Брожения. Типы жизни, основанные на субстратном фосфорилировании

А. *Общая характеристика процессов брожения*

Брожение *– это процесс неполного окисления с переносом электронов и протонов на эндогенный конечный акцептор и субстратным синтезом АТФ*

Сбраживаемые субстраты и образующиеся продукты

- Круг сбраживаемых субстратов очень широк: *углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины, реже углеводороды.*
- *Продукты брожения: молочная, уксусная, масляная, пропионовая, муравьиновая и другие кислоты; этиловый, пропиловый, изопропиловый, бутиловый и другие спирты; ацетон, CO_2 и H_2.*

Энергетическая характеристика брожения

- Неполное окисление – энергетический выход невелик;
- Часть энергии аккумулируется в виде АТФ, который синтезируется в ходе окисления (субстратное фосфорилирование); Реакции, ведущие к синтезу АТФ делят на два типа:

1. Окислительно-восстановительные реакции (гликолиз)
2. Расщепление субстратов или промежуточных продуктов. Например:

Энергетическая характеристика брожения

Ксилулозо-5-ф + H_3PO_4 → 3-ФГА + ацетилфосфат + H_2O

ксилулозо-5-фосфатлиаза

CH_3-CO~PO_4^- + АДФ → CH_3COOH + АТФ

Ацетилфосфат

Цитруллин + H_3PO_4 → орнитин + H_2N-CO~ PO_4^-

цитруллинлиаза карбамоилфосфат

H_2N-CO~ PO_4^- + АДФ → H_2N-COOH + АТФ

карбомат

Особенностью прокариотов является использование тиоэфиров для синтеза АТФ через стадию образования ацетил- или ацилфосфатов.

Главные реакции синтеза субстратного АТФ

Ацетилфосфаткиназа

- 1. CH_3-CO~PO_4^- + АДФ → CH_3COOH + АТФ

  Ацетилфосфат уксусная кислота

1,3-дифосфоглицераткиназа

2. 1,3-дифосфоглицерат + АДФ → 3-фосфоглицерат + АТФ

пируваткиназа

3. Фосфоенолпируват + АДФ → пируват + АТФ

Другие реакции, встречающиеся в специфических видах брожения

- Например, сбраживание пиримидинов и аргинина р.*Streptococcus:*

  $H_2N\text{-}CO\sim PO_4^-$ + АДФ → $H_2N\text{-}COOH$ + АТФ

  карбамоилфосфат карбомат

- Один из видов р. *Clostridium:*

  НСО~ТГФК + АДФ + H_3PO_4 → НСООН + АТФ + ТГФК

  формилтетрагидрофолат муравьиновая кислота

Все процессы субстратного фосфорилирования локализованы в цитоплазме.

Особенности акцептирования электронов

- Природа акцептирования электронов определяет: степень окисления субстрата; количество выделяемой энергии; характер образующихся продуктов.
- Акцепторы *обязательно* эндогенного происхождения: пировиноградная кислота; уксусный альдегид; бутиловый альдегид и другие.
- Низкий энергетический выход – большое количество окисляемого субстрата, большое количество образующихся продуктов.
- Накопление продуктов брожения в среде – снижение скорости роста и гибель.

Гомоферментативное молочнокислое брожение

- Основной путь окисления – гликолиз (путь Эмбдена-Мейергофа-Парнаса).
- Основной окисляемый субстрат – глюкоза. Дисахариды: лактоза, мальтоза и другие гидролизуются. Моносахара превращаются в глюкозу.

1. Лактоза + H_2O → глюкоза + галактоза

   β-галактозидаза

Галактоза + H_3PO_4 → галактозо-1-фосфат

галактозо-1-фосфат + УДФ-глюкоза →глюкозо-1-фосфат + УДФ-галактоза↔УДФ-глюкоза

Гомоферментативное молочнокислое брожение

2. Мальтоза. Имеют фермент, расщепляющий мальтозу с одновременным фосфорилированием без затраты АТФ: мальтофосфорилаза

Мальтоза + H_3PO_4 → глюкозо-1-фосфат + глюкоза

3. Полисахариды расщепляются также без дополнительных затрат энергии с последовательным отщеплением глюкозо-1-фосфата.

Синтез АТФ идет в 1,3-дифосфоглицератфосфаткиназной и пируваткиназной реакциях.

Акцептор электронов: пировиноградная кислота:

CH_3-CO-COOH + НАДН + H^+ ↔ CH_3-CHOH-COOH + $НАД^+$

Лактатдегидрогеназа бактерий, осуществляющих МКБ, обладает высоким сродством к пирувату.

Бактерии, осуществляющие гомоферментативное МКБ

- Стрептококки из родов: *Streptococcus, Pediococcus*
- Лактобактерии из родов: *Lactobacillus, Lactobacterium*

Лактатдегидрогеназа у разных видов содержится в виде оптических изомеров, поэтому продуцируется D- или L-молочная кислота.

Бактерии аэротолерантные анаэробы, в клетках присутствует большое количество флавинзависимых оксигеназ, продуцирующих H_2O_2. Каталазы нет, перекись накапливается в клетках и генерирует супероксид, который нейтрализуется Mn^{2+} (30 mM). Также для защиты от кислорода используются метаболиты: насыщенные жирные кислоты; липиды; аминокислоты; нуклеотиды.

Бактерии, осуществляющие гомоферментативное МКБ

- Конструктивный метаболизм: слабое развитие биосинтетических путей. Растут на богатой органикой средах - сапротрофы: молоке, молочных продуктах, животных и растительных остатках, в ЖКТ и слизистых оболочках животных.
- Используются для получения различных молочнокислых продуктов, солений, квашений и силоса.
- Скисание сливок для получения сливочного масла: *Str. Lactic*. Образуют *ацетоин и диацетил. Субстрат – лимонная кислота.*

цитратлиаза

Цитрат → уксусная + щавелевоуксусная кислота

Бактерии, осуществляющие гомоферментативное МКБ

оксалоацетатдекарбоксилаза

- $HOOC\text{-}CH_2\text{-}CO\text{-}COOH \rightarrow CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + CO_2$

Оксалоацетат пируват

Метаболизм ПВК идет двумя путями:

1. Восстановление до молочной кислоты
2. Декарбоксилирование с участием КоА в ацетил-КоА

$CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + КоА\text{-}SH \rightarrow CO_2 + CH_3\text{-}CO\sim S\text{-}КоА$

$CH_3\text{-}CO\sim S\text{-}КоА + CH_3\text{-}CO\sim S\text{-}КоА \rightarrow CH_3\text{-}CO\text{-}CO\text{-}CH_3 + 2КоА$

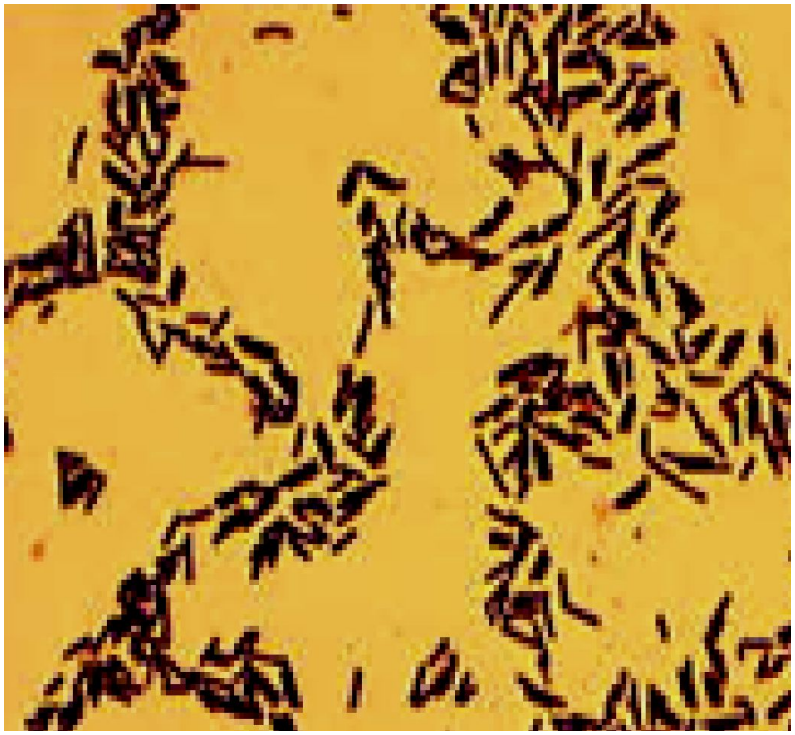
диацетил

$CH_3\text{-}CO\text{-}CO\text{-}CH_3 + НАДН + H^+ \rightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}CO\text{-}CH_3 + НАД^+$

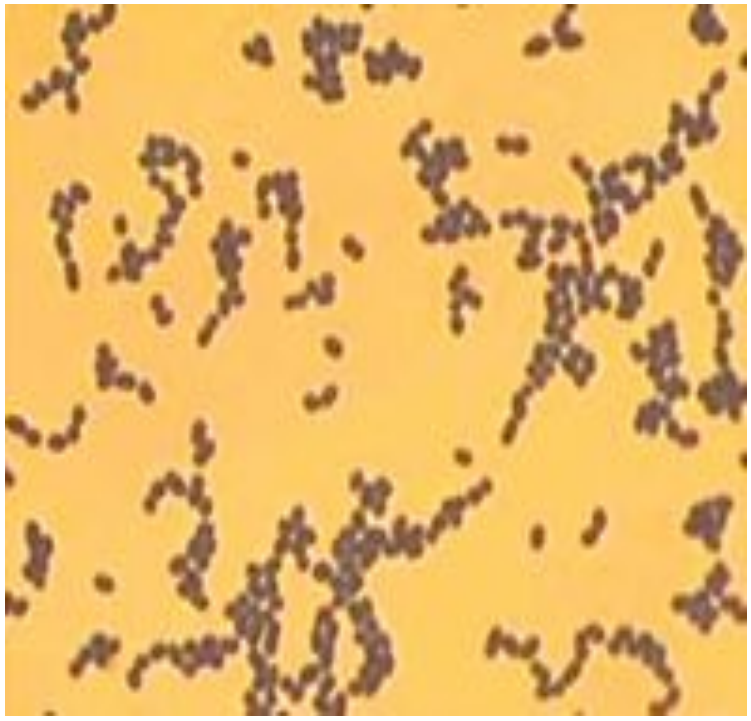
ацетоин

Биохимический смысл – дополнительные пути регенерации $НАД^+$ без закисления среды.

Бактерии, осуществляющие гомоферментативное МКБ



Лактобактерии



Стрептококки

Гетероферментативное молочнокислое брожение

- Начальный этап: реакции ПФ пути окисления глюкозы:

Г-6-Ф-дегидрогеназа

Глюкозо-6-фосфат + $НАДФ^+ \rightarrow$ 6-фосфоглюколактон + НАДФН + H^+

лактоназа

6-фосфоглюлактон + $H_2O \rightarrow$6-фосфоглюконовая кислота

6-фосфоглюконатДГ

6-фосфоглюконат + $НАДФ^+ \rightarrow$рибулозо-5-фосфат + CO_2 + НАДФН + H^+

Гетероферментативное молочнокислое брожение

эпимераза

- Рибулозо-5-фосфат ↔ ксилулозо-5-фосфат

Преимущества: Восстановление $НАДФ^+$; образование пентоз для синтеза нуклеотидов.

Использование пути с энергетической целью: появление фермента – *фосфопентокетолазы:*

Ксилулозо-5-фосфат + H_3PO_4 → CH_3-CO~PO_4^- + 3-ФГА

Пути превращения ацетил-фосфата:

CH_3-CO~PO_4^- + АДФ → CH_3COOH + АТФ

CH_3-CO~PO_4^- + НАДН + H^+ → CH_3COH + $НАД^+$ + H_3PO_4

CH_3COH + НАДН + H^+ → CH_3-CH_2-OH + $НАД^+$

↓

гликолиз

↓

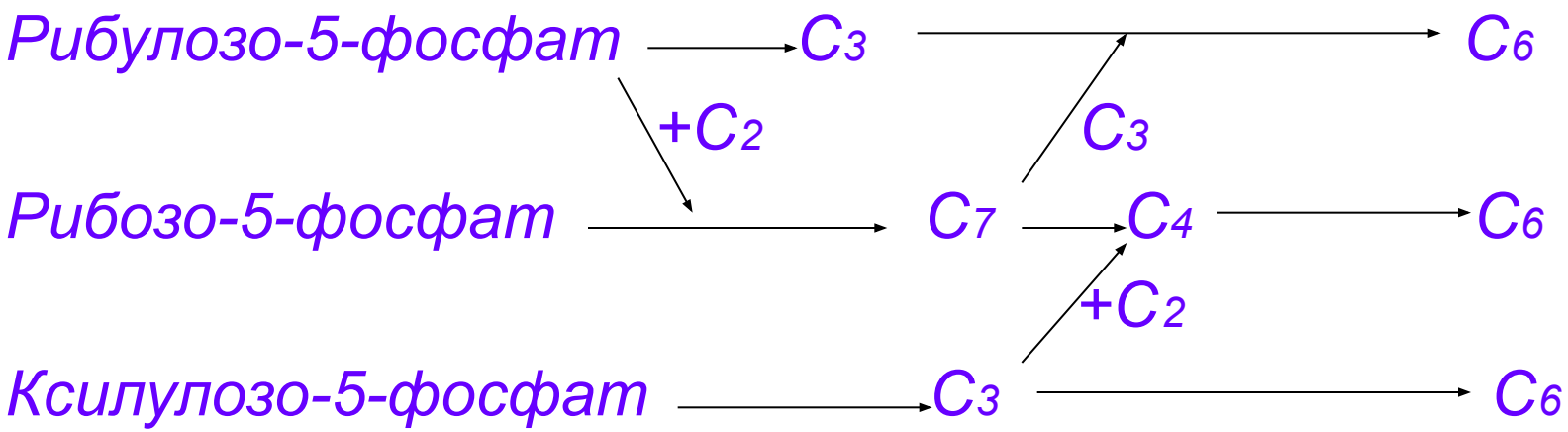
Молочная кислота

Гетероферментативное молочнокислое брожение

- Конечные продукты брожения: этиловый спирт, молочная кислота, углекислый газ, уксусная кислота.
- Если брожение идет с образованием уксусной кислоты: 1 молекула глюкозы – 2 АТФ (3-1);
- Если до этанола: 1 молекула глюкозы – 1 АТФ (2-1).
- Бактерии, осуществляющие гетероферментативное МКБ: род *Lactobacterium.* Подразделяют на 2 подрода: *Betabacterium; Streptobacterium.*
- *Подрод Betabacterium – облигатные, не имеют ферментов – альдолазы и триозофосфат-изомеразы.*
- *Подрод Streptobacterium – факультативные, формируют цепочки.*

Пентозофосфатный цикл

- Окислительный ПФП в дальнейшем замыкается в цикл и служит у многих бактерий для синтеза сахаров. Система включает два основных фермента: *транскетолазу и трансальдолазу* и производит гексозы:



Трансальдолазные и транскетолазные реакции

ТА

- Ксилулозо-5-фосфат + рибозо-5-фосфат →3-ФГА + седогептулозо-7-фосфат

ТК

- 3-ФГА + седогептулозо-7-фосфат → эритрозо-4-фосфат + фруктозо-6-фосфат

ТА

- Эритрозо-4-фосфат + ксилулозо-5-фосфат → 3-ФГА + фруктозо-6-фосфат

Путь Энтнера-Дудорова

- Модификация ПФП расщепления глюкозы:

  дегидратаза

- 6-фосфоглюконовая кислота → 2-кето-3-дезокси-фосфоглюконовая кислота + H_2O

  лиаза

2-кето-3-дезоксиглюконовая к-та → ПВК + 3-ФГА

3-ФГА → гликолиз

ПВК → ацетил-КоА

Результат пути: 1 молекула АТФ (2-1); НАДН и НАДФН

Бактерии: широкий круг, грам(-), факультативные аэробы: р. Azotobacter, Pseudomonas, Alcaligens, Rhizobium, Spirillum, Xantomonas, Thiobacillus

Путь Энтнера-Дудорова

- У анаэробов встречается редко. *Zymomonas mobilis.* Происходит от ЦХ-содержащих аэробов. Встречается также у некоторых представителей р. *Clostridium*.
- Происхождение пути: ответвление от ПФП как скорейший путь образования ацетил-КоА для его дальнейшего окисления в цикле трикарбоновых кислот.