

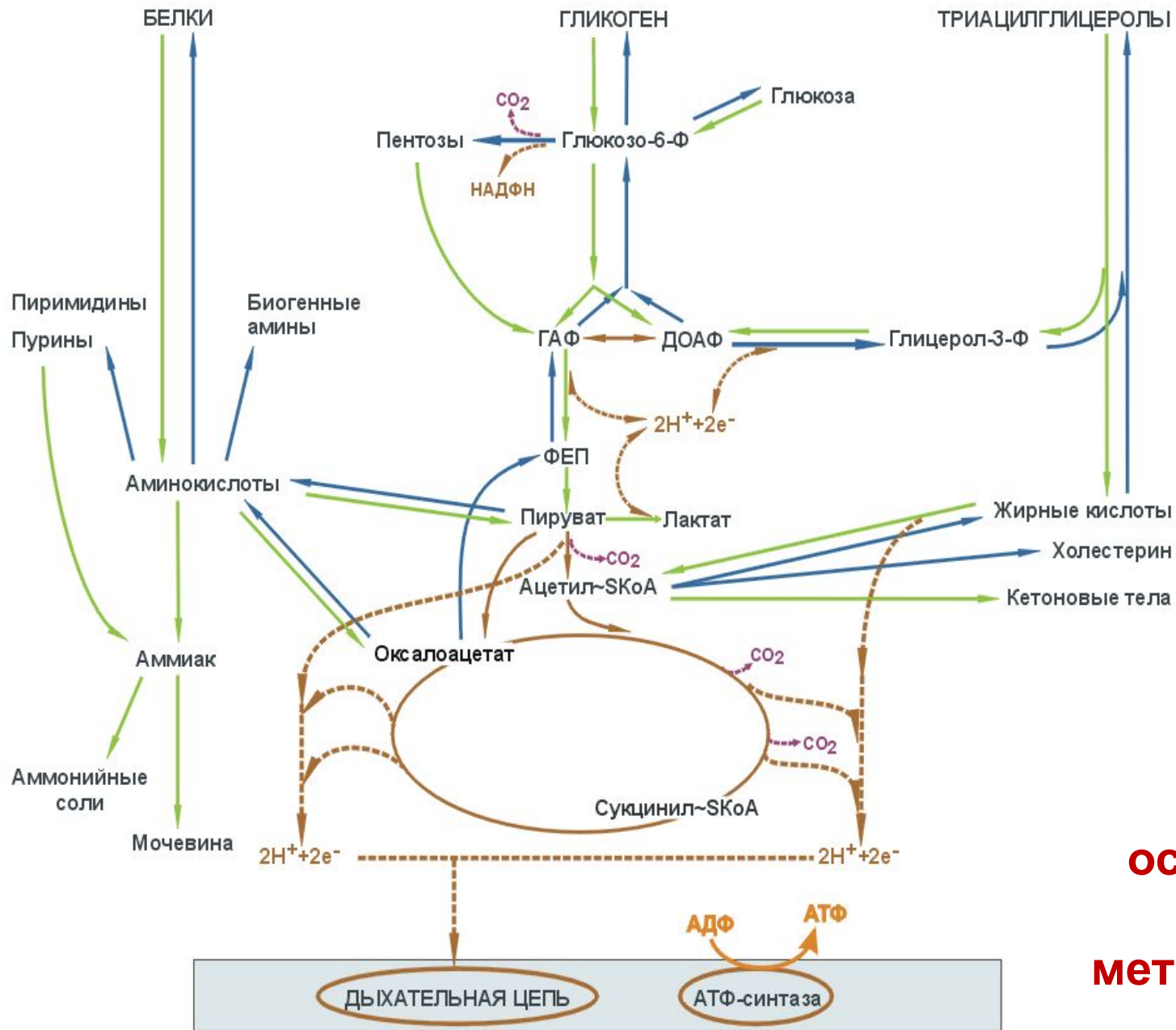
3 лекция

**Окислительное фосфорилирование.
Тканевое дыхание**

К.б.н., доцент
И.В. Андреева

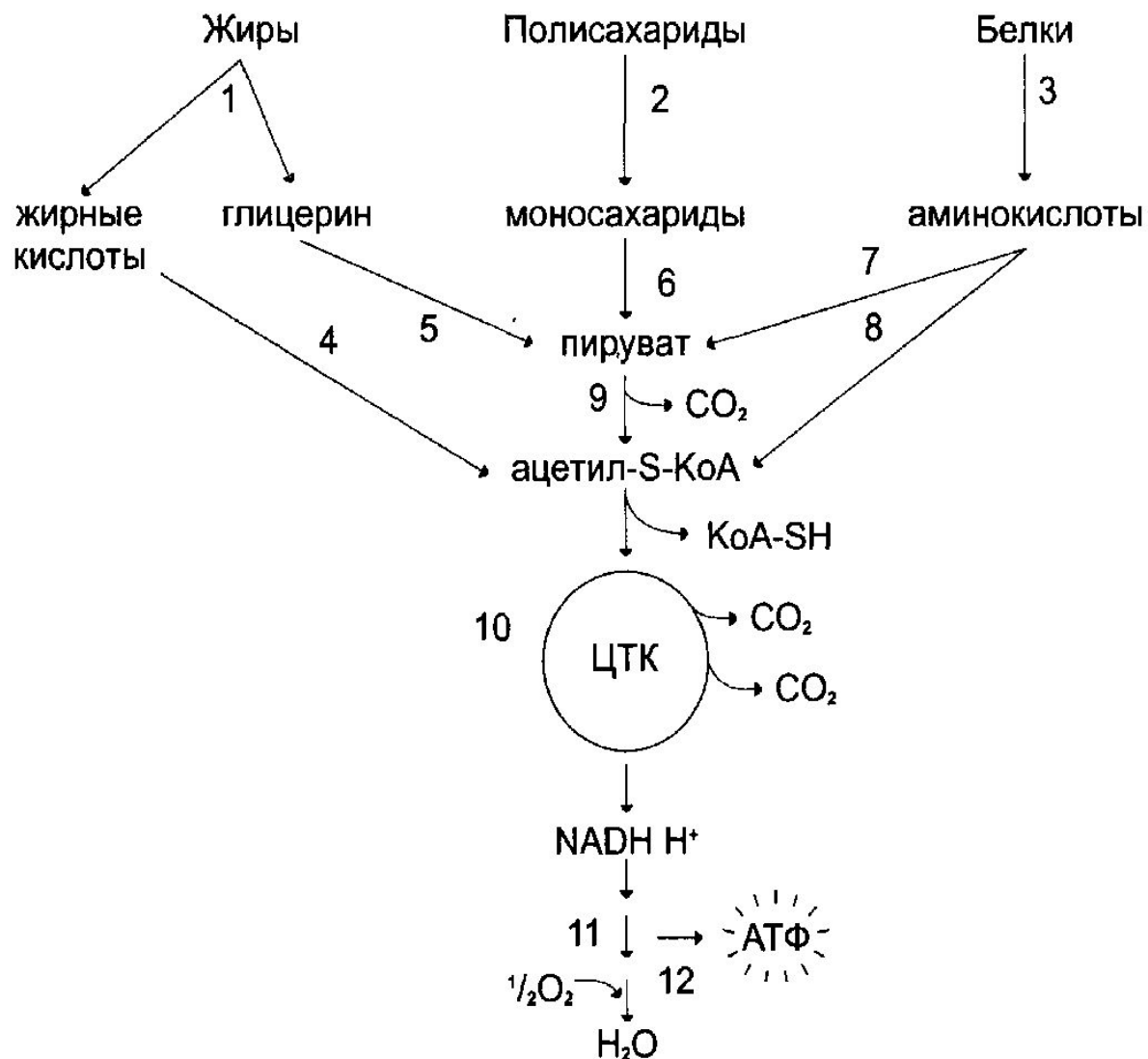


Общая
схема
катаболизма



**Карта
основных
путей
метаболизма**

Катаболизм основных пищевых веществ



1-3 пищеварение;

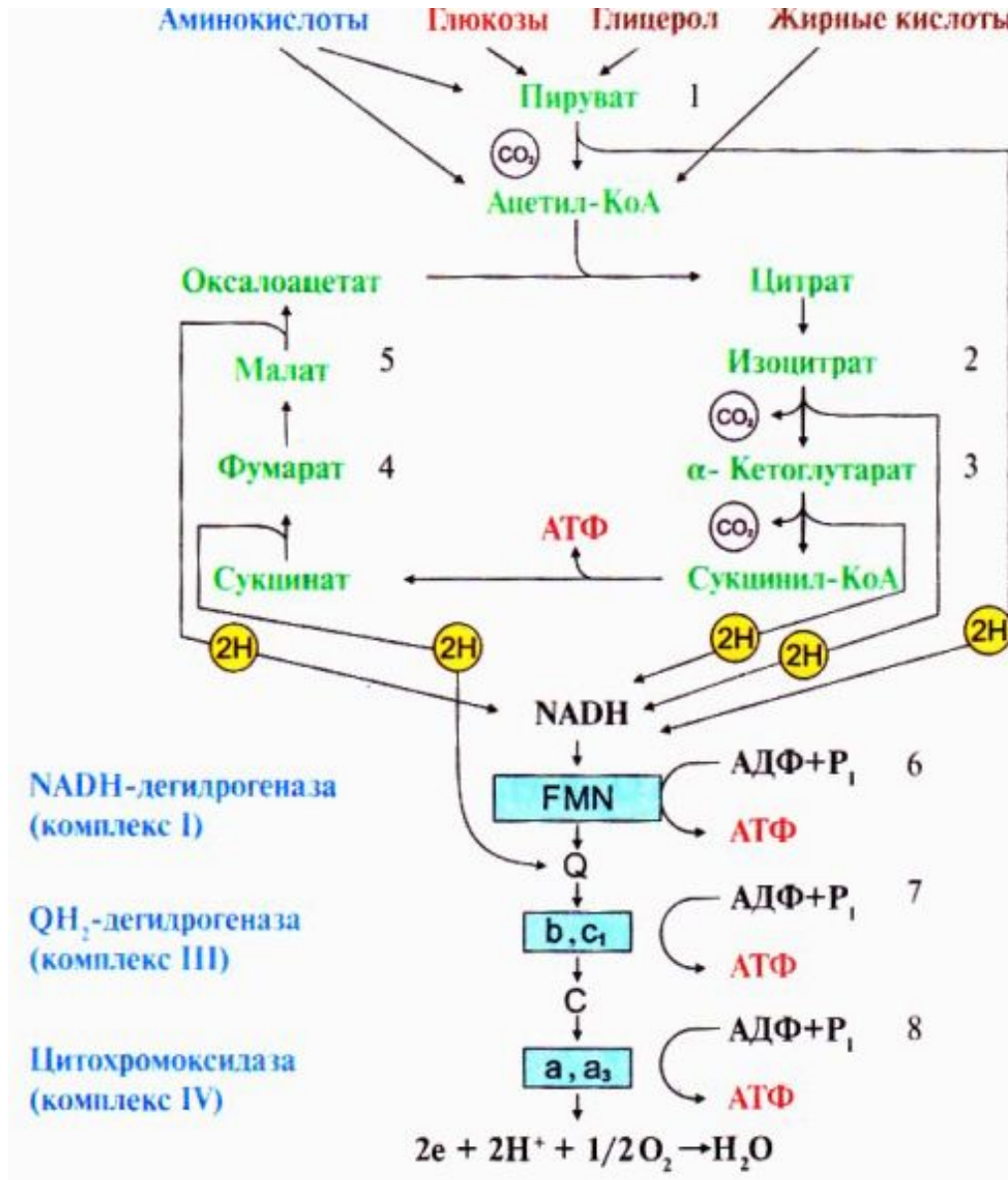
4-8 специфические
пути катаболизма;

9-10 заключительный
(общий путь)
катаболизма;

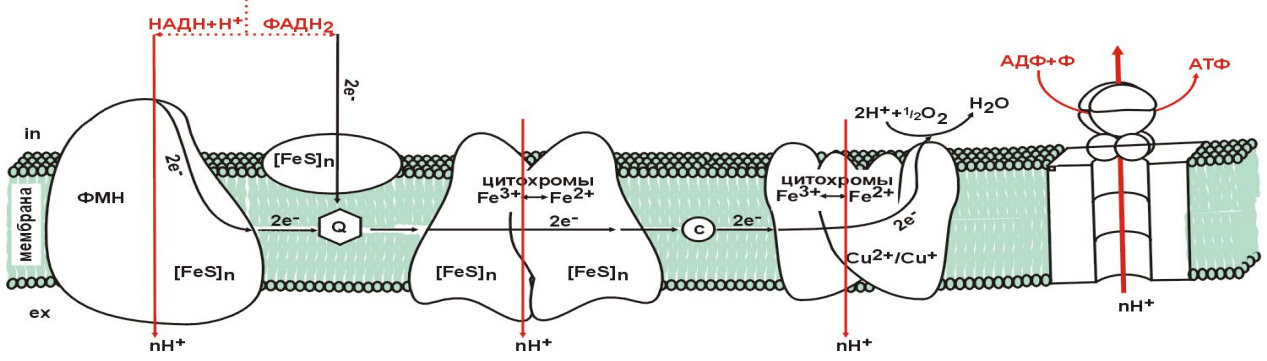
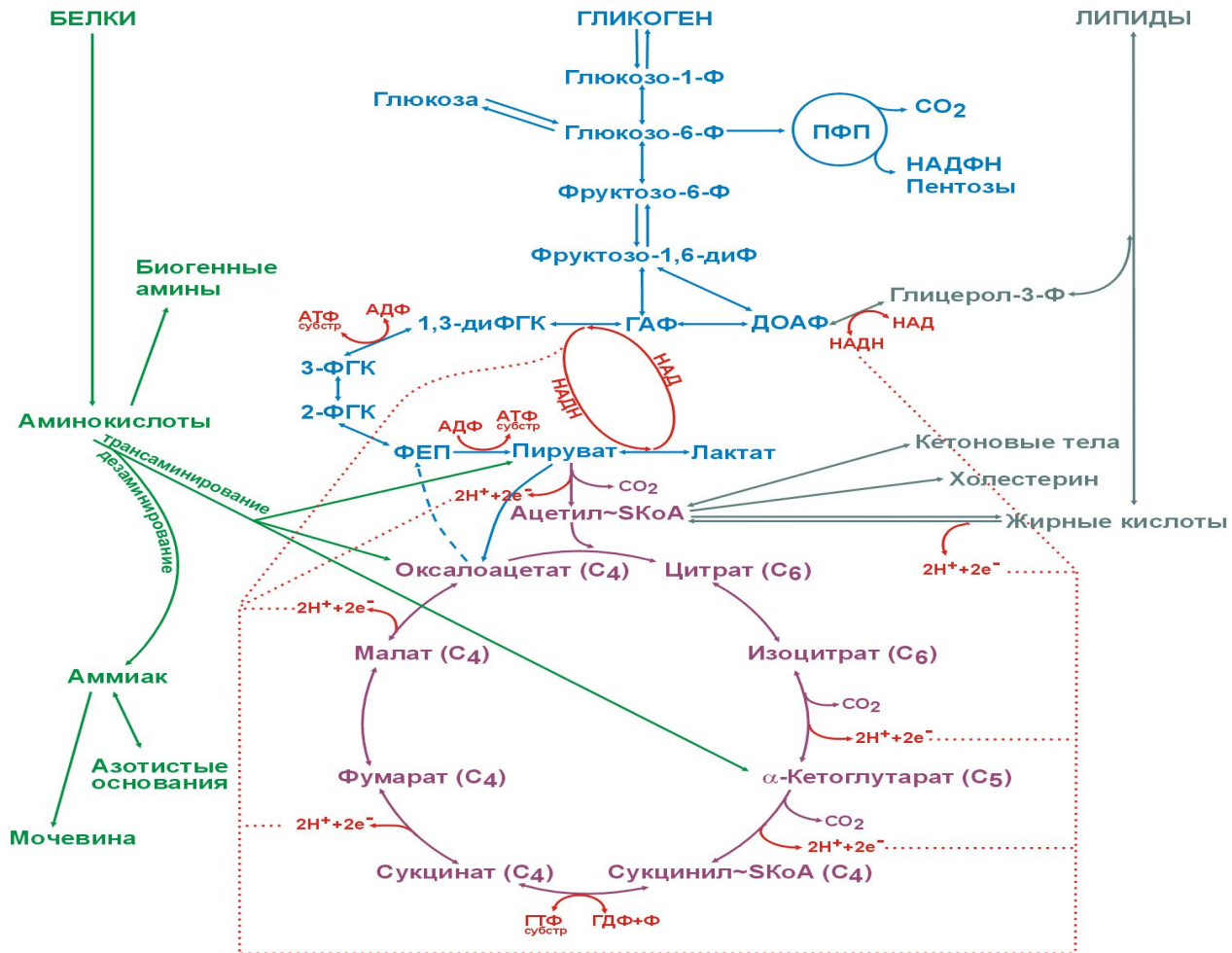
11- ЦПЭ;

12- окислительное
фосфорилирование

Связь реакций общего пути катаболизма с ЦПЭ



- 1-5 первичные доноры водорода для ЦПЭ;
- 1, 2, 3, 5 – субстраты НАД-зависимых дегидрогеназ;
- 4 – субстрат ФАД-зависимой сукцинатдегидрогеназы;
- 6,7,8, - этапы сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования



Катаболизм органических веществ в тканях сопровождается потреблением O_2 и выделением CO_2 .

Этот процесс называют *тканевым дыханием*.

Кислород в этом процессе используется как акцептор водорода от окисляемых (дегидрируемых) субстратов, в результате чего синтезируется вода.

Процесс окисления можно представить следующим уравнением:



Окисляемые различные органические вещества (S – субстраты), представляют собой метаболиты катаболизма, их *дегидрирование* является *экзоорганическим* процессом.

Энергия, высвобождаемая в ходе реакций окисления, либо полностью рассеивается в виде тепла, либо частично тратится на фосфорилирование АТФ с образованием АТФ.

Организм превращает около 40% энергии, выделяющейся при окислении, в энергию макроэргических связей АТФ.

Большинство анаэробов биоты использует этот способ или очень сходный с ним как основной источник энергии, необходимый для синтеза внутриклеточной АТФ

(объяснить: в качестве терминального акцептора водорода может быть не кислород, а другое соединение)

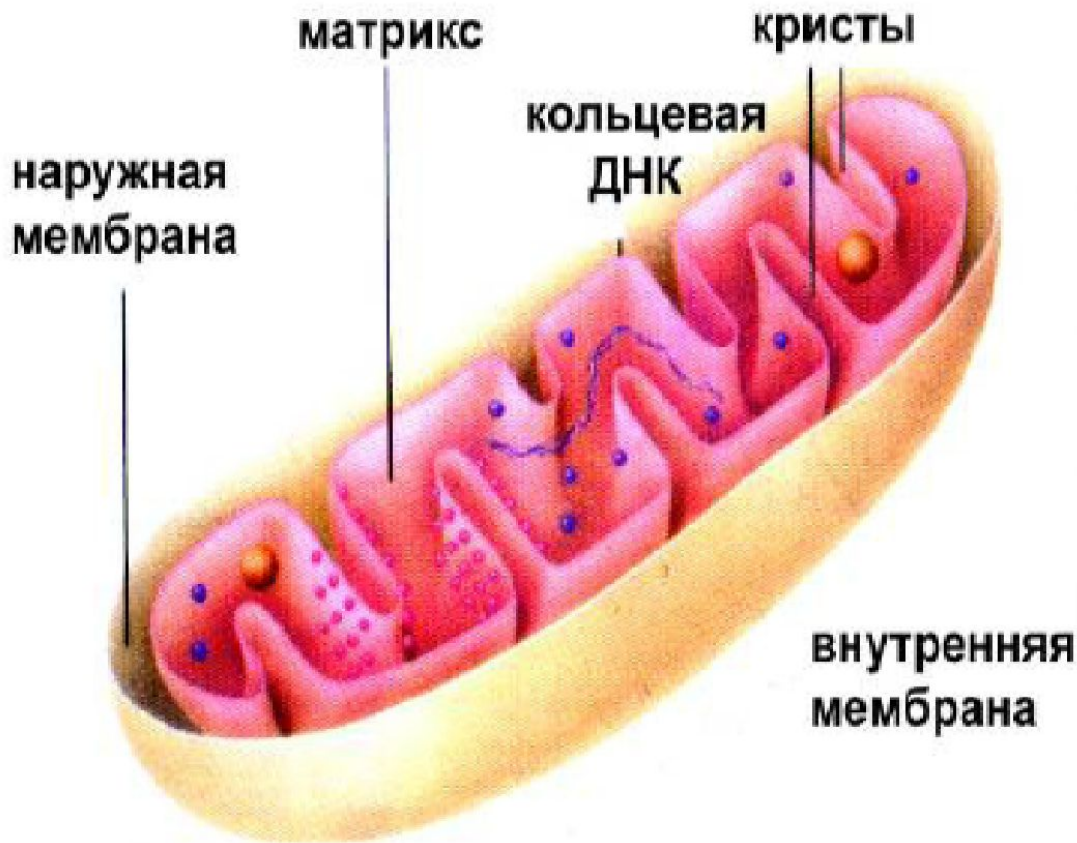
Окислительное фосфорилирование – основная часть биологического окисления или тканевого дыхания, т.е. процессов, идущих в организме с участием кислорода.



Окислительное фосфорилирование – это многоэтапный процесс, происходящий во внутренней мембране митохондрий и заключающийся в окислении восстановленных эквивалентов (НАДН и ФАДН₂) и сопровождающийся синтезом АТФ.

Впервые механизм окислительного фосфорилирования был предложен *П.Митчеллом*. Согласно этой гипотезе перенос электронов, происходящий на внутренней митохондриальной мембране, вызывает **выкачивание** ионов H^+ из матрикса митохондрий в межмембранное пространство. Это создает градиент концентрации ионов H^+ между внутренней и внешней поверхностями внутренней мембраны митохондрий. Ионы водорода (протоны) из межмембранного пространства в норме способны возвращаться в матрикс митохондрий только одним способом – через специальный фермент, – АТФ-синтазу (или АТФ-синтетазу).

Митохондрии



По современным представлениям внутренняя митохондриальная мембрана содержит ряд **мультиферментных комплексов**, включающих множество ферментов. Эти ферменты называют **дыхательными ферментами**, а последовательность их расположения в мембране – **дыхательной цепью**.

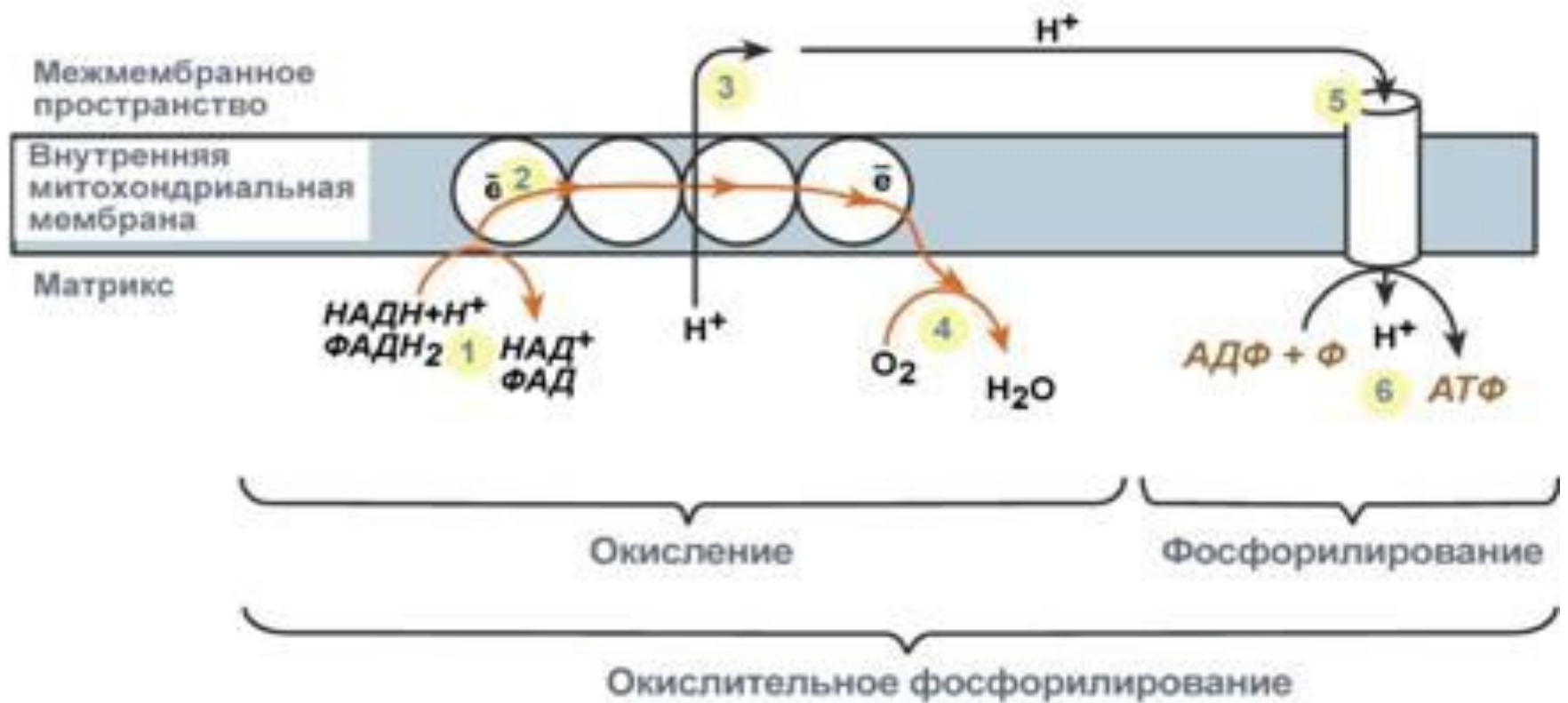
По современным представлениям внутренняя митохондриальная мембрана содержит ряд **мультиферментных комплексов**, включающих множество ферментов. Эти ферменты называют **дыхательными ферментами**, а последовательность их расположения в мембране – **дыхательной цепью**.

Сущность дыхательной цепи состоит в том, что водороды (H^+ , e^-) снятые с окисляемых субстратов не сразу попадают на кислород, а переносятся рядом переносчиков, при этом энергия электронов и протонов используется для синтеза АТФ, совершения осмотической работы и тепла.

ПРИНЦИП РАБОТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

В целом работа дыхательной цепи заключается в следующем:

1. Образующиеся в реакциях катаболизма НАДН и ФАДН₂ передают атомы водорода (т.е. протоны водорода и электроны) на ферменты дыхательной цепи.
2. Электроны движутся по дыхательной цепи и теряют энергию.
3. Эта энергия используется на выкачивание протонов Н⁺ из матрикса в межмембранное пространство.
4. В конце дыхательной цепи электроны попадают на кислород и восстанавливают его до воды.
5. Протоны Н⁺ стремятся обратно в матрикс и проходят через АТФ-синтазу.
6. При этом они теряют энергию, которая используется для синтеза АТФ.

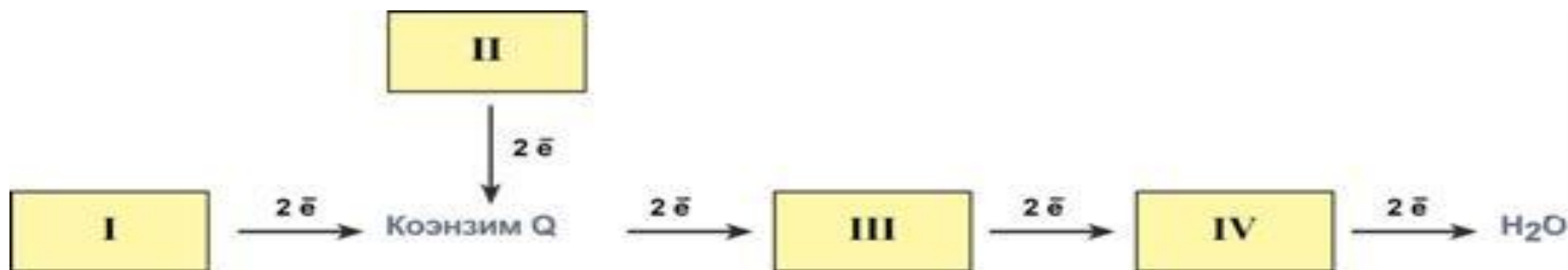


Общая схема окислительного фосфорилирования

Таким образом восстановленные формы НАДН и ФАДН₂ окисляются ферментами дыхательной цепи, благодаря этому происходит присоединение фосфата к АДФ, т.е. фосфорилирование. Поэтому весь процесс получил название **окислительное фосфорилирование**,

ФЕРМЕНТНЫЕ КОМПЛЕКСЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

Всего цепь переноса электронов включает в себя около 40 разнообразных белков и один небелковый переносчик. Все они организованы в 4 больших мембранно-связанных мультферментных **комплексов** (I, II, III, IV).



Блок схема дыхательной цепи (ЭТЦ)

И существует еще один **комплекс V**, который не участвует в переносе электронов, это – **АТФ-синтаза**

Комплексы дыхательной цепи

I комплекс - **НАДН-дегидрогеназа**,

II комплекс - включает в себя **ФАД-зависимые ферменты**

(как таковой не существует, его выделение условно),

III комплекс – комплекс **цитохромов b-c1**

IV комплекс – **цитохромы aa3** или **цитохромоксидаза**

V комплекс – фермент **АТФ-синтаза**

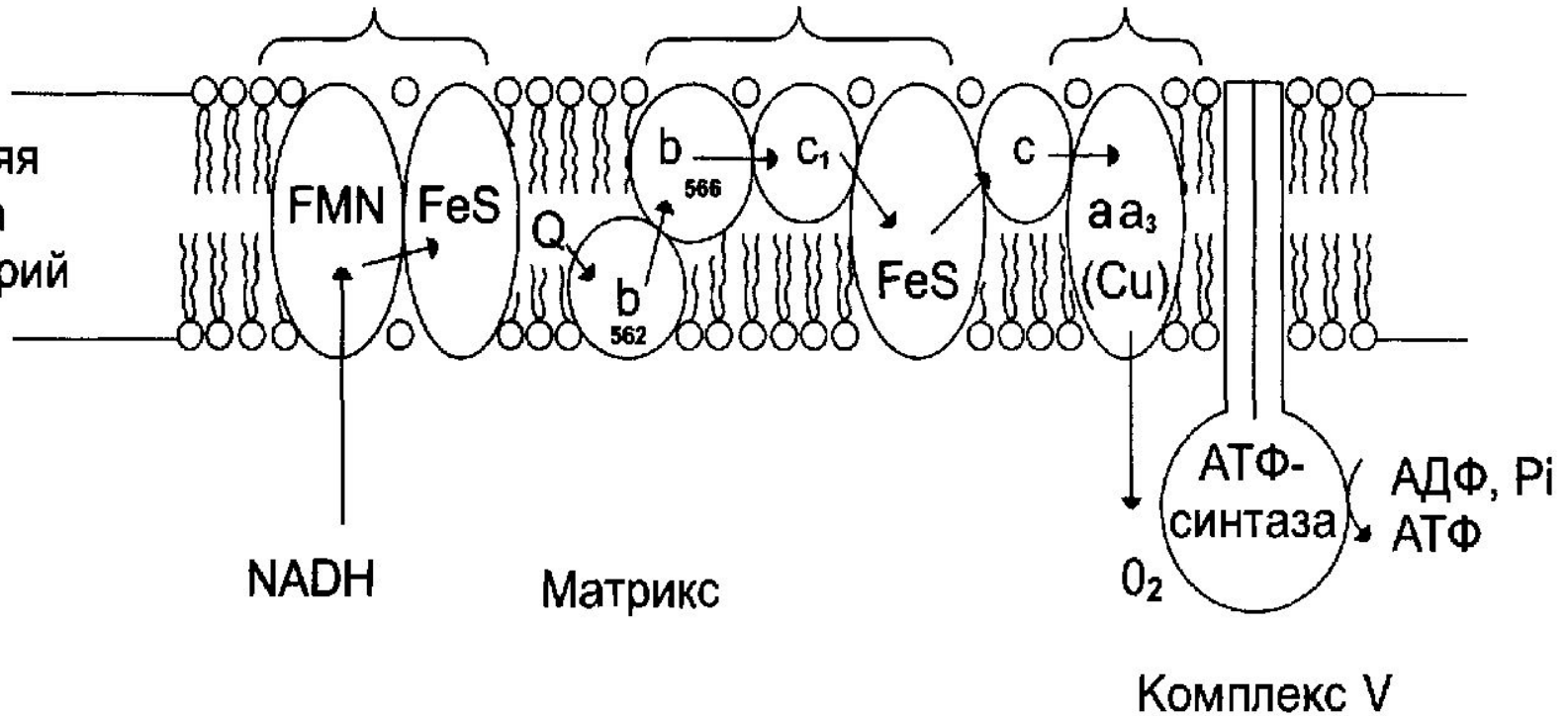
Межмембранное пространство

Внутренняя мембрана митохондрий

Комплекс I

Комплекс III

Комплекс IV



Митохондриальная цепь переноса электронов

Функции комплексов дыхательной цепи

I комплекс –

1. Принимает электроны от НАДН и передает их на коэнзим Q (убихинон).
2. Переносит 4 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.

II комплекс –

1. Восстановление ФАД в окислительно-восстановительных реакциях.
2. Обеспечение передачи электронов от ФАДН₂ на железосерные белки внутренней мембраны митохондрий. Далее эти электроны попадают на коэнзим Q.

III комплекс –

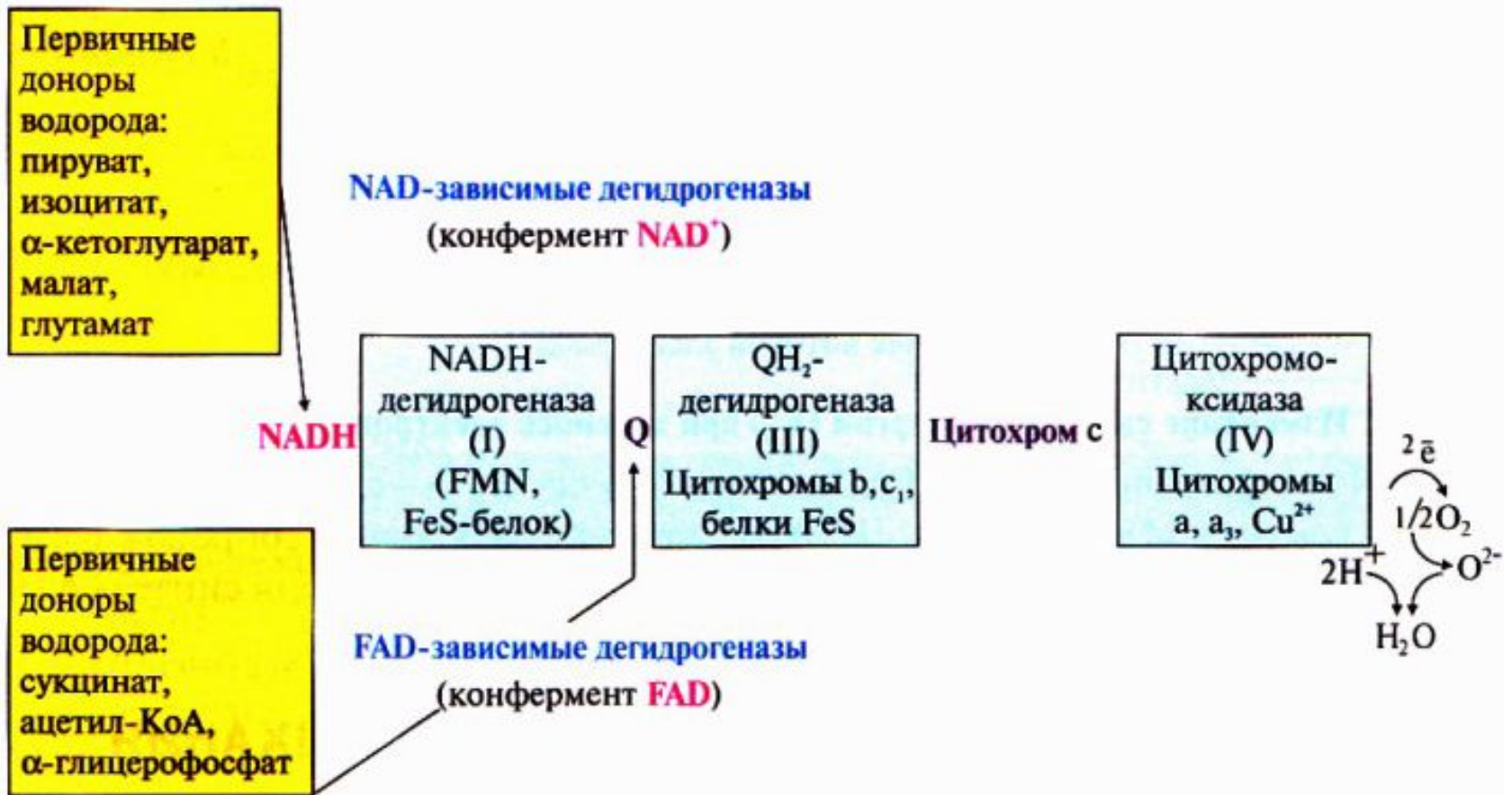
1. Принимает электроны от коэнзима Q и передает их на цитохром c.
2. Переносит два H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.

IV комплекс –

1. Принимает электроны от цитохрома *c* и передает их на кислород с образованием воды.
2. Переносит 4 иона H^+ на наружную поверхность внутренней митохондриальной мембраны.

V комплекс – фермент **АТФ-синтаза**

используя энергию протонов, синтезирует АТФ из АДФ и H_2PO_4



Пути поступления электронов и протонов в дыхательную цепь переносчиков (ферментов от первичных доноров)

Работа комплексов дыхательной цепи

1. Ферменты дыхательной цепи расположены в строго определенной последовательности: каждый последующий белок обладает большим сродством к электронам, чем предыдущий (он **более электроположителен**, т.е. обладает более **положительным ок.-восст. потенциалом**). Это обеспечивает однонаправленное движение электронов.
2. Все атомы водорода, отщепленные дегидрогеназами от субстратов в аэробных условиях, достигают внутренней мембраны митохондрий в составе НАДН или ФАДН₂.

Стандартные окислительно-восстановительные потенциалы некоторых сопряженных пар

Окислительно-восстановительная пара	E_0', V
$2H^+/H_2$	-0,42
$NAD^+/NADH$	-0,32
$NADP^+/NADPH$	-0,32
NADH-дегидрогеназа (FMN-форма)	-0,30
NADH-дегидрогеназа (FMNH ₂ -форма)	
FAD-белок/FADH ₂ -белок	-0,05
Сукцинат/фумарат	+0,03
Убихинон/убихинол	+0,04
цит. b Fe ³⁺ /цит. b Fe ²⁺	+0,07
цит. c ₁ Fe ³⁺ /цит. c ₁ Fe ²⁺	+0,23
цит. c Fe ³⁺ /цит. c Fe ²⁺	+0,25
цит. a Fe ³⁺ /цит. a Fe ²⁺	+0,29
цит. a ₃ Fe ³⁺ /цит. a ₃ Fe ²⁺	+0,55
$1/2 O_2 + 2 H^+ + 2e/H_2O$	+0,82

3. Здесь атомы водорода (от НАДН и ФАДН₂) передают свои электроны в дыхательную ферментативную цепь, по которой электроны движутся (50-200 шт/сек) к своему конечному акцептору – кислороду.
В результате образуется вода.
4. Поступающие в дыхательную цепь электроны богаты свободной энергией. По мере их продвижения по цепи они теряют энергию. Часть энергии электронов используется I, III, IV комплексами дыхательных ферментов для перемещения ионов водорода через мембрану в межмембранное пространство. Другая часть рассеивается в виде тепла.

5. Перенос ионов водорода через мембрану (выкачивание) происходит не случайно, а в строго определенных участках мембраны. Эти участки называются участки сопряжения (или, не совсем точно, пункты фосфорилирования).

Они представлены I, III, IV комплексами дыхательных ферментов. В результате работы этих комплексов формируется **градиент ионов водорода** между внутренней и наружной поверхностями внутренней митохондриальной мембраны. Такой градиент обладает потенциальной энергией. Градиент получил название электрохимический или протонный градиент ("дельта мю"). Он имеет две составляющие – электрическую и концентрационную и обозначается - **$\Delta\mu$** или **$\Delta\mu_{H^+}$** .



Энергетические соотношения в дыхательной цепи митохондрий и участки переноса ионов водорода через внутреннюю мембрану в межмембранное пространство

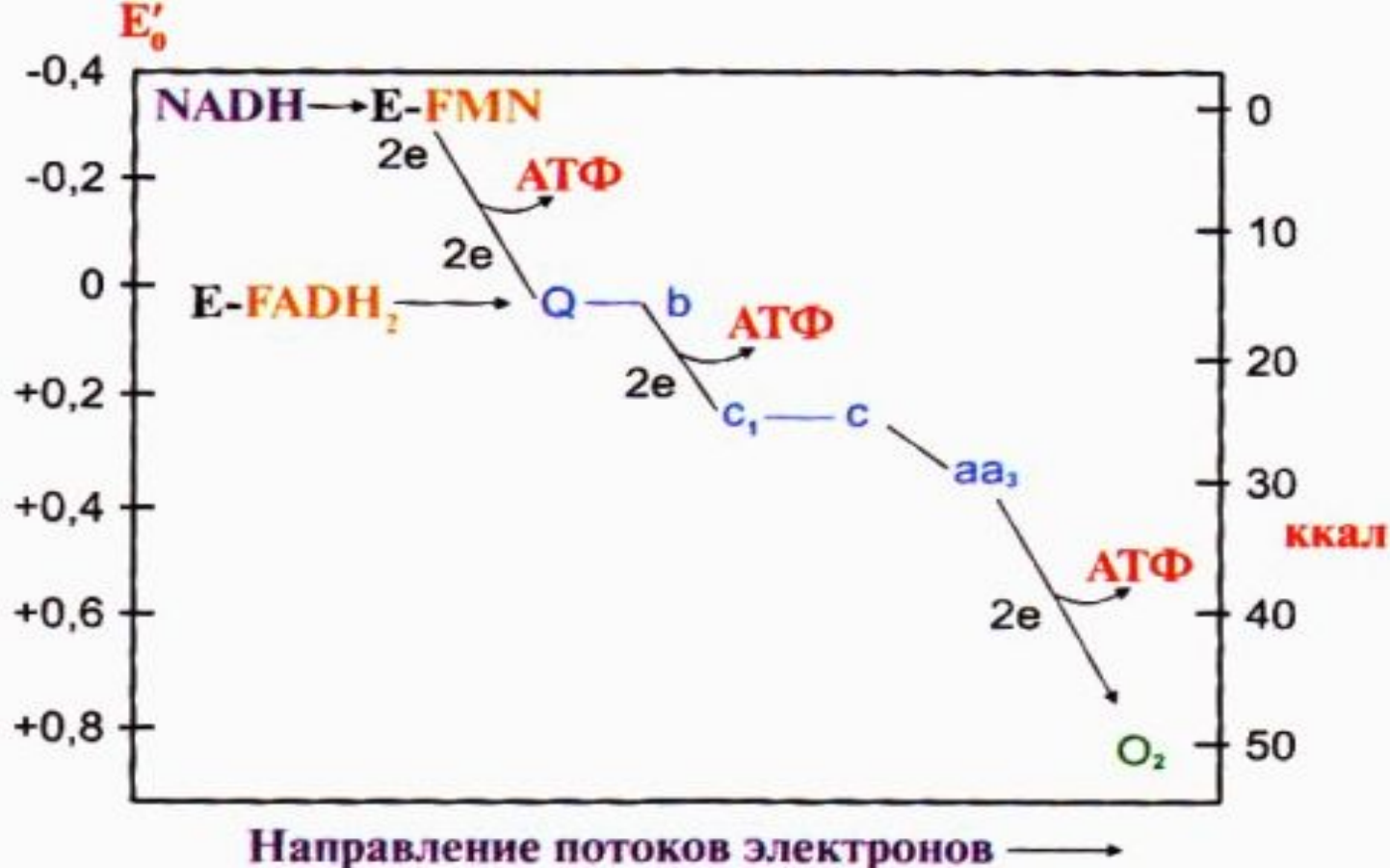


Рис. Изменение свободной энергии (E_0) при переносе электронов по ЦПЭ

E-ФМН – комплекс I; **E-ФАД** – комплекс II;

b-c1 – комплекс III; **a-a3** - комплекс IV.

На этапах ЦПЭ, где перенос электронов сопровождается большим снижением свободной энергии, создаются условия для синтеза АТФ.

6. Как завершение всех предыдущих событий и необходимый их результат происходит наработка АТФ. Ионы водорода теряют свою энергию, проходя (возвращаясь) через АТФ-синтетазу. Часть этой энергии тратится на синтез АТФ, другая рассеивается в виде тепла.

$$\text{Изменение энергии электронов} = \text{Совершение работы (выкачивание ионов H}^+) + \text{Выделение тепла}$$

Сопряжение тканевого дыхания и синтеза АТФ

1. Перенос электронов по ЦПЭ при участии комплексов I, III и IV сопровождается выделением наибольшего количества энергии. Часть этой энергии используется для переноса H^+ из матрикса в межмембранное пространство, в результате чего возрастает **протонный электрохимический потенциал $\Delta\mu_{H^+}$** , основной составляющей которого является **протонный градиент**.
2. При достижении определенного **протонного градиента** происходит активация **АТФ-синтетазы (комплекс V)**, в ней открывается канал, через который протоны возвращаются в матрикс из межмембранного пространства, а энергия **$\Delta\mu_{H^+}$** используется для синтеза АТФ

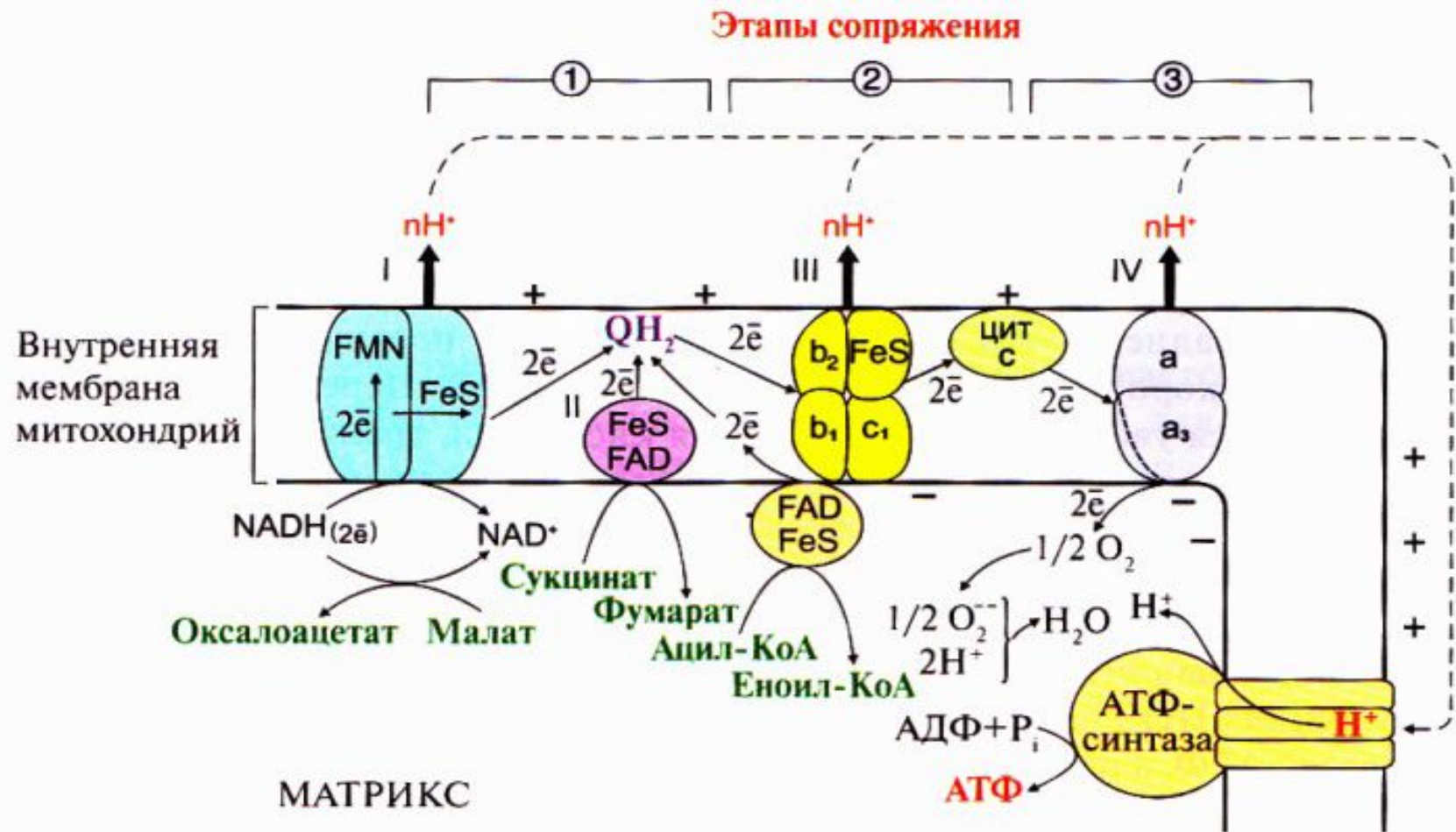


Рис. Сопряжение дыхания и синтеза АТФ в митохондриях

I – НАДН-дегидрогеназа; III – QH₂- дегидрогеназа;

IV- цитохромоксидаза; V- АТФ-синтетаза.

Энергия протонного химического потенциала используется для синтеза АТФ, если протоны возвращаются через ионные каналы АТФ-синтазы

3. Каждый из трех комплексов ЦПЭ (I, III и IV) обеспечивает необходимый протонный градиент для активации АТФ-синтетазы и синтеза одной молекулы АТФ. Количество молекул АТФ, образованных при восстановлении одного атома кислорода до H_2O при прохождении двух электронов по ЦПЭ, эквивалентно количеству использованного фосфора H_3PO_4 (P) и выражается коэффициентом окислительного фосфорилирования (P/O).

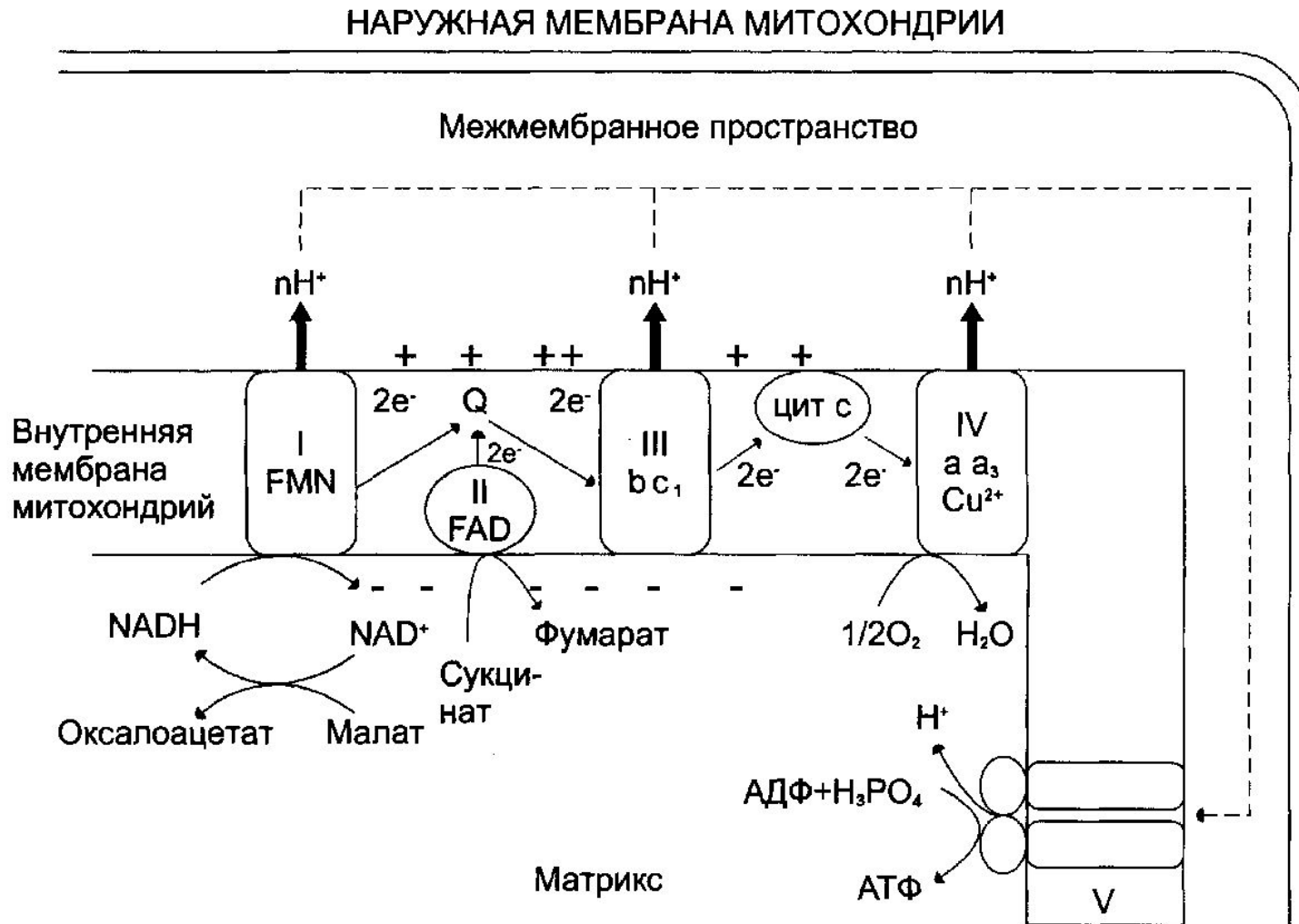
Если водород поступает в ЦПЭ от кофрементов НАДН, то P/O имеет максимальное значение, равное 3.

Если водород поступает в ЦПЭ от коферментов ФАД-зависимых дегидрогеназ, то P/O равен 2.

Реальное значение P/O несколько ниже т.к. часть энергии электрохимического потенциала рассеивается в форме теплоты).

о Витамине С
Вит С

Сопряжение дыхания и синтеза АТФ в МИТОХОНДРИЯХ



При участии **АТФ-АДФ транслоказы**, расположенной во внутренней мембране митохондрий, АТФ транспортируется в цитоплазму в обмен на АДФ. В цитоплазме АТФ используется как источник энергии в различных процессах.

4. Таким образом, **трансформация энергии** в организме проходит следующие этапы:

Энергия химических связей субстратов



Энергия электронов в составе коферментов NADH и FADH_2



Энергия электронов, переносимых по ЦПЭ на кислород



Энергия трансмембранного электрохимического потенциала



Энергия химических связей АТФ

На всех этапах процесса часть энергии рассеивается в виде **тепла**

Аналоги АТФ:

ГТФ

ЦТФ

УТФ

Дыхательный контроль

Перенос электронов по ЦПЭ и синтез АТФ тесно сопряжены, т.е. могут происходить только одновременно и синхронно.

При увеличении расхода АТФ в клетке увеличивается количество АДФ (субстрата АТФ-синтазы) увеличивается скорость синтеза АТФ. При этом снижается протонный градиент, что стимулирует окисление первичных доноров и увеличивает скорость переноса электронов по ЦПЭ. Перенос электронов сопровождается увеличением поглощения O_2 , транспорта протонов из матрикса в межмембранное пространство и повышение протонного градиента, необходимого для активации АТФ-синтазы.

Синтез АТФ регулируется

Работа дыхательных ферментов регулируется с помощью эффекта, который получил название дыхательный контроль.

Дыхательный контроль – это прямое влияние электрохимического градиента на скорость движения электронов по дыхательной цепи (величины дыхания). В свою очередь, величина градиента напрямую зависит от соотношения АТФ и АДФ, количественная сумма которых в клетке постоянна

$$([\text{АТФ}] + [\text{АДФ}] = \text{const}).$$

Реакции катаболизма направлены на поддержание постоянно высокого уровня АТФ и низкого АДФ.

Возрастание протонного градиента возникает при исчерпании запасов АДФ и накоплении АТФ, т.е. когда АТФ-синтаза лишена своего субстрата и ионы H^+ не проникают в матрикс митохондрии. При этом ингибирующее влияние градиента усиливается и продвижение электронов по цепи замедляется. Ферментные комплексы остаются в восстановленном состоянии. Следствием является уменьшение окисления НАДН и ФАДН₂ на I и II комплексах и замедление катаболизма в клетке.

Таким образом скорость синтеза АТФ точно соответствует потребностям клетки в энергии.

Ускорение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования при повышении концентрации АДФ называется **дыхательным контролем**.

В реакциях ЦПЭ часть энергии не превращается в Энергию макроэргических связей АТФ, а рассеивается в виде тепла

Разобщение дыхания и синтеза АТФ

Некоторые липофильные вещества (2,4-динитрофенол, некоторые жирные кислоты) могут переносить ионы водорода через внутреннюю мембрану митохондрий в матрикс, минуя канал АТФ-синтазы. В результате этого снижается протонный градиент и прекращается синтез АТФ. Это явление называется **разобщением**, а вещества **разобщителями** дыхания и фосфорилирования.

Подобным образом действуют протонофоры, увеличивающие проницаемость мембран для ионов Na^+ и K^+ . При действии разобщающих факторов большая часть энергии выделяется в виде теплоты, количество АДФ и поглощение кислорода увеличивается.

Терморегуляторная функция дыхания

При переносе электронов по ЦПЭ часть энергии **рассеивается в виде теплоты**, которая используется теплокровными животными для поддержания температуры тела. При использовании АТФ для совершения полезной работы значительная часть энергии также превращается в теплоту. При снижении температуры тела включается **механизм дрожания** (несогласованного сокращения отдельных групп мышц). При этом за счет АТФ-азной активности актомиозина происходит гидролиз АТФ до АДФ и H_3PO_4 , что стимулирует тканевое дыхание. Полезной работы при этом не происходит, большая часть энергии переходит в теплоту и температура тела повышается.

Кроме того дополнительное образование теплоты может происходить **путем разобщения дыхания и фосфорилирования** в процессе адаптации к холоду.

При охлаждении **в жировой ткани** из симпатических нервных окончаний освобождается норадреналин, который активирует ТАГ-липазу. При активации липазы в клетках повышается концентрация свободных жирных кислот, которые способны **разобщать** тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование, участвуя в транспорте протонов через митохондриальную мембрану.

У новорожденных и зимне спящих животных разобщение связано с наличием разобщающего белка – **термогенина** (до 15% от всех белков митохондрий) в бурой жировой ткани .

Термогенин близок по структуре к

АТФ/АДФ-антипортеру. Он может переносить анионы жирных кислот, но не обладает способностью к транспорту нуклеотидов.

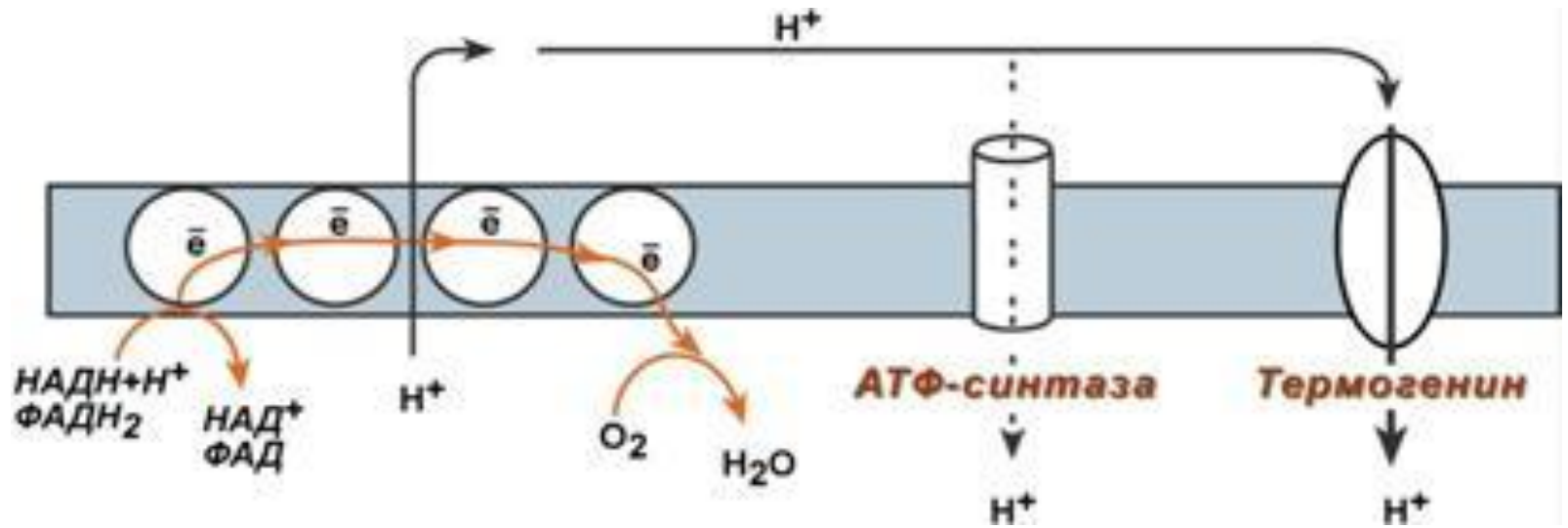


Рис. Роль термогенина в митохондрии

Кроме динитрофенола, жирных кислот и термогенина протонофорами, к примеру, являются **салицилаты**, и **трийодтиронин**.

Ингибиторы дыхания

Некоторые лекарственные вещества, химические агенты и антибиотики вызывают **ингибирование ферментов,**

либо собственно дыхательной цепи:

1. действующие на **I комплекс**, например, **амитал, ротенон, прогестерон,**
2. действующие на **III комплекс**, например, **антимидин А,**
3. действующие на **IV комплекс**, например, **сероводород (H_2S), угарный газ (CO), цианиды (-CN).**

либо окислительного фосфорилирования:

антибиотик **олигомицин** ингибирует процесс фосфорилирования на уровне АТФ-синтазы.

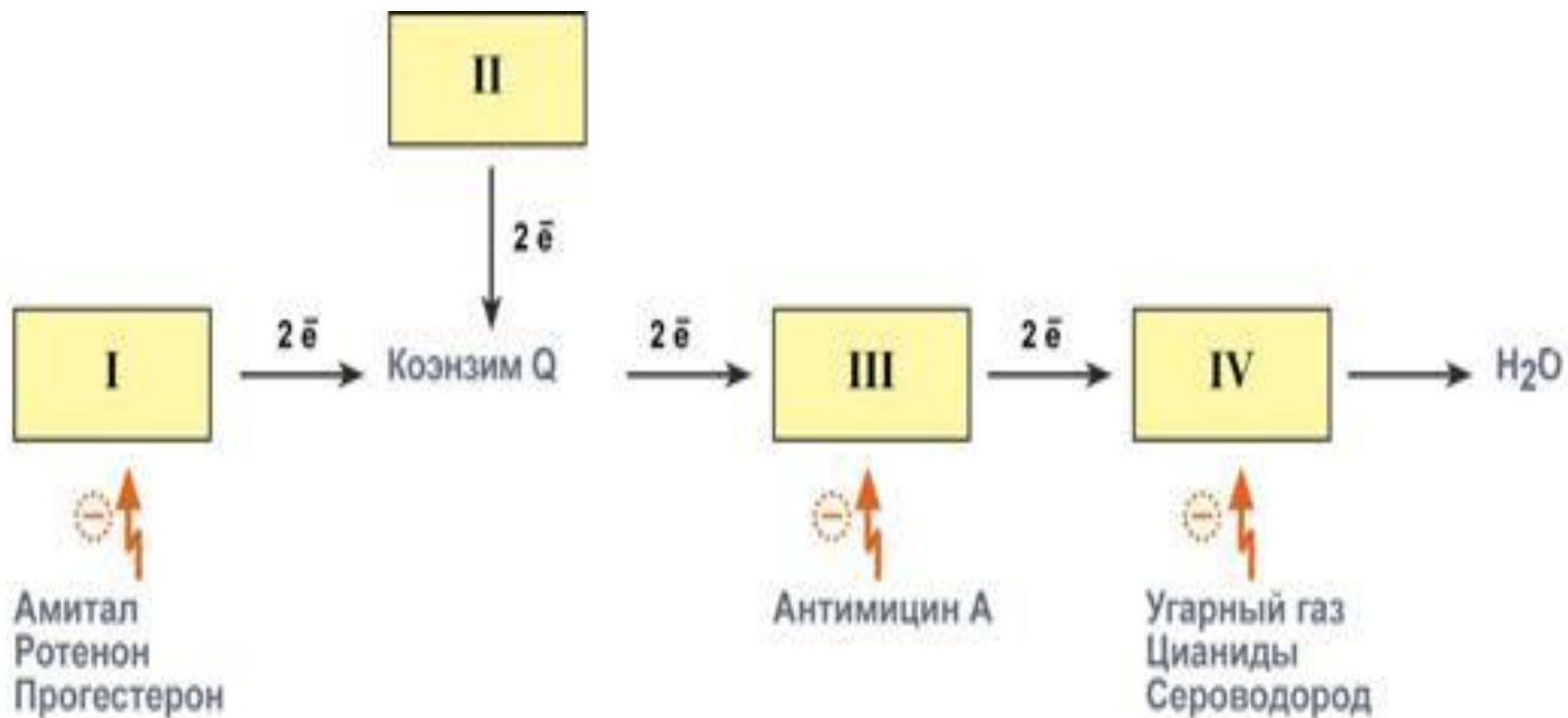


Рис. Ингибиторы ферментов дыхательной цепи

Гипоэнергетические состояния

Причинами гипоэнергетических состояний может быть следующее:

- 1. гиповитаминозы экзогенные и/или эндогенные** – снижается скорость и эффективность окислительных реакций. Возникает обычно при **нехватке витаминов группы В** – В1, В2, никотиновой кислоты (РР), В6, пантотеновой кислоты и аскорбиновой кислоты.
- 2. дефицит белка в пище** – снижается синтез всех ферментов и ферментов катаболизма в частности.
- 3. снижение потребления углеводов и липидов** как основных источников энергии.
- 4. дефицит кислорода** – отсутствие акцептора для электронов вызывает "переполнение" дыхательных ферментов, повышение электрохимического градиента, накопление НАДН и ФАДН₂ в клетке и прекращение катаболизма.
- 5. дефицит железа** – компонента цитохромов, миоглобина и гемоглобина, и меди – компонента цитохромоксидазы.

Состав компонентов дыхательной цепи

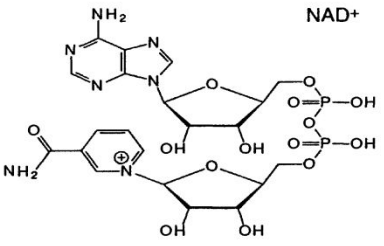
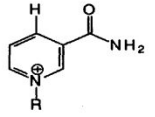
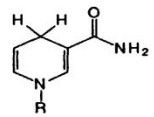
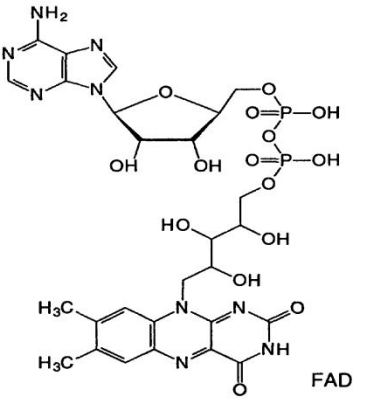
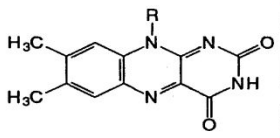
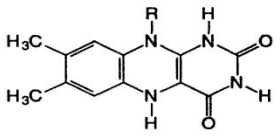
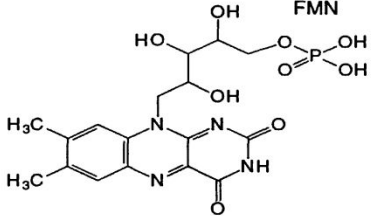
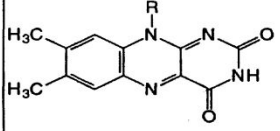
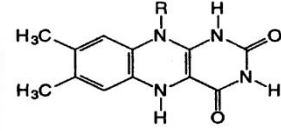
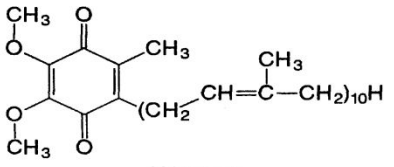
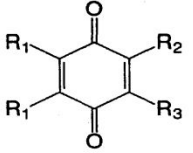
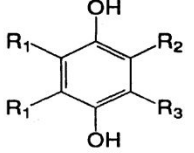
НАД содержит витамин В3 или РР (никотиновая кислота)

ФМН и ФАД – витамин В2 (рибофлавин),

Убихинон Q – жироподобное вещество,

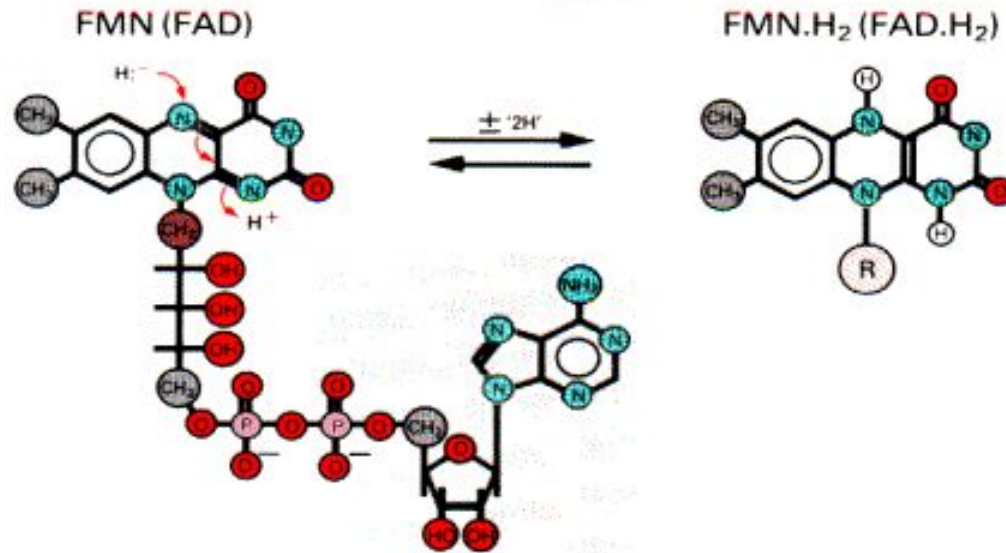
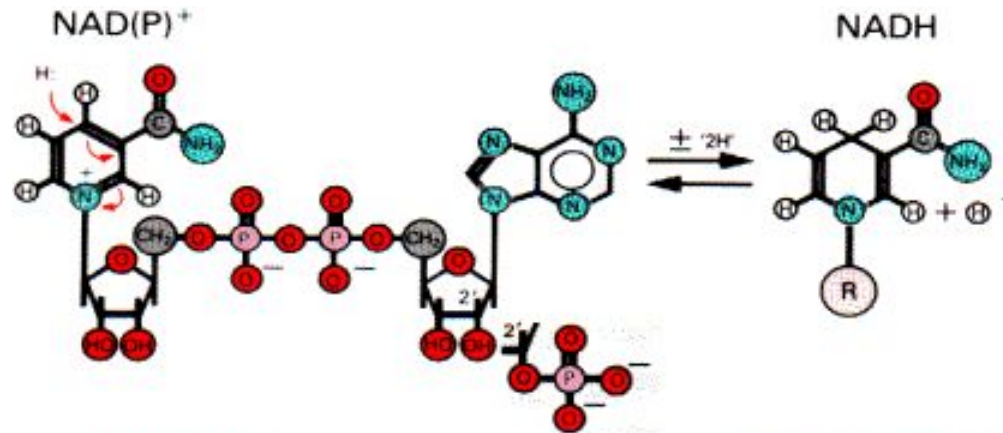
Цитохромы – содержат гем (протопорфириновое кольцо с ионом **железа**,

Цитохром ааз - содержат гем (протопорфириновое кольцо с ионом **железа** и еще атом **меди**,

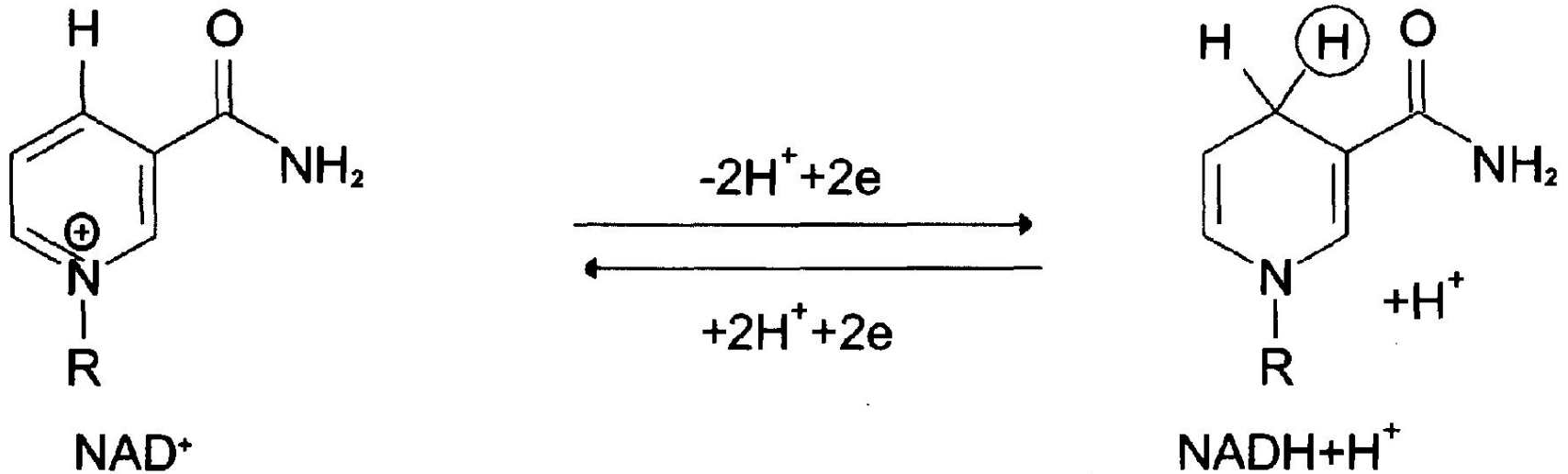
Фермент	Кофермент	Активная часть кофермента	
		окисленная форма	восстановленная форма
NAD-зависимые дегидрогеназы	 <p>NAD⁺</p>	 <p>NAD⁺</p>	 <p>NADH + H⁺</p>
FAD-зависимые дегидрогеназы	 <p>FAD</p>	 <p>FAD</p>	 <p>FADH₂</p>
NADH-дегидрогеназа	 <p>FMN</p>	 <p>FMN</p>	 <p>FMNH₂</p>
QH ₂ -дегидрогеназа	Гем (Fe ³⁺)	Гем (Fe ³⁺)	Гем (Fe ²⁺)
Цитохромоксидаза	Гем (Fe ³⁺), Cu ²⁺	Гем (Fe ³⁺), Cu ²⁺	Гем (Fe ²⁺), Cu ⁺
Неферментный переносчик электронов	 <p>Убихинон</p>	 <p>Убихинон</p>	 <p>Убихинол</p>

Компоненты
дыхательной
цепи

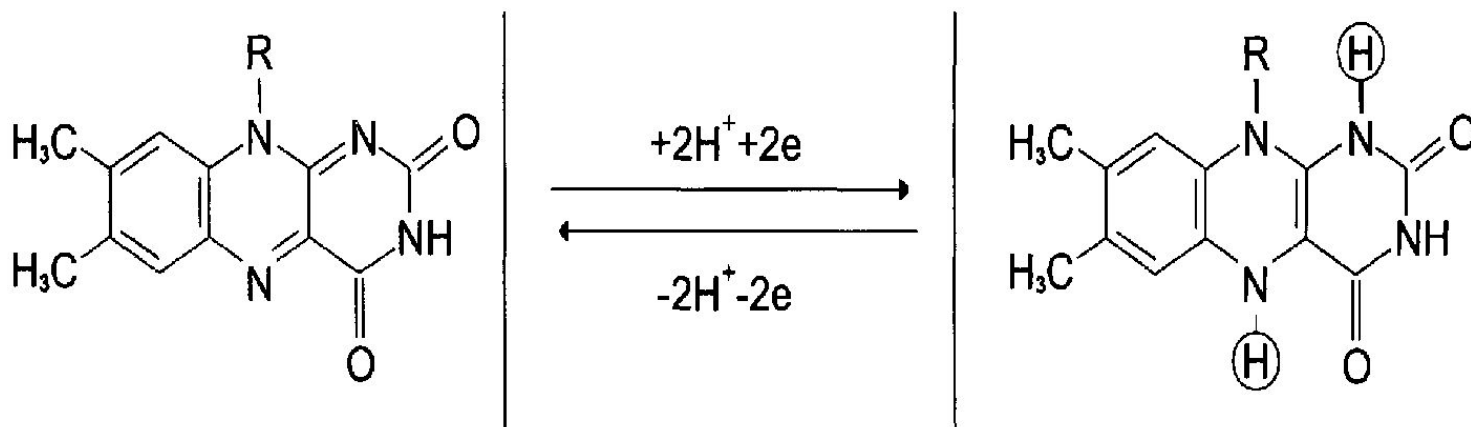
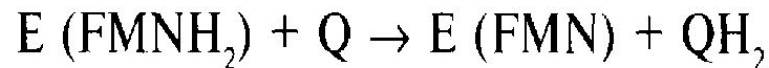
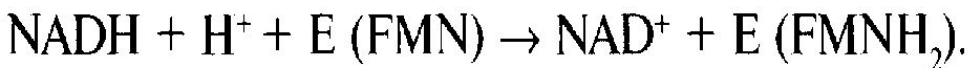
Коферменты дегидрогеназ



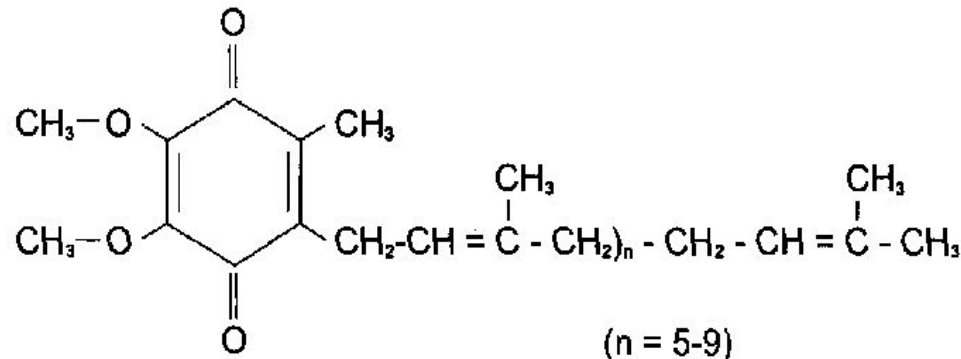
Структурные формулы рабочей части коферментов НАД и НАДФ



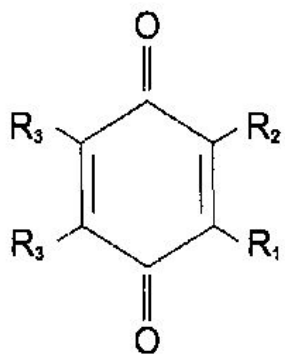
Структурные формулы рабочей части коферментов **ФАД** и **ФМН**



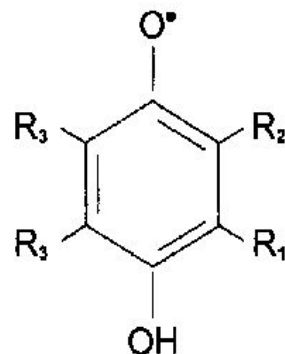
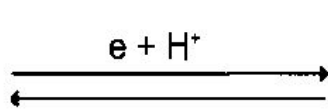
Структура убихинона (кофермента Q)



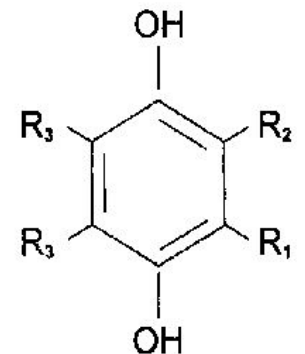
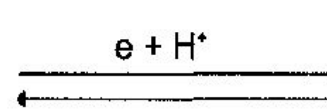
Убихинон (кофермент Q)



Окисленная форма Q

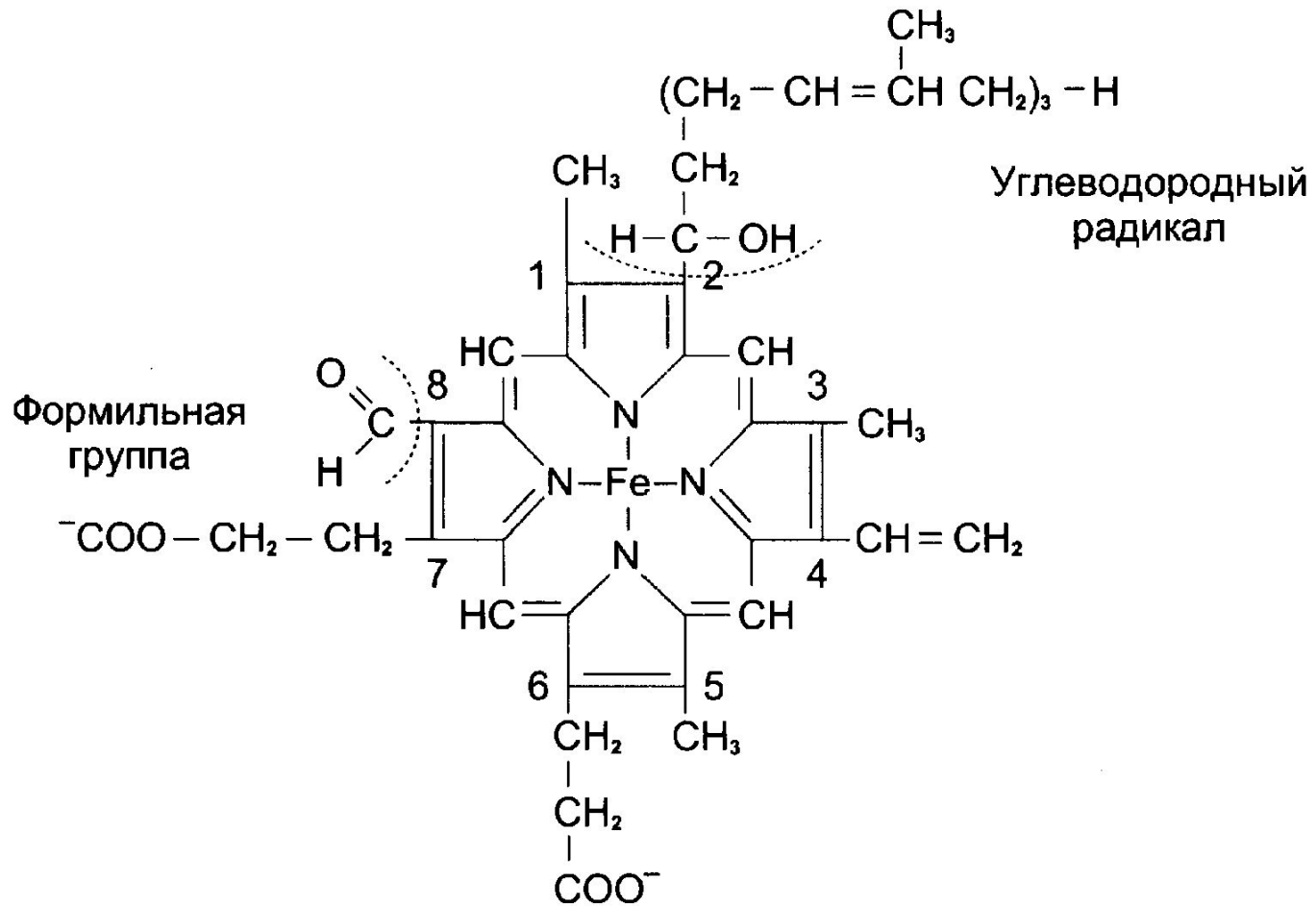


Семихинон
(форма свободного радикала)
HQ•

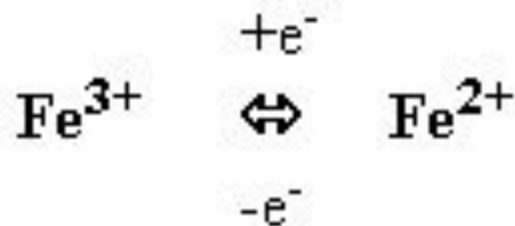


Восстановленная форма
QH₂

Строение гема А



Атом **железа** в геме может менять валентность, присоединяя или отдавая электроны:



В дыхательной цепи **цитохромы** **служат переносчиками электронов** и располагаются соответственно величине ок.-восст. потенциала следующим образом: b, c1, c, a, аз.

Гемовые группы цитохромов связаны с белковой частью донорно-акцепторными связями между ионом железа и соответствующими аминокислотными остатками:

В цитохромах С и С₁ дополнительные ковалентные связи формируются между тиогруппами цистеина и боковыми винильными группами гема.

QH₂-дегидрогеназа (комплекс III) представляет собой комплекс цитохромов b и С₁.

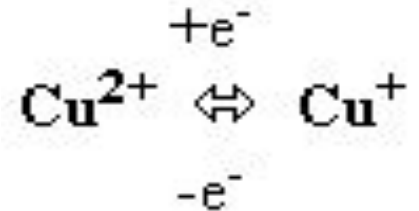
Этот фермент катализирует окисление восстановленного кофермента Q и **перенос электронов** на цитохром С.

Электроны последовательно переносятся атомами железа цитохромов b и С₁, а затем поступают на цитохром С .

Протоны после окисления QH₂ переносятся в межмембранное пространство митохондрий.

Цитохромоксидаза

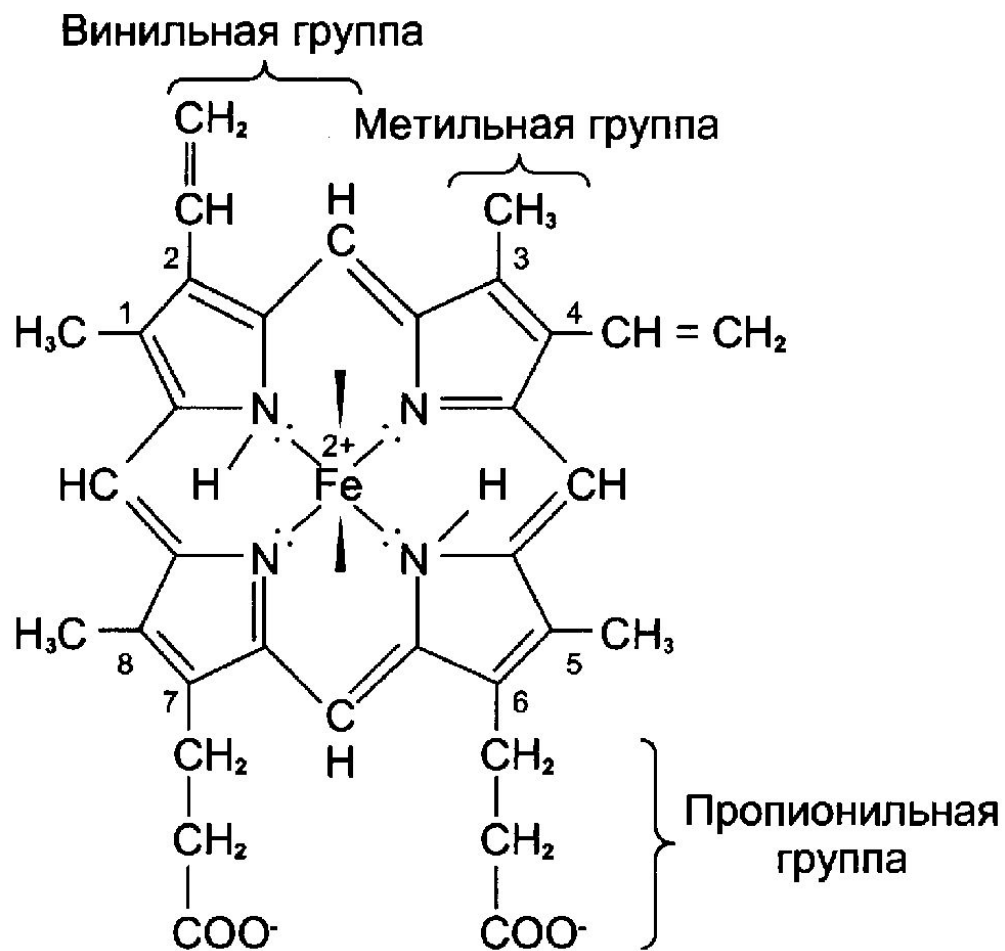
включает комплекс цитохромов а и а3 (комплекс IV). Цитохромоксидаза кроме **гема (с Fe)** содержит ионы **меди**, которые способны менять валентность и таким способом участвовать в переносе электронов:



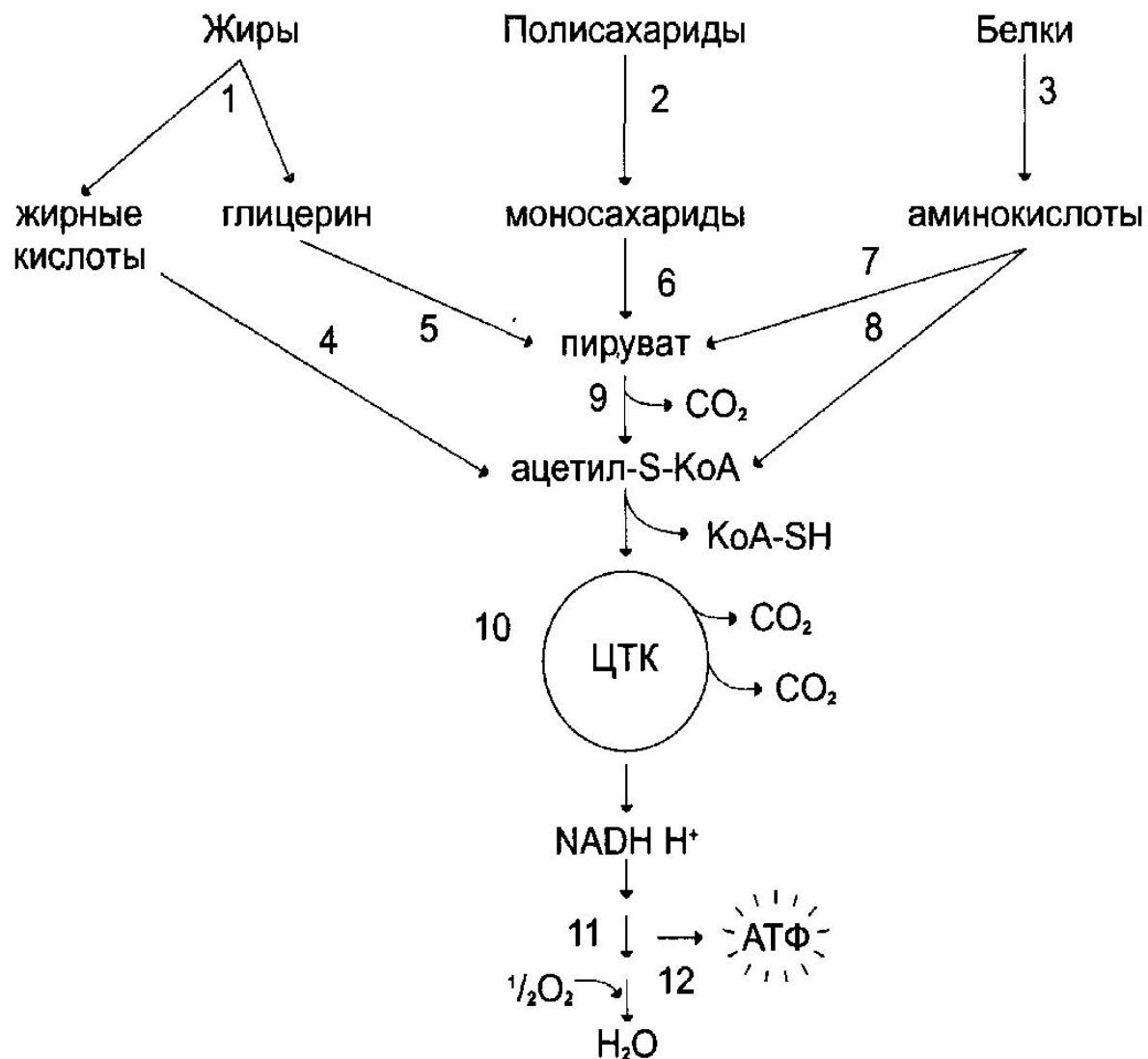
Цитохромоксидаза переносит электроны с цитохрома С на кислород. В переносе электронов участвуют сначала ионы железа цитохромов а и а3, а затем ион меди цитохрома а3. Молекула кислорода связывается с железом в геме цитохрома а3. Следовательно, переход электронов на кислород с иона меди цитохрома а3, происходит на молекуле фермента.

Каждый из атомов молекулы кислорода присоединяет по два электрона и по два протона, образуя при этом молекулу воды.

Структура гема цитохромов b, c, c1



Катаболизм основных пищевых веществ



1-3 пищеварение;

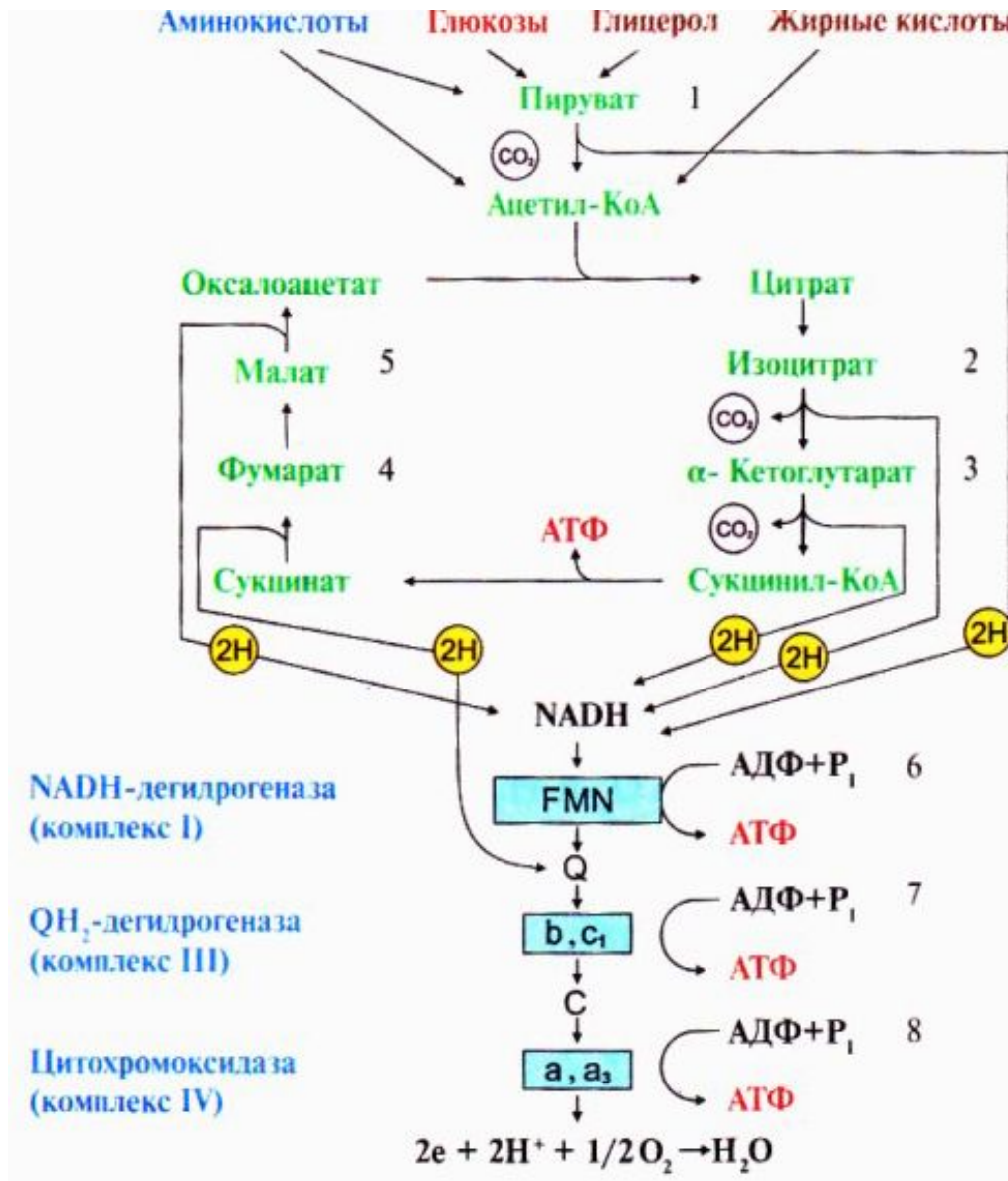
4-8 специфические
пути катаболизма;

9-10 заключительный
(общий путь)
катаболизма;

11- ЦПЭ;

12- окислительное
фосфорилирование

Связь реакций общего пути катаболизма с ЦПЭ



- 1-5 первичные доноры водорода для ЦПЭ;
- 1, 2, 3, 5 – субстраты НАД-зависимых дегидрогеназ;
- 4 – субстрат ФАД-зависимой сукцинатдегидрогеназы;
- 6,7,8, - этапы сопряжения дыхания и окислительного фосфорилирования