

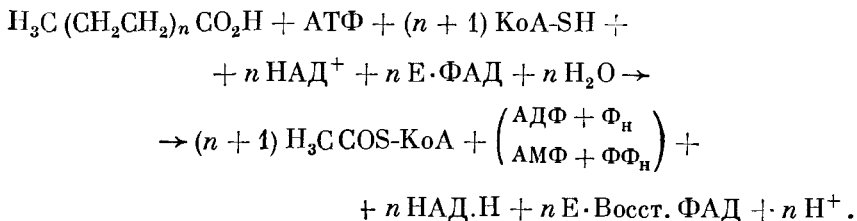
БИОЭНЕРГЕТИКА ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ

§ 13.1. Биологическое окисление

Биоэнергетические процессы, приводящие к синтезу АТФ, к «зарядке биологических аккумуляторов», протекают в мембранах *митохондрий*. В них локализованы и пространственно организованы молекулярные системы, ответственные за энергетику живых организмов. Синтез АТФ в митохондриях сопряжен с электронным и ионным транспортом и с механохимическими явлениями. Функции митохондриальных мембран весьма сложны и многообразны. Другой тип биоэнергетических сопрягающих мембран — мембраны хлоропластов растений, ответственные за фотосинтез,— рассматривается в гл. 14. У бактерий сопряжение реализуется в плазматических мембранах.

Источником энергии, расходуемой клеткой на все ее нужды, является дыхание, т. е. окисление органических соединений кислородом воздуха. В 1780 г. Лавуазье показал, что дыхание и горение имеют единую природу. За последние два столетия исследования химиков, биологов и физиков привели к раскрытию основных особенностей биологического окисления.

«Топливо», т. е. окисляемые вещества, поступает в организм животного с пищей в виде жиров, углеводов и белков. Они расщепляются, т. е. гидролизуются в реакциях, катализируемых специальными ферментами,— жирные кислоты активируются с участием ферментов и АТФ, превращаясь в ацилпроизводные кофермента А (с. 42). Окисление ацилпроизводного КоА-SH происходит в ряде стадий, на каждой из которых образуется остаток жирной кислоты, содержащей на два атома углерода меньше, чем предыдущий. Полное уравнение реакции окисления жирной кислоты с четным числом атомов углерода до ацетил-S-КоА имеет вид



Здесь НАД — кофермент никотинамидениндинуклеотид (с. 41), E — фермент, ФАД — кофермент флавинадениндинуклеотид. При разрушении жиров в конечном счете образуется ацетил-КоА, а также пропионил-КоА и глицерин.

Расщепление и окисление углеводов (в частности, крахмала) приводят к образованию триозофосфатов и пировиноградной кислоты (пирувата). При разрушении белков, наряду с индивидуальными аминокислотами, образуются ацетил-КоА, оксалоацетат,

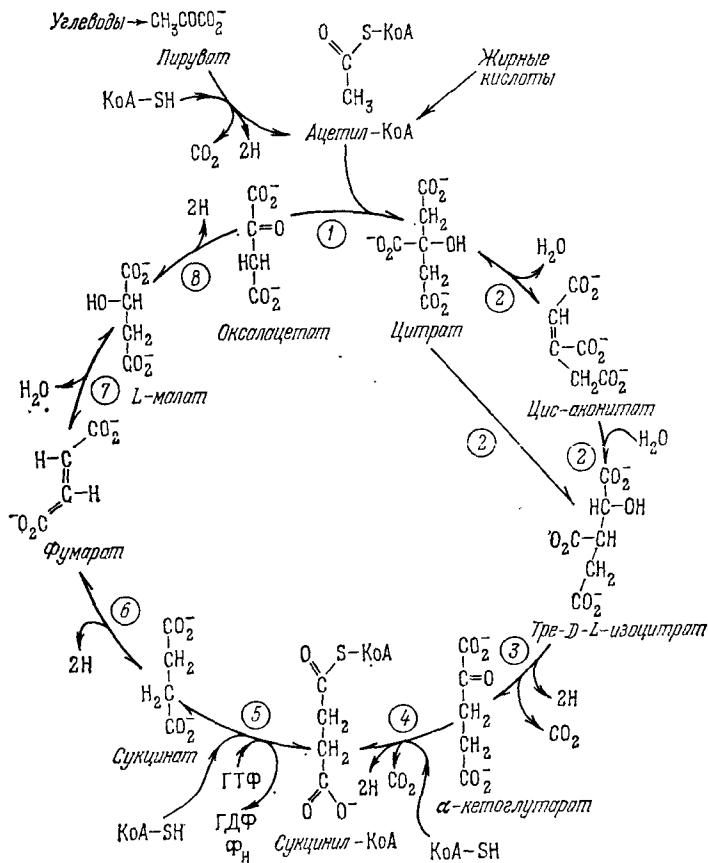


Рис. 13.1. Цикл Кребса

α -кетоглутарат, фумарат и сукцинат (янтарная кислота). Эти процессы метаболизма детально изучены в современной биохимии (§ 2.10).

Полученные вещества претерпевают дальнейшие превращения в циклической системе реакций, именуемой циклом лимонной кислоты (или циклом трикарбоновых кислот) или *циклом Кребса*. Эта система локализована в митохондриях.

Цикл Кребса изображен на рис. 13.1. За один оборот цикла, состоящего из восьми реакций, отмеченных на рисунке цифрами, происходит деградация одной молекулы ацетил-КоА или одной молекулы пирувата до CO_2 и H_2O , т.е. «сгорание» этих молекул.

От цикла Кребса идут пути многих биосинтетических реакций — синтеза углеводов, липидов, пуринов, пиримидинов и порфиринов. Синтез белков также связан с циклом, в котором создаются предшественники ряда аминокислот. В то же время биологическое окисление служит источником энергии, запасаемой в АТФ.

В реакциях цикла возникают CO_2 и ионы H^+ . Одновременно происходит восстановление коферментов НАД. Для непрерывного и полного биологического окисления эти коферменты должны

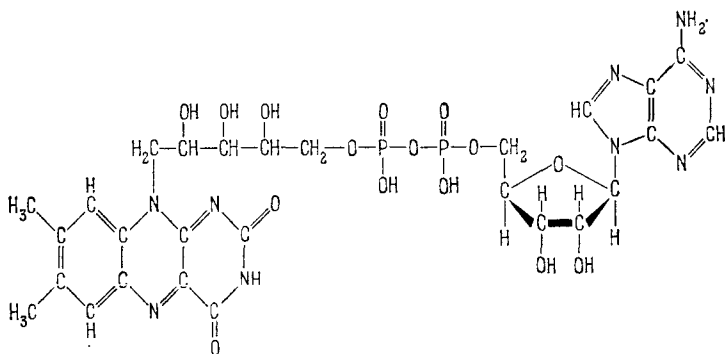
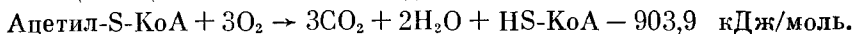


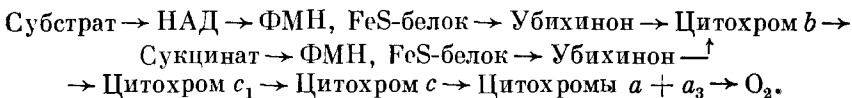
Рис. 13.2. Флавинадениндинуклеотид (ФАД)

окисляться вновь. Окисление осуществляется совокупностью переносчиков электронов, образующих *дыхательную цепь* или *цепь переноса электронов* (ЦПЭ). ЦПЭ обеспечивает реакцию $3\text{НАД}\cdot\text{H} + 1,5\text{O}_2 + 3\text{H}^+ \rightarrow 3\text{НАД}^+ + 3\text{H}_2\text{O} - 3 \cdot 220,1 \text{ кДж/моль}$.

Реакция ацетил-КоА имеет вид



ЦПЭ — полиферментная система, акцептирующая электроны из цикла Кребса и цикла окисления жирных кислот. Электрон переносится по цепи



Флавопротеиды — ферменты, содержащие флавиновые коферменты — ФАД (рис. 13.2) и флавин-моноклеотид ФМН, рибофлавин-5'-фосфат. Цитохромы содержат группу гема, атом железа которого при работе цепи подвергается окислению и восстановлению:



FeS-белок содержит железо и серу, это белок типа ферредоксина. Перенос электронов с приведенной цепи происходит слева направо, завершаясь восстановлением кислорода, который соединяется с H^+ и образует воду. Освобождаемый при окислении электрон соединяется со следующим звеном цепи. Перенос электронов сопровождается изменением свободной энергии, так как электроны перемещаются по каскаду возрастающих окислительно-восстановительных потенциалов. Их значения приведены в табл. 13.1.

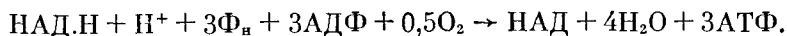
Т а б л и ц а 13.1. Окислительно-восстановительные потенциалы

| Система | φ , В | Система | φ , В |
|--|---------------|----------------------|---------------|
| $H_2O/1/2 O_2$ | 0,82 | Восст. флавин/флавин | -0,185 |
| Цит. <i>a</i> Fe^{2+}/Fe^{3+} | 0,29 | Лактат/пируват | -0,19 |
| Цит. <i>c</i> Fe^{2+}/Fe^{3+} | 0,23 | Восст. НАД/НАД | -0,32 |
| Цит. <i>c</i> ₁ Fe^{2+}/Fe^{3+} | 0,21 | Малат/пируват | -0,33 |
| Цит. <i>b</i> Fe^{2+}/Fe^{3+} | 0,05 | $1/2 H_2/H$ | -0,42 |
| Сукцинат/фумарат | 0,03 | Ацетальдегид/ацетат | -0,60 |
| Глутамат/ α -кетоглутарат | -0,14 | | |

Перенос электронов сопряжен с запасанием энергии в молекулах АТФ. Иными словами, освобождаемая свободная энергия конвертируется в химическую энергию АТФ. Происходит окислительное фосфорилирование.

Это важнейшее явление открыто Энгельгардтом в 1930 г. Белицер и Цыбакова (1939) провели первые определения коэффициента $\Phi : O$, т. е. отношения числа молекул этерифицированного неорганического фосфата к числу атомов поглощенного кислорода, и установили, что значение этого коэффициента не менее двух. В дальнейшем выяснилось, что этот коэффициент в окислительных реакциях цикла Кребса и реакций с участием НАД может достигать пяти.

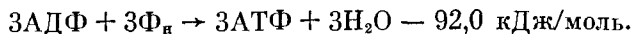
Ленинджер установил, что процессы окислительного фосфорилирования локализованы именно в митохондриях, и в его работах были определены узловые пункты дыхательной цепи, в которых происходит фосфорилирование. Указанное значение $\Phi : O$ следует из уравнения



В этом уравнении суммируются экзергоническая реакция



и эндергоническая реакция



Фосфорилирование происходит в трех узловых пунктах — в участке цепи $НАД.H \rightarrow$ флавопротеид, в участках цитохром *b* \rightarrow цитохром *c*₁ и цитохром *c* \rightarrow цитохромы *a* + *a*₃.

Общая схема сопряжения окисления с фосфорилированием приведена на рис. 13.3.

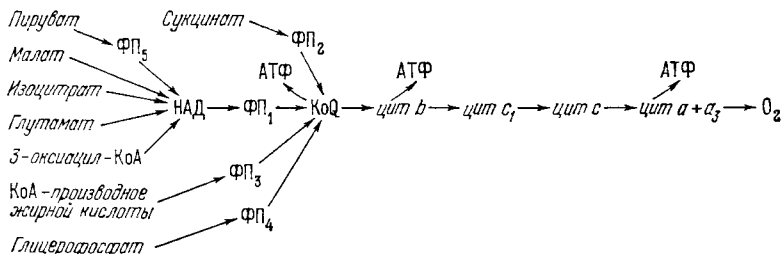
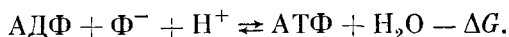


Рис. 13.3. Дыхательная цепь. Прямые стрелки указывают места вхождения электронов; ФП — флавопротеиды, КоQ — кофермент Q

Напишем вновь брутто-уравнение



Изменение свободной энергии ΔG равно

$$\Delta G = \Delta G_0 + RT \ln \frac{[\text{АДФ}][\text{H}_2\text{PO}_4^-][\text{H}^+]}{[\text{АТФ}][\text{H}_2\text{O}]}, \quad (13.1)$$

где

$$\Delta G_0 = -RT \ln K \approx 30,7 \text{ кДж/моль},$$

K — константа равновесия при концентрациях в 0,1М, рН 7,0, 25 °С. При изменениях рН и ионной силы ΔG меняется.

Изменение свободной энергии при переносе двух электронных эквивалентов по ЦПЭ от НАД.Н к O_2 определяется разностью окислительно-восстановительных потенциалов $0,82 - (-0,32) = = 1,14$ (В), т. е.

$$\Delta G = z\Delta\psi = -2 \cdot 23,06 \cdot 4,79 \text{ кДж/моль} = -221,3 \text{ кДж/моль}.$$

Это обеспечивает с избытком синтез трех молей АТФ. Эффективность процесса равна $92/221,3$ (т. е. $\sim 40\%$). Энергия, аккумулированная в АТФ, используется клеткой для выполнения химической, электрической, транспортной и механической работы.

Раскрытие химизма биологического окисления — крупнейшее достижение биохимии.

Особенность системы *окислительного фосфорилирования*, отличающая ее от ферментативных реакций в растворе, состоит в пространственной локализации звеньев многоступенчатого процесса. Окислительное фосфорилирование локализовано в митохондриях и непосредственно связано с функциональностью их мембран.

Расшифровка кратко описанных здесь окислительно-восстановительных реакций была получена в результате применения тонких химических и физических методов. Здесь, в частности,

сыграли большую роль работы Чанса, посвященные спектроскопии переносчиков электронов (НАД, ФП, цитохромов) в интактных митохондриях. Эти переносчики обладают характерными полосами поглощения в видимой и в близкой ультрафиолетовой областях спектра. Разностные спектры позволяют изучать кинетику их окисления и восстановления. Были применены различные способы удаления из митохондрий специфических ферментов и тем самым сохранения лишь определенных звеньев процесса.

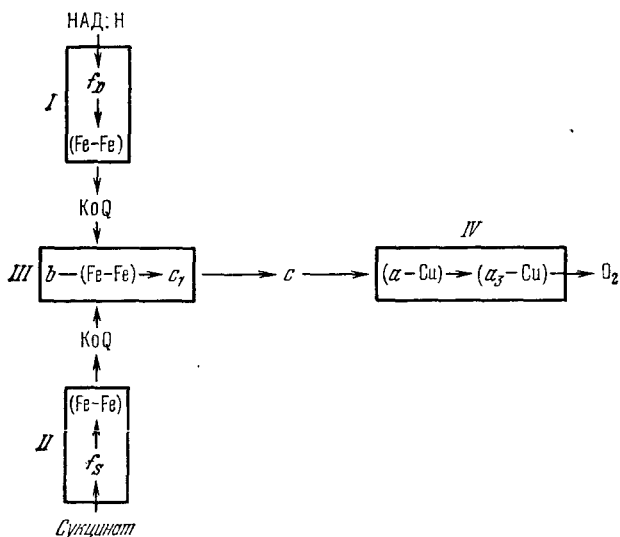


Рис. 13.4. Распределение белков по компонентам ЦПЭ I, II, III, IV: a, b, c, c₁, α₃ — цитохромы, Cu — медьсодержащие белки, (Fe-Fe) — негеминное железо, f_s — сукцинатдегидрогеназа, f_D — НАД·Н-дегидрогеназа

Митохондрии подвергались расчленению, из *субмитохондриальных частиц* (СМЧ) выделялись комплексы дыхательных ферментов, свободные от структурных белков. Такие комплексы оказалось возможным очищать и детально исследовать. Были проведены успешные опыты по восстановлению ЦПЭ из выделенных препаратов и растворимых ферментов. Наконец, очень ценная информация была получена в опытах по ингибированию отдельных стадий процесса и по разобщению окислительного фосфорилирования и переноса электронов.

В основном переносчики ЦПЭ сгруппированы в четыре комплекса, именуемые *комплексами Грина*. Соответствующая схема показана на рис. 13.4. Примерные молекулярные массы комплексов: I — $6 \cdot 10^5$, II — $1,2 \cdot 10^5$, III — $2 \cdot 10^5$, IV — $2 \cdot 10^5$.

Электрон-переносящий комплекс определяется как минимальная единица ЦПЭ, сохраняющая способность переносить электрон со скоростью, сравнимой с таковой в интактных митохондриях.

Строение и функциональная организация митохондрий явились предметом интенсивного изучения. Тем не менее, многие важнейшие вопросы, сюда относящиеся, пока не имеют ответа. Специфическая мембранная структура митохондрий, присутствие в них автономной программы синтеза белков (ДНК), механическая активность митохондрий непосредственно связаны с их ролью «силовых станций» клетки.

§ 13.2. Строение и свойства митохондрий

Митохондрии фигурируют во всех аэробных клетках животных и растений, за исключением некоторых примитивных бактерий, в которых функции митохондрий выполняет плазматическая мембрана. Число этих органелл в клетке различно — от 20—24 в сперматозоидах до 500 000 в клетке гигантской амёбы *Chaos chaos*. Число митохондрий характерно для клеток данного вида, по-видимому, при митозе происходит деление митохондрий и их правильное расхождение в дочерние клетки. Во многих клетках митохондрии образуют непрерывную сеть — митохондриальный ретикулум. Форма, структура и размеры митохондрий также варьируют. Они всегда обладают системой внутренних мембран, именуемых *кристами*. На рис. 13.5 схематически изображена структура митохондрии из печени крысы. Длина ее примерно 3 мкм, ширина 0,5—1 мкм. Поэтому она хорошо видна в оптическом микроскопе. Средняя сухая масса 10^{-13} г. Общая площадь поверхности всех крист составляет 16 мкм², внешней мембраны — 13 мкм². В клетке печени содержится примерно 1000 митохондрий, значит, полная поверхность митохондриальных мембран равна примерно 29 000 мкм², что в десять раз превышает поверхность мембраны самой клетки. Внутренность митохондрии, не занятая кристами, заполнена *матриксом*. Митохондрии содержат так называемые «плотные гранулы», по-видимому, возникающие путем аккумуляции различных ионов, в частности Ca^{2+} .

В митохондриях обнаружена ДНК, в них происходит ДНК-зависимый синтез РНК. В митохондриях представлена вся система биосинтеза белка — в них содержатся тРНК, аминоксил-тРНК-синтетазы и рибосомы.

Мембраны митохондрий тоньше большинства клеточных мембран — их толщина порядка 5 нм. Методами электронной микроскопии установлено, что внутренние мембраны и кристы покрыты сферическими или полиэдрическими частицами диаметром 8—10 нм, прикрепленными к мембранам ножками, имеющими размер $(2-4) \times (4-5)$ нм². Эти структурные элементы весьма многочисленны, до 10^4-10^5 в одной митохондрии, и занимают 10—15% ее объема. На рис. 13.6 показано электронно-микроскопическое изображение крист в митохондрии; видны эти элементарные частицы. Не исключено, однако, что они являются артефактом, возникающим при негативном контрастировании.