



*Кафедра биологической и общей химии*

# Биологическое окисление и образование

## АТФ

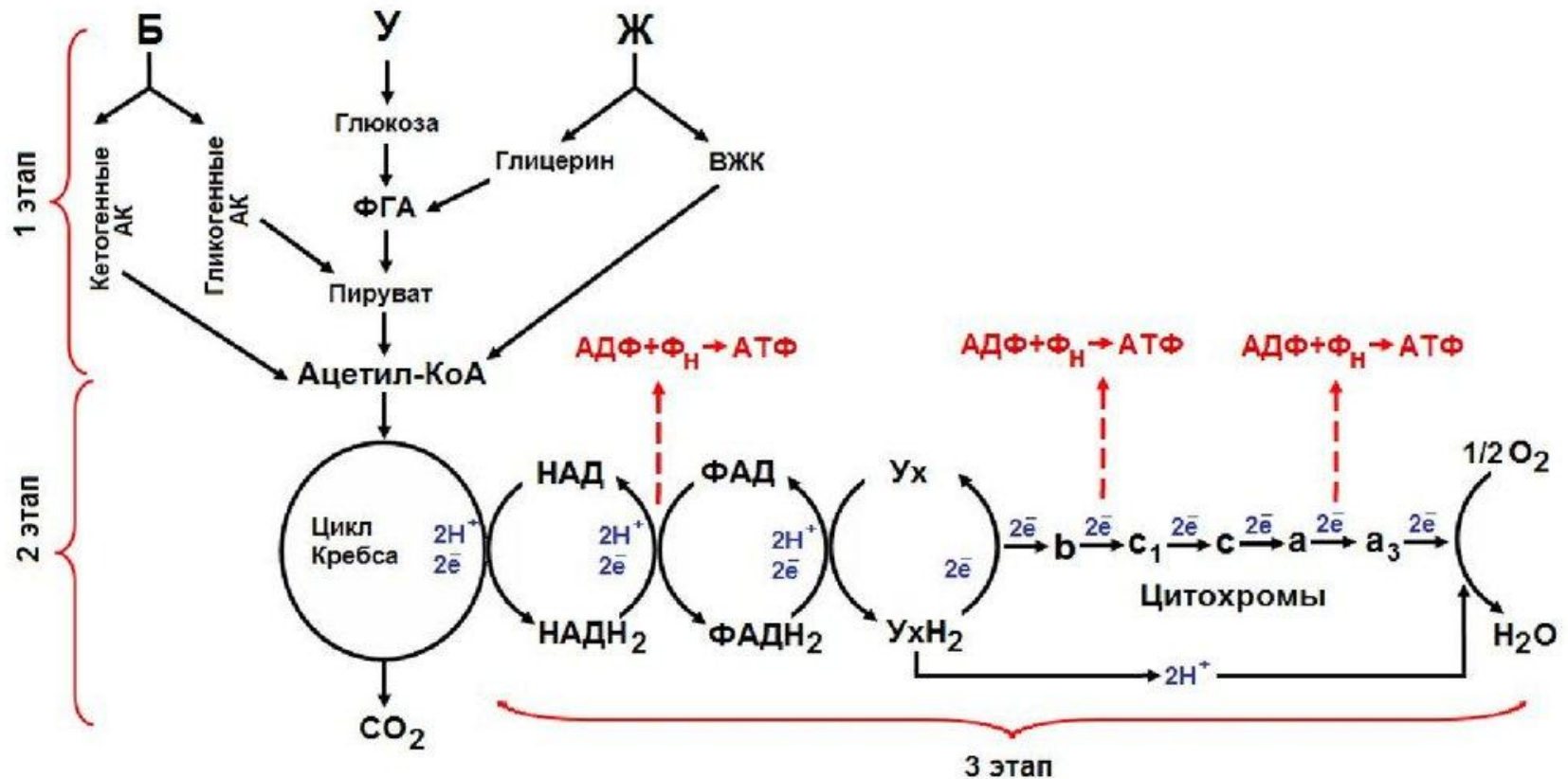
проф. В.А. Дадали, доц. М.Н. Соколова

- **Биологическое окисление или тканевое дыхание** – окисление органических соединений, сопровождающееся потреблением  $O_2$  для образования АТФ с выделением  $CO_2$  и воды.

# Общая схема тканевого дыхания

Этапы:

1. Образование ацетил-КоА.
2. Окисление ацетил-КоА в цикле Кребса.
3. Энергетический – передача электронов и протонов по дыхательной цепи ферментов на кислород и образование воды. **и АТФ**



- Синтез АТФ происходит в реакциях фосфорилирования, но самостоятельно протекать не может, а только с использованием свободной энергии (полезной энергии)
- $\text{АДФ} + \text{P}_\text{H} \rightarrow \text{АТФ} (\Delta G > -30,5 \text{ кДж/моль})$
- Макроэргическое соединение – соединение, стандартная свободная энергия гидролиза которого равна  $-30,5 \text{ кДж/моль}$  или более «-»

## Типы образования АТФ

**Окислительное фосфорилирование** – механизм образования АТФ, использующий для этого энергию градиента электрохимического потенциала, возникающего на внутренней мембране митохондрий.

**Субстратное фосфорилирование** – механизм синтеза АТФ, использующий энергию макроэргических соединений, образующихся в процессе метаболизма (1,3- дифосфоглицериновая кислота, сукцинил-КоА и т.д.).

## Субстратное фосфорилирование

Синтез АТФ за счет энергии гидролиза макроэргической связи субстрата:  
1,3-дифосфоглицерат ( $\Delta G - 54$  кДж/моль)  
фосфоенолпируват ( $\Delta G - 62$  кДж/моль)  
креатинфосфат ( $\Delta G - 43$  кДж/моль)  
глюкозо-6-фосфат ( $\Delta G - 14$  кДж/моль)

## Окислительное фосфорилирование

Более энергетически выгодное  
Синтез АТФ происходит за счет энергии переноса  $e^-$  в дыхательной цепи путем сопряжения процессов окисления и фосфорилирования

# Субстратное фосфорилирование

- **Фосфорилирование АДФ на уровне субстрата (субстратное фосфорилирование)** - это такой вид биологического окисления, при котором макроэнергетическая связь возникает в момент непосредственного окисления субстрата, а затем тем или иным путем передается на фосфатный остаток, который, в свою очередь, используется для фосфорилирования АДФ.



# Строение дыхательной цепи

- **Дыхательная цепь** - это каскад окислительно-восстановительных ферментов, расположенных во внутренней мембране митохондрий, участвующих в переносе  $e$  от восстановленных коферментов на  $O_2$  (e- транспортная цепь).
- Все компоненты ДЦ расположены в соответствии со своим окислительно-восстановительным потенциалом (это способность принимать и отдавать  $e$ ).
- Первым компонентом является НАДН и он принимает  $e$  и  $H^+$  от субстратов с помощью НАД-зав. ДГ и выполняет коллекторную функцию.



# МАТРИКС

Первичные  
доноры  
водорода

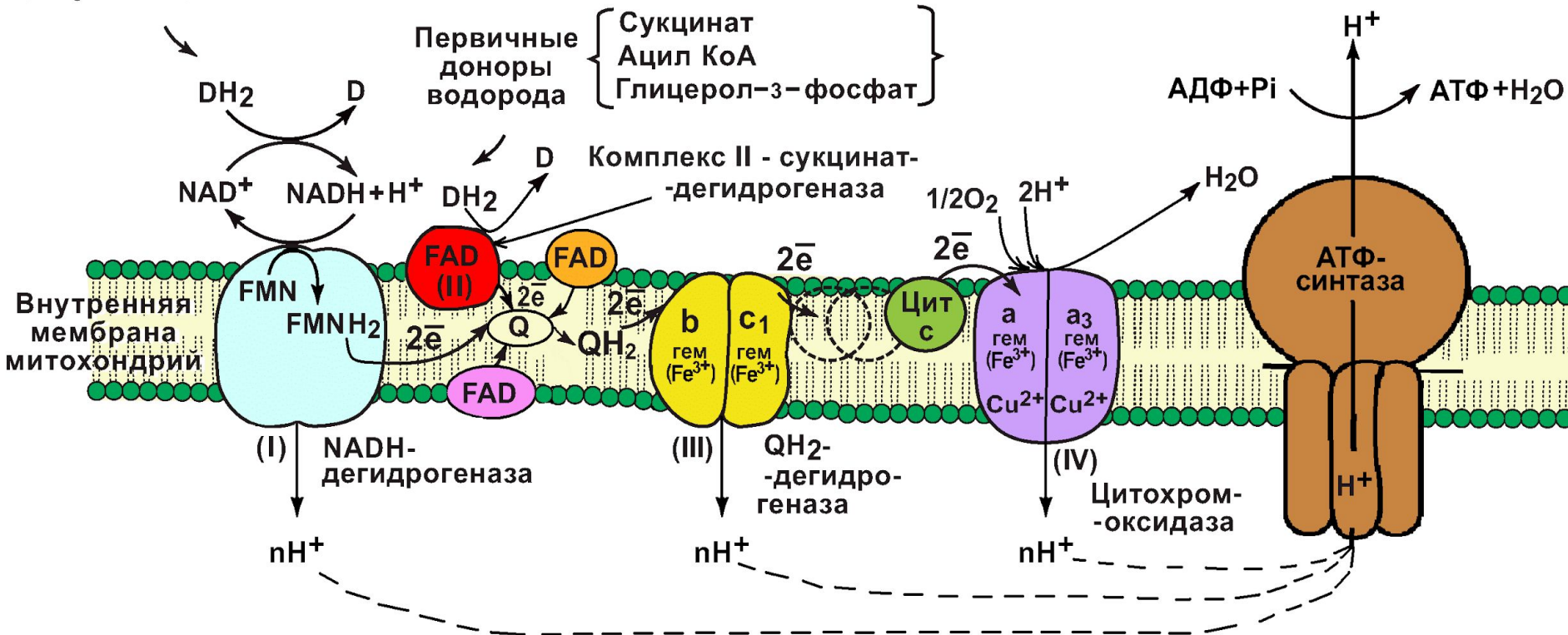
- Малат
- Пируват
- Изоцитрат
- Глутамат

окисляются  
NAD-зависимыми  
дегидрогеназами

окисляются  
FAD-зависимыми  
дегидрогеназами

Первичные  
доноры  
водорода

- Сукцинат
- Ацил КоА
- Глицерол-3-фосфат



Внутренняя  
мембрана  
митохондрий

Межмембранное пространство

АДФ+Рi → АТФ+H<sub>2</sub>O

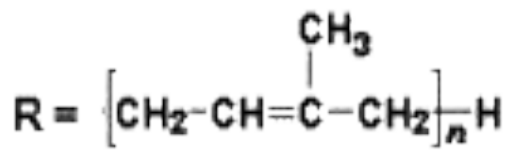
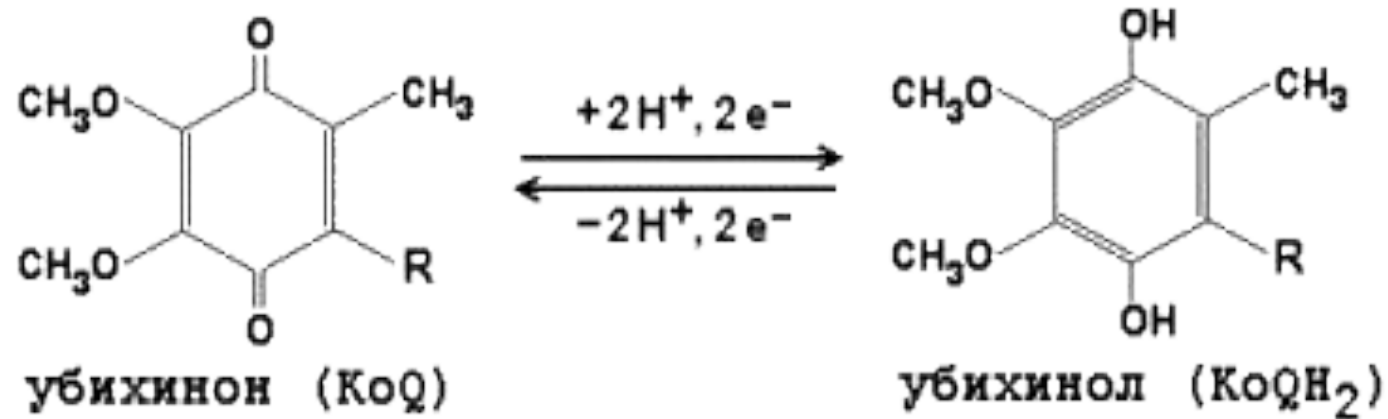
nH<sup>+</sup>

nH<sup>+</sup>

nH<sup>+</sup>

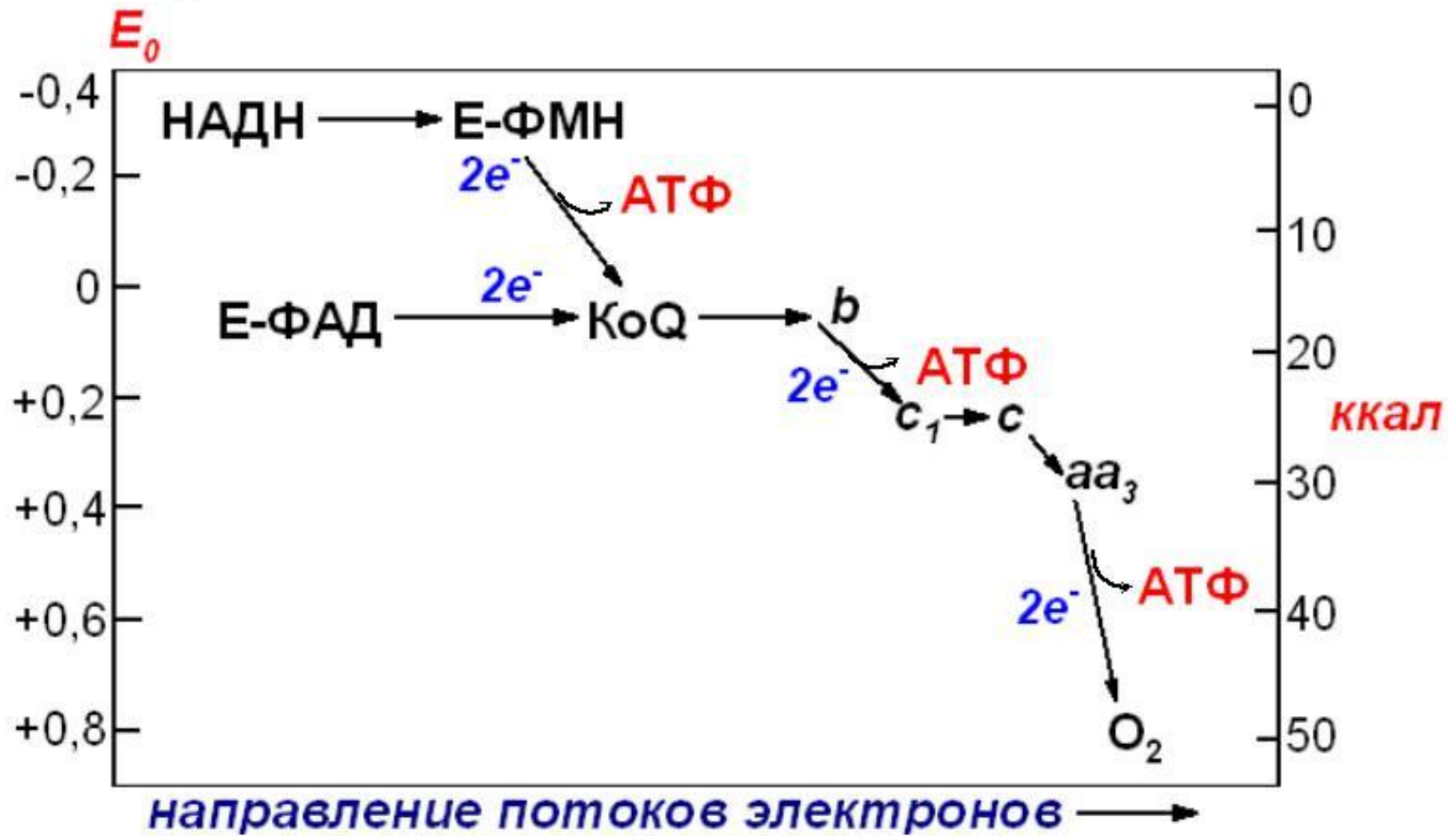
H<sup>+</sup>

- ФП<sub>1</sub> – флавопротеин 1 – НАДН-дегидрогеназа принимает  $2e$ ,  $2H^+$ ; флавинзависимая ДГ имеет простетическую группу ФМН и железосерный комплекс, в которых Fe связано с атомом серы через SH-группы цистеина (негемовое Fe).
- Следующий переносчик  $e$  – убихинон или Q<sub>10</sub> жирорастворимый хинон содержащий 10 остатков изопрена (синтезируется в организме, но с возрастом его синтез снижается). Убихинон выполняет коллекторную функцию и принимает  $e$  и  $H^+$  от ФАД – зависимых ДГ и превращается в восстановленную форму - убихинол
- Убихинол передает  $e$  на систему цитохромов, а  $2H^+$  протона перекачивает из матрикса митохондрий (перенос каждой пары  $e$   $2e$  сопровождается выкачиванием  $4H^+$ ).



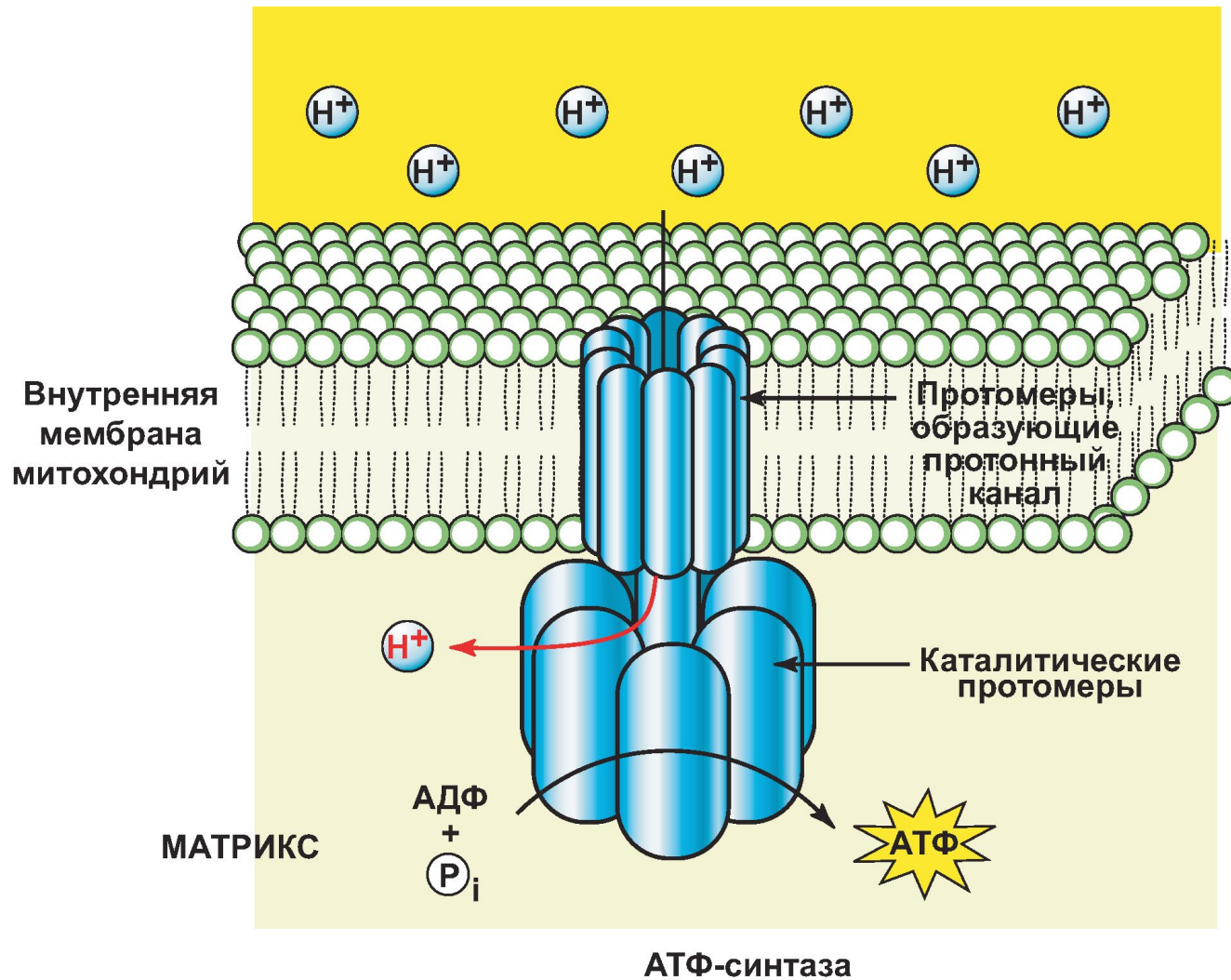
- Цитохромы – сложные белки, содержащие простетическую группу гем, которая принимает и отдает e (гемовое  $\text{Fe}^{2+}$ ).  $\text{Fe}^{3+}_{\text{гем}} \rightarrow \text{Fe}^{2+}_{\text{гем}}$
- Последний цитохром  $\text{aa}_3$  наз. Цитохромоксидаза, передает e на  $\text{O}_2$ .
- Цит.  $\text{aa}_3$  содержит 2 молекулы гема и 2 атома  $\text{Cu}^+$ .
 

$$\begin{array}{ccc} e & & e \\ \text{Fe}^{3+}_{\text{гем}} \rightarrow \text{Fe}^{2+}_{\text{гем}} & & \text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^+ \end{array}$$
- Все ферменты ДЦ расположены в соответствии со своим ок-восст. потенциалом – (т.е. способностью принимать и отдавать e). Электроны движутся от электро «-» потенциала к  $\text{O}_2$  (электро «+» потенциалом).



- На участках перепада ок.-в. потенциала при движении  $e$  выделяется полезная свободная энергия, которая на 55% рассеивается в виде тепла, а 45% используется на синтез АТФ. Эти участки ДЦ называются участками сопряжения окисления и фосфорилирования и **тип образования АТФ называется окислительным фосфорилированием.**
- Энергетический выход
- В полной цепи при окислении НАДН – 3 АТФ
- В короткой цепи при окислении ФАД<sub>2</sub>Н – 2 АТФ

# Строение АТФ-синтазы



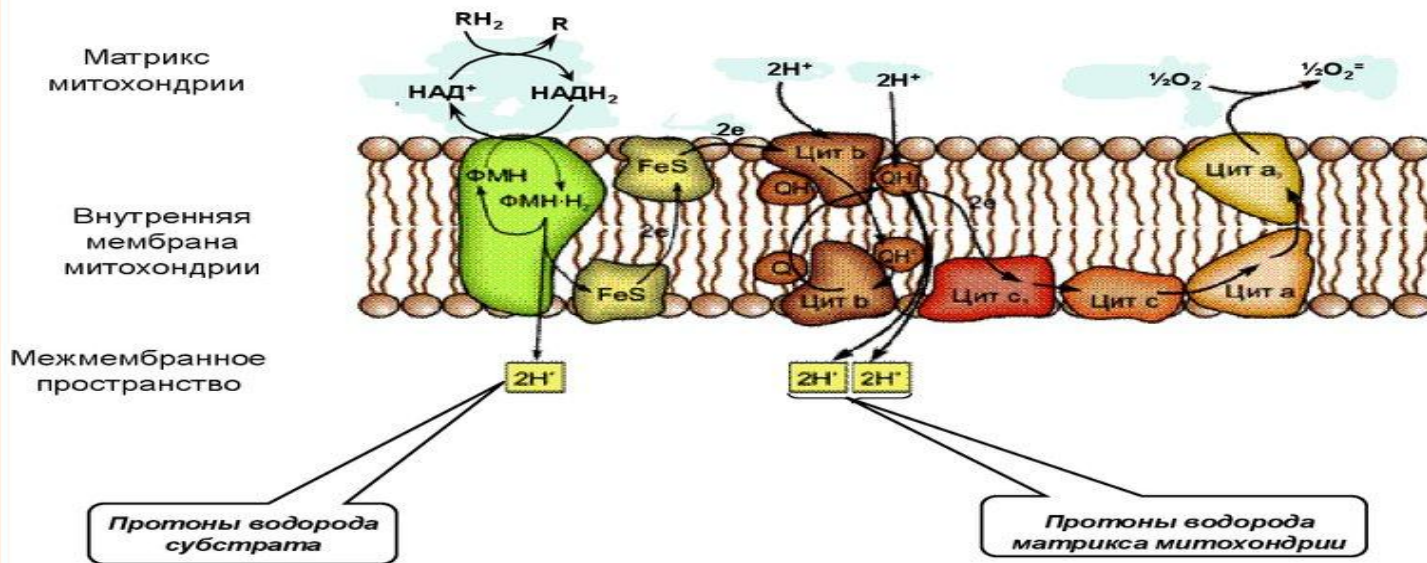
# Хемиосмотическая теория Митчелла

## Сопряжение окисления и фосфорилирования (Нобелевская премия в 1978 г.)

- Мембрана мх должна быть интактной, целостной.
- Мембрана мх д.б. непроницаемой для  $H^+$  и катионов.
- На мембране образуется электрохимический потенциал, необходимый для работы АТФ-синтетазы
- В процессе синтеза АТФ имеет место сопряжение окисления и фосфорилирования.



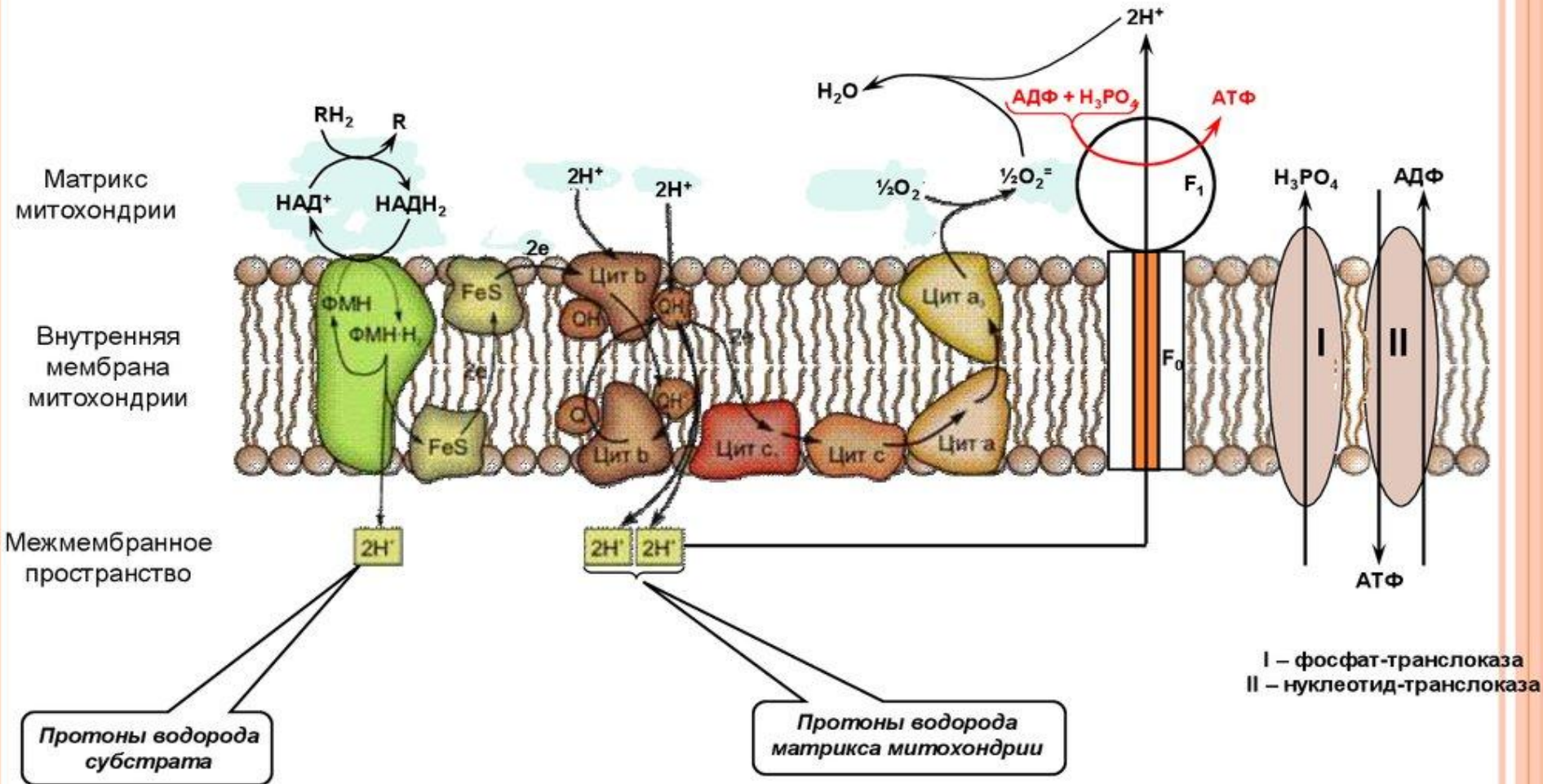
# ТЕОРИЯ МИТЧЕЛЛА

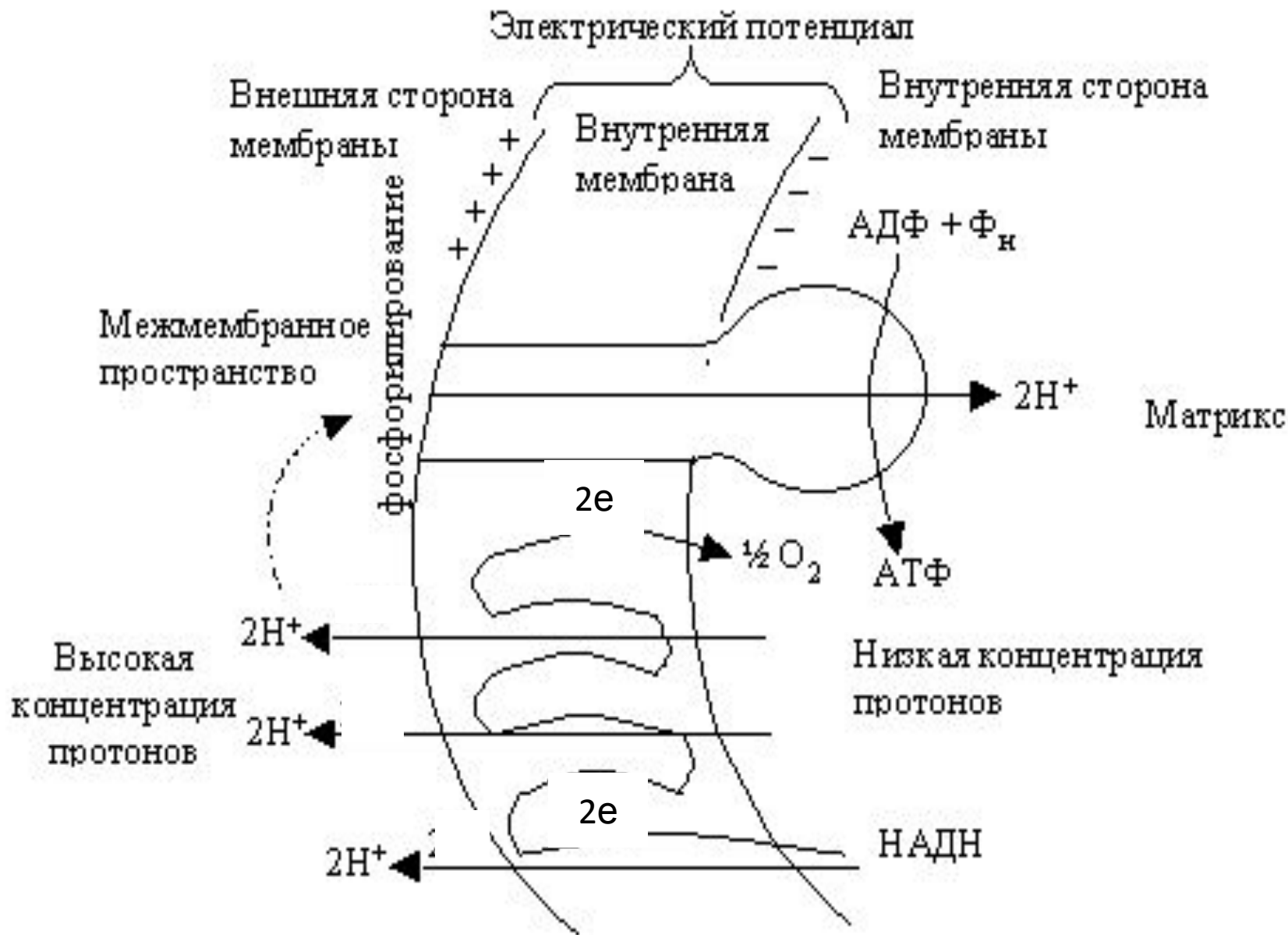


Дыхательная цепь выполняет роль **протонного насоса**, перекачивая протоны в межмембранное пространство (пространство между наружной и внутренней мембранами митохондрии).

В результате между поверхностями мембраны создаётся разность потенциалов.

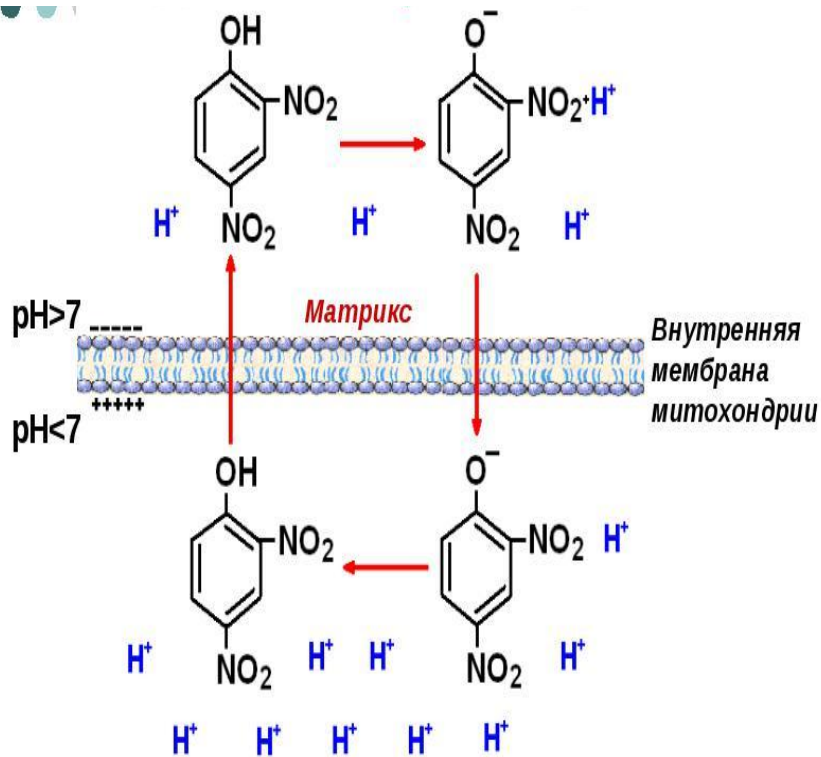
# ТЕОРИЯ МИТЧЕЛЛА





- Перенос  $2e$  по ДЦ на  $O_2$  сопровождается выкачиванием  $2H^+$  протонов из матрикса в межмембранное пространство, возникает трансмембранный потенциал - это разность заряда и рН среды ( $\Delta\mu H^+$ ). Протоны проходят через АТФ – синтазу (протонный канал) и одновременно с образованием АТФ образуется вода  $1/2O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O$ .
- АТФ – синтаза использует полезную энергию и катализирует реакцию фосфорилирования
- АДФ + ФН  $\rightarrow$  АТФ. Это осуществляется путем **сопряжения окисления и фосфорилирования**. Если мембрана повреждена  $H^+$  проходят в матрикс мх, минуя АТФ-синтазу,  $\Delta\mu H^+$  потенциал падает АТФ не образуется эффект называется разобщением окисления и фосфорилирования

# Действие разобщителей

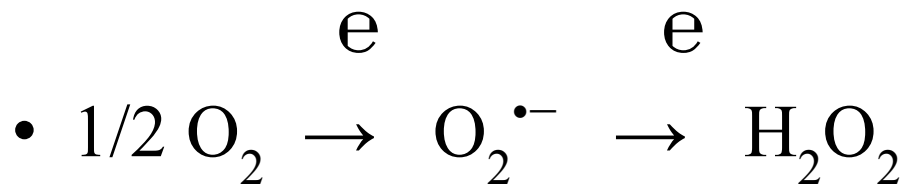


- *Разобщители* – вещества липофильной природы снижают  $\Delta \mu_{H^+}$  потенциал, ↓ синтез АТФ, а процессы окисления НАДН и перенос  $e^-$  продолжается .
- *2,4-динитрофенол* переносит  $H^+$  из межмембранного пространства в матрикс мх минуя АТФ-синтазу. АТФ не синтезируется, а энергия выделяется в виде тепла.

- Протонофоры способны переносить ионы из межмембранного пространства через мембрану в матрикс, минуя протонные каналы АТФ-синтазы, что ведет к исчезновению электрохимического потенциала, т.е. синтезу АТФ. Это явление называют *разобщением дыхания и фосфорилирования.*

## Разобшцители дыхательной цепи

- *Ионофоры* переносят катионы, снижают  $\Delta \mu_{\text{H}^+}$  и синтез АТФ.
- Дикумарол ( $\text{Ca}^{2+}$ ), грамицидин ( $\text{Ca}^{2+}$ ), валиномицин ( $\text{K}^+$ ), нигерицин ( $\text{K}^+$ )
- *Активные формы кислорода* нарушают проницаемость мембраны и вызывают эффект разобшщения.



# 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  $\uparrow \rightarrow$   $\beta$ -окисление  $\uparrow \rightarrow$  открытие протонного канала термогенина  $\rightarrow Q \uparrow$



# Факторы, повышающие эффективность работы ДЦ

- Глицерофосфолипиды как структурный компонент клеточной мембраны мх.
- КоQ и препараты убихинола
- Антиоксиданты витамины E, C, A и др.

# Ингибиторы дыхательной цепи

Ингибиторы действуют на точки сопряжения окисления и фосфорилирования

- ФМН – [ Fe-S ] — барбитураты (амитал), ротенон (токсичное в-во некоторых водорослей), ацетальдегид (метаболизм алкоголя)

Блокируют перенос  $e$  на  $O_2$  и синтез АТФ. В данной ситуации возможно запустить короткую дыхательную цепь с использованием сукцината.

- цит  $b \rightarrow$  цит  $c_1$  — антибиотик антимицин А

Наиболее опасное действие ингибиторов

- цит  $aa_3$  —  $CN^-$ ,  $CO$ ,  $H_2S$  блокируется перенос  $e$  на  $O_2$ , снижается выработка АТФ, возникает гипоксия вплоть до летального исхода.

# Действие ингибиторов на дыхательную цепь

