

Ключові питання:

*Редокс-потенціал – сила, що визначає напрям потоку електронів на кисень у дихальному ланцюгу.*

*Багатоланковий дихальний ланцюг – умова поступового звільнення енергії електронів*

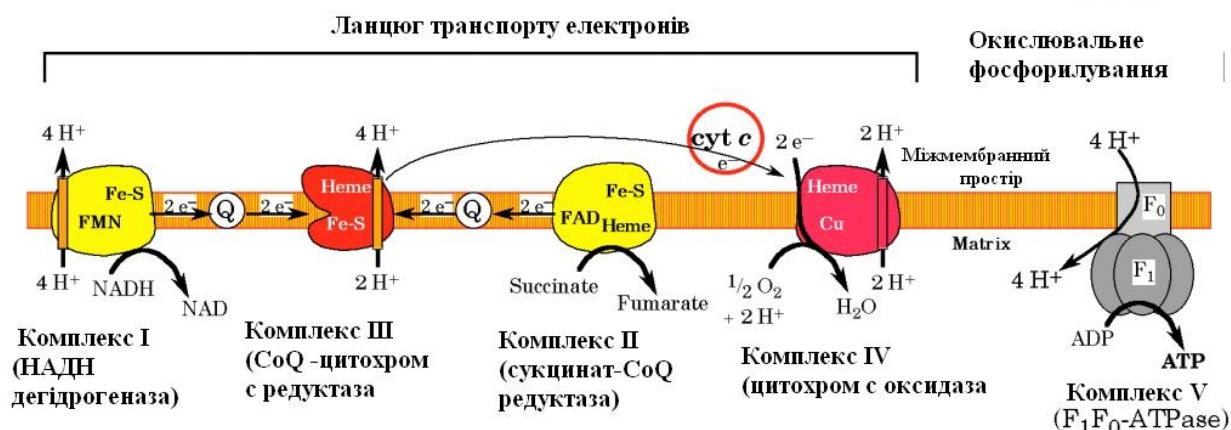
*Вільна енергія електронів забезпечує трансмембранний перенос протонів.*

*Дифузія протонів через білки мембрани призводить синтез АТФ!*

Наше завдання – уявити механізм переміщення протонів і електронів з відновлених у реакціях ЦТК коферментів у дихальному ланцюгу внутрішньої мембрани мітохондрій.

### Мітохондріон

Велика частина аеробного окислення біомолекул у еукаріот відбувається в мітохондрії. Ця органела є місцем циклу лимонної кислоти і окислення жирних кислот, обидва з яких генерують відновні коферменти. Коферменти окислюються у транспортних комплексах електронів, структурах, що вбудовані в мітохондріальні мембрани.



Вміст мітохондрій в клітинах різко змінюється. Деякі одноклітинні водорості містять тільки одну мітохондрію в той час як клітина найпростіших *Chaos chaos* містить півмільйона мітохондрій. Клітина печінки ссавців містить до 5000 мітохондрій.

Кількість мітохондрій пов'язана із загальною енергетичною потребою клітини.

Білі м'язові тканини, наприклад, для своїх потреб в енергії покладається на анаеробний гліколіз, тому вони містять відносно мало мітохондрій.

Мітохондрії сильно розрізняються за розміром і формою у різних видів, у різних тканин і навіть в клітинці. Мітохондрії відокремлені від цитоплазми подвійною мембраною. Дві мембрани мають помітно різні властивості. Зовнішня мітохондріальна мембрана має кілька білків. Одним з таких білків є трансмембранний білок порин, який формує канали, що дозволяють вільну

дифузію іонів і водорозчинних метаболітів з молекулярними масами менше 10000. На противагу цьому, внутрішня мітохондріальна мембрана дуже багата білком із співвідношенням білок/ліпід близько 4: 1 за масою. Ця мембрана є проникною для незаряджених молекул, таких як вода,  $O_2$ ,  $CO_2$ , але є перешкодою для протонів і великих полярних та іонних речовин. Ці полярні необхідні речовини активно транспортується через внутрішню мембрану з використанням специфічних транспортних білків, таких як піруват транслоказа. Вступ аніонних метаболітів у негативно заряджений інтер'єр мітохондрії енергетично не вигідно. Такі метаболіти, як правило, обмінюються на інші внутрішні аніони.

Внутрішня мембрана часто вельми складена в результаті чого значно збільшується площа поверхні. Складки називаються кристи. Розширення і складання внутрішньої мембрани також створює значно розширений міжмембранний простір. Зовнішня мембрана вільно проникна для малих молекул, міжмембранний простір має приблизно такий же склад іонів і метаболітів, як цитозоль, який оточує мітохондрію.

Вміст матриці включають дегідрогенази комплексу пірувату, ферменти циклу лимонної кислоти (для сукцинатдегідрогенази комплексу, який крім того вбудований у внутрішню мембрану), і більшість ферментів, які каталізують окислення жирних кислот.

Концентрація білка в матриці дуже висока (наближається до 500 мг /мл). Матрикс також містить метаболіти і неорганічні іони і пул НАД і НАДФ, що залишаються окремо від піридиннуклеотидів коферментів цитозоля. Мітохондріальна ДНК і всі ферменти, необхідні для реплікації ДНК, транскрипції, і трансляції розташовані в матриксі. Мітохондріальна ДНК містить багато з генів, які кодуєть транспортні білки електронного ланцюга.

Дихальний ланцюг, що розташований у внутрішній мембрані мітохондрій, складають чотири білкові комплекси; функцію трансферів між білковими комплексами I, II та III виконує жиророзчинний кофермент Q ( $UQ$ ,  $CoQ$ ), трансфер між III і IV комплексами – водорозчинний білок цитохром c.

Електрони зазвичай потрапляють на кисень по ланцюжку від комплексів I і II до комплексу IV.

### ***Комплекс I – НАДН-КоQ редуктаза***

Склад: білок із м.м. 850-кДа; 1 флавін мононуклеотид (ФМН) - акцептор/донор 1 або 2  $e^-$ ; 6 - 7 залізо-сірчаних кластерів - акцептор/донор 1 або 2  $e^-$ ; коензим Q - акцептор/донор 1 або 2  $e^-$ , гідрофобний хвіст, 10 ізопреноїдних одиниць ( $Q_{10}$ ).

Переносить електрони від NADH на  $CoQ$ .

*Шлях електронів:*

НАДН —>> ФМН —>> FeS —>> UQ —>> FeS —>> UQ.

На кожні 2 електроні поперек мембрани из матриксу у міжмембранний простір за рахунок енергії електронів, що звільнилась на рівні комплексу, – *НАДН-UQ*, у міжмембранний простір *транспортуються чотири H*.

$$\Delta\varepsilon^{\circ} = +0.36 \text{ V}; \Delta G^{\circ} = -70 \text{ кДж.моль}^{-1}$$

*Інгібітори ротенон і амітал*

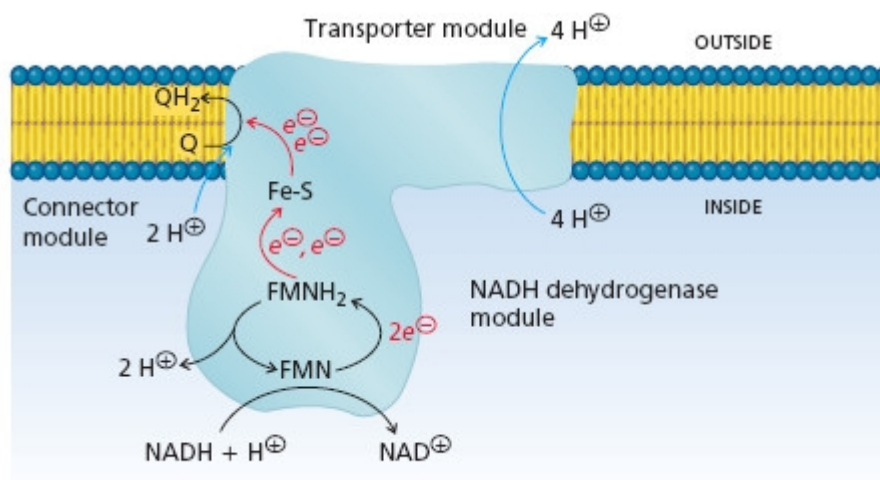
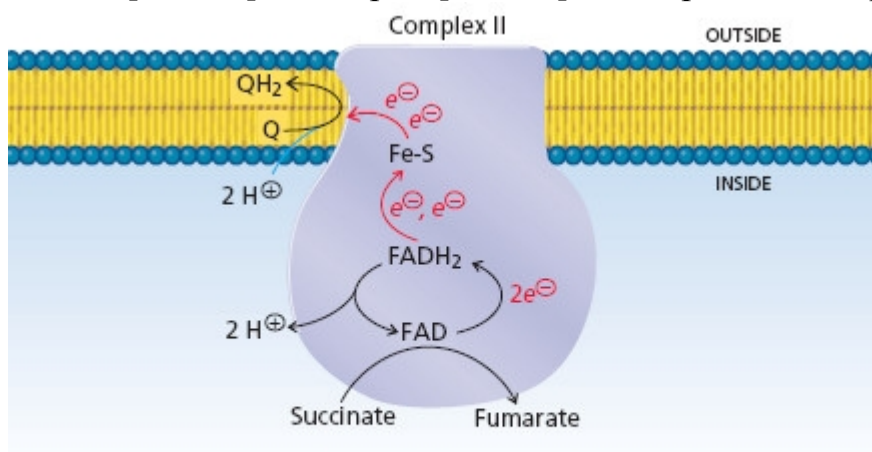


Рис. 1 – Комплекс I дихального ланцюга

### **Комплекс II – сукцинат-СоQ редуктаза**

Склад: сукцинат дегідрогеназа; ковалентне зв'язаний ФАД;  
1 [4Fe-4S] кластер; 2 [2Fe-2S] кластерів; 1 цитохром b<sub>560</sub>



### **Шлях електронів:**

Шлях електронів :

Сукцинат  $\longrightarrow$  FADH<sub>2</sub>  $\longrightarrow$  2Fe<sup>2+</sup> +  $\longrightarrow$  UQH<sub>2</sub>

Чиста реакція:

сукцинат + UQ  $\longrightarrow$  фумарат + UQH<sub>2</sub>

$$\Delta\varepsilon^{\circ} = +0.015 \text{ V}; \Delta G^{\circ} = -2.9 \text{ кДж.моль}^{-1}$$

$\Delta\varepsilon^{\circ}$  комплексу недостатня для транспорту протонів в між мембранний простір.

Редокс-потенціал комплексу недостатній для перенесення протонів.

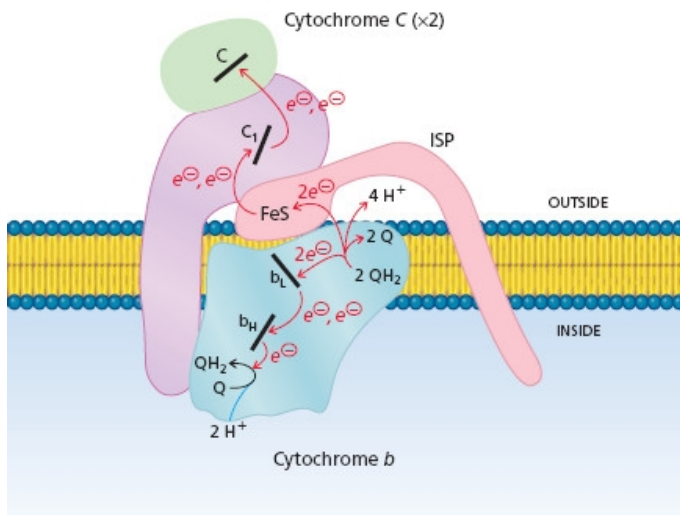
### Комплекс III – CoQ- цитохром с редуктаза

*Комплекс III (коензим Q-цитохром із редуктаза)*

Функція: переносить електрони від CoQ на цитохром с.

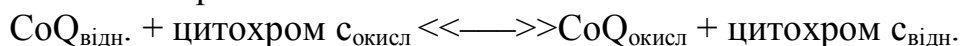
Склад: 2 цитохромів b (цитохром  $b_{562}$  або H і цитохром  $b_{566}$  або L); 1 цитохром  $c_1$ ; 1 [2Fe-2S] кластер (залізо-сірчаний білок Rieske).

Цитохроми мають характерні смуги поглинання й хімічну структуру



CoQ переносе електрони цит с в унікальному циклі, відомого як окислювально-відновний цикл Q. Основний трансмембранний білок в комплексі III є цитохром b – з гемами  $b_L$  і  $b_H$ . Цитохроми і Fe-S кластери – одно електронні передавачі.

Шлях електронів:



$$\Delta \epsilon^{\circ} = +0.58 \text{ V}; \Delta G^{\circ} = -110 \text{ кДж.моль}^{-1}$$

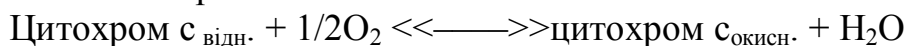
*Інгібітор антимицін А*

*Робота III комплексу забезпечує перекачування 4 протонів.*

### Комплекс IV – цитохром с оксидаза

Склад: комплекс тварин має м.м. ~200-kDa, трансмембранний білок, димер, містить від 6 до 13 суб'єдиниць; суб'єдиниці I і II містять окислювально-відновні центри (редокс-активні центри); 2 гема а (гем а й гем а3); 2 Cu центру (CuA або а й CuB або а3); заряджені залишки Asp/Glu взаємодіють із залишками Lys на поверхні цитохрому с. Реакція циклу протікає через бінуклеарний (Cu-Fe) комплекс і проміжне з'єднання феррил ( $\text{Fe}^{4+}$ ).

Шлях електронів:



$$\Delta \epsilon^{\circ} = +0.58 \text{ V}; \Delta G^{\circ} = -110 \text{ кДж.моль}^{-1}$$

*Інгібітори: ціанід (CN-), CO, азид ( $\text{N}_3^-$ )*

Чотири електрони з цитохрому с використовуються для відновлення молекули кисню і утворення молекули води. Кисень є, таким чином, термінальним акцептором електронів в транспортному шляху електронів.

Цитохром с оксидази використовує 2 гема (а і а<sub>3</sub>) і 2 мідних сайтів  
Комплекс IV також транспортує 2 H<sup>+</sup>

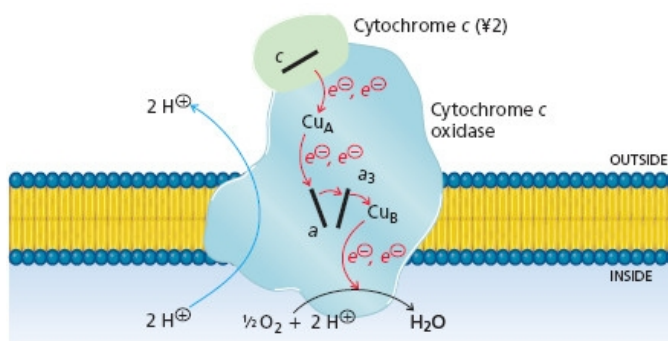
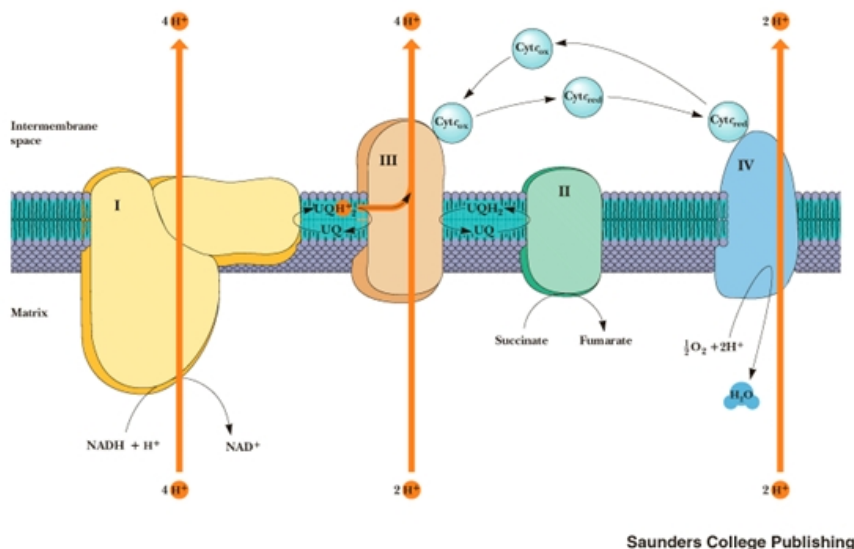


Рис. - Будова та функція комплексу III дихального ланцюга.

### Спряження електронного транспорту і окисного фосфорилювання

*Цей зв'язок був таємницею протягом багатьох років!*

Багато біохіміків розтратили кар'єру в пошуках невиловимого "високої енергії проміжного". Пітер Мітчелл запропонував нову ідею – протонний градієнт через внутрішню мембрану може бути використаний для синтезу АТФ. Мітчелл був висміяний, але хеміосмотическа гіпотеза в підсумку виграла йому Нобелівську премію.



### АТФ-синтаза або комплекс V

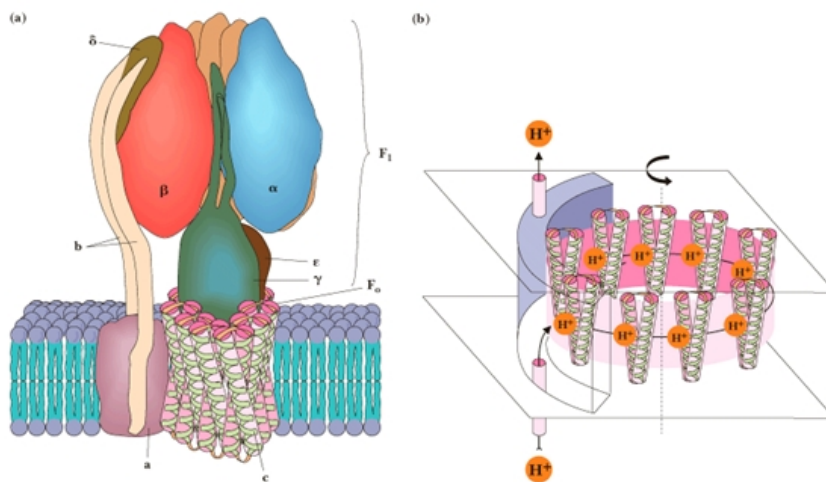
*Дифузія протонів через білки призводить синтез АТФ!*

Через мембрану мітохондрії можуть вільно проникати тільки невеликі незаряджені молекули і гідрофобні молекули. Енергія, яка виділяється при перенесенні електронів по дихальному ланцюгу, призводить до переносу протонів (H<sup>+</sup>) з матриксу мітохондрії в міжмембранний простір. Тому на внутрішній мембрані мітохондрій утворюється градієнт концентрацій

## Лекція 5. Транспорт електронів. Окисне фосфорилювання

протонів: в міжмембранному просторі  $H^+$  стає багато, а в матриксі залишається мало. Утворюється різниця потенціалів 0,14 В – зовнішня частина мембрани заряджена позитивно, а внутрішня – негативно. Нагромаджені в міжмембранному просторі  $H^+$  прагнуть вийти назад в матрикс по градієнту концентрацій, але мітохондріальна мембрана для них непроникна. Єдиний зворотний шлях в матрикс для протонів – через протонний канал ферменту АТФ-синтетази, яка вбудована у внутрішню мембрану мітохондрій

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e  
Figure 21.25

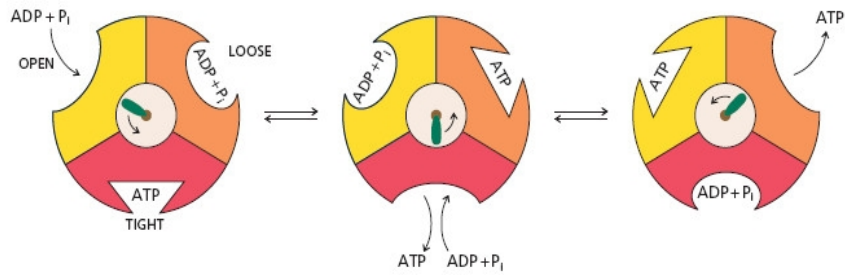


АТФ-синтаза, що транслює протон (АТФаза, що відкачує протони, і  $F_1F_0$ -АТФаза); мультисубодиночний трансмембранний протеїн;  $F_0$  - водонерозчинний трансмембранний білок, який складають 10 - 12 типів суб'єдинць; це канал для переміщення протонів із міжмембранного простору в матрикс, де протони утворюють воду с відновленим киснем. Олігоміцин інгібує синтез АТФ шляхом пов'язання з  $H^+$ , перешкоджає їх транспорту.  $F_1$  - водорозчинний периферичний мембранний білок, який складається з  $\alpha\beta\gamma\delta$  субодиноць (синтез АТФ забезпечує  $\beta$  - субодиноця); Стрижень складається принаймні з двох білків – олігоміцин-чутливого білка (ОЧБ) і сполучаючого чинника 6 (F6).

Механізм синтезу АТФ включає три фази.

- 1) Переміщення  $H^+$  за допомогою  $F_0$ .
- 2).Каталітичне утворення фосфоангідридних зв'язків АТФ  $F_1$
- 3) Сполучення зниження протонного градієнта із синтезом АТФ при взаємодії  $F_0$  і  $F_1$  реалізується в три стадії:

## Лекція 5. Транспорт електронів. Окисне фосфорилювання



- пов'язання АДФ + Фн із "вільним" (L) сайтом;
  - конформаційні зміни L в T (зв'язаний, напружений), обумовлені вільною енергією конформаційної зміни L в "напружену" (T) – центр синтезу АТФ;
  - АТФ синтезується на центрі T на одній суб'єдиниці, звільнення АТФ здійснюється іншою суб'єдиницею, вільна енергія  $H^+$  потоку визначає вивільнення АТФ (тобто, T - O перехід).
- повному окисненні глюкози 29.5 – 31 АТФ.