

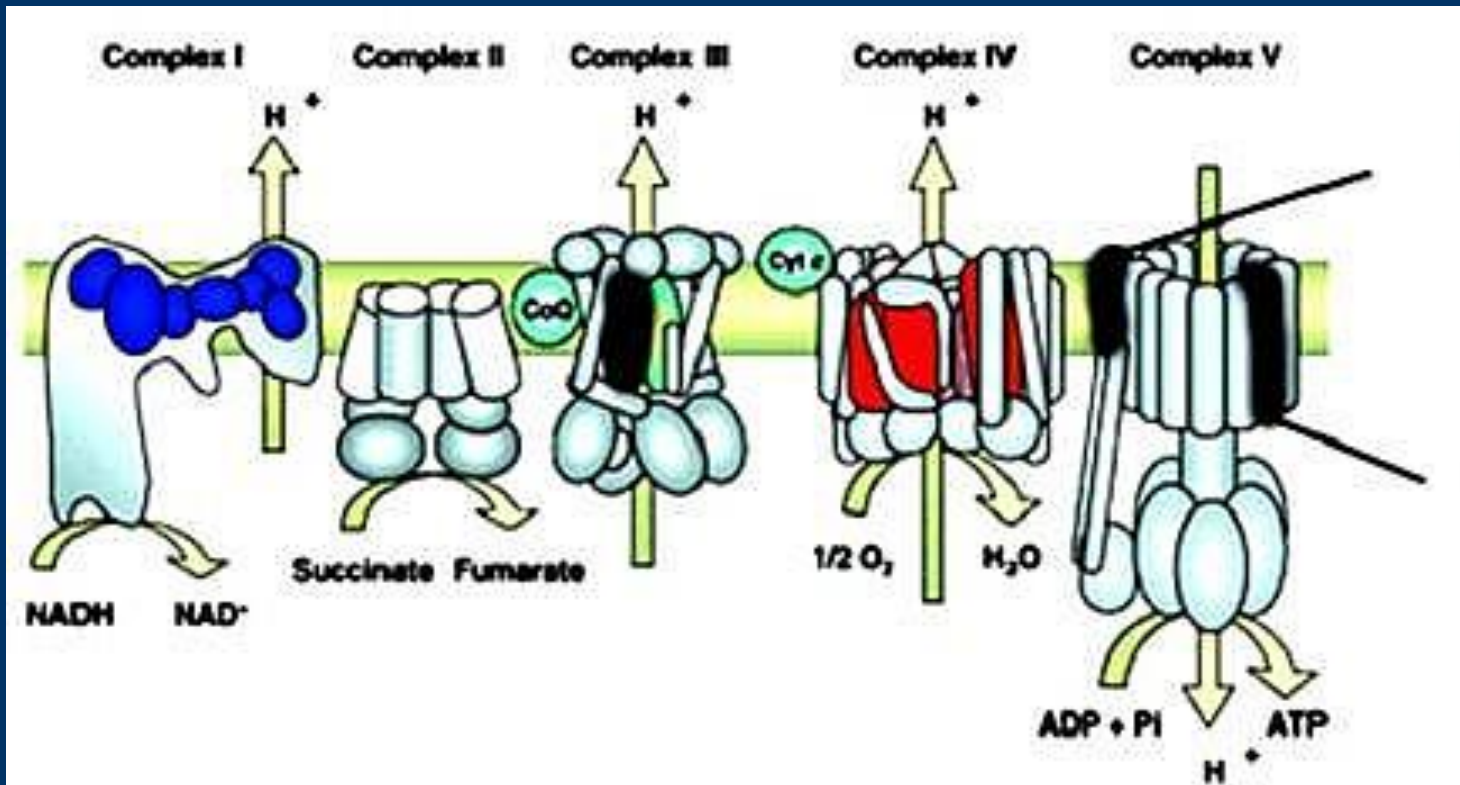
Биохимия и молекулярная биология

*Лекция **12.** Биоэнергетика. Часть **2***

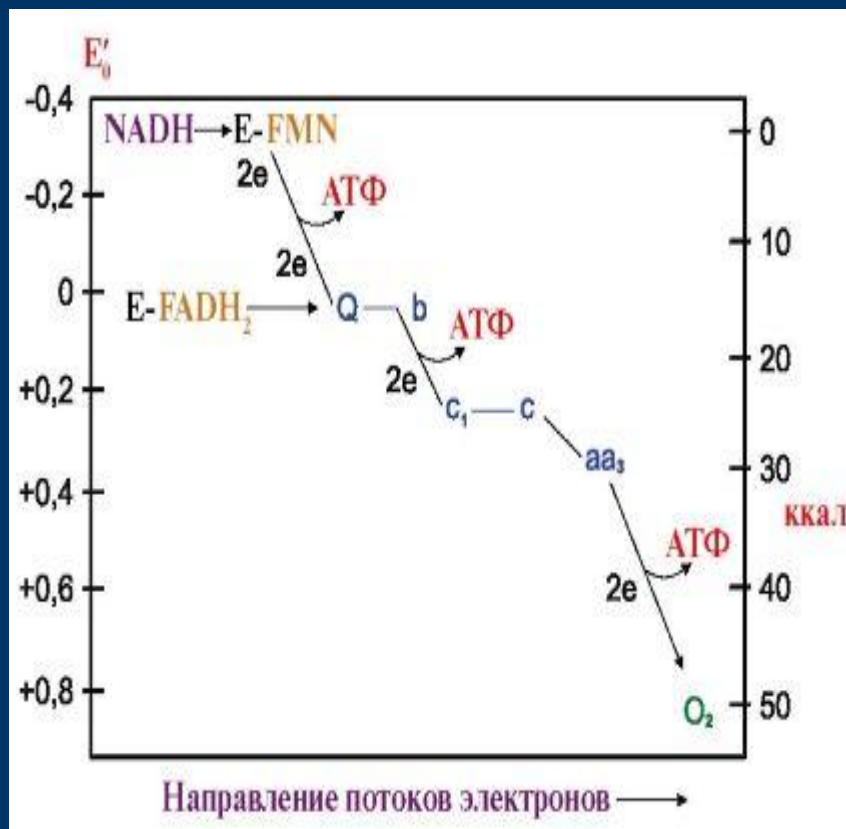
План лекции

- Окислительное фосфорилирование в дыхательной цепи
- Хемиосмотическая теория П. Митчелла.
- Мембранные транслоказы.
- Ингибиторы ЭТЦ.
- Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования.
- Челночные механизмы, обеспечивающие аэробное окисление цитозольного **NADH**.

Электронпереносящие комплексы МИТОХОНДРИЙ



Окислительно-восстановительные реакции в электронтранспортной цепи



В дыхательной цепи все реакции направлены по термодинамической лестнице от компонента с максимально отрицательным потенциалом – **NADH (-0,32 В)** к кислороду, имеющему большую положительную величину потенциала (**+ 0,82 В**).

Дыхательная цепь

Суммарная реакция, катализируемая дыхательной цепью, состоит в окислении **NADH** кислородом, приводящим к образованию H_2O . При этом постепенно (ступенчато) освобождается энергия, заключенная в высокоэнергетических электронах **NADH**.



Изменение свободной энергии при этом составляет:

$$\mathbf{\Delta G^0 = - 2 \cdot 96,5 \cdot [0,82 - (-0,32)] = - 220 \text{ кДж}}$$

Дыхательная цепь

Следовательно, при переносе одной пары электронов от **NADH** к кислороду через всю дыхательную цепь выделяется энергии, достаточной для синтеза нескольких молекул АТФ.

При физиологических условиях на синтез одной молекулы АТФ из АДФ и P_i требуется не менее **34,5** кДж/моль.



Расчет изменения ΔG° на каждом участке переноса электронов в ЭТЦ показывает, что благодаря участию промежуточных переносчиков в потоке электронов к кислороду энергия выделяется ступенчато (порциями).

В дыхательной цепи есть три участка, где высвобождающейся энергии достаточно для синтеза АТФ:

1-й участок – NADH – CoQ (комплекс I)

2-й участок – CoQH₂ – цитохром c (комплекс III)

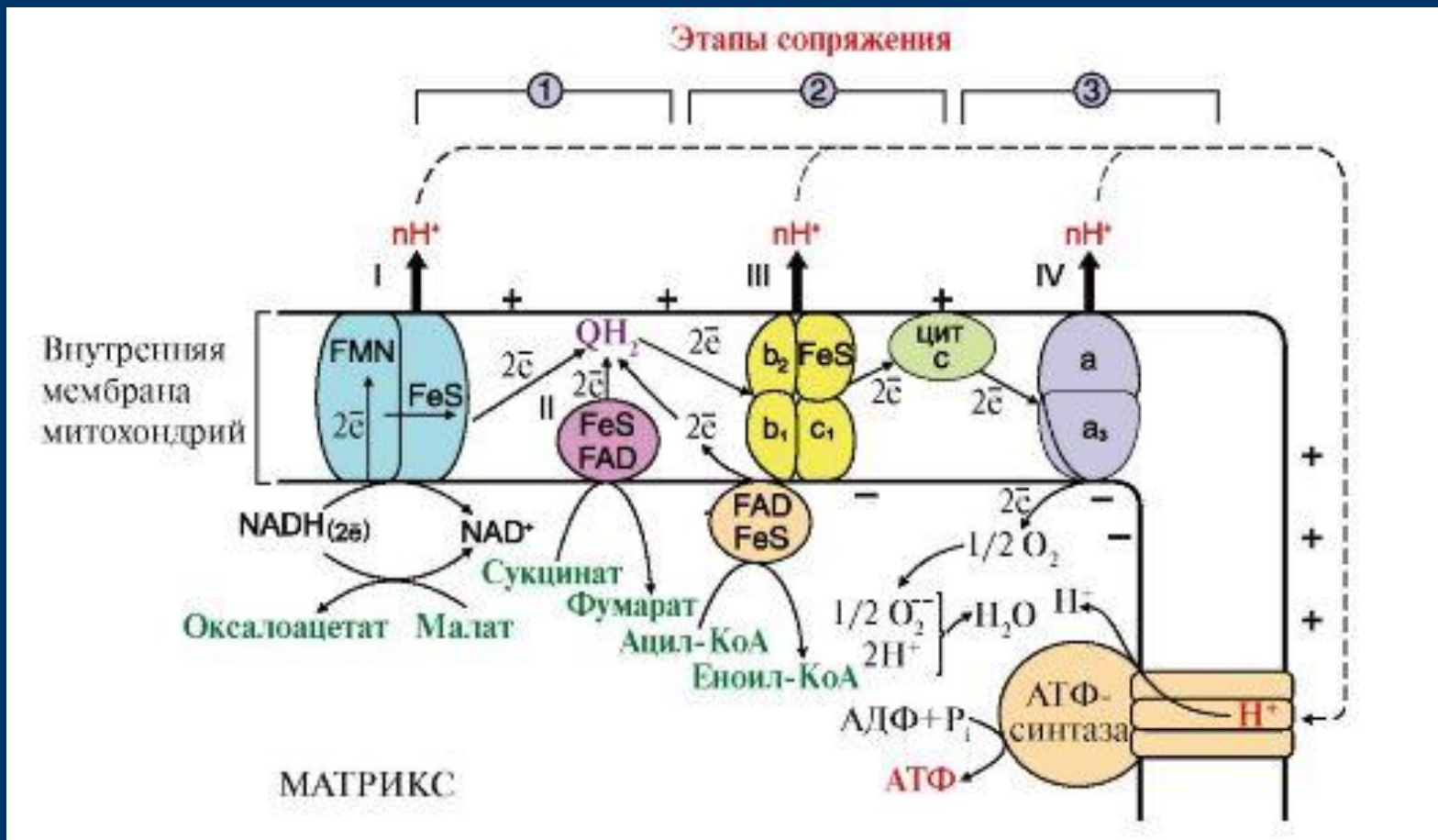
3-й участок – цитохром c – O₂ (комплекс IV).

Дыхательная цепь митохондрий

Стандартная свободная энергия, выделяемая в окислительных реакциях, катализируемых комплексами ЭТЦ

Комплекс	E° , восстановитель, В	E° , окислитель, В	ΔE° , В	ΔG° , кДж/моль
I. (NADH/Q)	- 0,32	+ 0,04	+ 0,36	- 70
II. (сукцинат/Q)	+ 0,03	+ 0,04	+ 0,01	- 2
III. (QH₂/цитохром c)	+ 0,04	+ 0,23	+0,19	-37
IV. (цитохром c/O₂)	+ 0,23	+ 0,82	+ 0,59	-110

Сопряжение окисления и синтеза АТФ в митохондриях



Коэффициент P/O

Коэффициентом окислительного фосфорилирования (P/O) называют отношение количества фосфорной кислоты (P), использованной на фосфорилирование **ADP**, к атому кислорода (O), поглощённого в процессе дыхания. Для субстратов, окисляемых **NAD**-зависимыми дегидрогеназами **P/O = 3** (образуется **3** молекулы АТФ). Для субстратов, окисляемых **FAD**-зависимыми дегидрогеназами **P/O = 2** (образуется только **2** молекулы аТФ, т.к. электроны поступают в ЦПЭ на **CoQ**, минуя первый пункт сопряжения). Эти величины отражают теоретический максимум синтеза АТФ, фактически эта величина меньше из-за затрат на транспорт.

Окислительное фосфорилирование

Окислительным фосфорилированием называют синтез АТФ из **ADP** и H_3PO_4 за счет энергии переноса электронов по ЦПЭ.

Окислительное фосфорилирование было открыто в **1931** году В. А. Энгельгардтом в Казани на митохондриях эритроцитов голубя. В **1940** году В.А. Белицер и Е.Т. Цыбакова показали, что синтез АТФ из АДФ и P_i происходит в митохондриях при транспорте электронов от субстрата к кислороду через цепь дыхательных ферментов.

Большой вклад в развитие концепции и механизма окислительного фосфорилирования внесли А. Ленинджер, П. Митчелл, С.Е. Северин, В.П. Скулачев, П. Бойер, Э. Рэкер и др.

Хемиосмотическая теория сопряжения окисления и фосфорилирования

Эта теория предложена в **1961** году П. Митчеллом. Значительный вклад в ее доказательство был сделан В.П. Скулачевым с соавторами.

Согласно этой теории, фактором, сопрягающим окисление с фосфорилированием, является электрохимический, протонный потенциал $\Delta\mu_{H^+}$ возникающий на внутренней мембране митохондрий в процессе транспорта электронов.

Хемиосмотическая теория

При этом предполагается, что мембрана непроницаема для ионов, особенно протонов, их транслокация с внутренней стороны мембраны (из матрикса) на наружную сторону внутренней мембраны митохондрий осуществляется за счет процесса окисления в дыхательной цепи, то есть транспорта высокоэнергетических электронов.

Возникающий электрохимический потенциал $\Delta\mu_{H^+}$ складывается из химического потенциала Δp_{H^+} и электрического со знаком (+) на наружной стороне мембраны ($\Delta\Psi$).

Создание электрохимического градиента ионов H^+
(протонного потенциала)

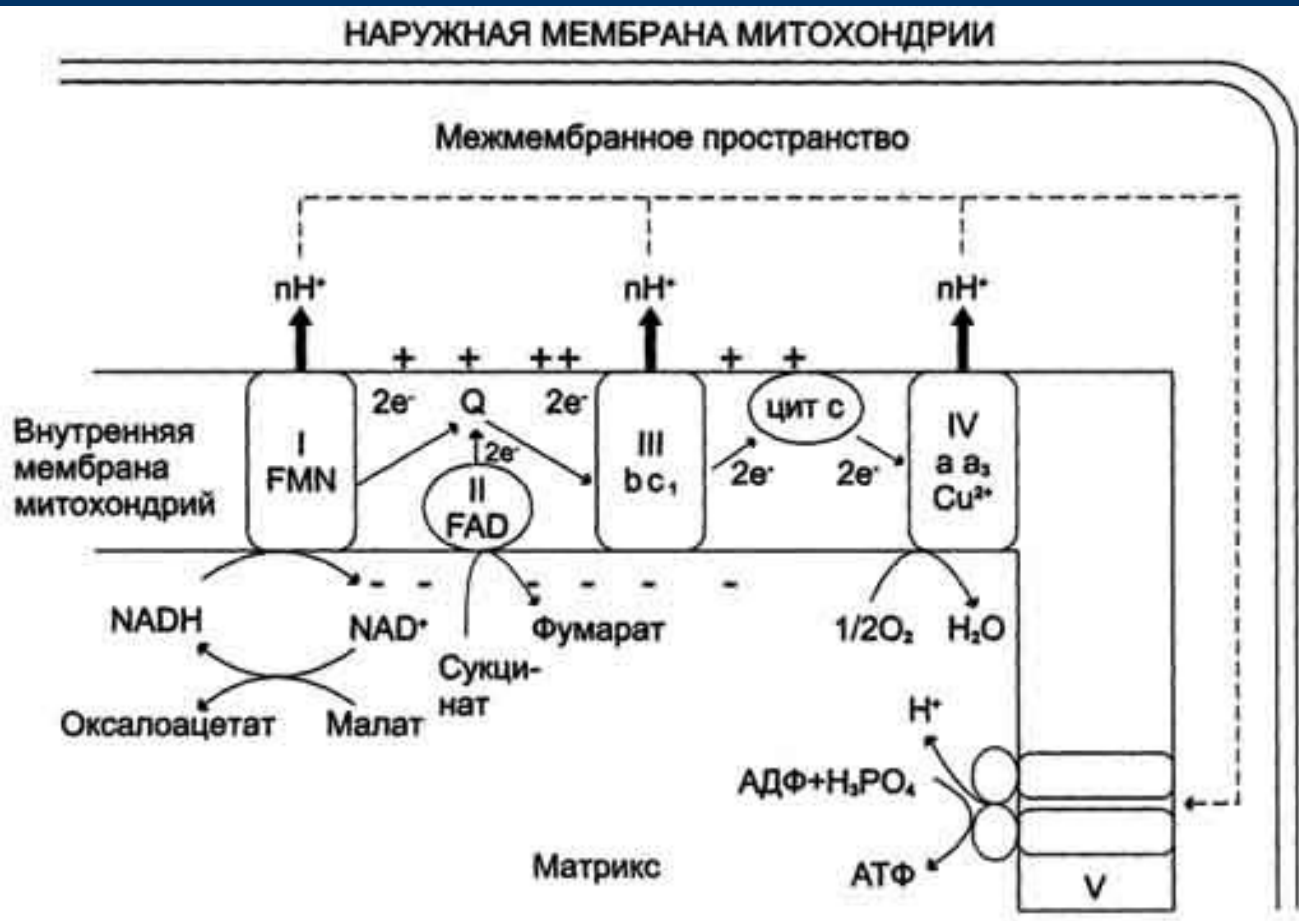
$$\Delta\mu_{H^+} = \Delta p_{H^+} + \Delta\psi$$

Δp_{H^+} - разность концентраций H^+ по обе стороны внутренней мембраны митохондрий

$\Delta\psi$ – разность электрических потенциалов

Созданный в ЭТЦ электрохимический потенциал используется на: **40-45%** для фосфорилирования; на **25%** для транспорта веществ через мембрану и на **30-35%** для теплопродукции.

Создание протонного градиента комплексами I, III и IV



I, III и IV комплексы ЦПЭ называют *пунктами сопряжения дыхания и фосфорилирования*, так как они создают электрохимический потенциал, необходимый для фосфорилирования.

Окислительно-восстановительные реакции
в электронтранспортной цепи

Комплекс I.



Комплекс II.



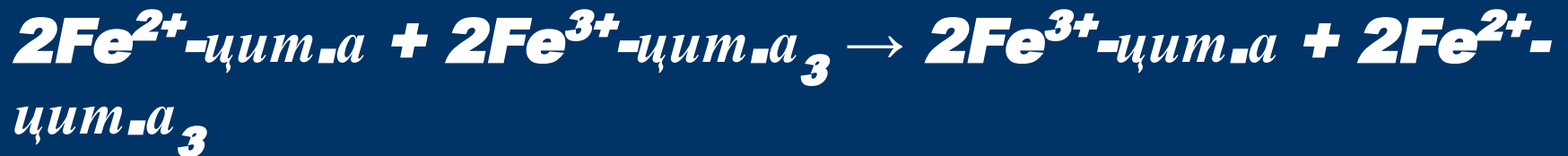
Окислительно-восстановительные реакции
в электронтранспортной цепи

Комплекс III.

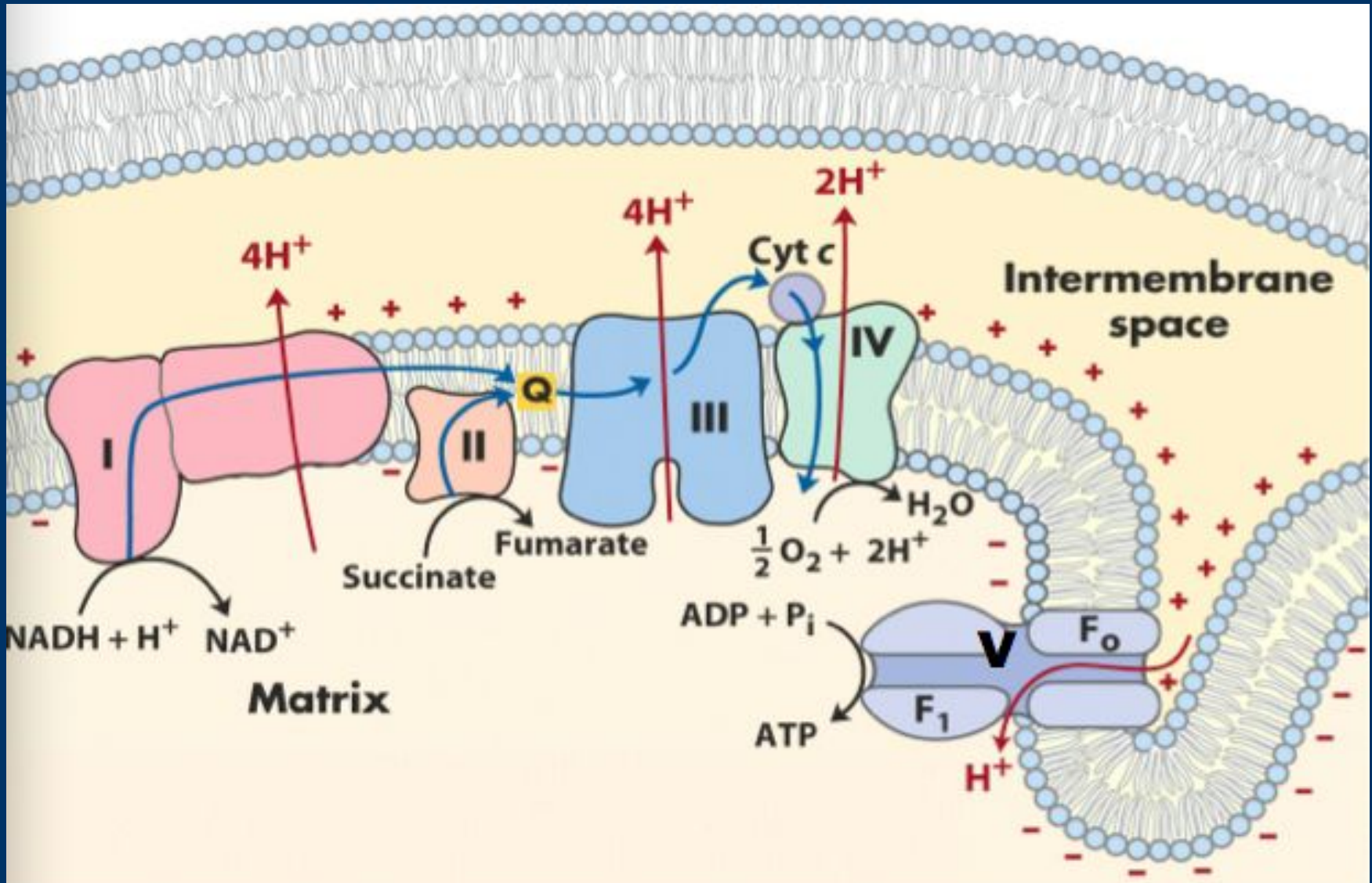


Окислительно-восстановительные реакции
в электронтранспортной цепи

Комплекс IV.



Хемиосмотическая теория



Синтез АТФ

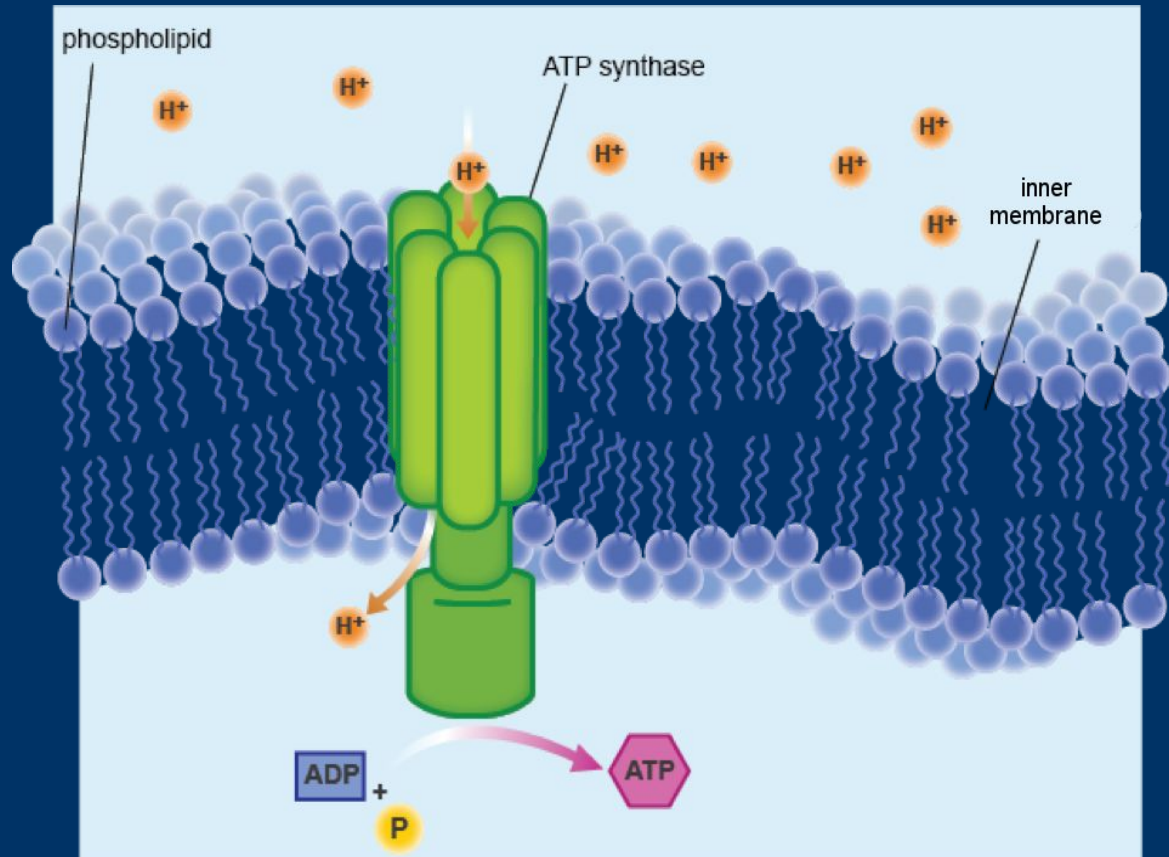
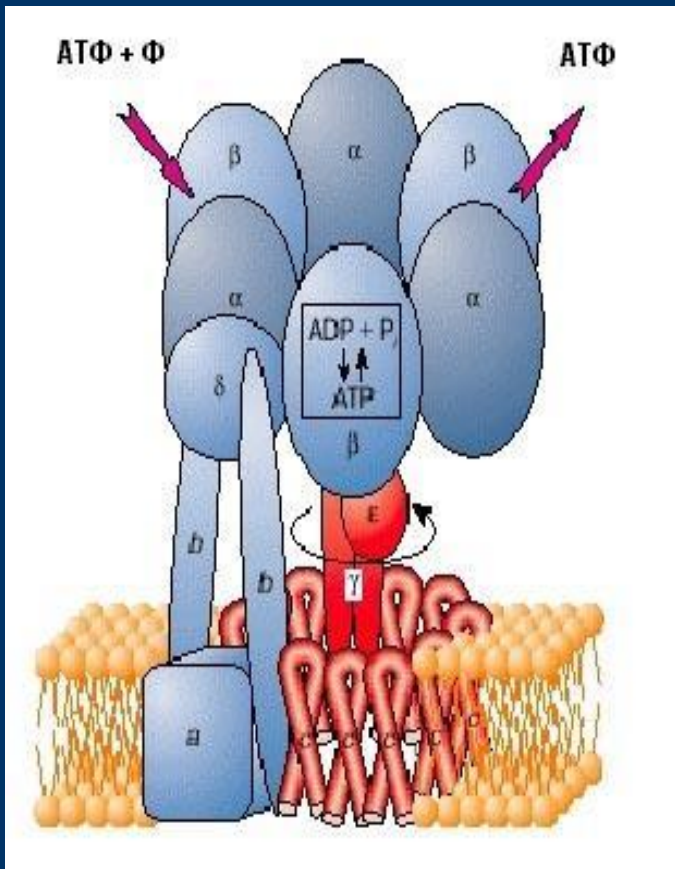
Градиент протонов, создающий разность химических и электрических потенциалов, является источником энергии, необходимой для реакции:



$$\Delta G^{\circ} = +34,5 \text{ кДж/моль}$$

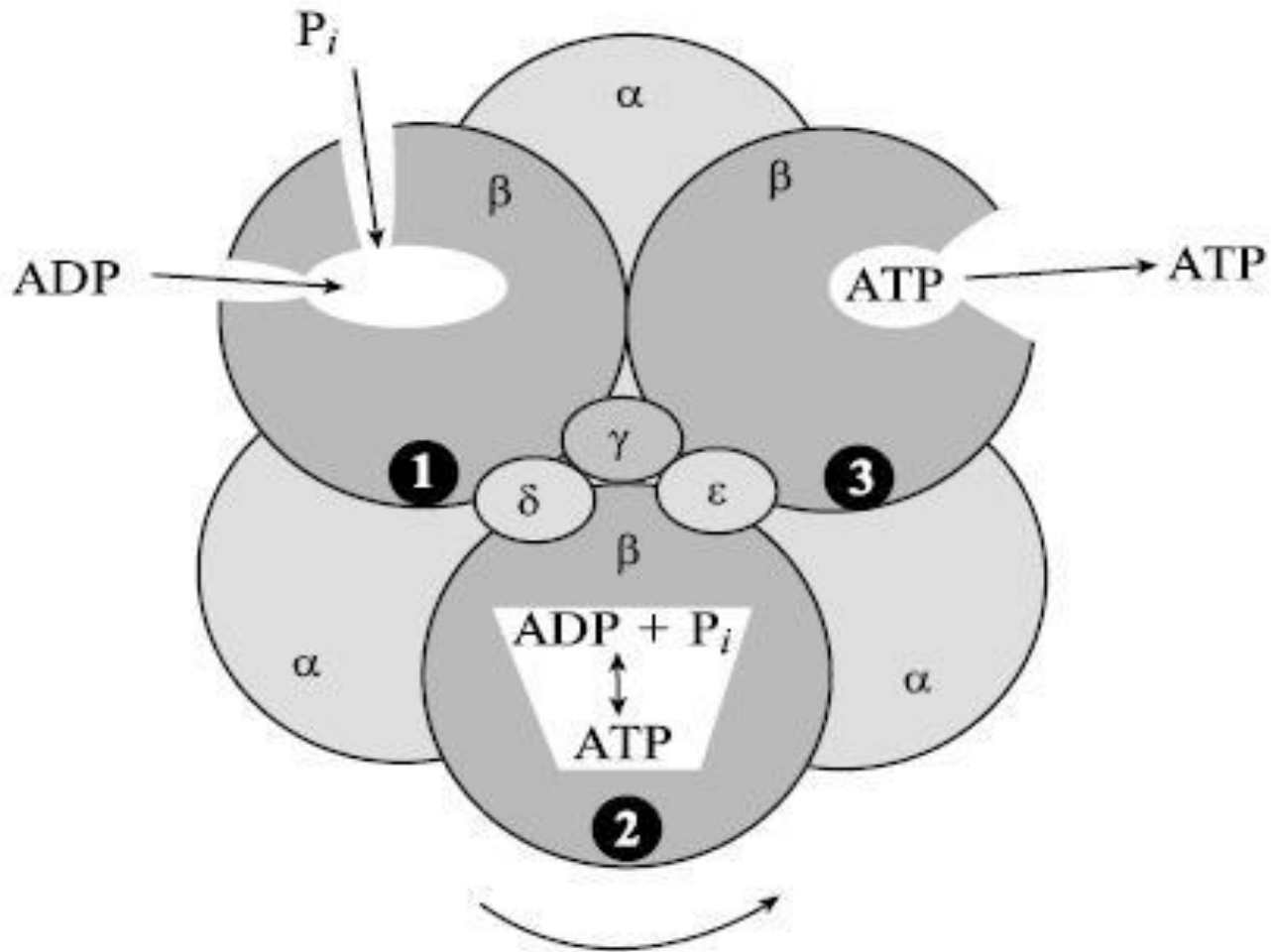
Процесс фосфорилирования катализируется H^+ -зависимым АТФ-азным комплексом - H^+ -АТФ-синтазой.

АТФ-синтаза



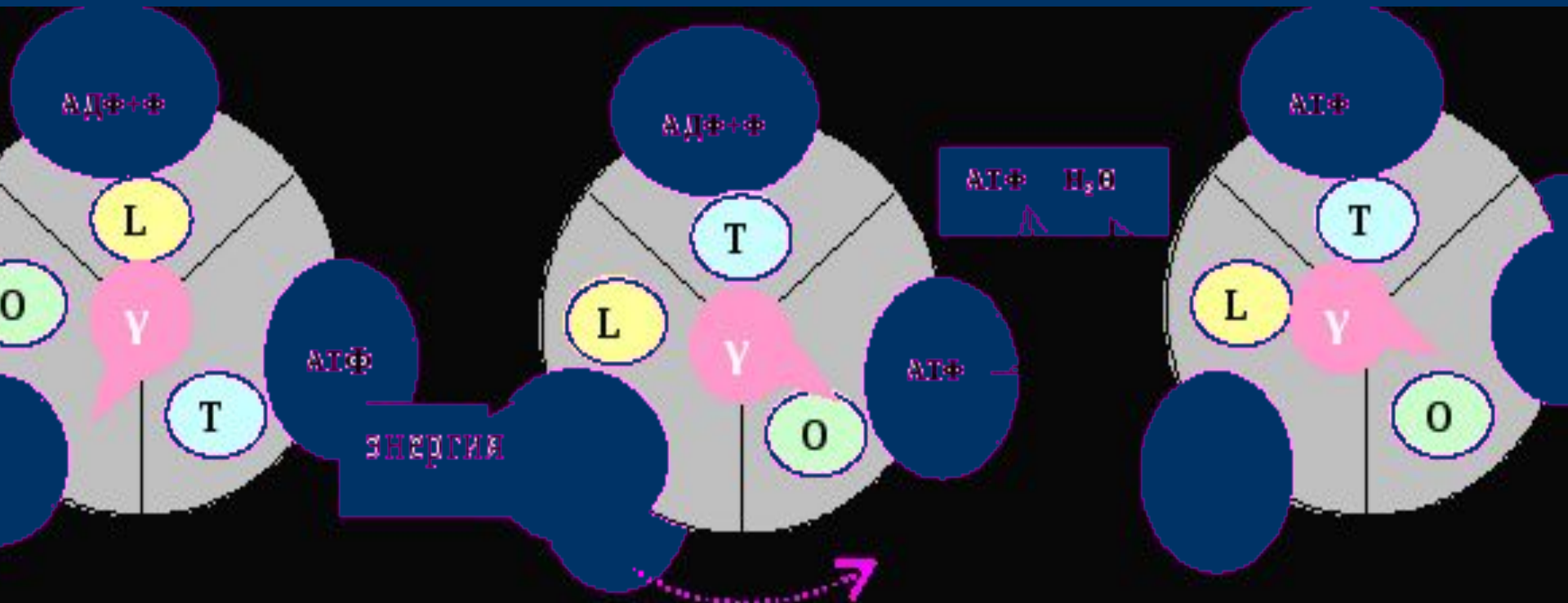
Хемиосмотическая теория

Синтез АТФ

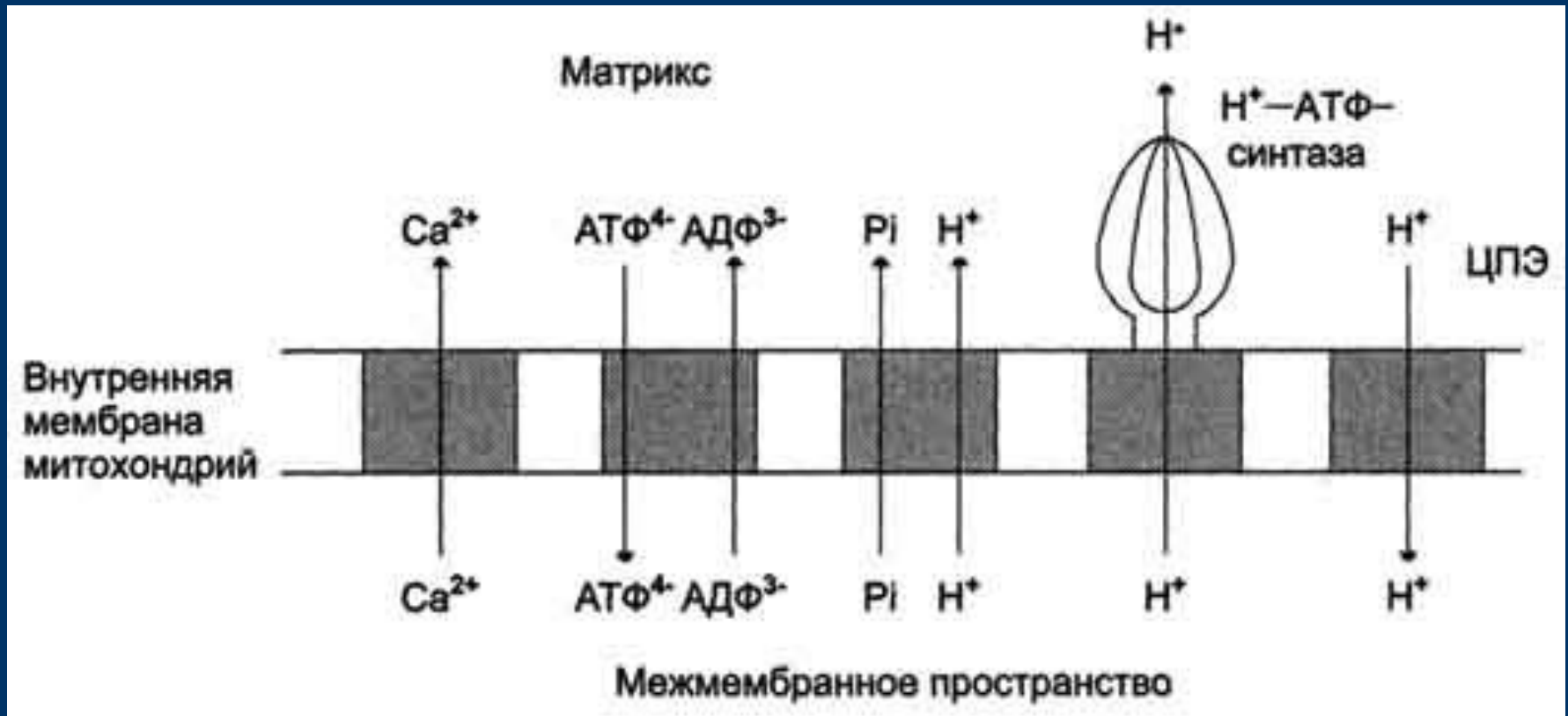


Хемиосмотическая теория

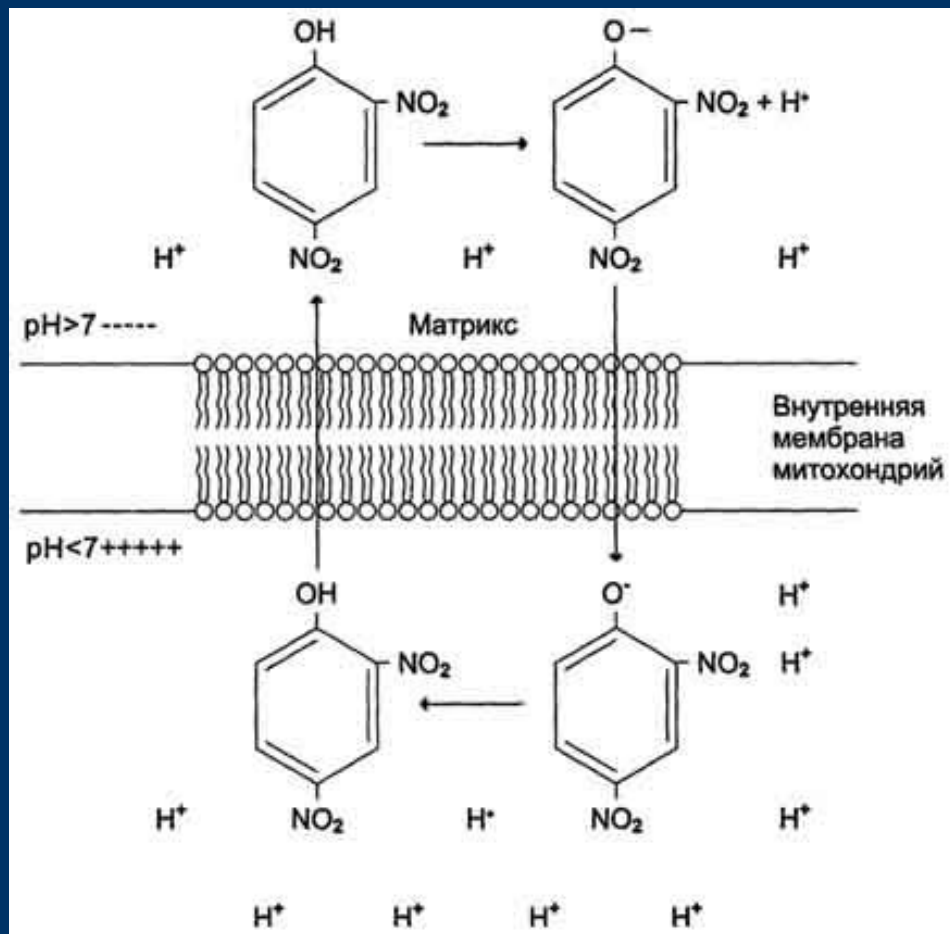
Синтез АТФ



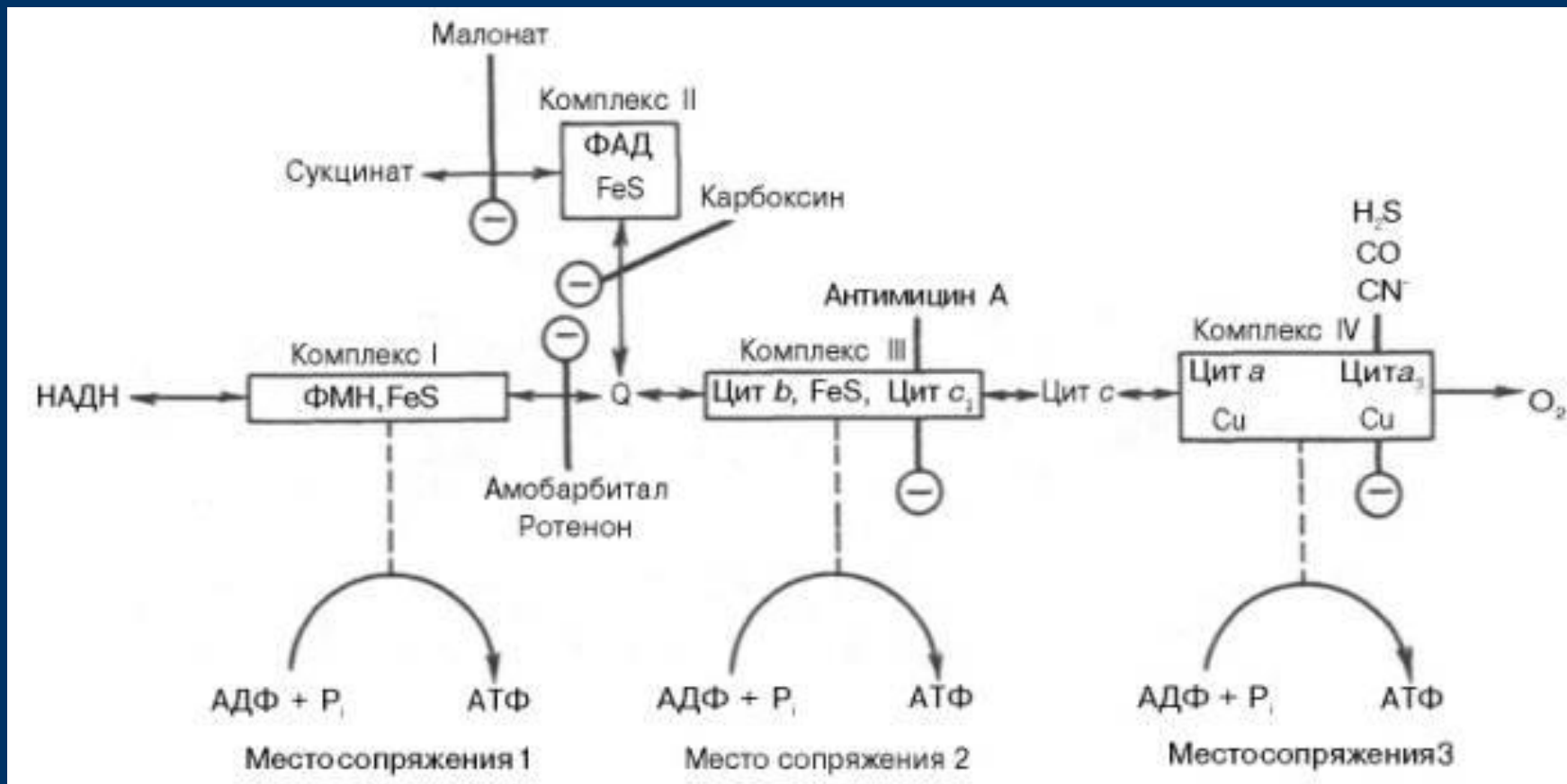
Трансмембранный перенос веществ в МИТОХОНДРИЯХ



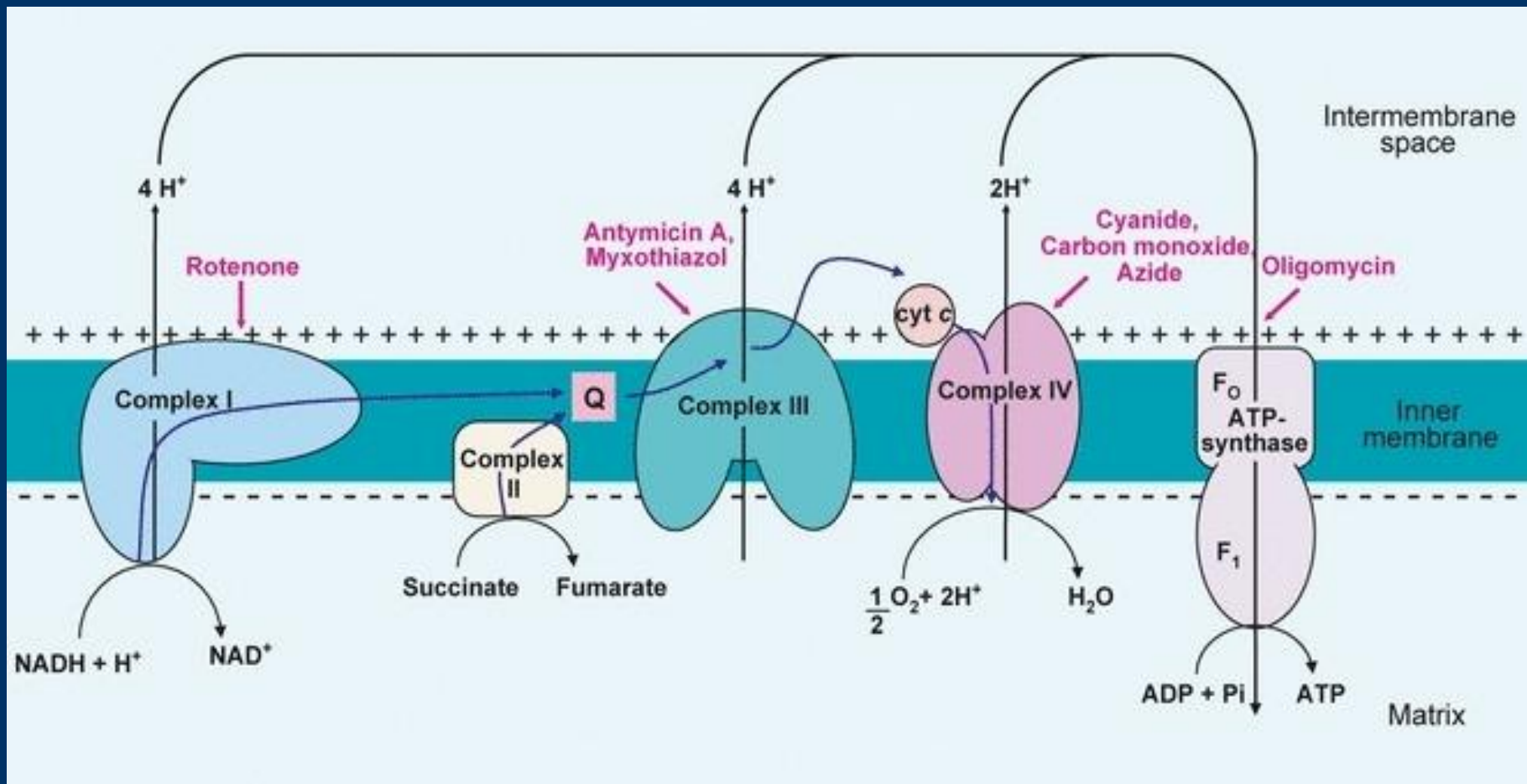
Разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования



Ингибиторы ЭТЦ



Ингибиторы ЭТЦ

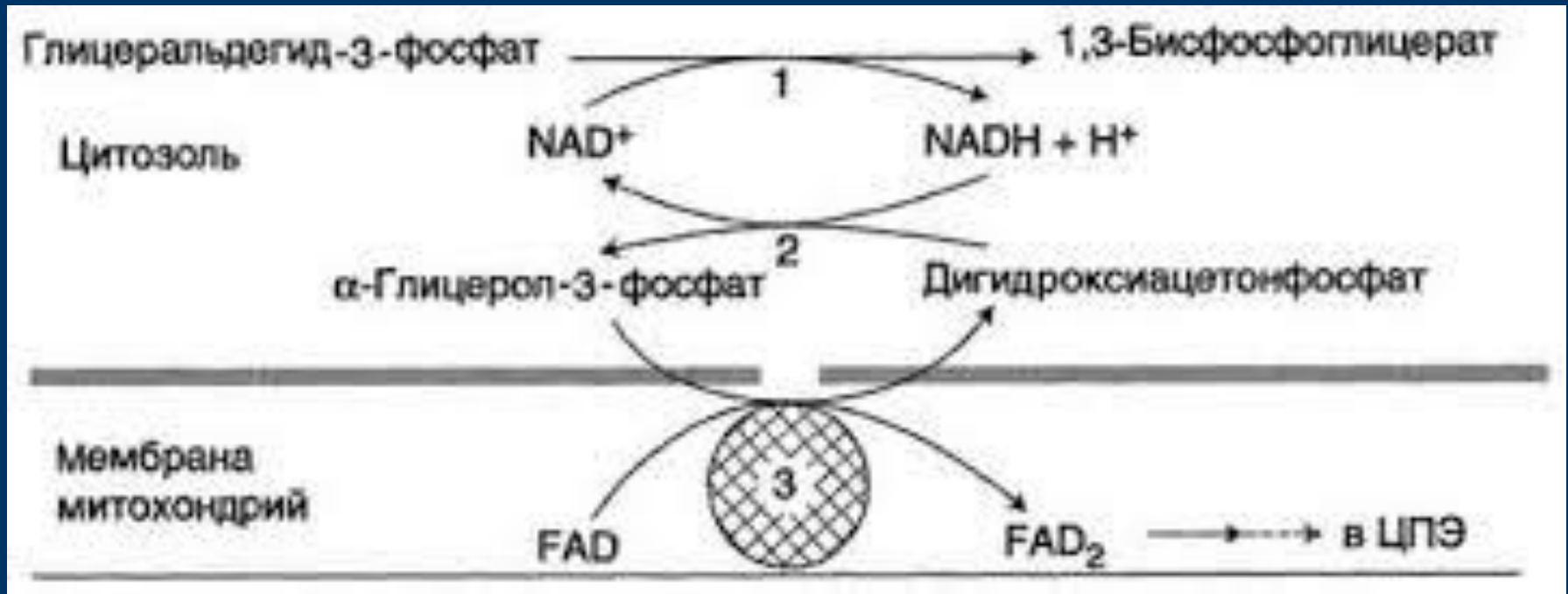


Биологическое окисление

Внемитохондриальные источники восстановительных эквивалентов



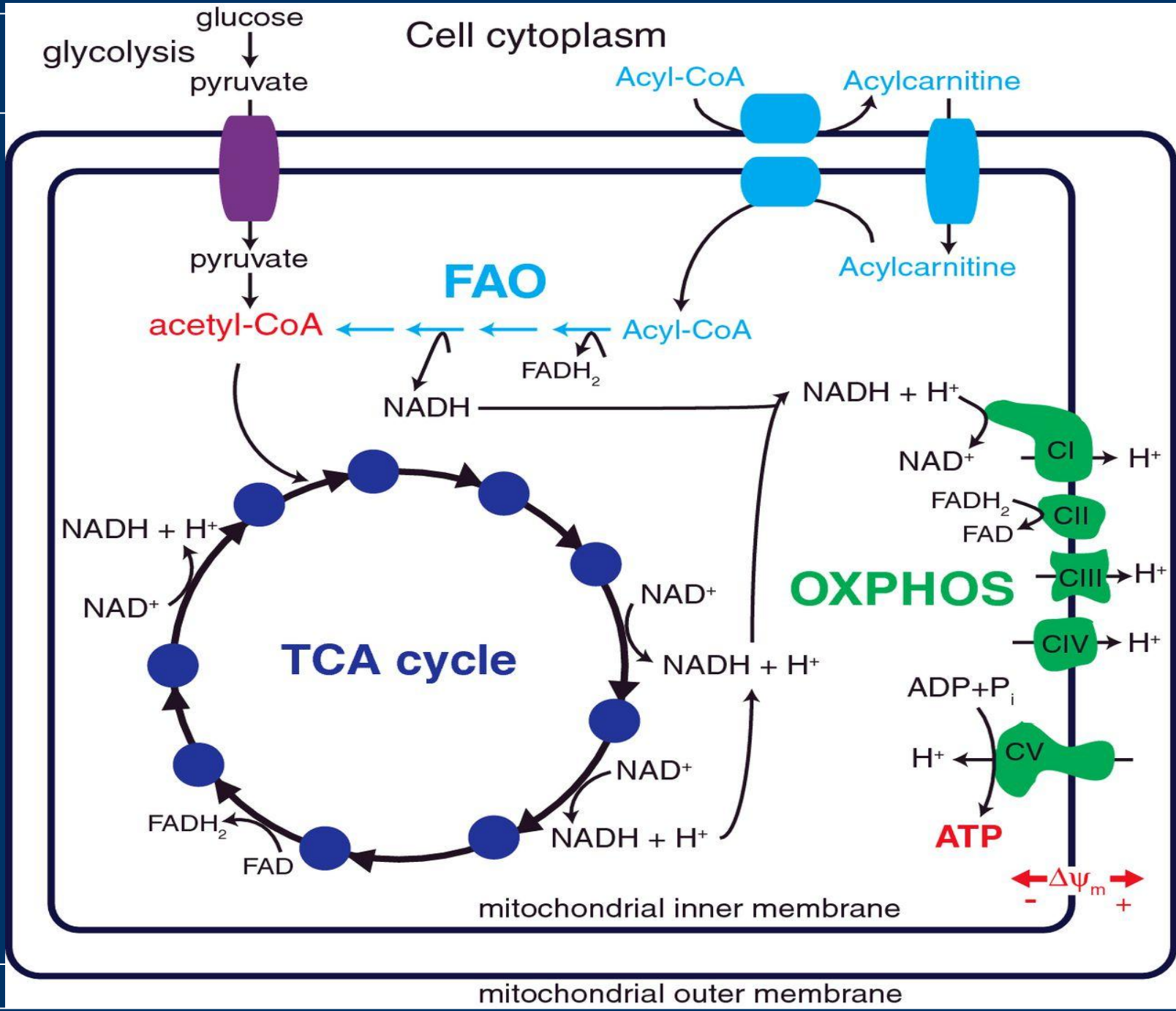
Глицерофосфатный челночный механизм, обеспечивающий окисление цитозольного **NADH**



- 1** – глицеральдегид-**3**-фосфатдегидрогеназа;
- 2** – глицерол-**3**-фосфатдегидрогеназа (**NADH**-зависимая);
- 3** – глицерол-**3**-фосфатдегидрогеназа (**FAD**-зависимая)

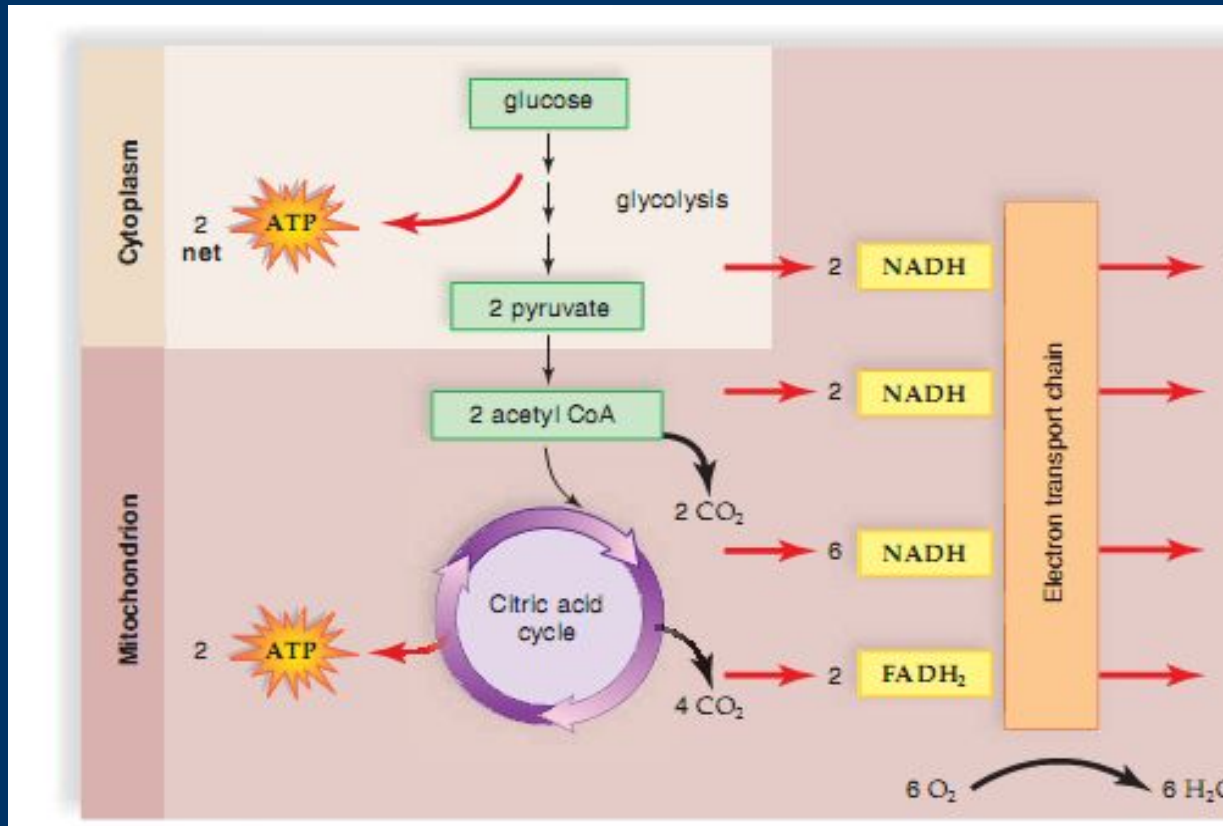
Малат-аспартатный челнок, обеспечивающий окисление цитозольного **NADH**





Биологическое окисление

Вклад субстратного и окислительного фосфорилирования в образование АТФ при аэробном окислении глюкозы



6 АТФ
6 АТФ
18 АТФ
4 АТФ

Всего **38** АТФ: **34** АТФ – ЭТЦ, **4** АТФ – субстратное фосфорилирование)

Энергетический баланс аэробного окисления глюкозы

Аэробное окисление глюкозы до **CO₂** и **H₂O** сопровождается образованием **30**, либо **32** молекул АТФ.

Гликолиз – **2 АТФ**; **2 NADH (2,5 x 2 = 5 АТФ)**;

ОДП – **2 NADH (2,5 x 2 = 5 АТФ)**;

ЦТК - **6 NADH (2,5 x 6 = 15 АТФ)**;

2 FADH₂ – (1,5 x 2 = 3 АТФ); **2 GTP (2 АТФ)**.

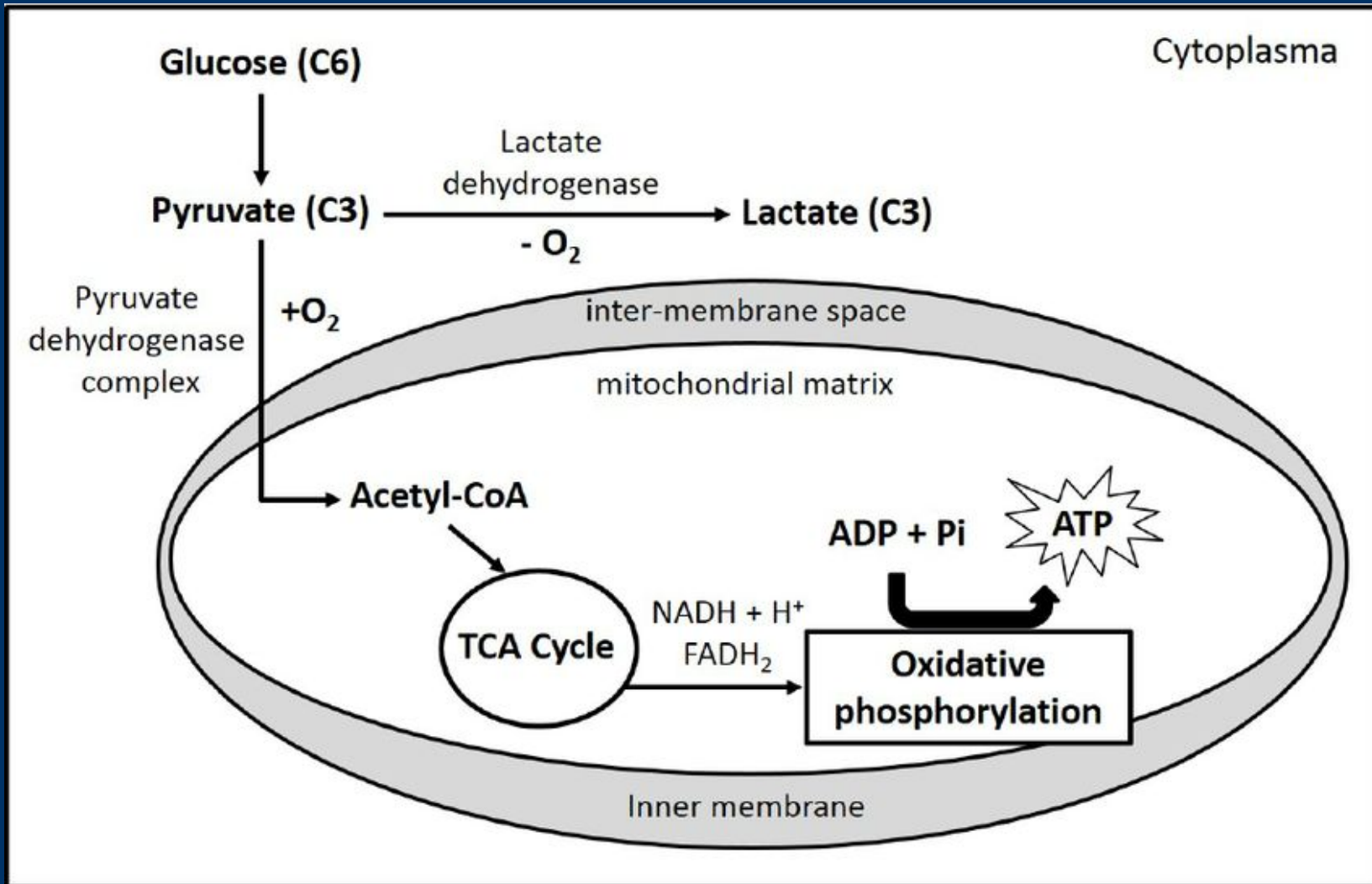
32 молекулы АТФ (цитоплазм. **NADH** окисляется при участии малат-аспаратного челнока;

30 молекул АТФ (глицеролфосфатный челнок)

Общее уравнение дыхания, баланс АТФ

Стадия	Выход кофермента	Выход АТФ (GTP)	Способ получения АТФ
Первая фаза гликолиза		-2	Фосфорилирование глюкозы и фруктозо- 6 -фосфата с использованием 2 АТФ из цитоплазмы.
Вторая фаза гликолиза		4	Субстратное фосфорилирование
	2 NADH	6 (5)	Окислительное фосфорилирование.
Декарбоксилирование пирувата	2 NADH	6 (5)	Окислительное фосфорилирование
Цикл Кребса		2	Субстратное фосфорилирование
	6 NADH	18 (15)	Окислительное фосфорилирование
	2 FADH₂	4 (3)	Окислительное фосфорилирование
Общий выход		38 (32) АТФ	При полном окислении глюкозы до углекислого газа и окислении всех образующихся коферментов.

Пути энергопродукции в клетках животных



Окислительное фосфорилирование

