

Энергетическое сопряжение

Окислительно-восстановительный (редокс-) потенциал

1. Реакции, при которых происходит перенос электронов от одних молекул к другим, называются **окислительно-восстановительными** и образуют редокс-систему.
2. Редокс-система характеризуется определенным соотношением окисленных(Ox) и восстановленных (Red) форм - Ox/ Red
3. **Способность донора в сопряженной окислительно-восстановительной паре отдавать электроны сопряженному акцептору характеризуется окислительно-восстановительным потенциалом (ОВП) - E_0'**
4. Чем выше **ОВП** системы, тем сильнее ее **окислительные свойства**; чем ниже **ОВП**, тем выше ее **восстановительные свойства**.
5. E_0' характеризует изменение свободной энергии системы при переносе электронов между компонентами ЭТЦ.

Редокс-потенциал

Уравнение Нернста для редокс-потенциала:

$$E_0' = E_0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln[\text{Ox}]/[\text{Red}]$$

- Стандартный электрод сравнения (E_0) – водородный электрод (платиновая пластинка), погруженный в 1М раствор H^+ , находящийся в равновесии с газообразным H_2 при давлении 1 атм.
- **Стандартный редокс-потенциал (E_0')** условно принимают равным 0 в растворе с активностью ионов $\text{H}^+ = 1$, $T = 298 \text{ K}$
- В ЭТЦ митохондрий E_0' изменяется от **-0,32 В** (в начале цепи) до **+0,82 В** в конце цепи, $\Delta E_0' 1,14 = \text{В}$.

Градиент E_0' - движущая сила синтеза АТФ.

Для синтеза 1 мол АТФ требуется $\Delta E_0' 0,18 = \text{В}$

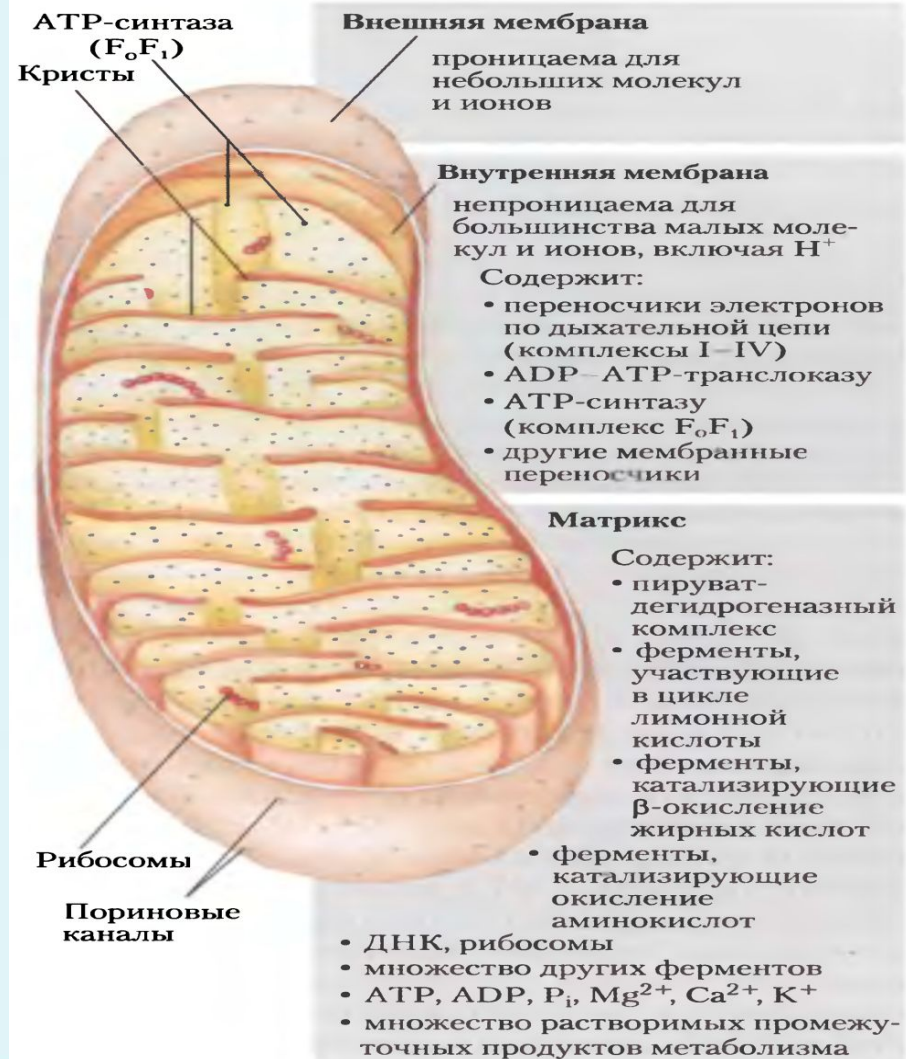
(34,5 кДж/моль)

Строение митохондрий

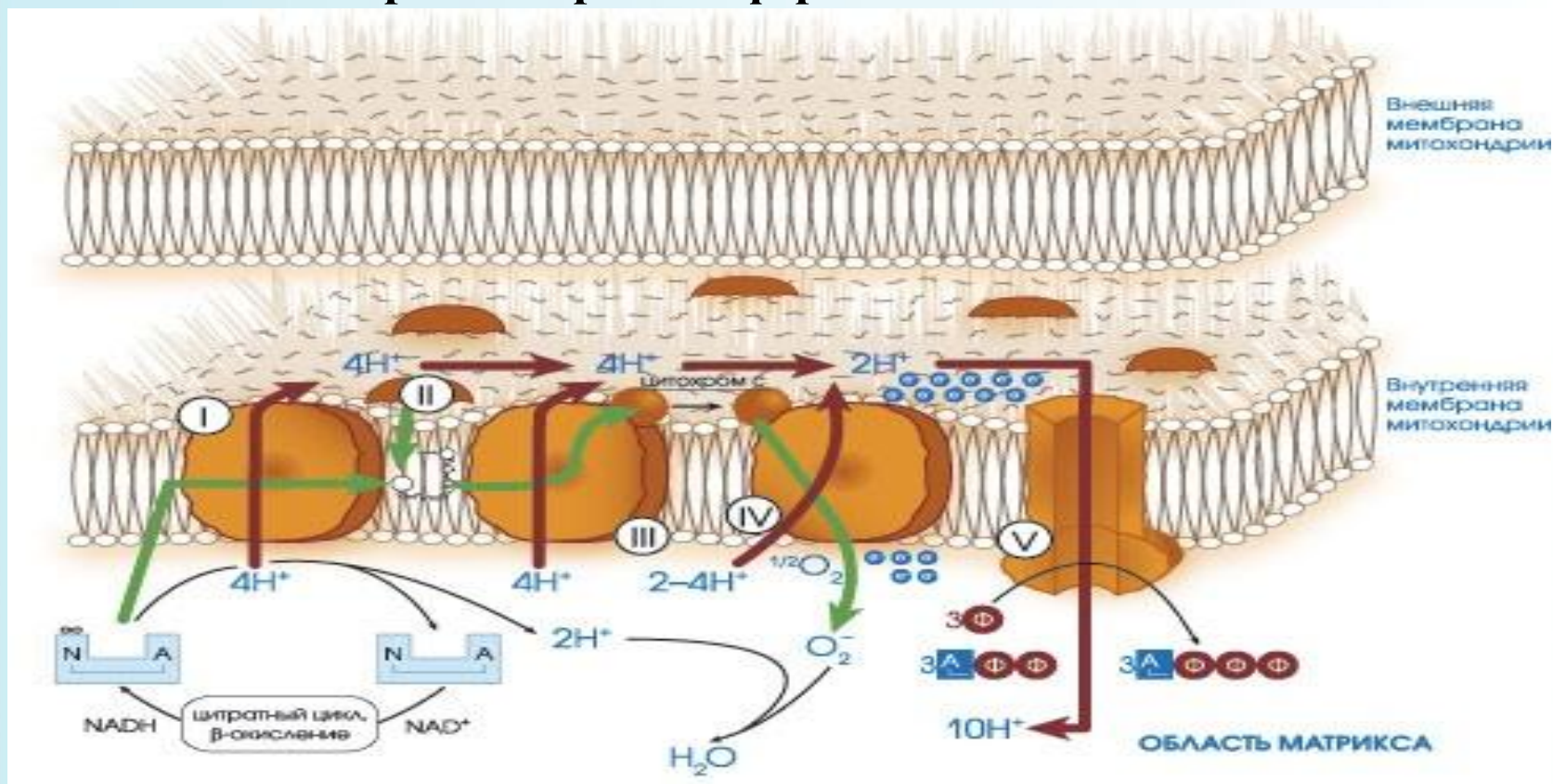


Альберт Л. Ленинджер,
1917–1986

В 1948 г. Кеннеди и Ленинджер впервые показали, что процессы окислительного фосфорилирования в эукариотических клетках происходят в митохондриях. С этого важного открытия начался современный период изучения процессов биологического преобразования энергии. Митохондрии,

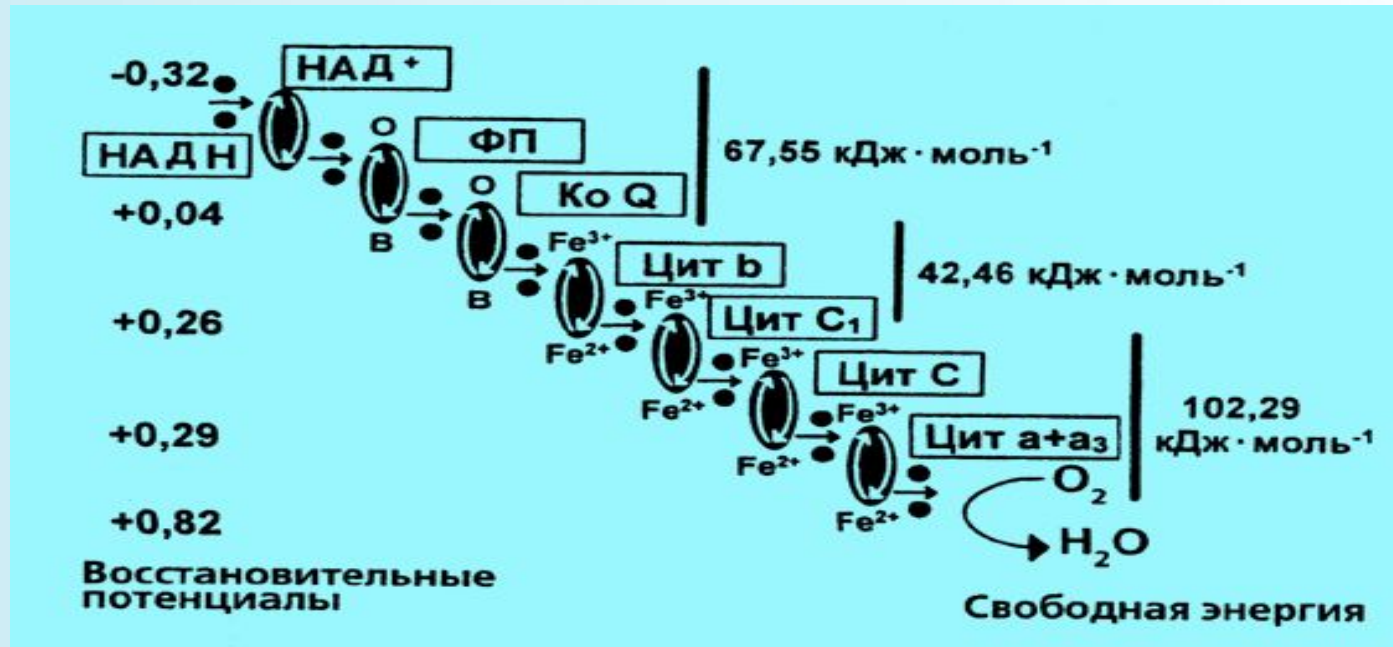


Дыхательная цепь – электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий содержит 5 ферментативных комплексов



- 1) NADH – дегидрогеназа (NADH-убихинол-редуктаза)
- 2) Сукцинатдегидрогеназа
- 3) Убихинон-цитохром-с-редуктаза
- 4) Цитохром-С-оксидаза
- 5) АТФ-синтетаза

Каскад переноса π -электронов по дыхательной цепи.

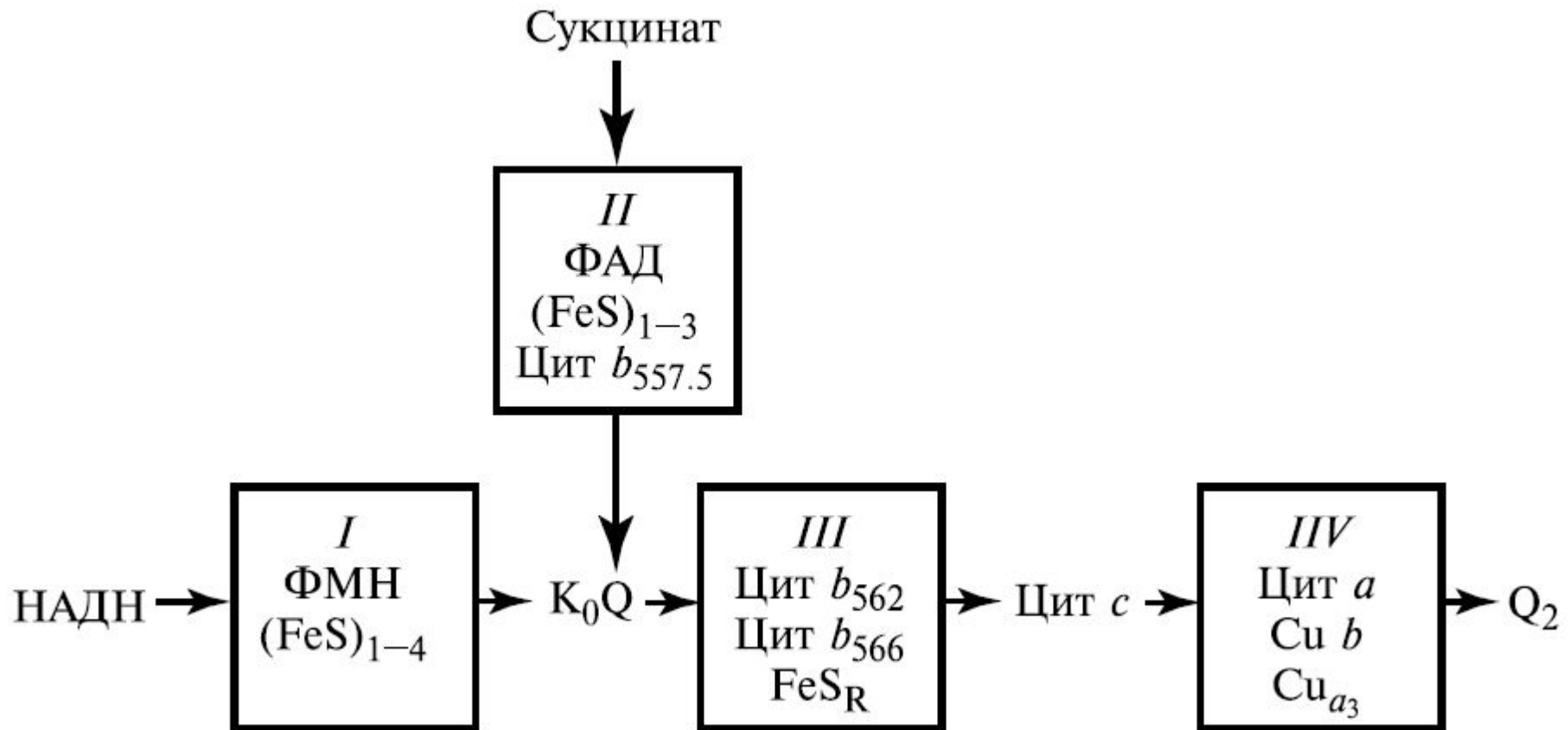


1. Каждый компонент дыхательной цепи обладает свойствами **окислительно-восстановительной пары**.
2. В **окисленном** состоянии переносчик ЭТЦ является **акцептором** электронов. При восстановлении (приняв пару электронов), переносчик ЭТЦ становится **донором** электронов.
3. При переносе пары электронов с НАД на O₂ разность редокс-потенциалов составляет $\Delta E_0 1,14 = 1 \text{ В}$ (от -0,32 В до +0,82 В).

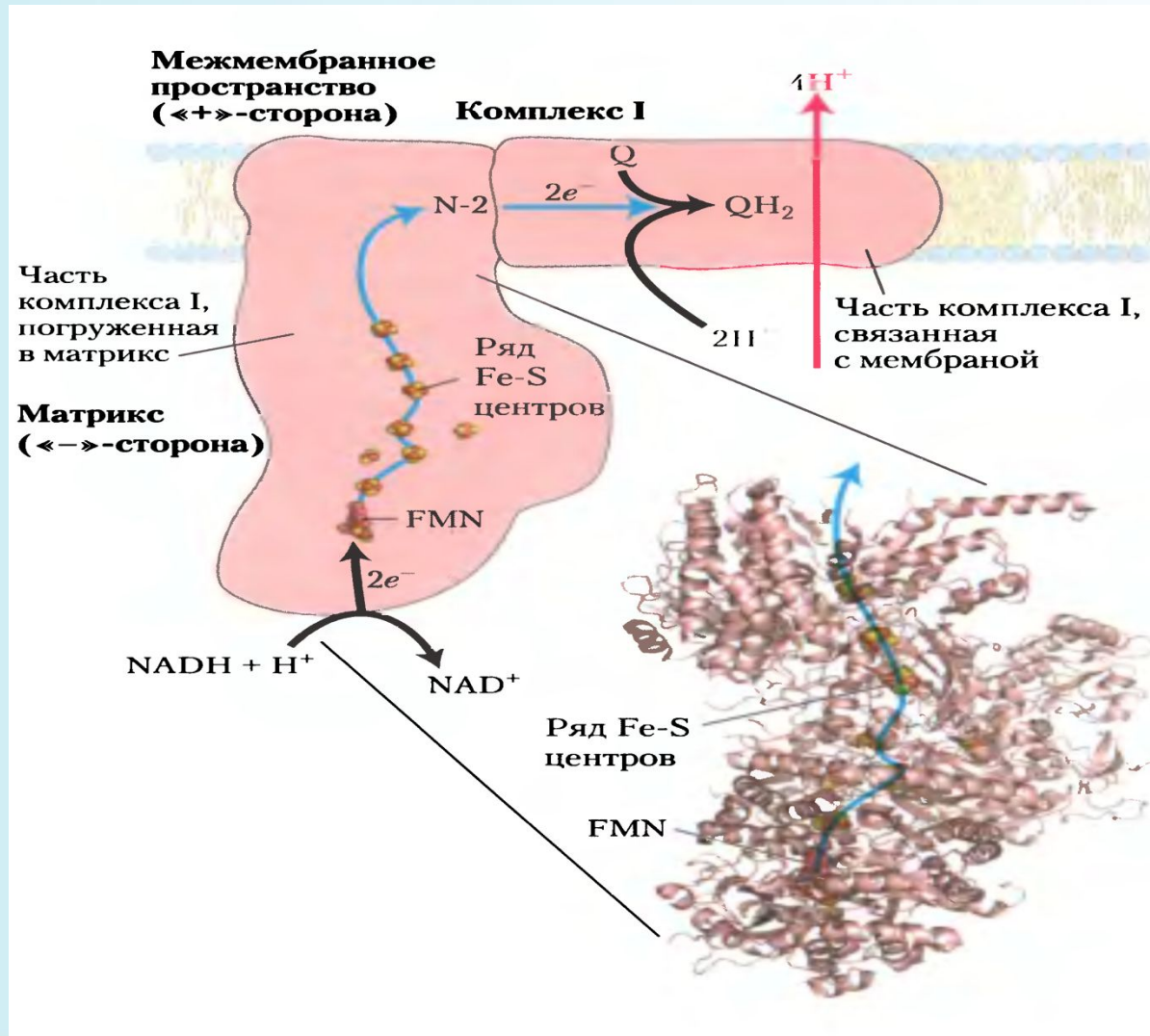
Комплексы митохондриальной цепи переноса электронов

Ферментативный комплекс	Молекулярная масса (кДа)	Число субъединиц	Простетические группы
I НАДН-дегидрогеназа (НАДН-КоQ-оксидоредуктаза)	850	42 (14)	ФМН, FeS
II Суццинатдегидрогеназа	140	5	ФАД, FeS
III Убихинон:цитохром с-оксидоредуктаза (цитохром <i>bc</i> ₁ комплекс)	250	11	Гемы, FeS
Цитохром с*	13	1	Гем
IV Цитохромоксидаза (цитохром с-оксидаза)	160	13 (3-4)	Гемы, Cu _A , Cu _B

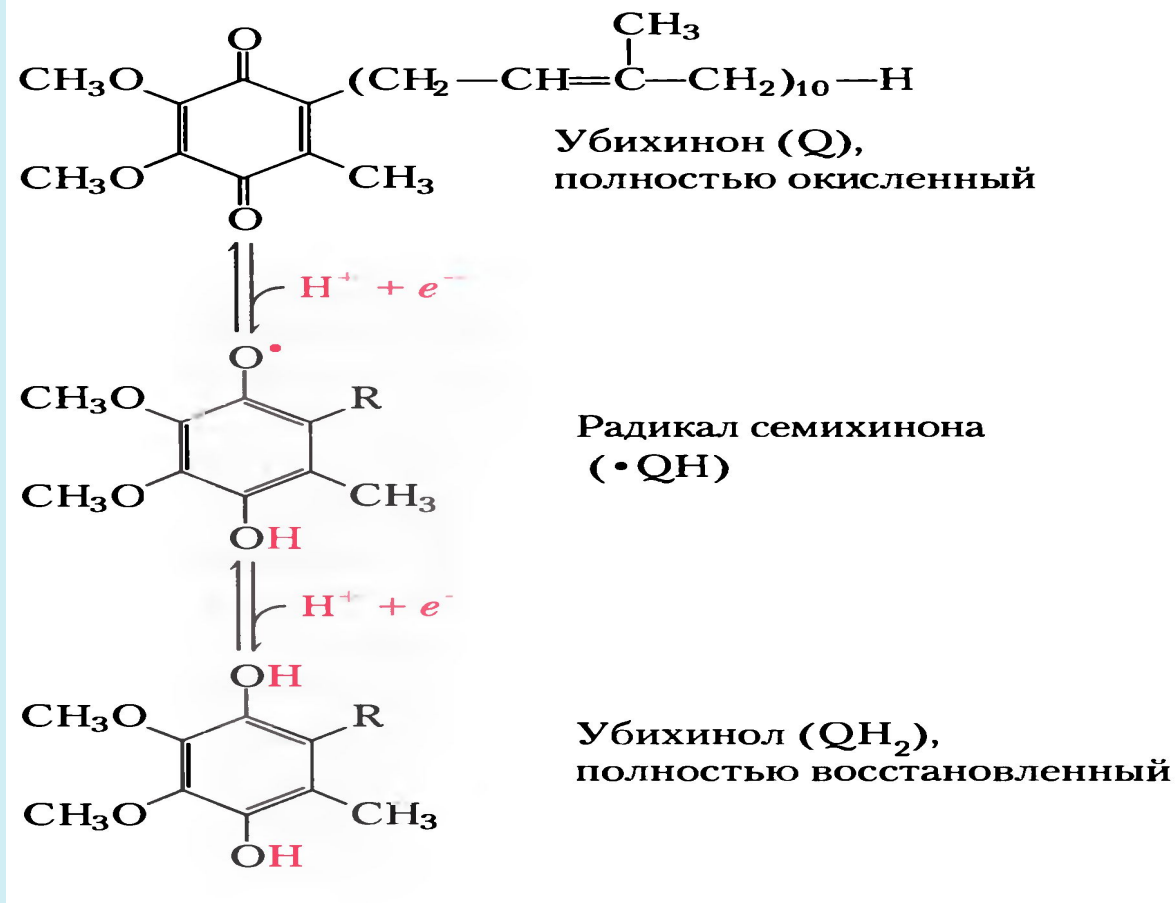
Электрон-транспортная цепь митохондрий



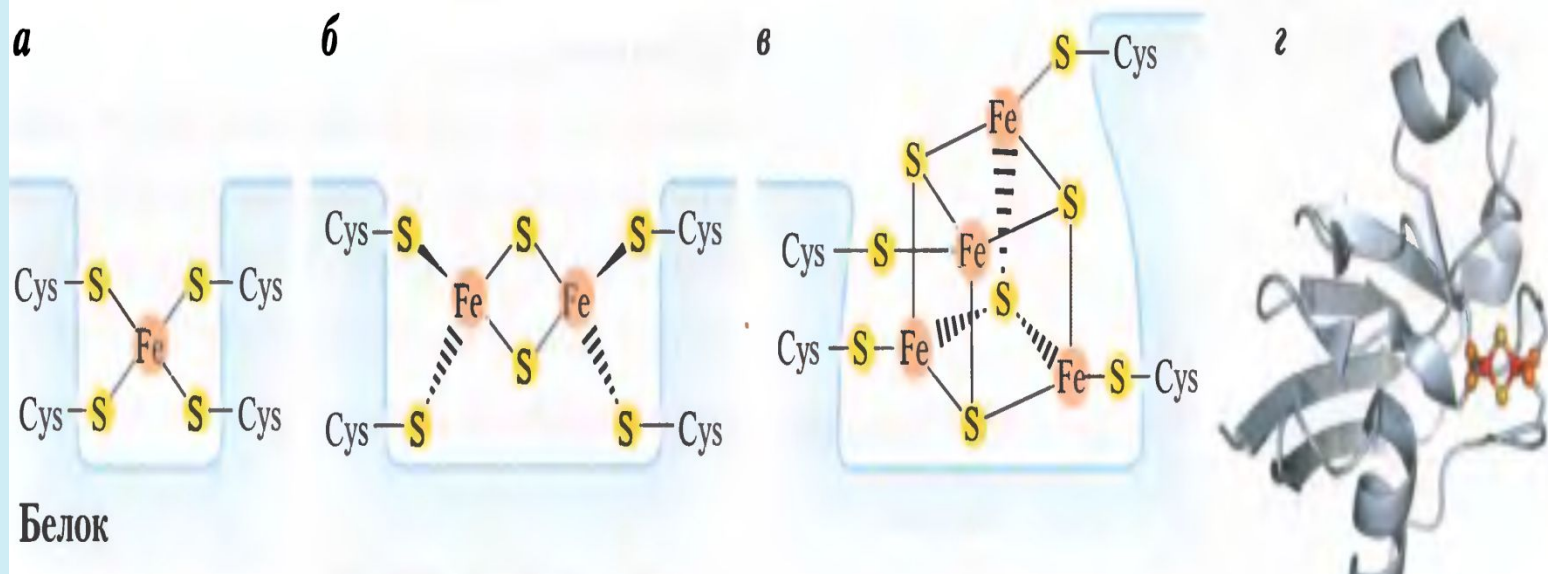
Строение комплекса I



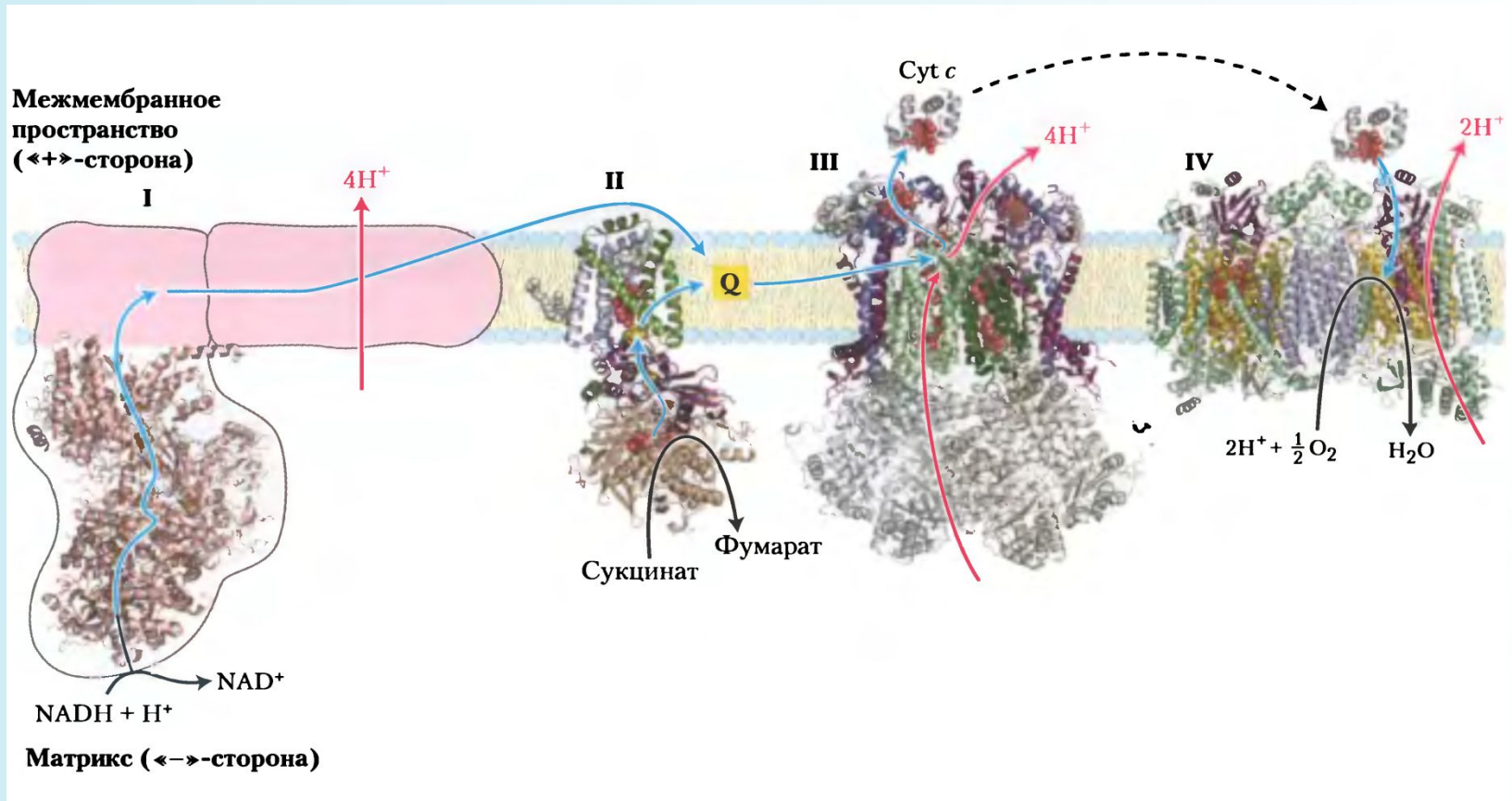
Подвижный переносчик ЭТЦ митохондрий - убинон



Строение железо-серных центров



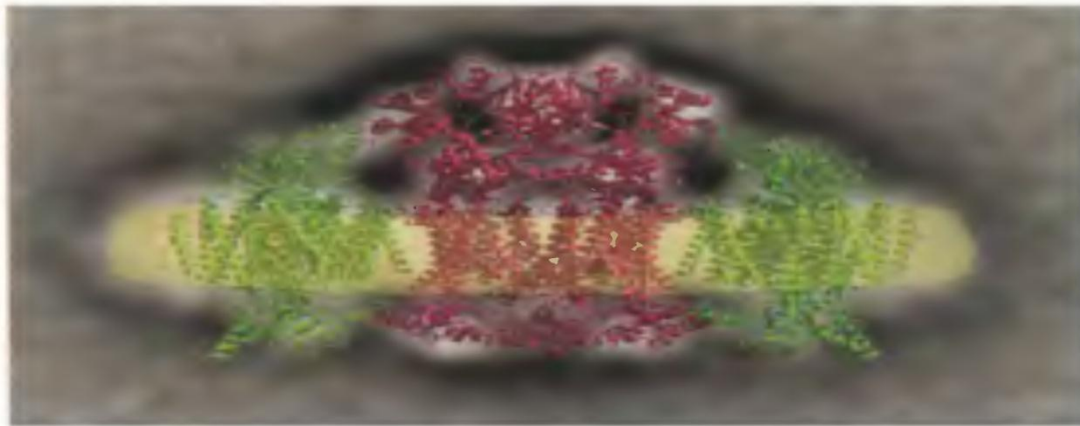
Потоки электронов и протонов через четыре комплекса в дыхательной цепи митохондрий



Митохондриальные комплексы могут образовывать ассоциаты – «респирасомы». Модель респирасомы, состоящей из комплексов III и IV.



a



б



Питер Митчелл (1920-1992)

**Нобелевская премия
1978 года «За вклад в
понимание процесса
переноса биологической
энергии, благодаря
созданию
хемиосмотической
теории»**

Положения хемиосмотической теории П.Митчелла (1961)

1. Ферментные реакции, в которых одновременно протекают химические превращения и транспорт частиц называются **хемиосмотическими**.
2. Реакции окисления создают разность концентраций протонов по обе стороны внутренней мембраны митохондрий, $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ играет роль **резервуара энергии**.
3. Окисление связано с переносом электронов по ЭТЦ митохондрий.
4. **Перенос электронов** сопровождается **переносом через мембрану протонов в межмембранное пространство** против градиента концентрации. Это приводит к возникновению химического градиента ($\Delta p\text{H}$) и электрического градиента ($\Delta\phi$)
5. Поток протонов из межмембранного пространства через протонные каналы F_0 АТР-синтазы по градиенту концентрации дает свободную энергию для синтеза АТР.

Хемиосмотическая теория Митчелла.



Peter Mitchell,
1920–1992

Главный постулат – **сопряжение окисления и фосфорилирования**. Перенос электронов по ЭТЦ митохондрий создает, а АТР-синтаза использует трансмембранную разность электрохимического потенциала протонов $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ для синтеза АТР.

1 этап – превращение химической энергии переноса электронов в энергию **электрохимического градиента протонов** - $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ в результате сопряжения транспорта электронов и переноса протонов через мембрану.

Это приводит к возникновению **химического градиента ($\Delta p\text{H}$)** и **электрического градиента ($\Delta\phi$)**.

Уравнение для электрохимического градиента протонов:

$$\Delta\mu_{\text{H}^+} = 2,3 RT\Delta p\text{H} + F \Delta\phi$$

2 этап – трансформация энергии $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ в энергию АТР за счет работы АТР-синтазы.

Положения хемиосмотической теории П.Митчелла

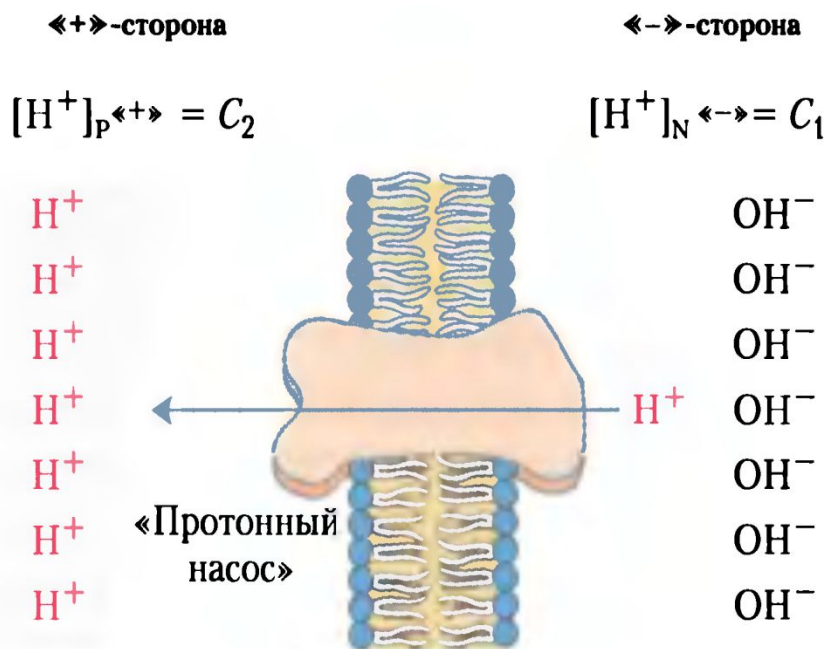
- Электрохимический градиент протонов включает две составляющих: осмотическую (ΔpH) и электрическую ($\Delta\phi$)

$$\Delta\mu_{H^+} = 2,3 RT\Delta pH + F \Delta\phi$$

Результирующий эффект – возникновение протон-движущей силы (ΔG)

химический потенциал \rightarrow синтез АТФ под \leftarrow электрический потенциал
 $\Delta pH \quad \rightarrow \quad$ действием $\Delta\mu_{H^+} \quad \leftarrow \quad \Delta\phi$

Возникновение протон-движущей силы



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z F \Delta \psi$$

$$= 2,3RT \Delta pH + F \Delta \psi$$

В двух компартментах митохондриального пространства, отделенных друг от друга внутренней мембраной, за счет энергии переноса электронов создается разность концентраций протонов $[H^+]$, т. е. возникает градиент рН (ΔpH) и межмембранный потенциал ($\Delta \psi$). Результирующий эффект — протон-движущую силу (ΔG) — можно

Хемиосмотическая теория

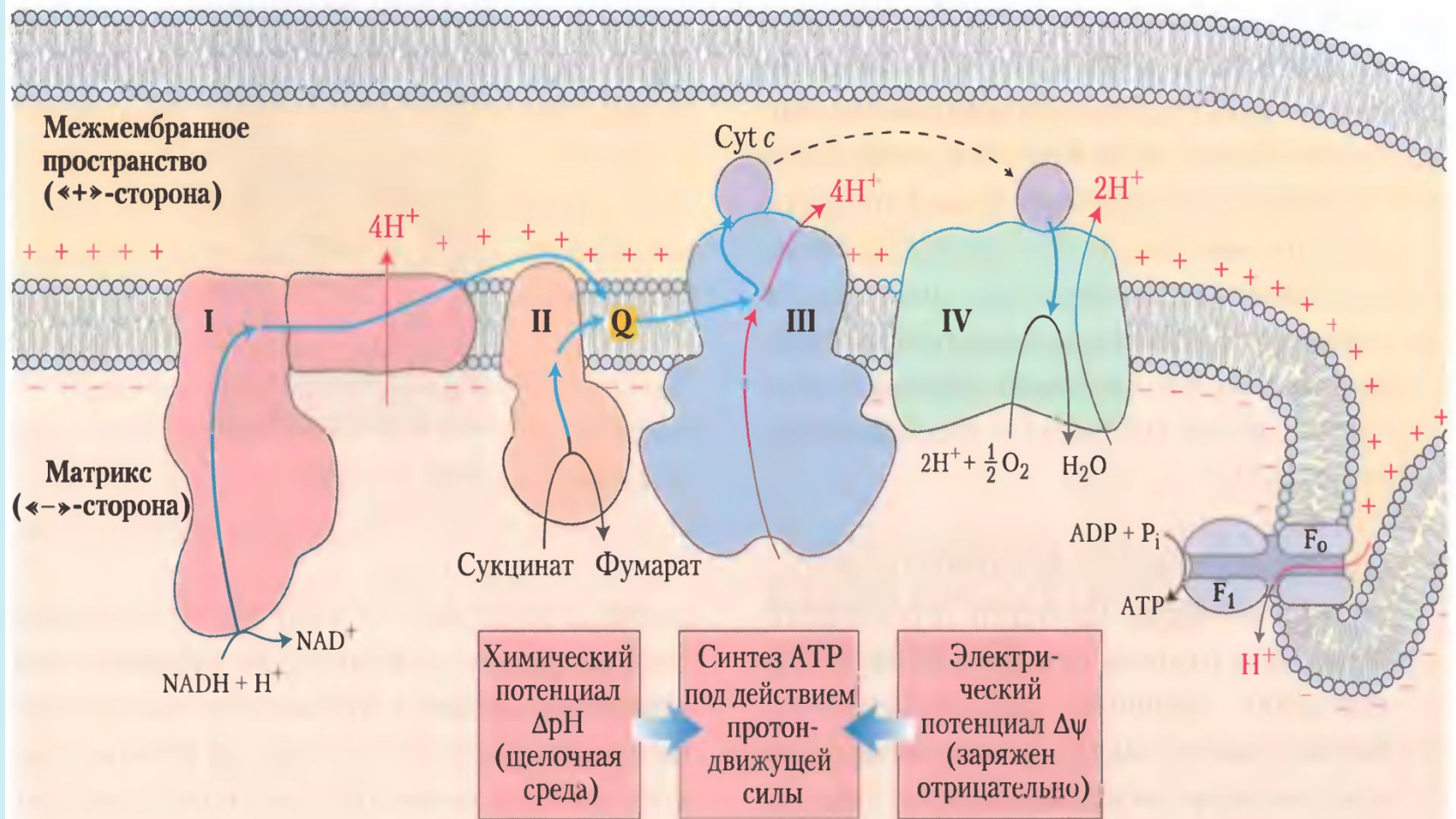
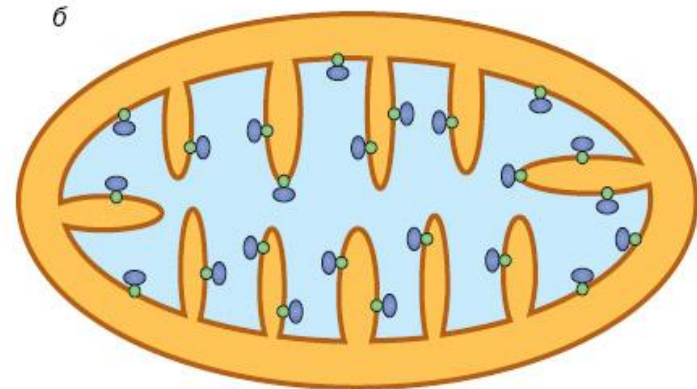
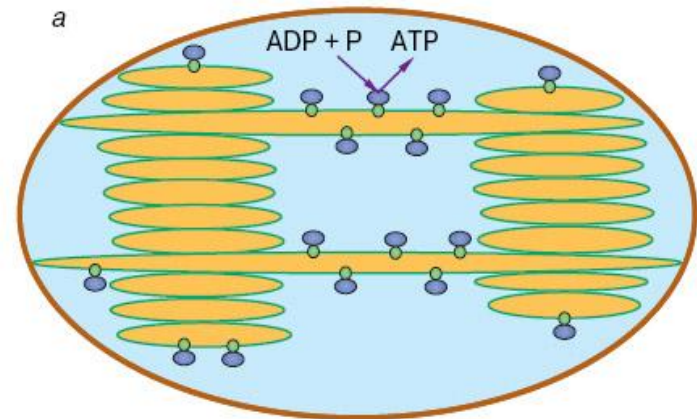
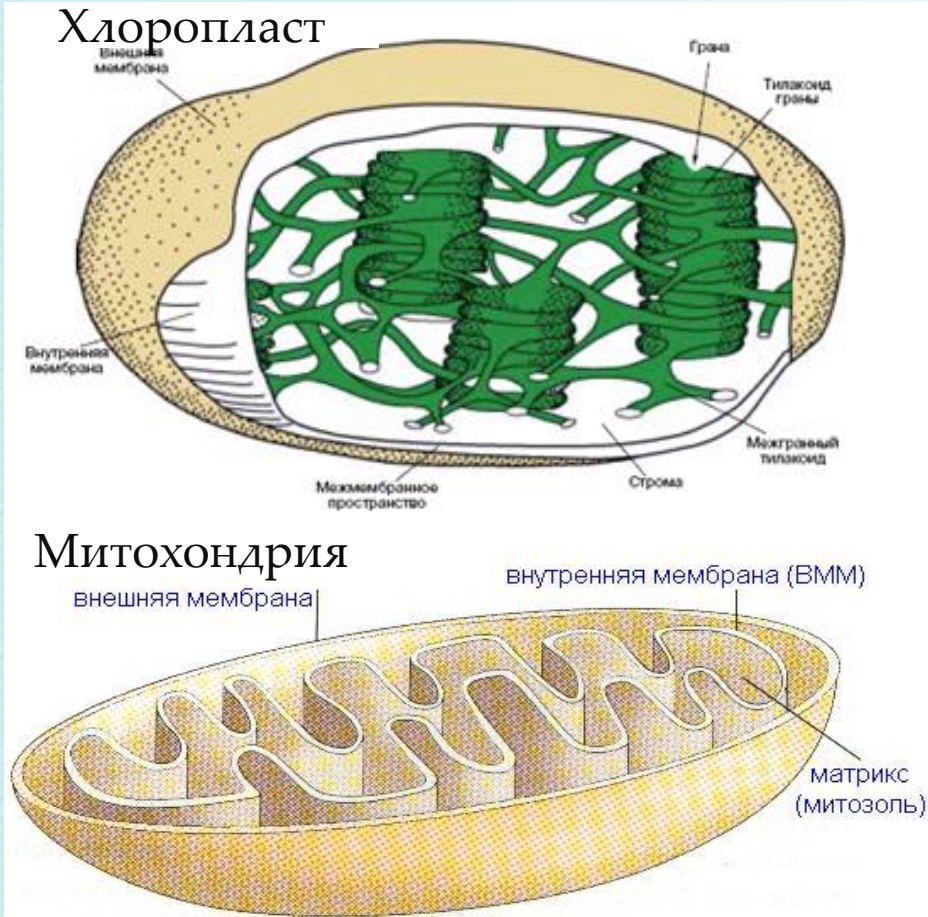
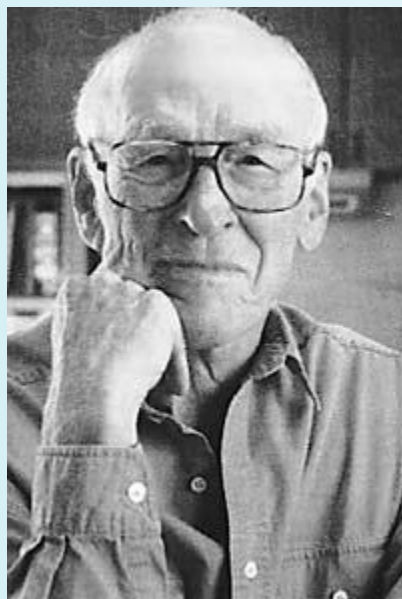


Схема расположения Н-АТФ-синтазных комплексов.



В хлоропластах (а) фактор сопряжения F1 ориентирован во внешнюю среду, а в митохондриях (б) обращён в сторону матрикса (внутренняя часть митохондрии)

Нобелевская премия 1997 года по химии «за установление ферментативного механизма, управляющего синтезом аденозинтрифосфата (АТФ)».



Пол Бойер.

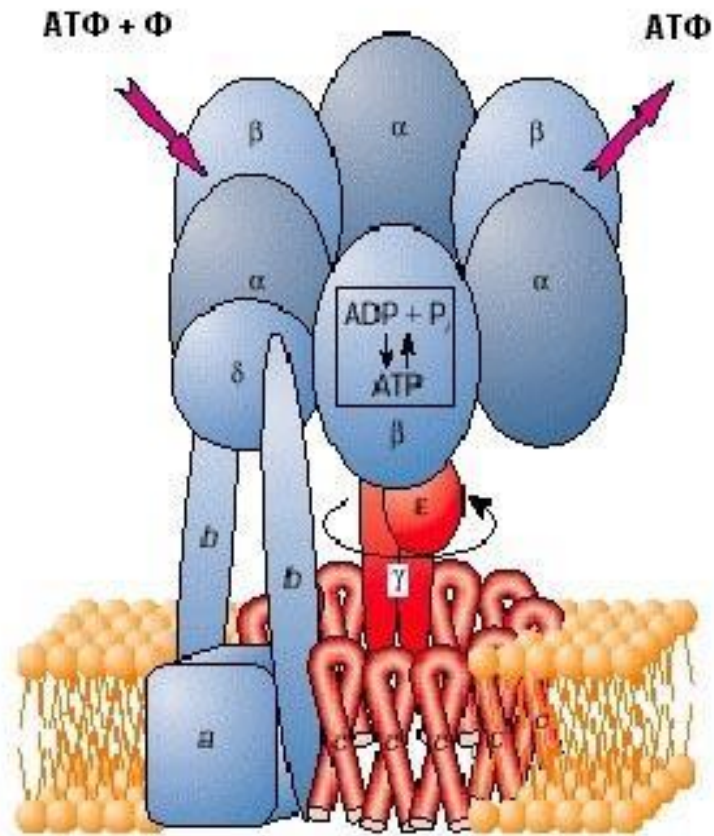


**Джон
Уокер.**

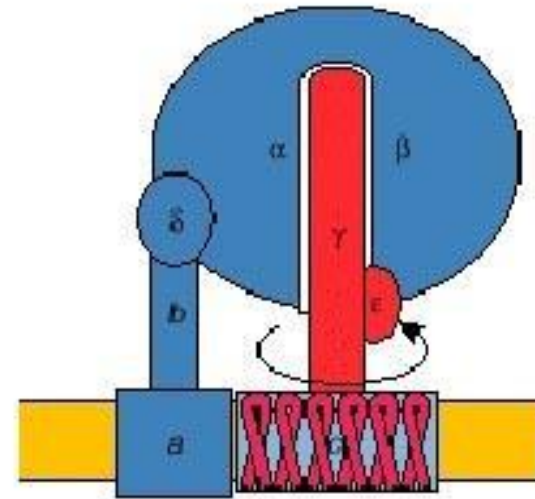
«Все ферменты красивы, но АТФ-синтаза является одним из самых красивых, а также самых необычных и важных» (П.Бойер, 1997).

Строение АТФ-синтазы

Строение АТФ-синтазы



Ансамбль α и β субъединиц имеет размер 8 нм в высоту и 10 нм в диаметре



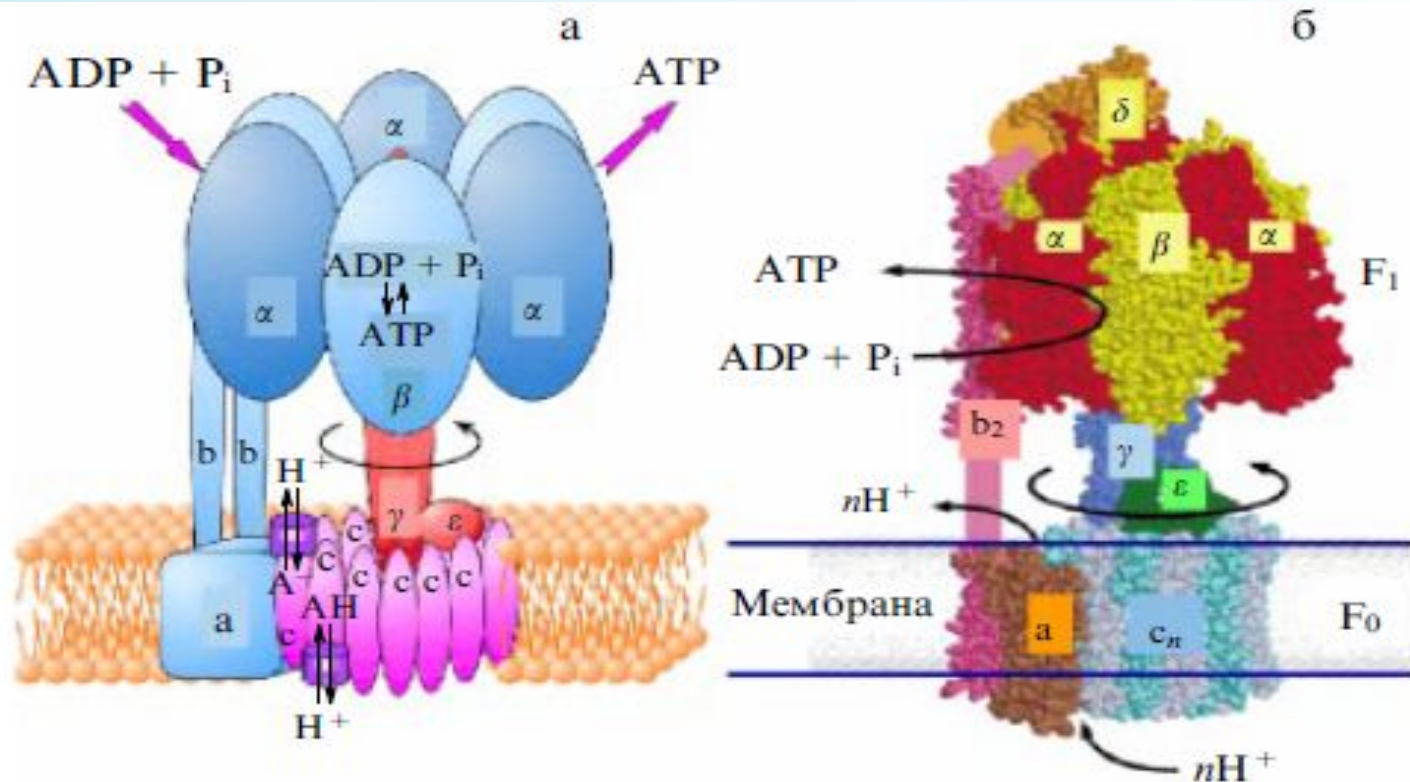
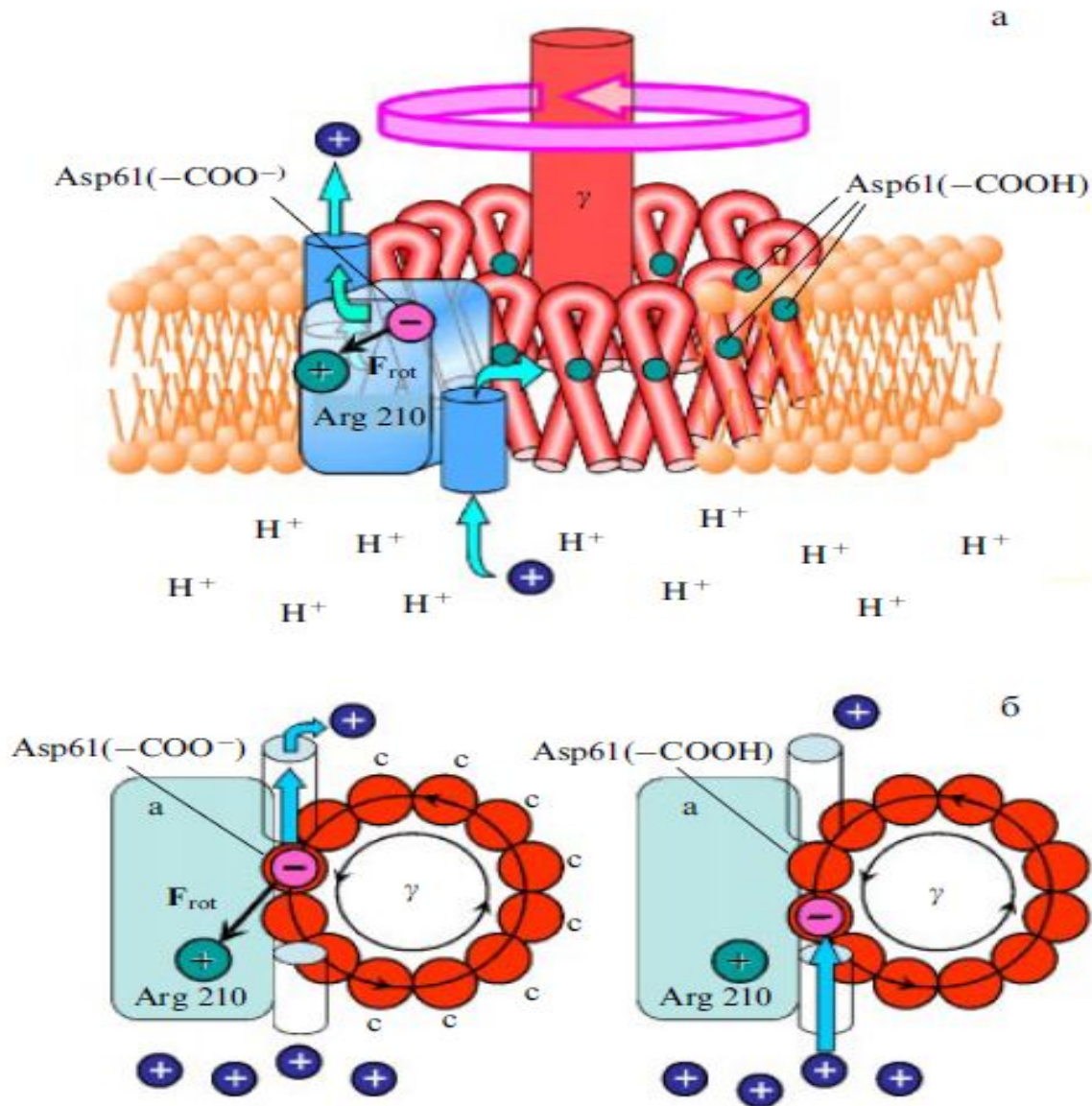
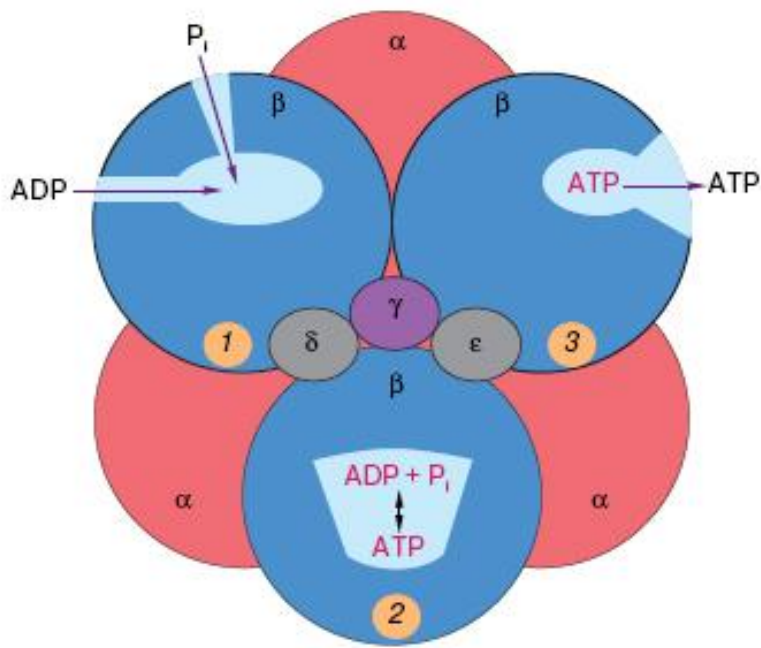


Рис. 4. (а) Схема пространственного строения F₀F₁-АТФ-синтазы. Светлыми изображены белковые субъединицы, образующие "статор", тёмным изображён "ротор", вращение которого сопряжено с переносом ионов водорода из "кислотного резервуара" (нижняя часть рисунка) в "щелочной резервуар" (верхняя часть рисунка). (б) Реконструкция пространственного строения F₀F₁-АТФ-синтазы на основании данных рентгеноструктурного анализа [55, 56, 59].

Трансмембранный перенос протонов приводит к вращению ротора АТФ-синтазы





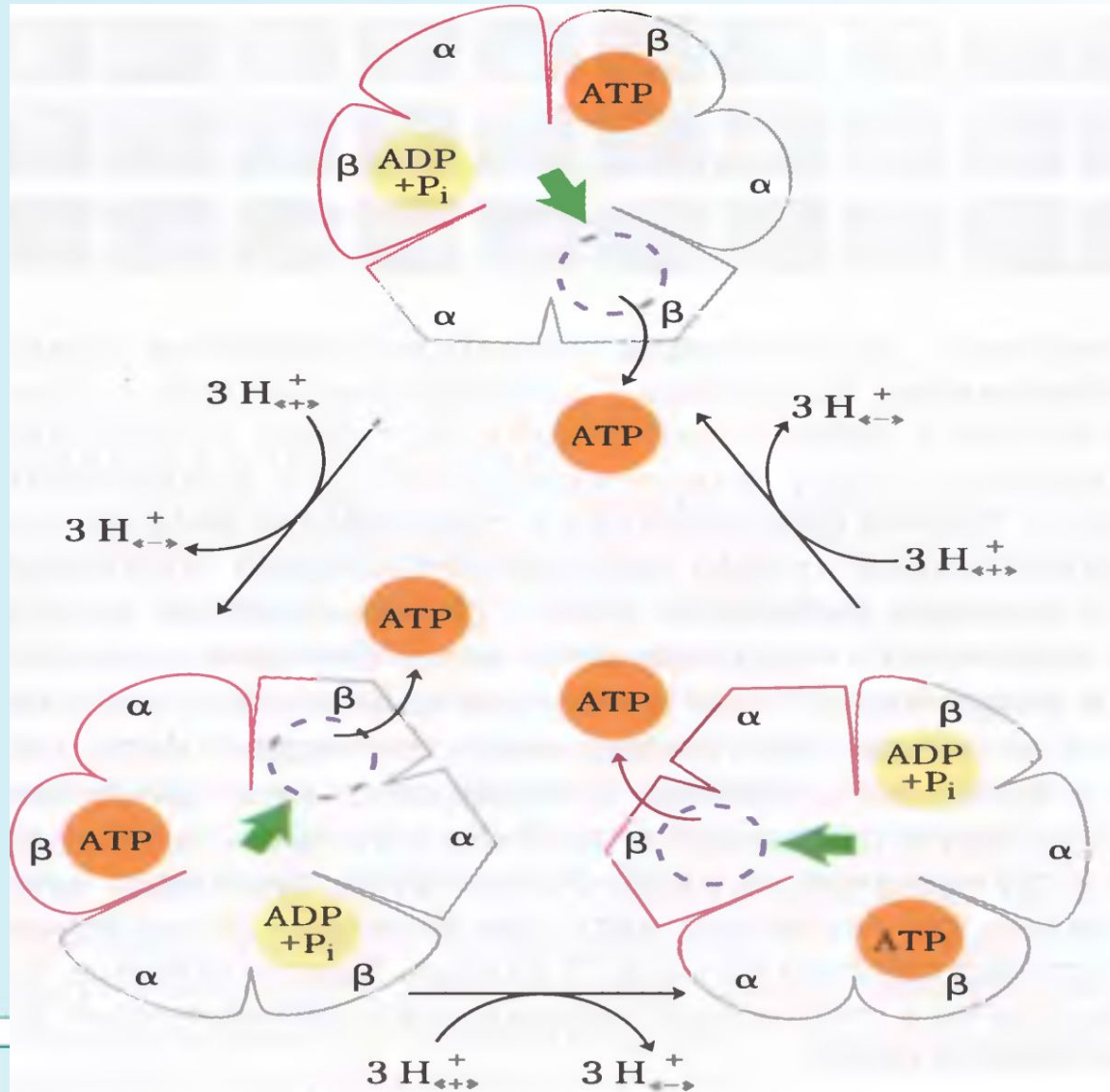
Состояние 1 – каталитический центр субъединицы β открыт; в этом состоянии молекулы ADP и P_i связываются и сравнительно слабо удерживаются активным центром субъединицы β .

Состояние 2 – каталитический центр закрыт; молекулы ADP и P_i прочно удерживаются каталитическим центром. В этом состоянии из связанных молекул ADP и P_i может образоваться молекула ATP, прочно удерживаемая каталитическим центром фермента.

Состояние 3 – связь молекулы ATP с каталитическим центром ослаблена, образовавшаяся из ADP и P_i молекула ATP диссоциирует в раствор. Результатом последовательных конформационных перестроек (состояние 1 \rightarrow состояние 2 \rightarrow состояние 3) является образование ATP из ADP и P_i .

1. Перенос протонов через H^+ ATP-синтазу \rightarrow вращение цилиндра из c -субъединиц (F_0 комплекса) и γ -субъединицы (фактора сопряжения F_1) относительно других субъединиц ферментного комплекса.
2. Электростатические взаимодействия за счет протонирования и ионизации $COOH$ - групп аминокислотных остатков, входящих в состав фактора сопряжения F_1 , приводят к структурным перестройкам фермента.
3. В результате изменяется сродство молекул ATP, ADP, P_i к β -субъединицам субстрата.

Схема вращательного катализа АТФ-синтазы по механизму изменения селективности активных центров (П.Бойер)



Механизм синтеза АТФ

Механизм синтеза АТФ был предложен Р. Boyer и включает **3 стадии**, в результате которых происходит изменение **конформации β -субъединицы**:

- 1) β -субъединица находится в **β -АДФ-конформации** и связана с АДФ и Р_н;
- 2) β -субъединица переходит в **β -АТФ-конформацию**. Эта форма прочно связывает и стабилизирует АТФ;
- 3) β -субъединица меняет конформацию на **β -«пустая»**, которая имеет **низкое** сродство к АТФ и молекула АТФ освобождается с поверхности фермента.

- Движение протонов через F_o канал вызывает поворот центрального ствола **γ -субъединицы** вокруг оси на **120°**.

- γ -Субъединица проходит через центр $\alpha_3\beta_3$ -сфероида и вызывает конформационные изменения: **β -АТФ центр** переходит в конформацию **« β -пустая»** и АТФ диссоциирует.

Полный поворот γ -субъединицы (на 360°) вызывает образование **3 молекул АТФ**.

Схема работы АТФ-синтазы: вращательный катализ, поворот на 120° – синтез 1 молекулы АТР. АТФ-синтаза совершает ~ 10 об/сек. За сутки синтезируется количество АТФ, \sim равное массе организма.

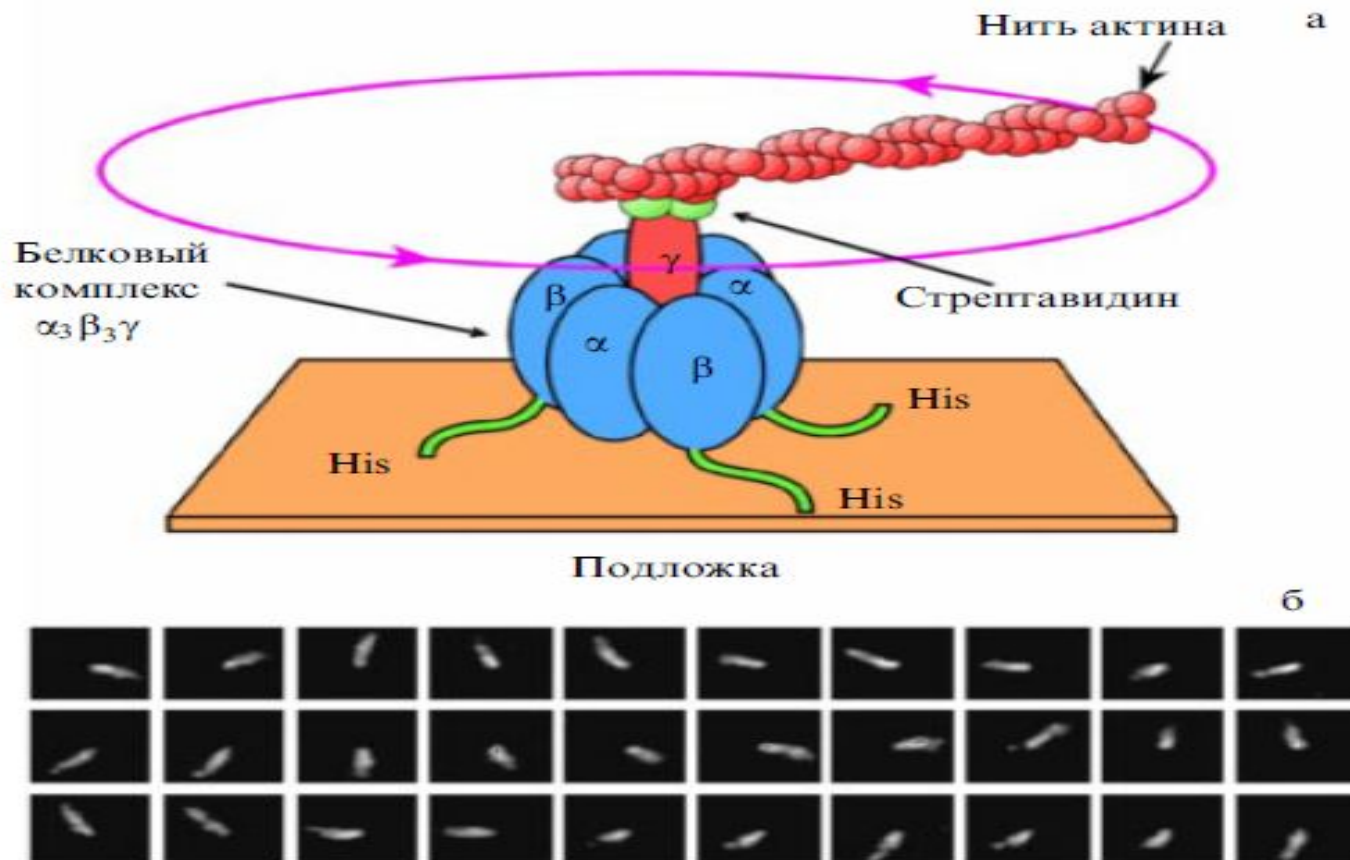
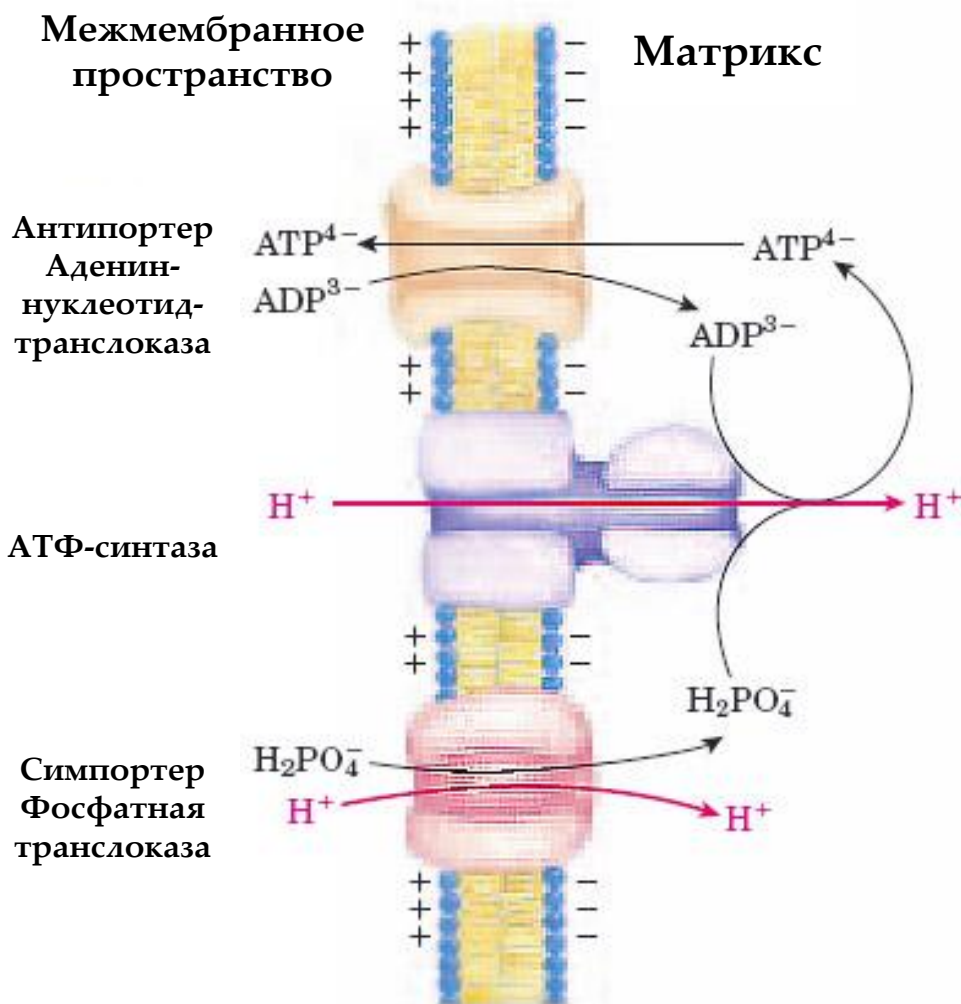


Рис. 11. Схема опыта по визуализации вращения ротора F₁-АТФазы

В сутки человек потребляет в среднем 27 моль кислорода. Основное его количество (примерно 25 моль) используется в митохондриях в ЭТЦ. Следовательно, ежедневно синтезируется 125 моль АТФ, или 62 кг. Масса всей АТФ, содержащейся в организме, составляет примерно 20-30 г. Следовательно, каждая молекула АТФ за сутки 2500 раз проходит процесс гидролиза и синтеза.

АТФ-синтасома – АТФ-синтаза + аденин-нуклеотидтранслоказа + фосфаттранслоказа



АТФ после синтеза выходит в **цитозоль** по типу **антипорта** – обмен ATP⁴⁻/ADP³⁻

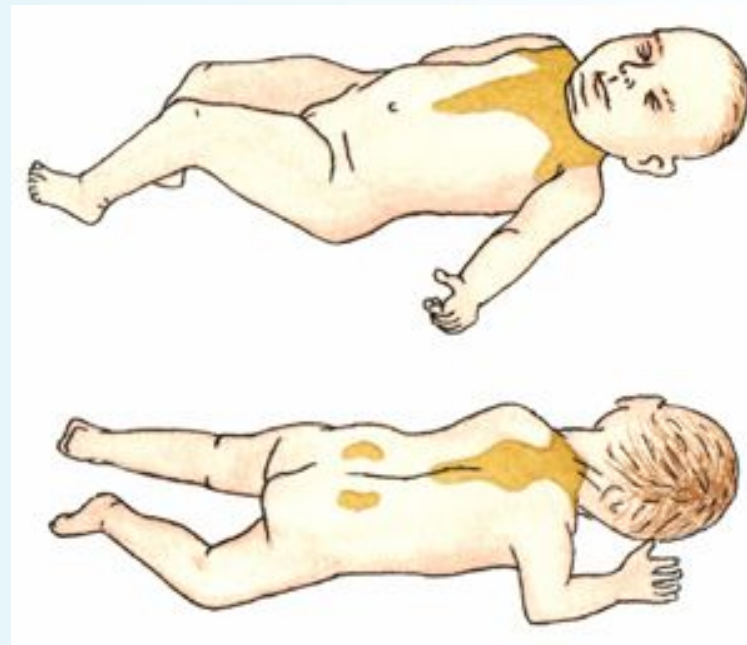
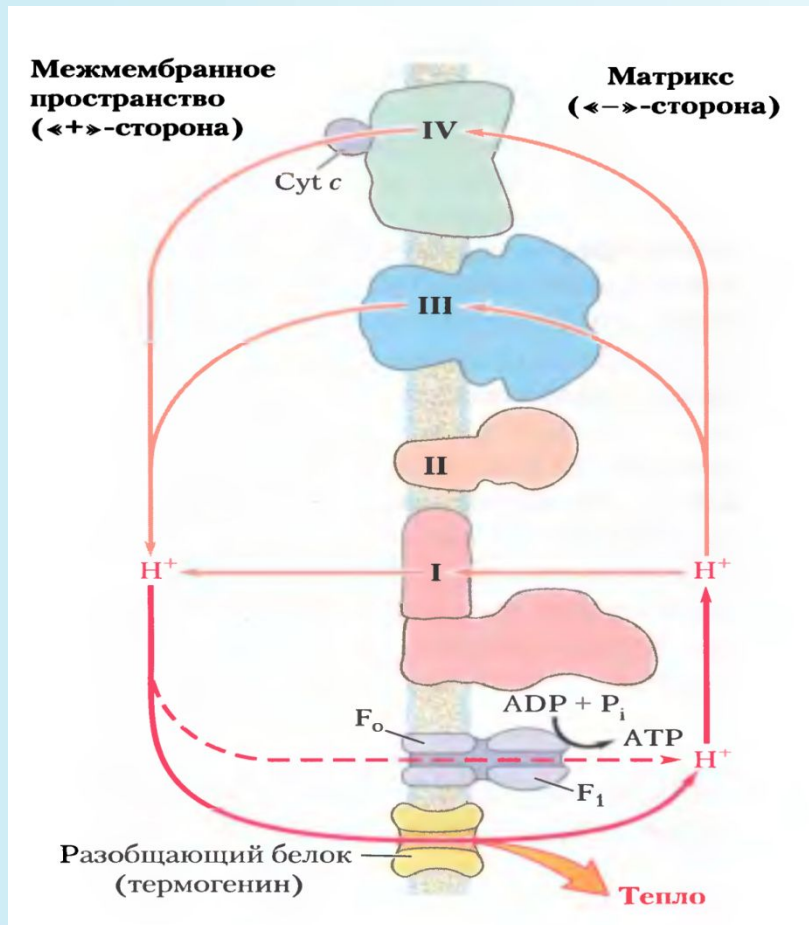
Транспорт осуществляет **адениннуклеотидтранслоказа (антипортер)**.

В **матрикс** по типу **симпорта** поступают ионы дигидрофосфата совместно с **протонами**. Транспорт идет за счет **фосфатной транслоказы (симпортер)**.

АТФ-синтасома

1. **Адениннуклеотидтранслоказа (антипортер)** связывает АДФ³⁻ в межмембранном пространстве и транспортирует его в матрикс в обмен на АТФ⁴⁻ из матрикса. При этом перемещаются **4 отрицательных** заряда **наружу** и **три внутрь**, образуется электрохимический трансмембранный градиент, который заряжает матрикс **отрицательно**. Электрохимический градиент обеспечивает обмен АТФ-АДФ. Транслоказа специфически ингибируется **атрактилозидом** – токсическим гликозидом, выделяемым **чертополохом**. Если транспорт АДФ и АТФ ингибируется, цитозольный АТФ не может синтезироваться из АДФ.
2. **Фосфаттранслоказа (симпортер)** обеспечивает транспорт H_2PO_4^- и одного H^+ в матрикс. Этот процесс обеспечивает образование протонного градиента.
3. АТФ-синтаза и две транслоказы связаны между собой и могут быть выделены из митохондрий в виде **АТФ-синтасомы**.

Белок термогенин разобщает дыхание и фосфорилирование в митохондриях бурого жира, что приводит к генерации тепла



Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования

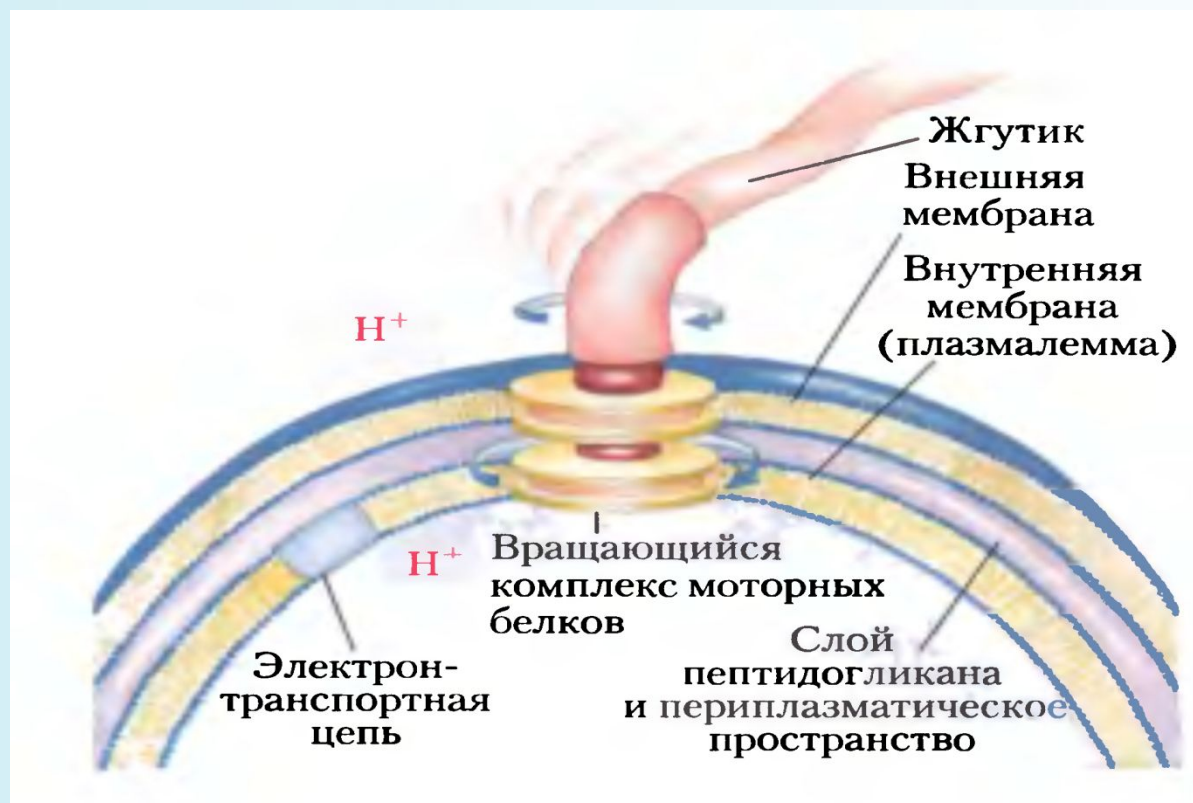
1. На разобщении дыхания и фосфорилирования основана терморегуляторная функция тканевого дыхания. Тканевое дыхание, протекающее в митохондриях и не сопровождающееся образованием макроэргов, называют **свободным** или **нефосфорилирующим окислением**.
2. Природным разобщающим агентом является **термогенин**, протонный канал в митохондриях бурых жировых клеток. Бурый жир обнаружен у новорожденных и животных, впадающих в зимнюю спячку, и служит для теплообразования.
 - $t^0 \downarrow \rightarrow$ норадреналин $\uparrow \rightarrow$ липаза $\uparrow \rightarrow$ свободные жирные кислоты $\uparrow \rightarrow$ β -окисление $\uparrow \rightarrow$ открытие протонного канала термогенина $\rightarrow Q \uparrow$

Сравнительная характеристика молекулярных моторов

Мотор/путь	Шаг	Max _{сила}	Max КПД	Способ движения
Миозин/актин	переменный	3-5 пН	20%	Шаги, прыжки
Кинезин/микротрубочки	Смещение на 8 нм	5 пН	50%	Шаги
α -, β -, γ -субъединицы F_1	Поворот на 120°	40 пН	100%	Вращение
РНК-полимераза/ДНК	Смещение на 0,34 нм	14 пН	20%	Ползание

Вращение бактериальных жгутиков под действием протон-движущей силы

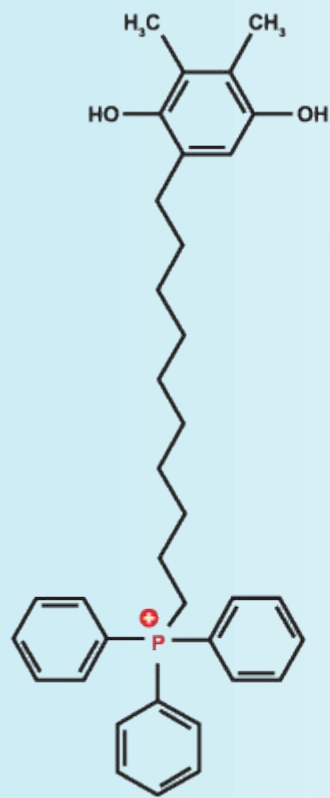
Вращательное движение жгутикам сообщает особая структура – **«протонная турбина»**. Протоны из среды поступают через «турбину» в клетку, вызывая вращение стержня жгутика.





Ίαέάθ

Структура и механизм действия митохондриально-направленного антиоксиданта SkQ1.

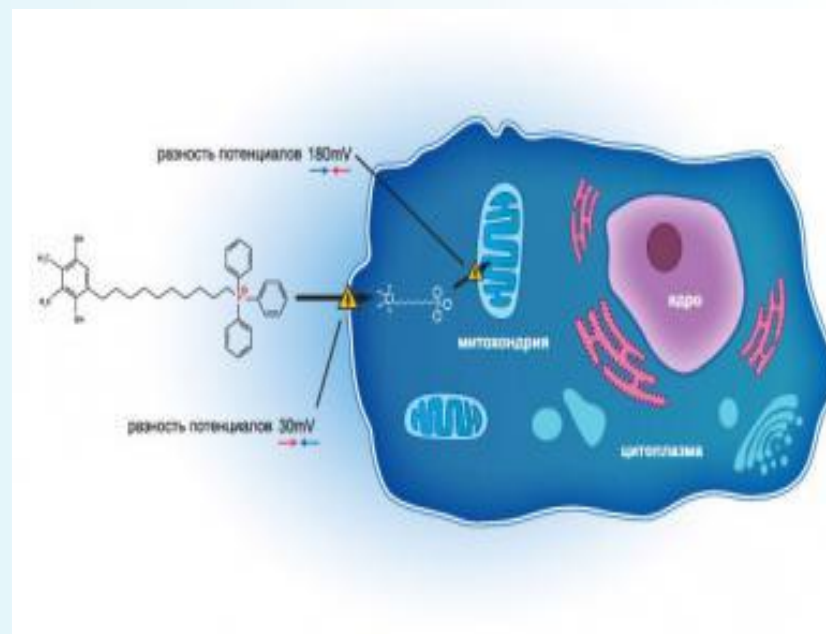


Пластохинол – мощнейший
природный антиоксидант

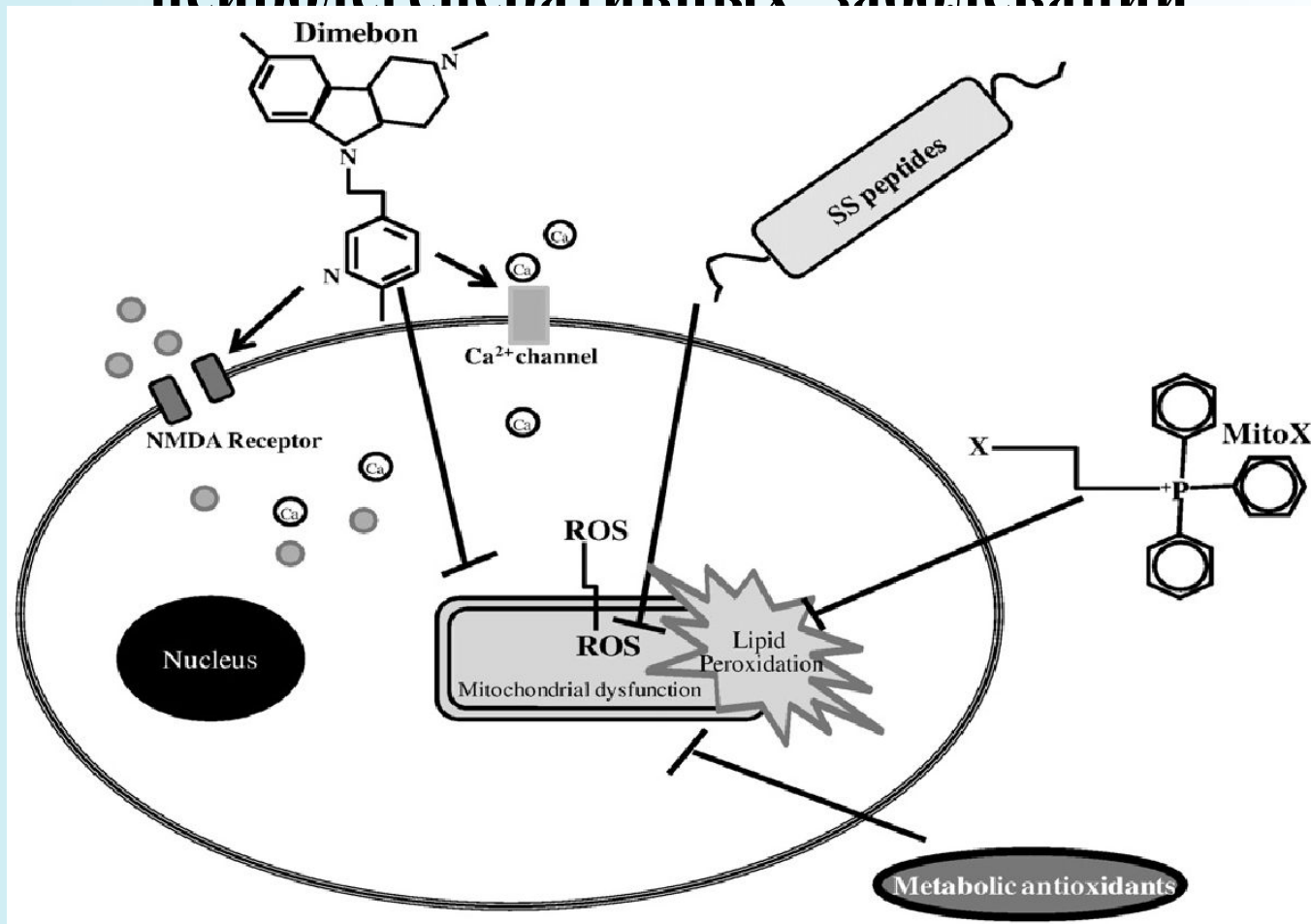
C₁₀ – линкер (декан),
позволяющий точно
расположить молекулу SkQ1 в
мембране митохондрий

«Ион Скулачева» -
трифенилфосфоний.
Положительно заряженная
группа, адресно доставляющая
все соединение в митохондрии

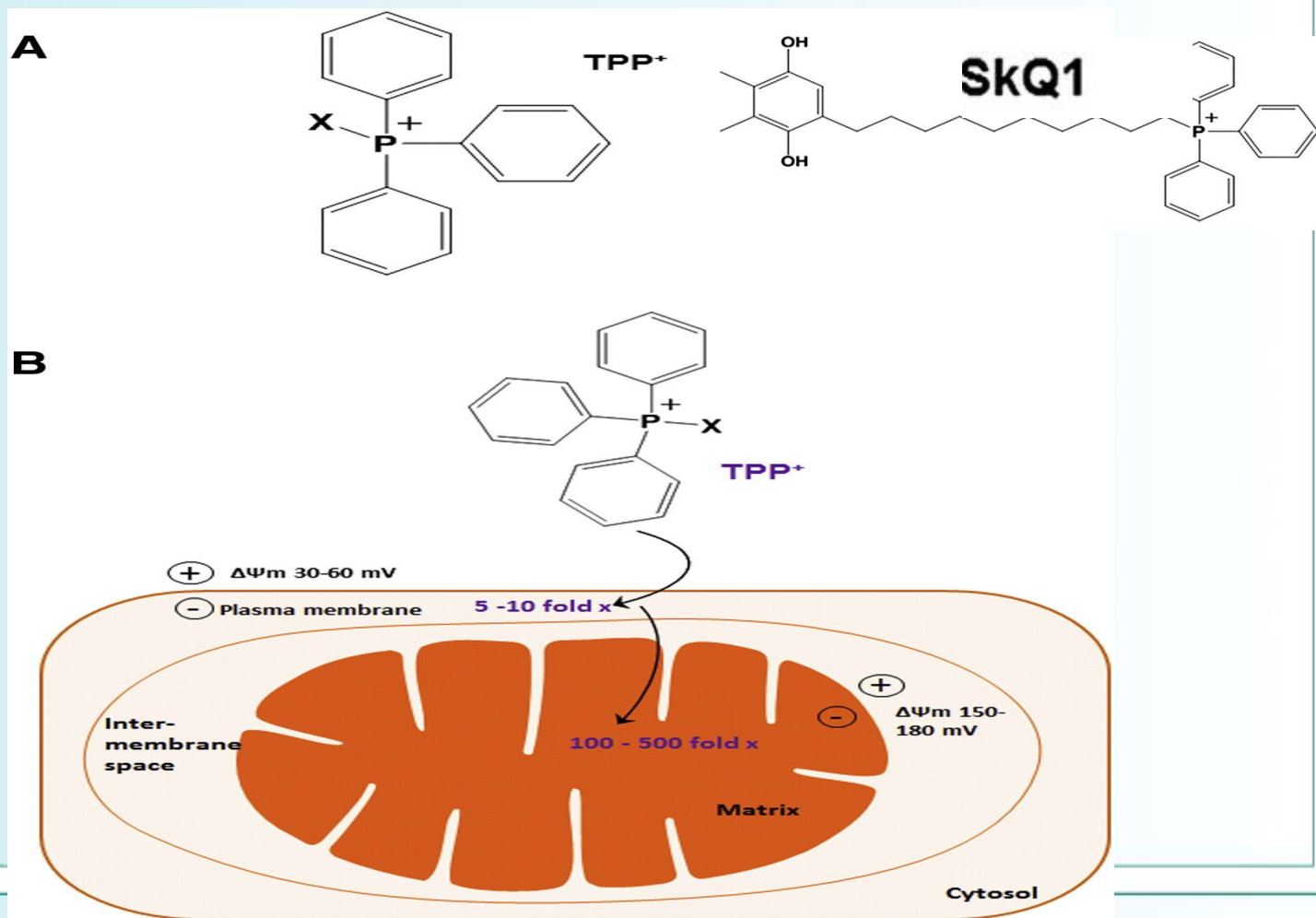
SkQ1



Митохондриально-направленная терапия нейродегенеративных заболеваний



Митохондриально-направленные антиоксиданты – новое поколение препаратов для лечения патологий, связанных с митохондриальной дисфункцией



Роль ЭТЦ митохондрий в развитии нейродегенеративных заболеваний – болезни Паркинсона (PD), бокового амиотрофического склероза (ALS), болезни Гентингтона (HD), болезни Альцгеймера (AD)

