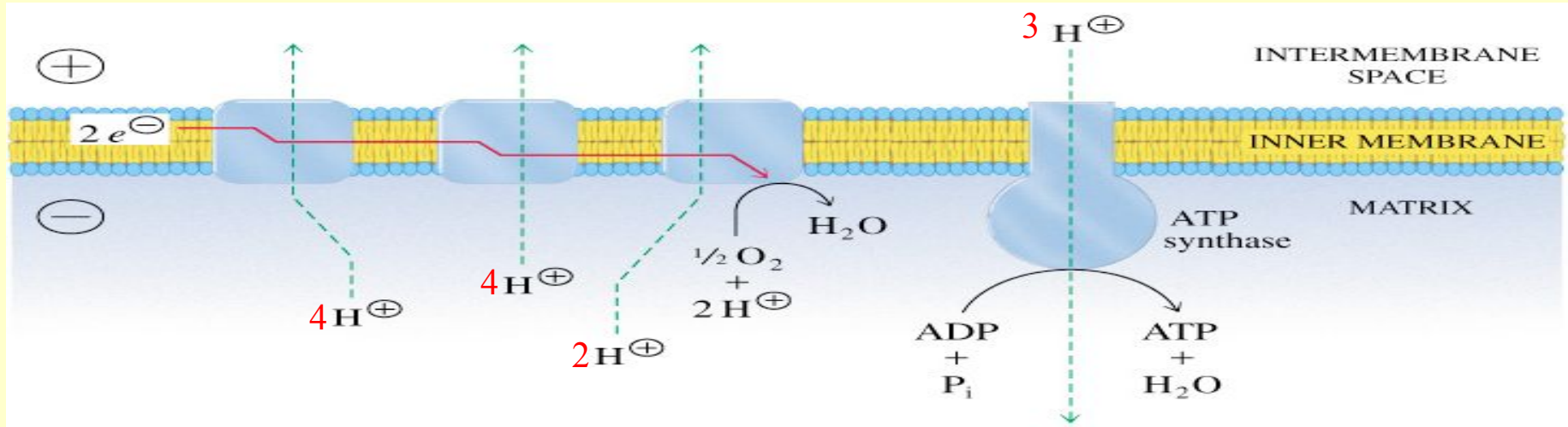
- Разобшители являются жирорастворимыми **слабыми кислотами**
- Разобшители **снижают протонный градиент** транспортируя протоны через мембрану

**2,4-Динитрофенол - эффективный разобшитель**



# 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 ФАДН<sub>2</sub>:  $6 H^+ / 4 H^+ = 1.5$  АТФ

# МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ - 1

На протяжении столетий пекари и пивовары используют превращение глюкозы к этанолу и  $\text{CO}_2$  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.

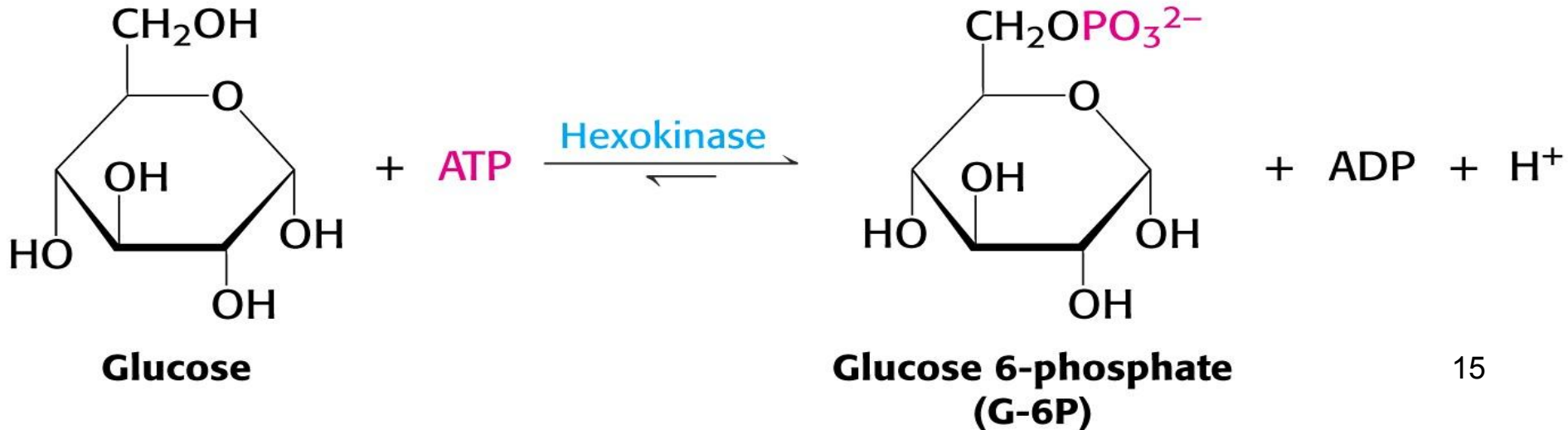
Гликолиз осуществляется **в цитозоле**.



# 10 реакций гликолиза

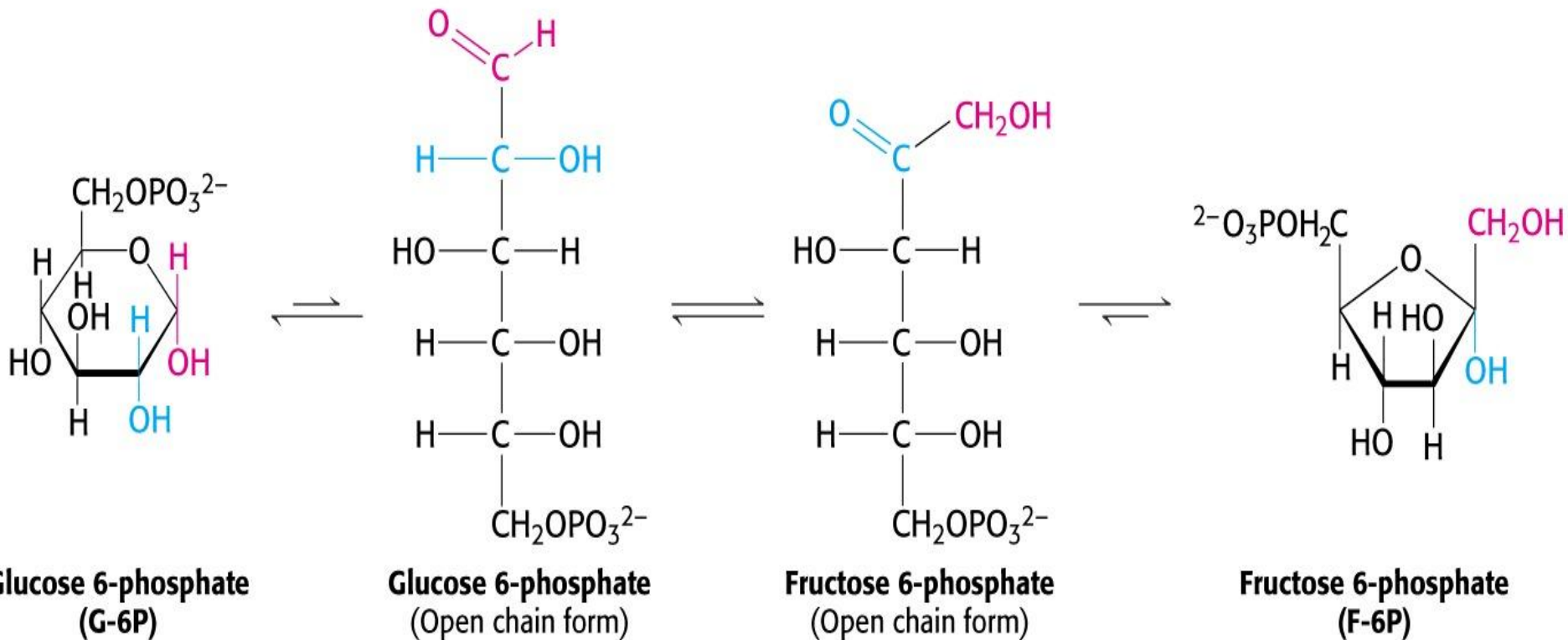
## 1. Гексокиназа

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



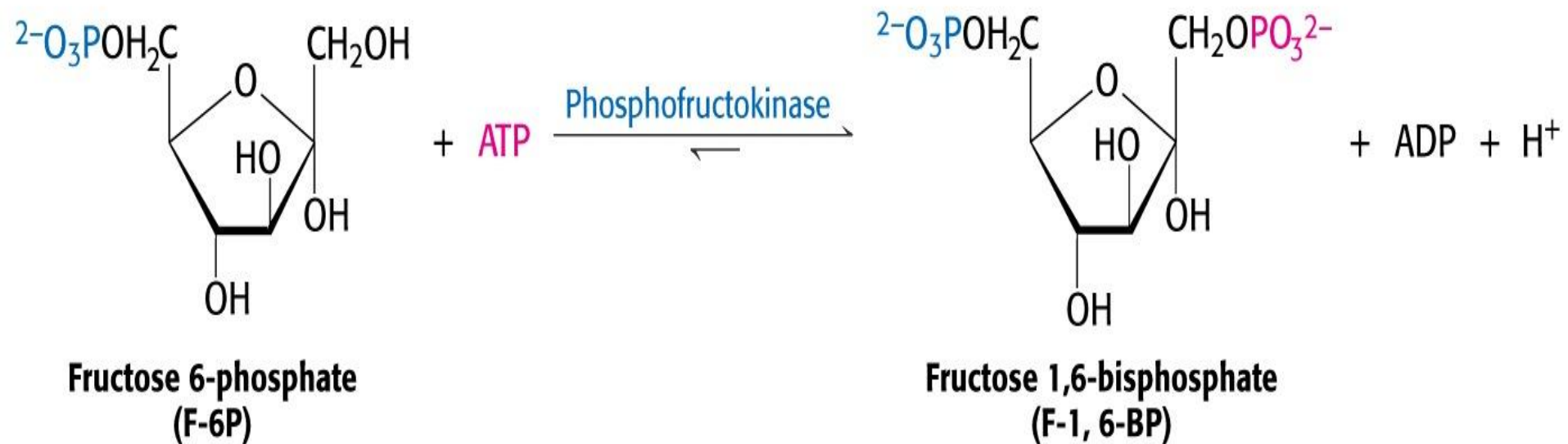
## 2. Глюкозо-6-фосфат изомераза

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



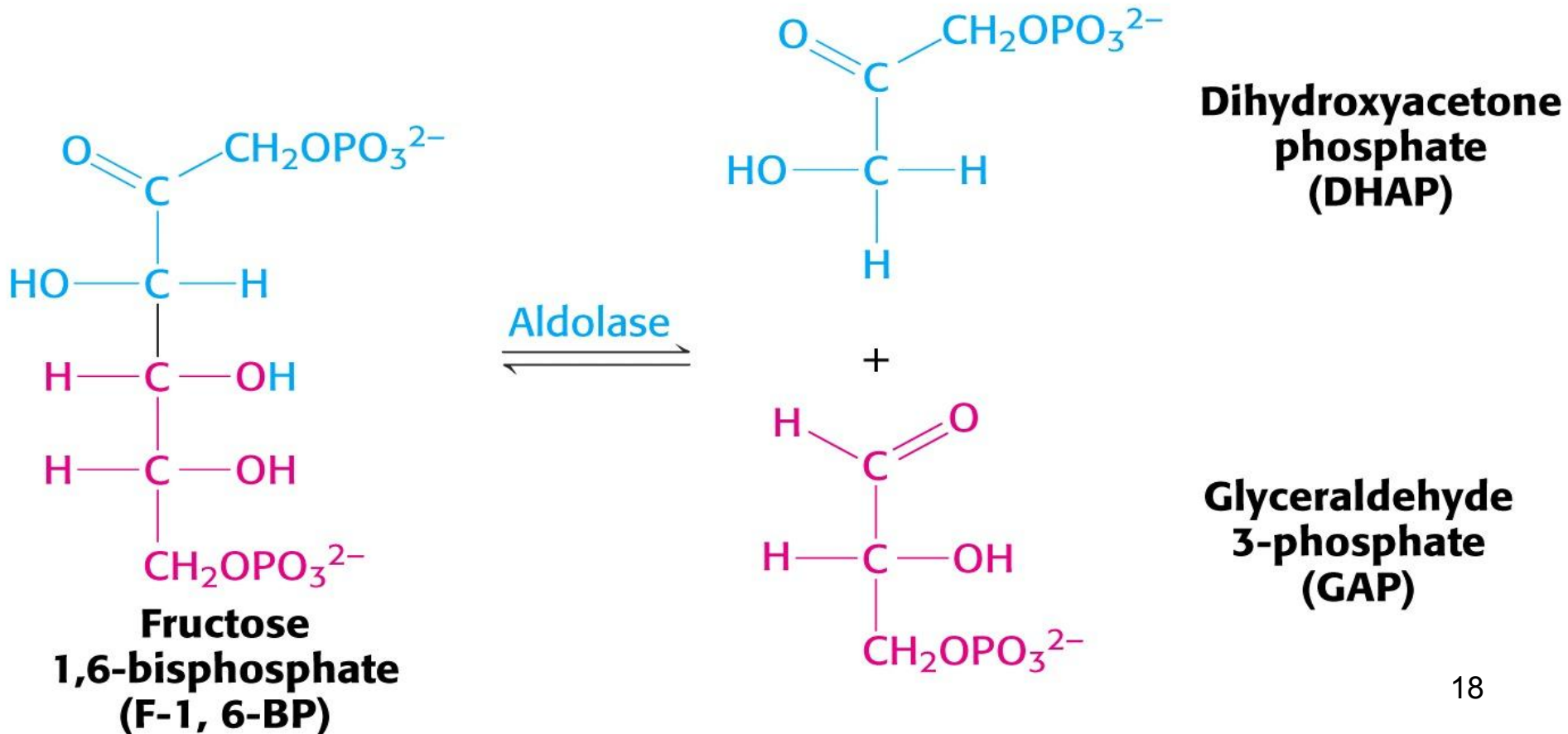
### 3. Фосфофруктокиназа-1 (ФФК-1)

- Катализирует перенесение фосфорной группы с АТФ на фруктозо-6-фосфат с образованием **фруктозо-1,6-дифосфата**.



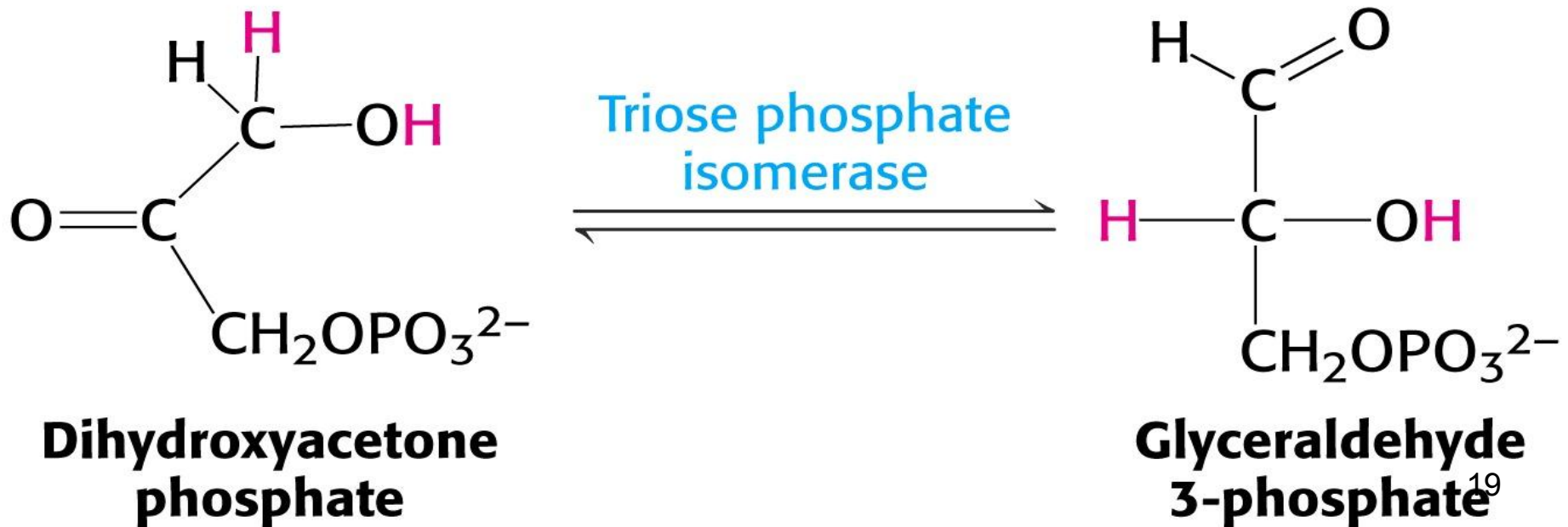
## 4. Альдолаза

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



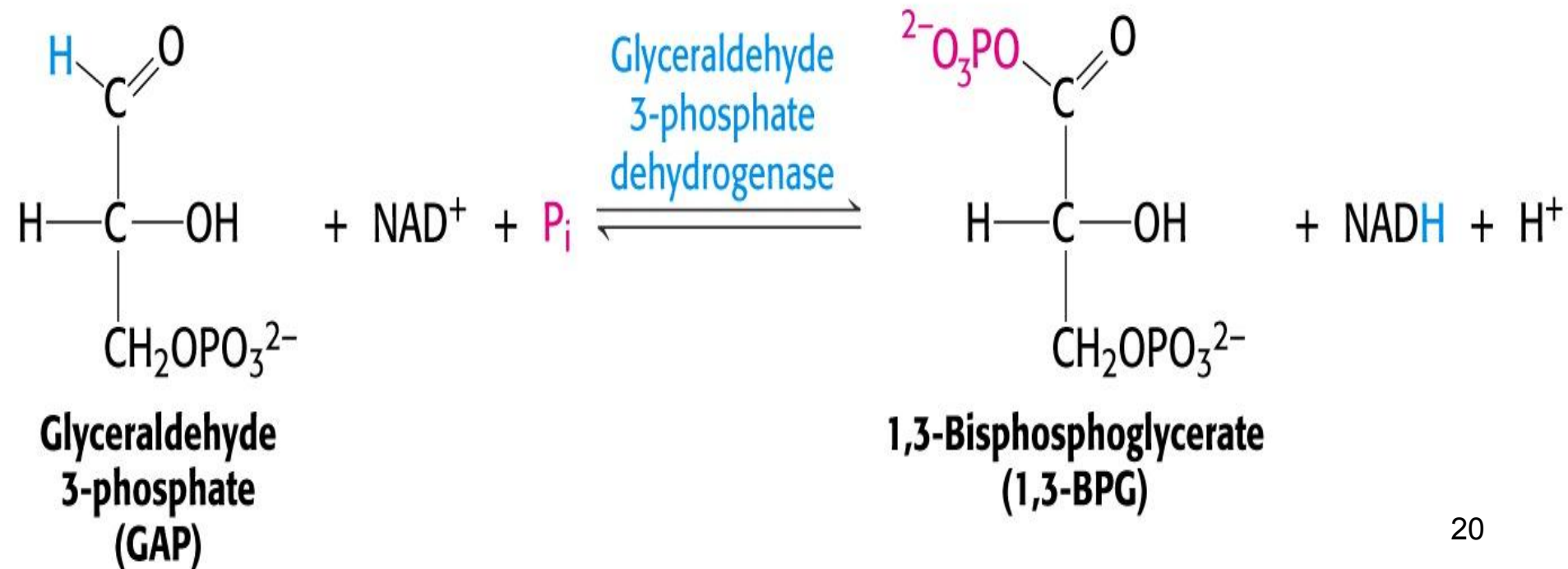
## 5. Триозофосфат изомераза

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



## 6. Глицеральдегид 3-фосфат дегидрогеназа

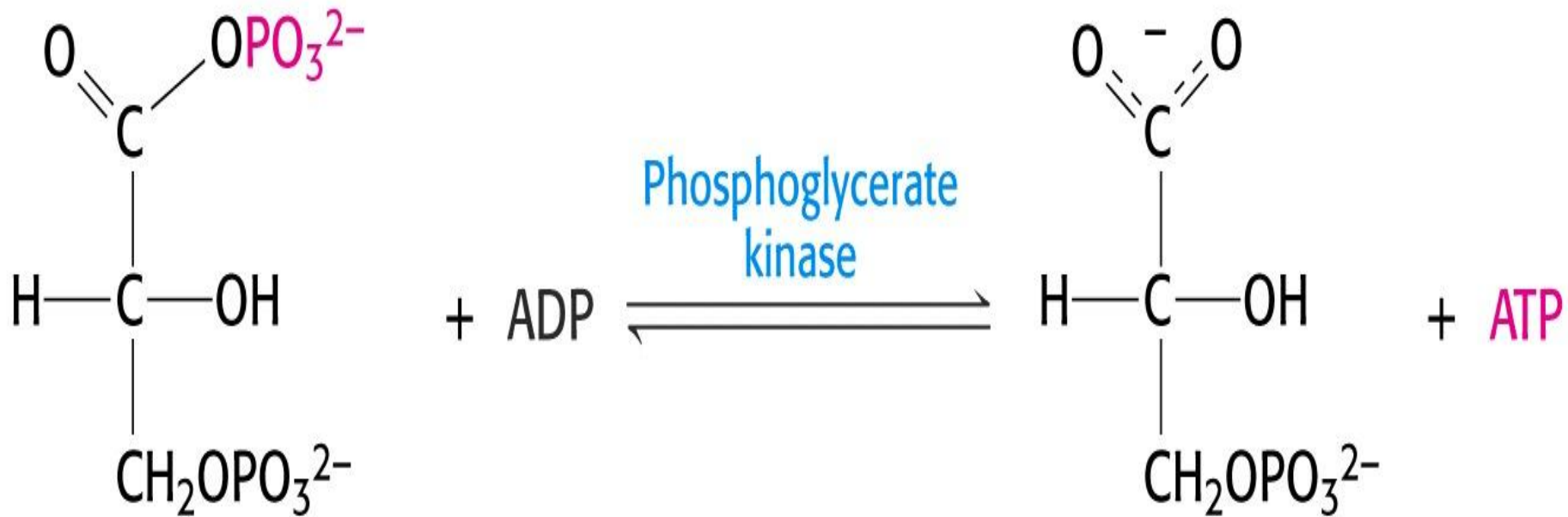
- Превращение ГАФ в 1,3-дифосфоглицерат
- Молекула НАД<sup>+</sup> восстанавливается в НАДН





## 7. Фосфоглицераткиназа

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

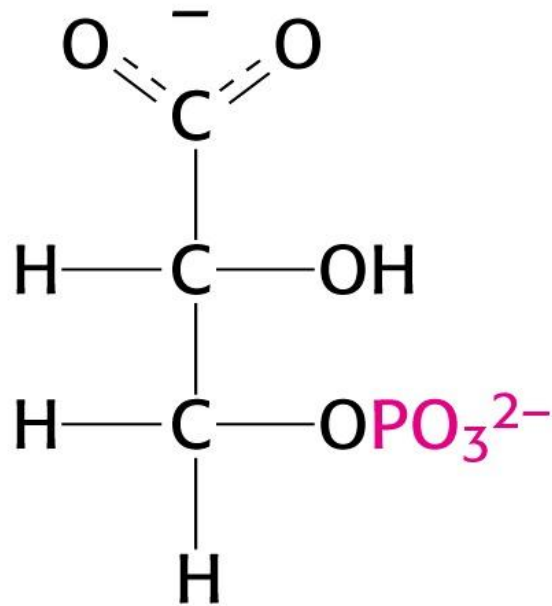


1,3-Bisphosphoglycerate

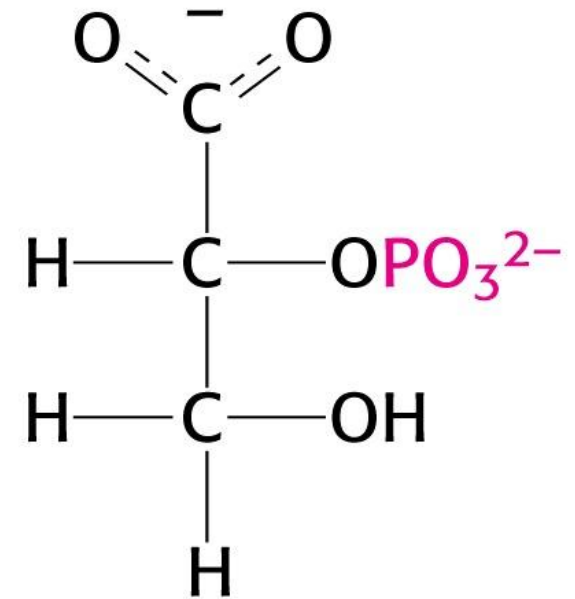
3-Phosphoglycerate

## 8. Фосфоглицератмутаза

- Катализирует перенесение фосфатной группы с одной части молекулы к другой.



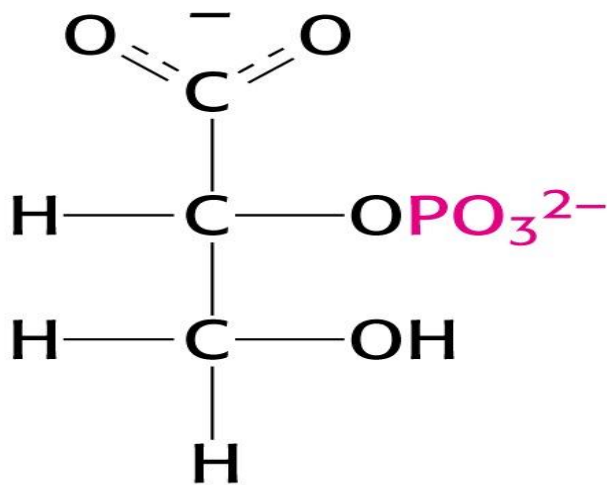
**3-Phosphoglycerate**



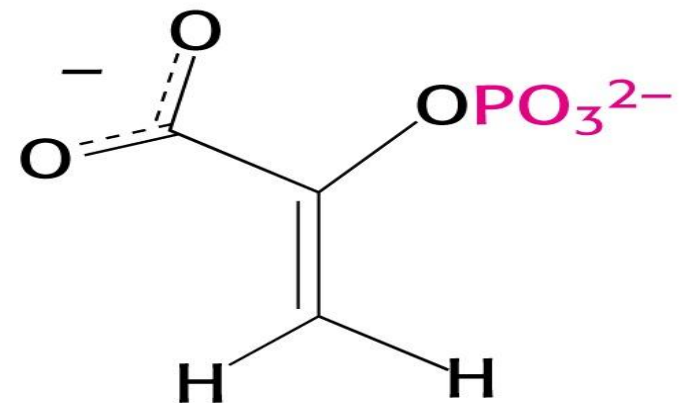
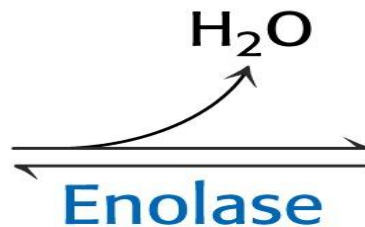
**2-Phosphoglycerate<sup>23</sup>**

## 9. Энолаза

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



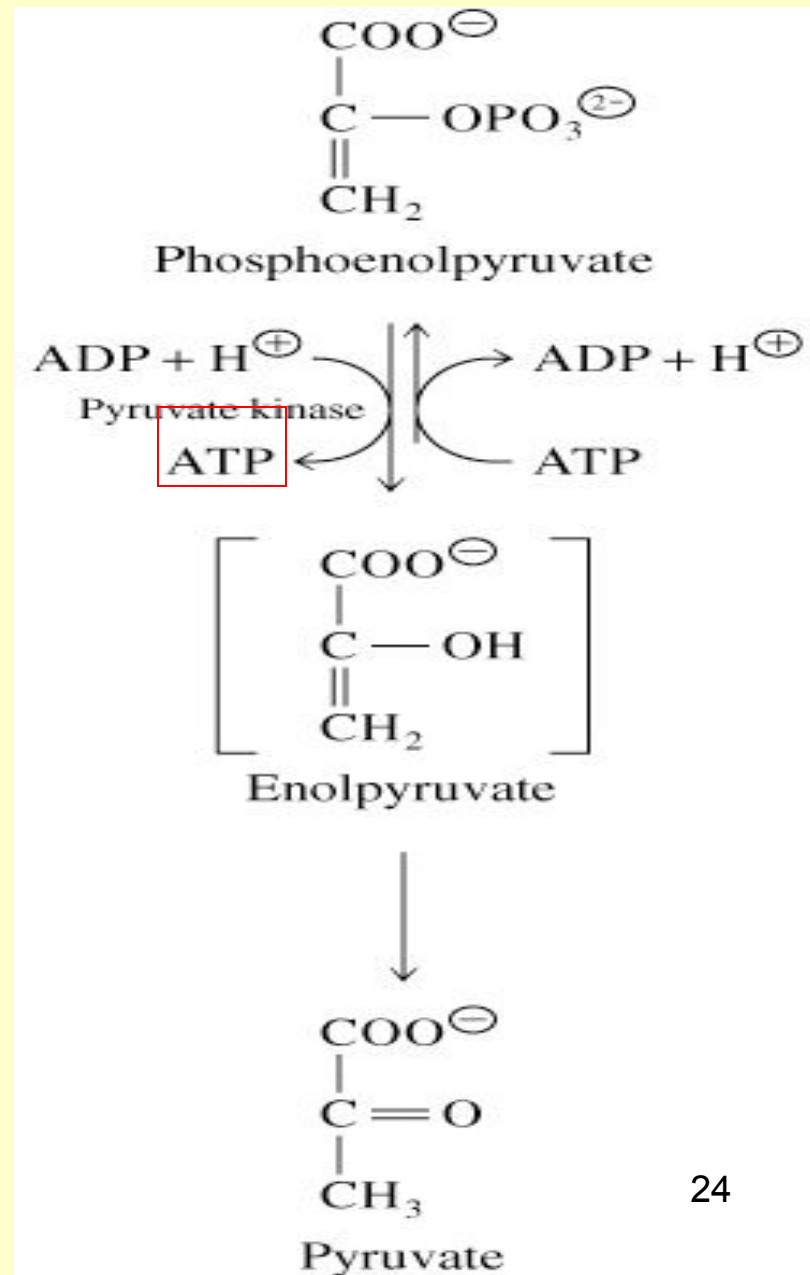
**2-Phosphoglycerate**



**Phosphoenolpyruvate**

# 10. Пируваткиназа

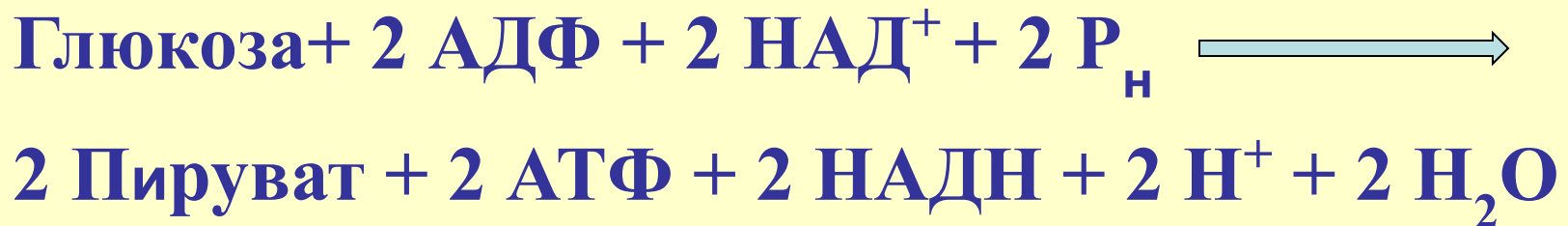
- Катализирует реакцию субстратного фосфорилирования:
- Необратимая реакция
- Регуляторная реакция



# Общая реакция гликолиза

*Во время превращения глюкозы к пирувату:*

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

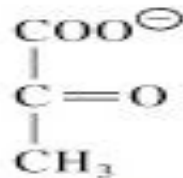
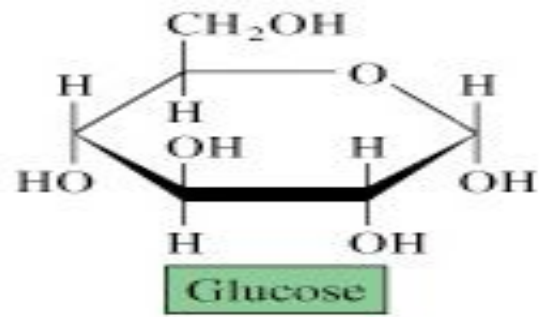


**Научные исследования ферментации виноградного сахара были первыми исследованиями гликолиза**

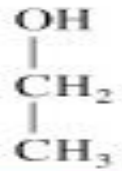
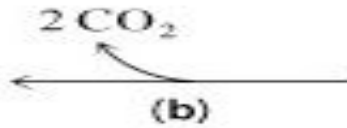




# Судьба пирувата



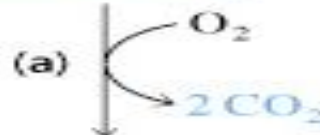
2 Pyruvate



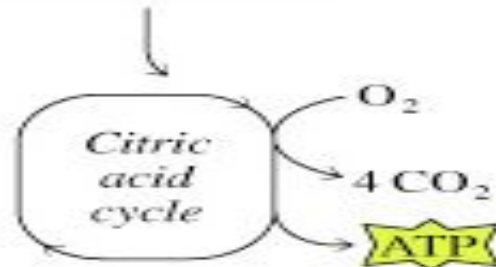
2 Ethanol



2 Lactate



2 Acetyl CoA



# Метаболизм пирувата в этанол

**Этанол** образуется из пирувата в дрожжах и некоторых микроорганизмах в анаэробных условиях.

Две реакции:

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

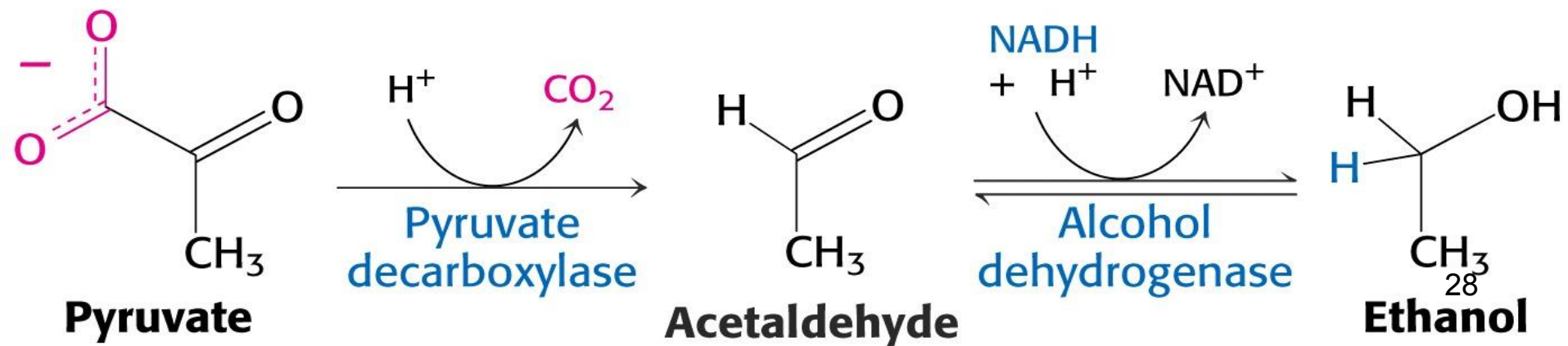
Фермент - **пируватдекарбоксилаза**.

Кофермент - **тиамин пирозофосфат** ( $B_1$ )

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

Фермент - **алкогольдегидрогеназа**

Кофермент - **НАДН**.



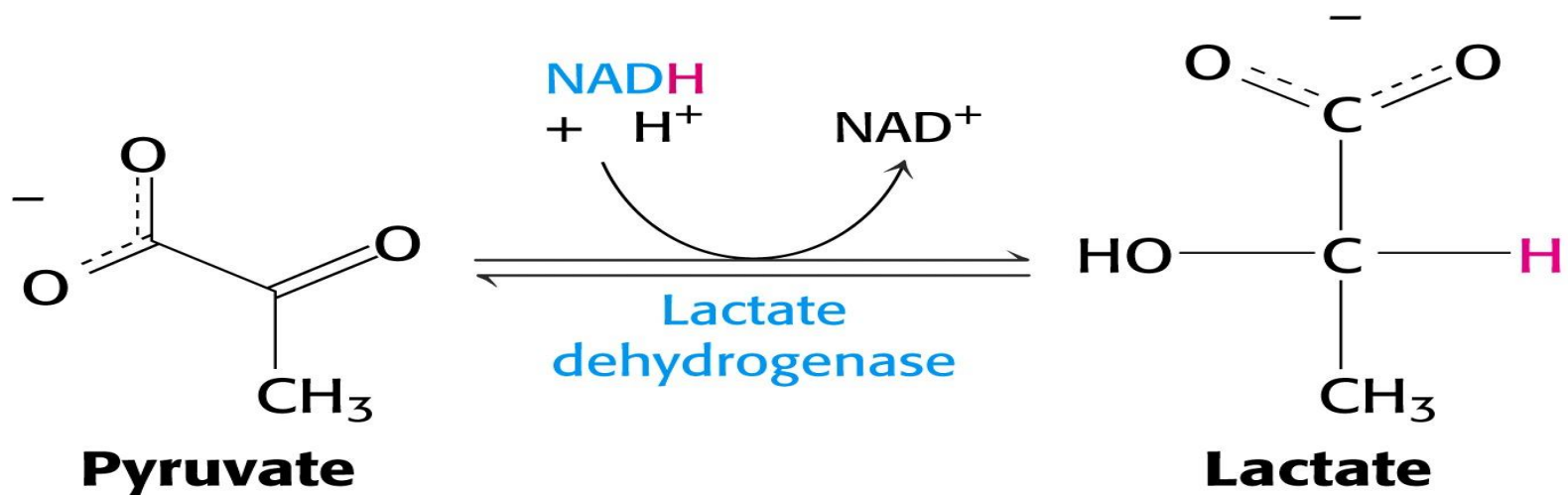
# Метаболизм пирувата в лактат

**Лактат** образуется из пирувата в анаэробных условиях.

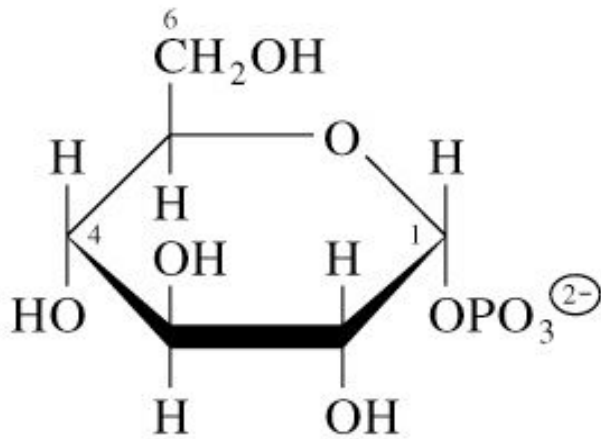
Превращение глюкозы в лактат называется **молочнокислым брожением**.

Фермент - **лактатдегидрогеназа**.

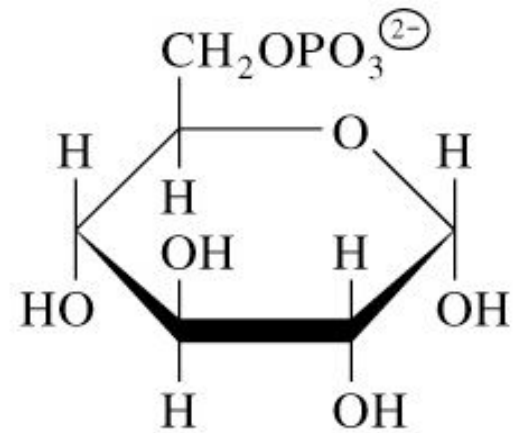
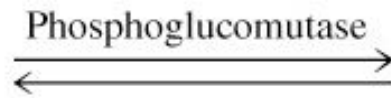
Кофермент - **НАДН**.



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



$\alpha$ -D-Glucose 1-phosphate



$\alpha$ -D-Glucose 6-phosphate



# 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.**



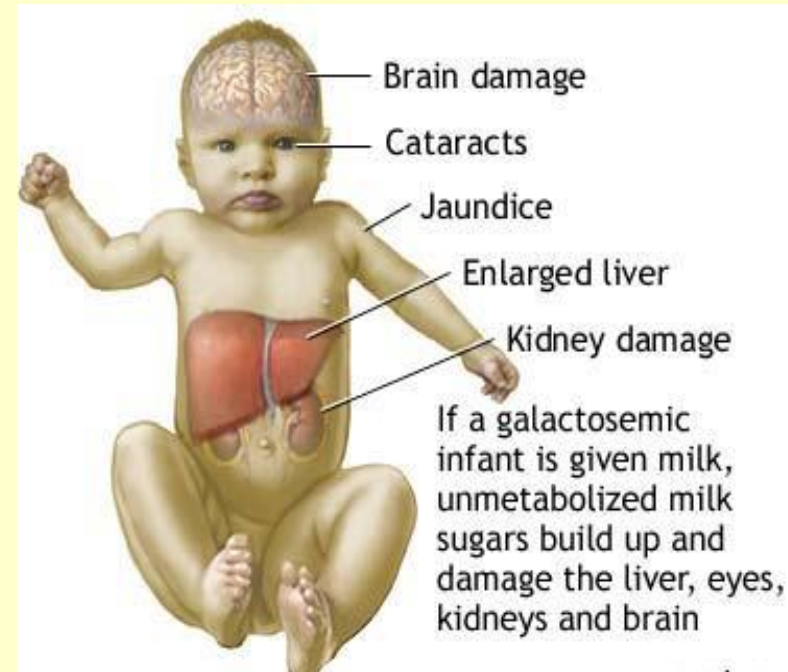
# Галактоземия

Нарушение метаболизма галактозы - **галактоземия**.

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

## Симптомы:

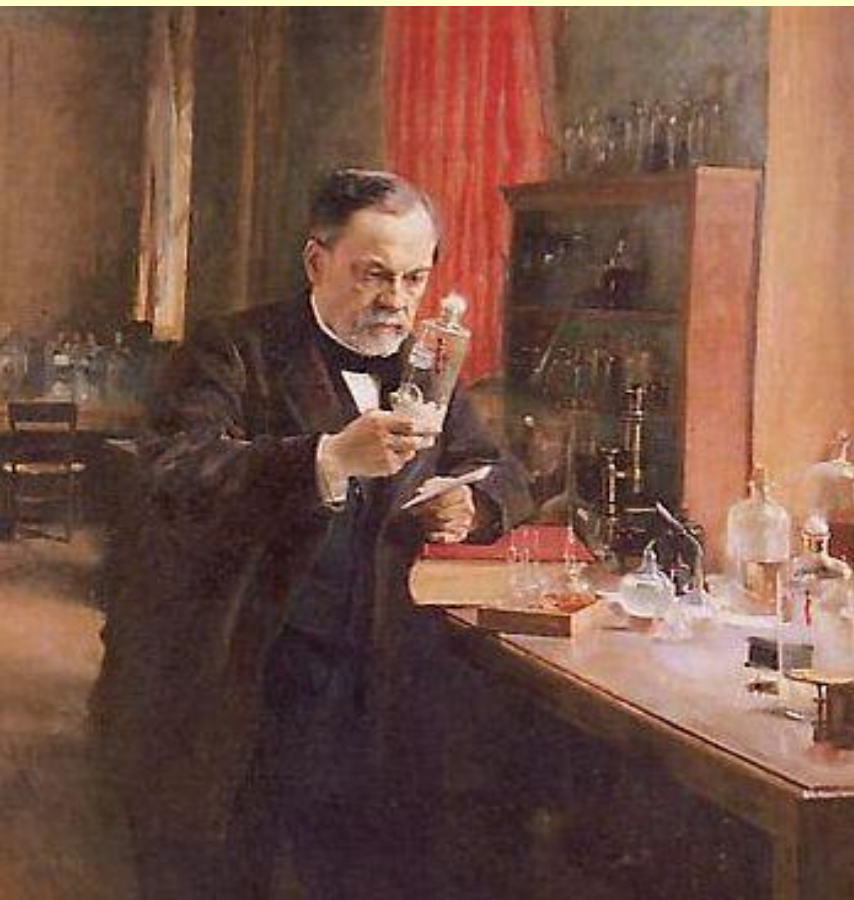
- рвота, диарея после приема молока,
- увеличение печени, желтуха, цирроз,
- катаракта,
- летаргия и умственная отсталость,
- повышение галактозы в крови,
- появление галактозы в моче.



**Лечение:** исключить галактозу и лактозу из рациона.



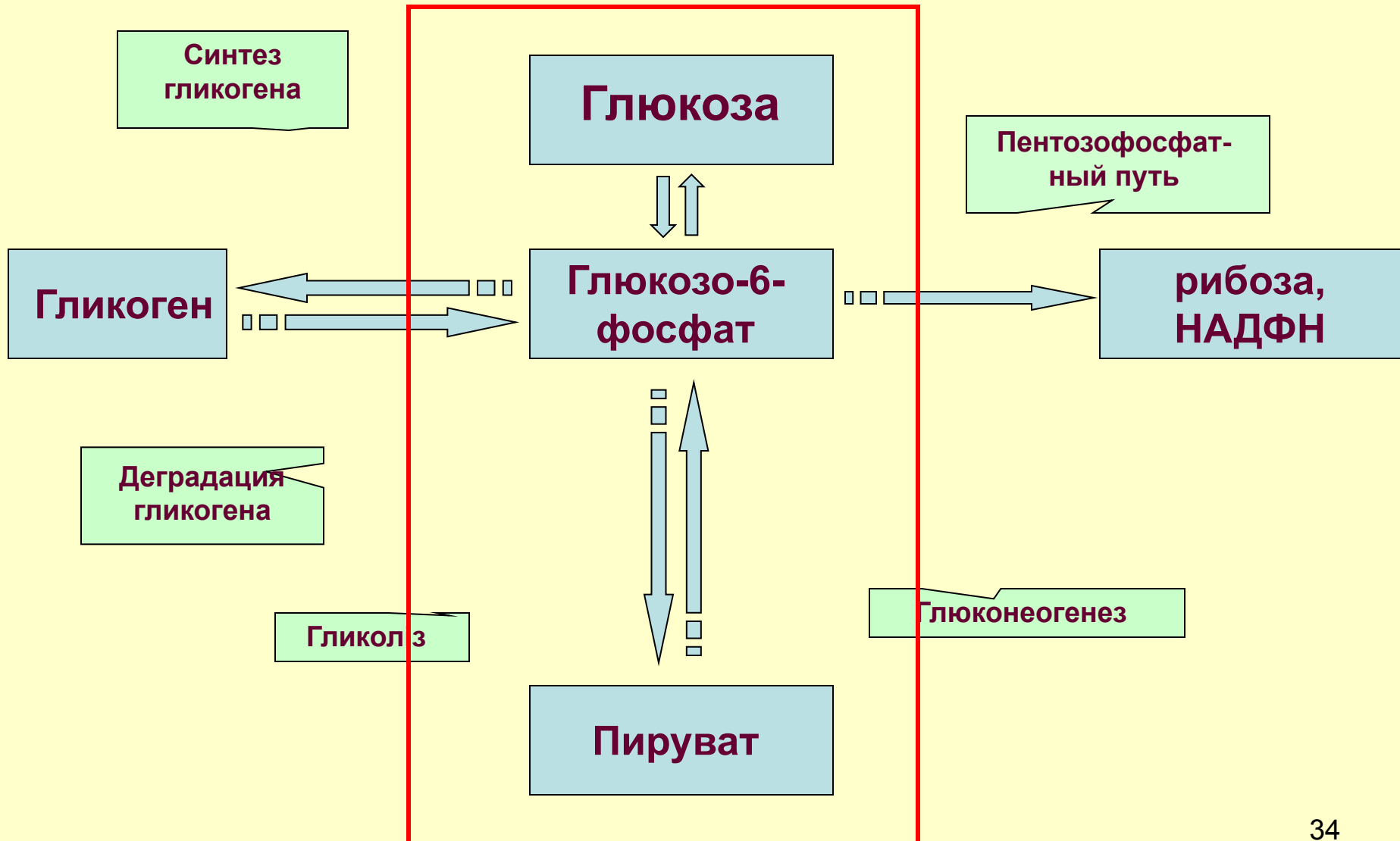
# Эффект Пастера



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



# 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.**

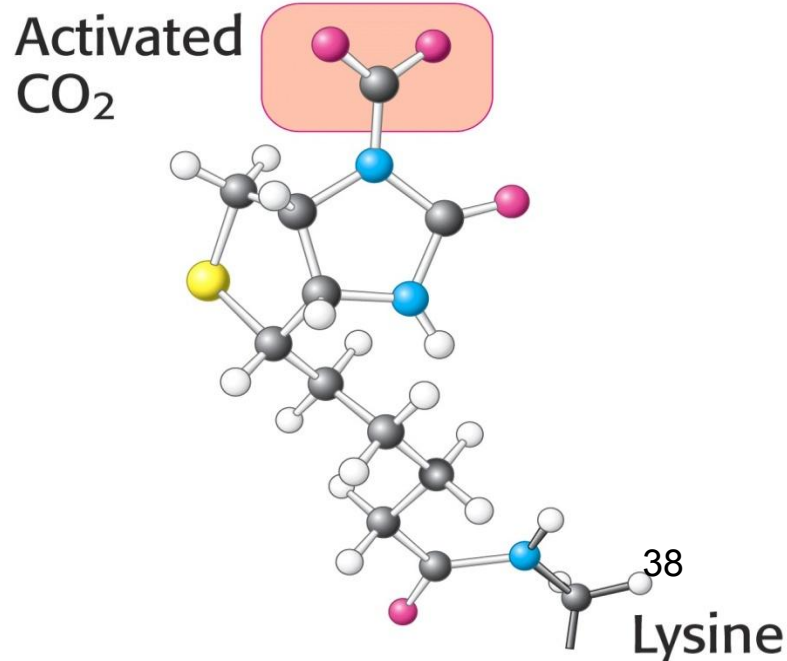
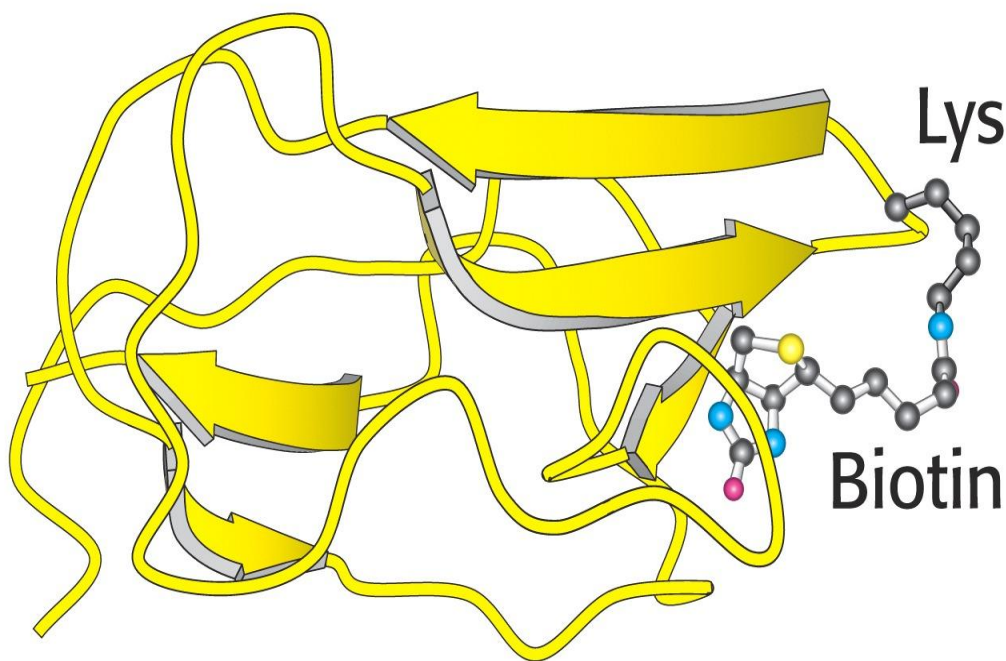
Есть три необратимые реакции в гликолизе - **гексокиназная, фосфофруктокиназная, и пируваткиназная.**

# Вурасс I: Пируват → Фосфоэнолпируват

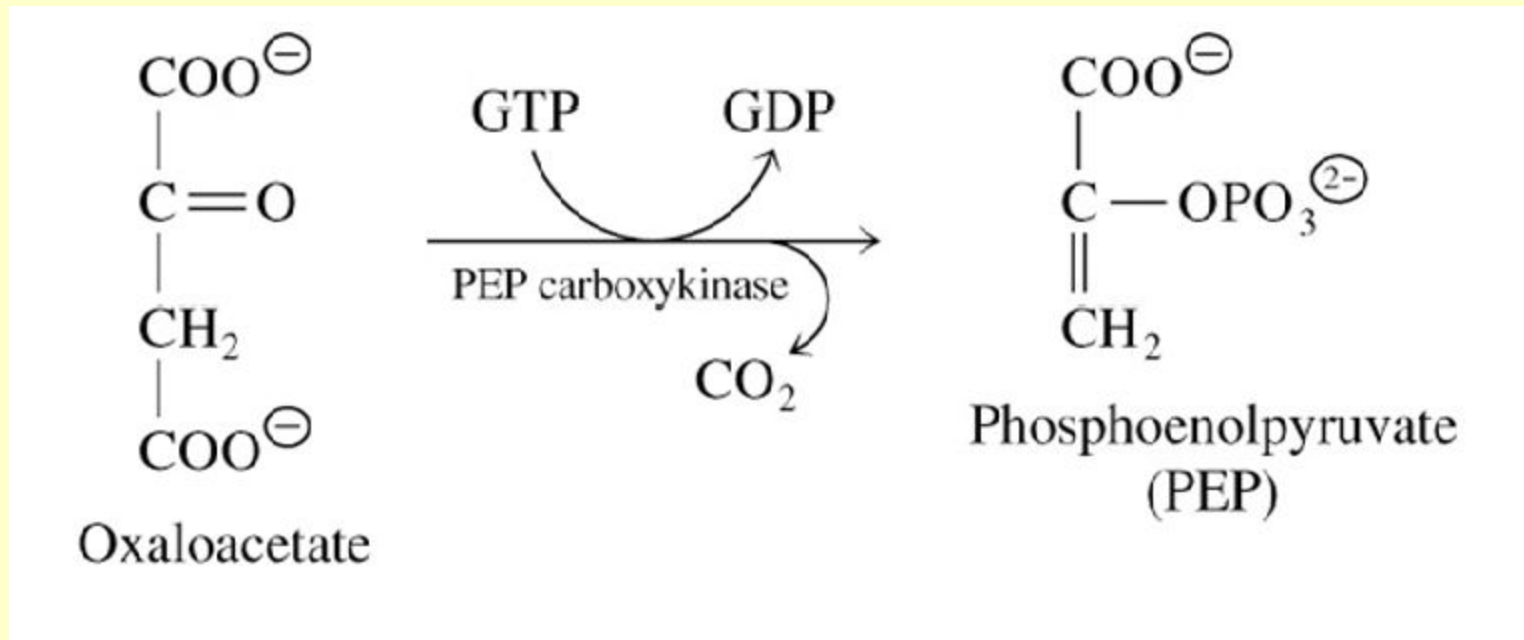
Первый шаг в глюконеогенезе - карбоксилирование пирувата в оксалоацетат.

Фермент *пируваткарбоксилаза* присутствует только в митохондриях.

Пируват транспортируется в митохондрии из цитоплазмы.



## Фосфоенолпируват карбоксикиназная реакция

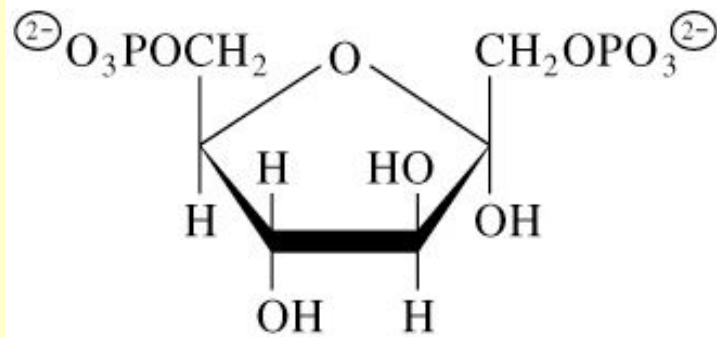


Проходит в **цитозоле**.

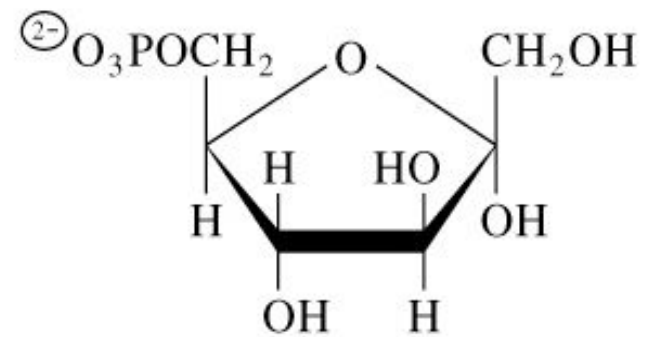
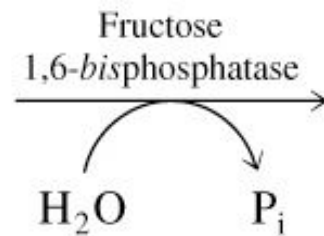
Одна молекула **АТФ** и одна молекула **ГТФ** используются для превращения пирувата в фосфоенолпируват.

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

- Фермент **фруктозо-1,6-дифосфатаза**



Fructose 1,6-*bis*phosphate



Fructose 6-phosphate



# Вырасс III: Глюкозо-6-фосфат → глюкоза

Глюкозо-6-фосфат не может дифундировать из клетки.

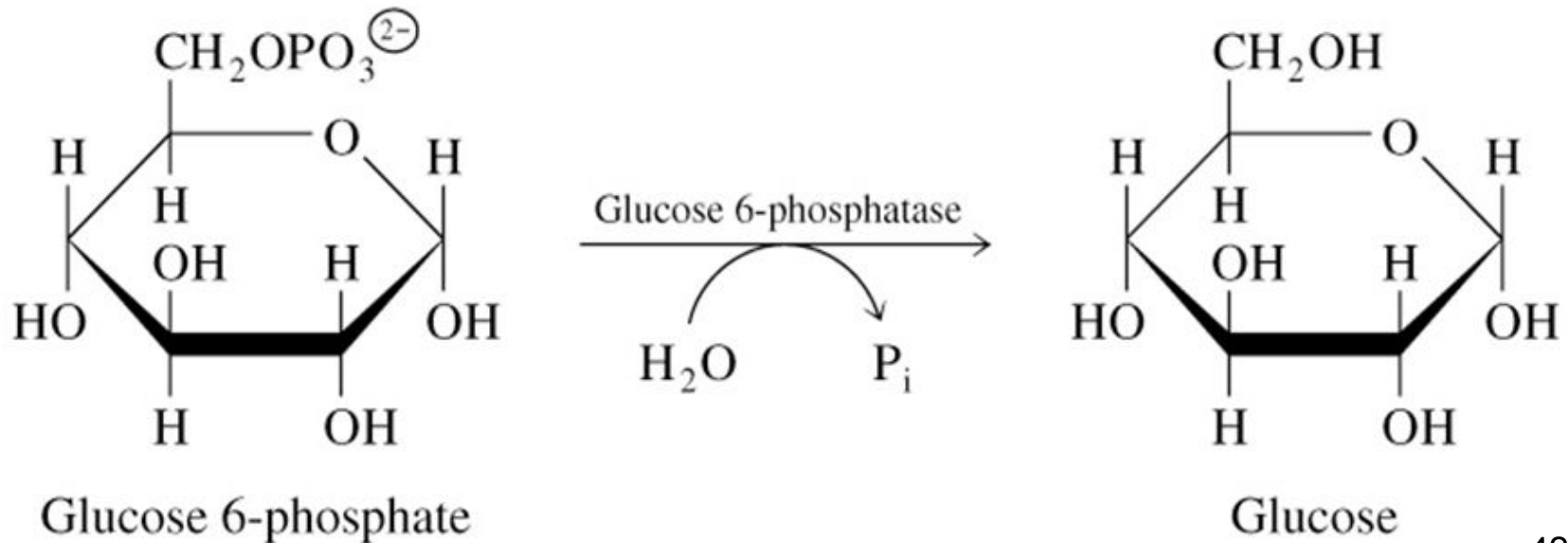
Образование свободной глюкозы регулируется двумя путями:

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

Последняя реакция не осуществляется в цитозоле.

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

### Глюкозо-6-фосфатазная реакция





Эндоплазматический ретикулум (ЭПР) (лат. reticulum — сеточка) или эндоплазматическая сеть (ЭПС) — внутриклеточный органоид эукариотической клетки, представляющий собой разветвлённую систему из окружённых мембраной уплощённых полостей, пузырьков и канальцев.

# Регуляция глюконеогенеза

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

Скорость гликолиза определяется **концентрацией глюкозы**.

Скорост 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 фосфоенолпируваткарбоксикиназы и фруктозо-1,6-дифосфатазы.**

# Предшественники глюконеогенеза

- Основные предшественники:

(1) Лактат

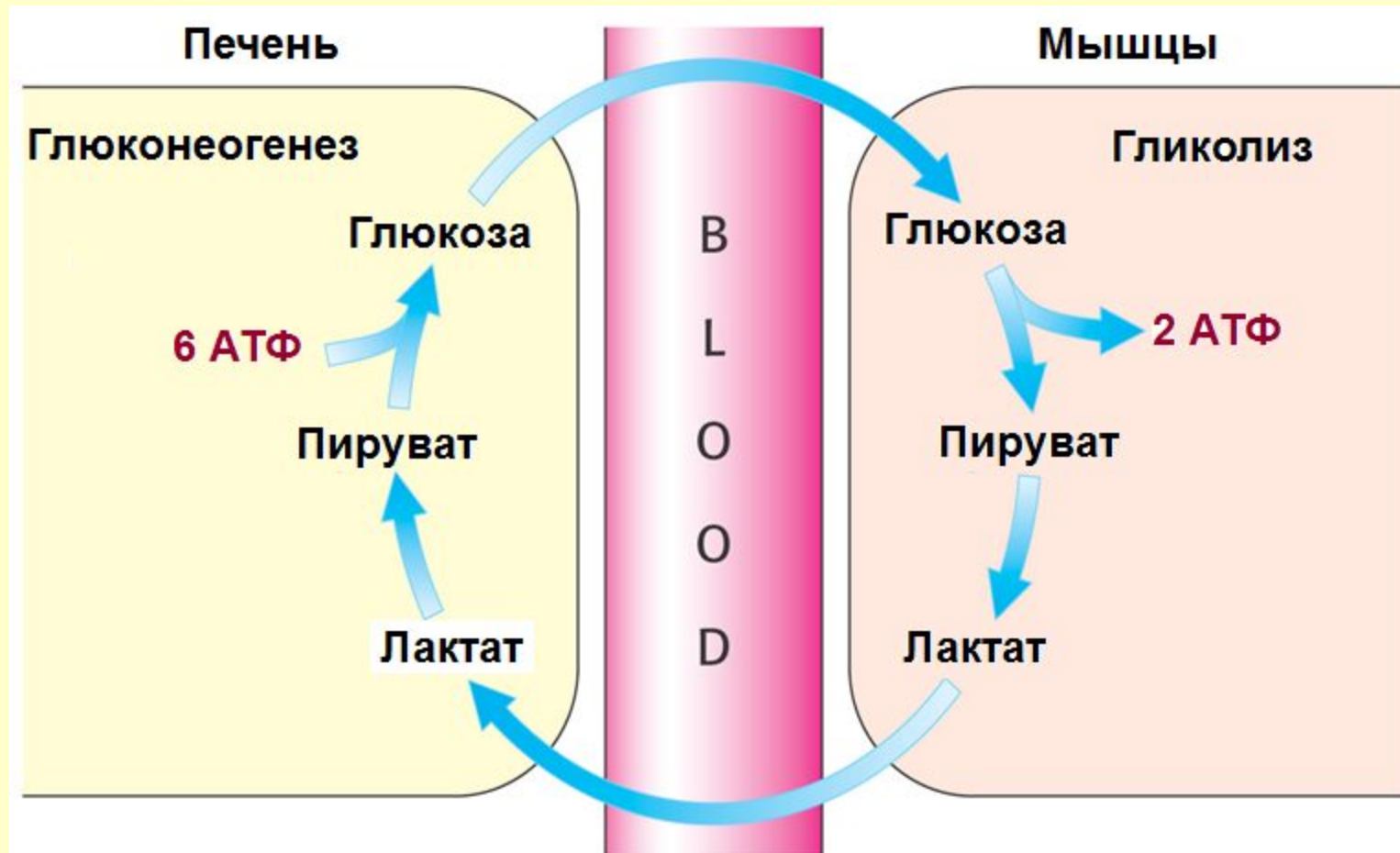
(2) Большинство аминокислот (особенно аланин),

(3) Глицерол (при расщеплении жиров)

# Цикл Кори

Печеночная лактатдегидрогеназа превращает лактат в пируват, 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 атомов Углерода).

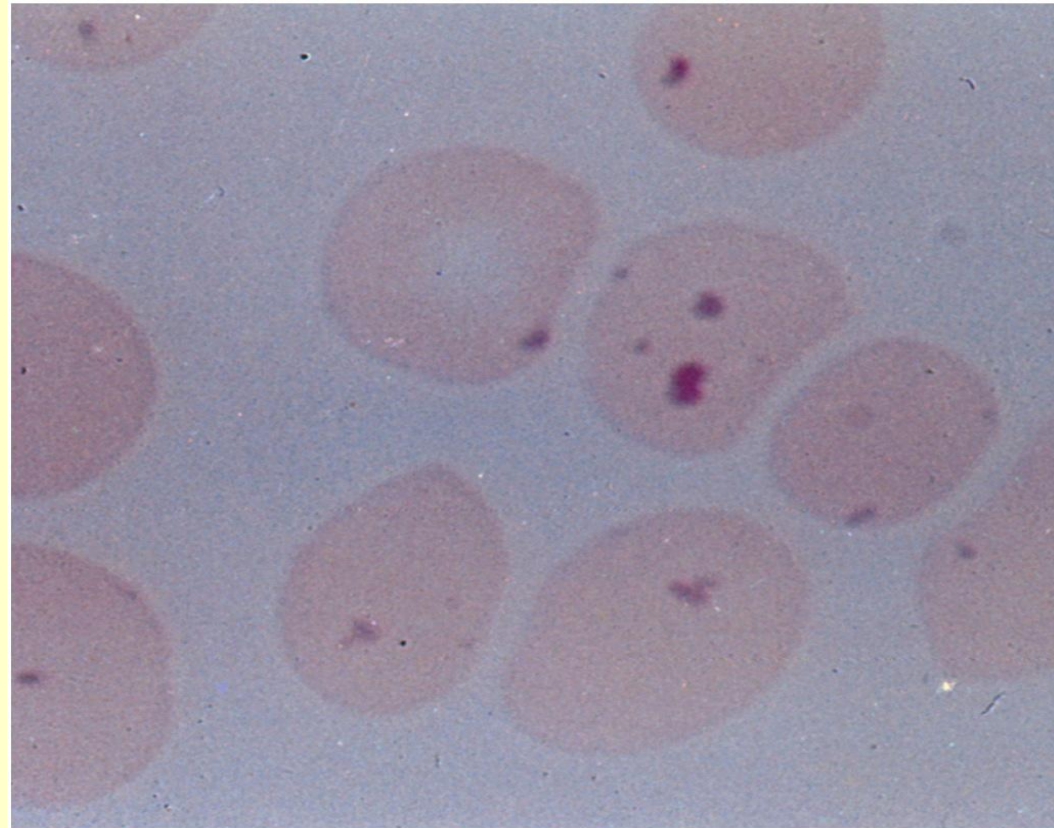
В пентозофосфатном цикле **АТФ** не синтезируется.

**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.**