

Фактори, що визначають утворення АТФ при диханні
 Як регулюється окисне фосфорилування
 Вільне дихання
 Термогенез и дихання

Є п'ять рівнів регулювання окисного фосфорилування:

- пряма модуляція кінетичних параметрів ланцюгу електронного транспорту;
- регулювання внутрішньої ефективності окисного фосфорилування (змінami в протон провідності, в мірі окисного фосфорилування або утворення каналів ланцюга електронного транспорту проміжних субстратів);
- динаміка мітохондріальних мереж (злиття, поділ, рухливість, мембранні ліпіди, склад, набряк);
- мітохондріальний біогенез і деградація;
- клітинне та мітохондріальне мікросередовище.

Ефективність окисного фосфорилування і стан дихання

Ефективність окисного фосфорилування залежить від надходження відновних еквівалентів в електрон-транспортний ланцюг і активності окремих ферментів або ферментних комплексів.

Оптимальна ефективність і коефіцієнт потоку визначаються контролем комплексу I (відображає інтегрований клітинний шлях) та комплексу II (шлях переважно трикарбонових кислот цикл)

Виснаження метаболітів циклу трикарбонових кислот відіграє важливу роль в управлінні потоком окисного фосфорилування.

Для досягнення максимального дихання потрібні потік електронів і відновлення субстратів ЦТК. Окисне фосфорилування управляється також наявністю аденозин-5'-дифосфат для транспортеру аденін нуклеотид у внутрішньої мітохондріальної мембрані.

Комплекс I пропонується рахувати відповідальним за адаптивні зміни та ефективність окисного фосфорилування в фізіологічних умовах. Стехіометрична ефективність окисного фосфорилування визначається кількістю неорганічного фосфату (P_i), що включається в аденозин-5'-трифосфату на кисень, що споживається.

Окислення субстратів і фосфорилування АДФ в мітохондріях міцно поєднані. Швидкість використання АТФ регулює швидкість потоку електронів в ЕТЛ. Якщо АТФ не використовується і його концентрація в клітинах зростає, то припиняється і потік електронів до кисню. З іншого боку, витрата АТФ і перетворення його в АДФ збільшує окислення субстратів і поглинання кисню. Залежність інтенсивності дихання

Лекція. Окисне фосфорилування. Контроль продукції АТФ мітохондрій від концентрації АДФ називають дихальним контролем. Механізм дихального контролю характеризується високою точністю і має важливе значення, так як в результаті його дії швидкість синтезу АТФ відповідає потребам клітини в енергії. Запасів АТФ в клітці не існує. Відносні концентрації АТФ / АДФ у тканинах змінюються у вузьких межах, в той час як споживання енергії клітиною, тобто частота обертів циклу АТФ і АДФ, може змінюватися в десятки разів.

Загальний вміст АТФ в організмі 30-50 г, але кожна молекула АТФ в клітині "живе" менше хвилини. У добу у людини синтезується 40-60 кг АТФ і стільки ж розпадається. Збільшення концентрації АДФ негайно призводить до прискорення дихання і фосфорилування.

Транспорт АТФ і АДФ через мембрани мітохондрій

У більшості еукаріотичних клітин синтез основної кількості АТФ відбувається всередині мітохондрій, а основні споживачі АТФ розташовані поза нею. З іншого боку, в матриксі мітохондрій повинна підтримуватися достатня концентрація АДФ. Ці заряджені молекули не можуть самостійно пройти через ліпідний шар мембран. Внутрішня мембрана непроникна для заряджених і гідрофільних речовин, але в ній міститься певна кількість транспортерів, вибірково переносять подібні молекули з цитозолу в матрикс і з матриксу в цитозоль.

У мембрані є білок АТФ / АДФ - антипортер, здійснює перенесення цих метаболітів через мембрану. Молекула АДФ надходить в мітохондріальний матрикс тільки за умови виходу молекули АТФ з матриксу.

Рушійна сила такого обміну - мембранний потенціал перенесення електронів по ЕТЛ. Розрахунки показують, що на транспорт АТФ і АДФ витрачається близько чверті вільної енергії протонного потенціалу. Інші транспортери теж можуть використовувати енергію електрохімічного градієнта. Так переноситься всередину мітохондрій неорганічний фосфат, необхідний для синтезу АТФ. Безпосереднім джерелом вільної енергії для транспорту Ca^{2+} в матрикс також служить протонний потенціал, а не енергія АТФ.

Роз'єднання дихання і фосфорилування

Деякі хімічні речовини (протонофори) можуть переносити протони або інші іони (іонофори) з міжмембранного простору через мембрану в матрикс, мінаючи протонні канали АТФ- синтази. В результаті цього зникає електрохімічний потенціал і припиняється синтез АТФ. Це явище називають роз'єднанням дихання і фосфорилування . В результаті роз'єднання кількість АТФ знижується, а АДФ збільшується. У цьому випадку швидкість окислення НАДН і ФАДН₂ зростає, зростає і кількість поглиненого кисню, але енергія виділяється у вигляді теплоти, і коефіцієнт

Лекція. Окисне фосфорилування. Контроль продукції АТФ

P/O різко знижується. Як правило, розбщителі - ліпофільні речовини, легко проходять через ліпідний шар мембрани. Одне з таких речовин - 2,4 - динітрофенол, легко переходить з іонізованої форми в неіонізовану, приєднуючи протон в міжмембранному просторі і переносячи його в матрикс.

Прикладами розбщителів можуть бути також деякі ліки, наприклад дикумарол - антикоагулянт або метаболіти, які утворюються в організмі, білірубін - продукт катаболізму тема, тироксин - гормон щитовидної залози.

Терморегуляторная функція ЕТЛ

На синтез молекул АТФ витрачається приблизно 40-45 % всієї енергії електронів, які переносяться по ЦПЕ, приблизно 25 % витрачається на роботу з перенесення речовин через мембрану. Інша частина енергії розсіюється у вигляді теплоти і використовується теплокровними тваринами на підтримку температури тіла. Крім того, додаткова освіта теплоти може відбуватися при роз'єднання дихання і фосфорилування. Роз'єднання окисного фосфорилування може бути біологічно корисним. Воно дозволяє генерувати тепло для підтримки температури тіла у новонароджених, у зимнеспящих тварин і у всіх ссавців в процесі адаптації до холоду. У новонароджених, а також зимнеспящих тварин існує особлива тканина, що спеціалізується на теплопродукції шляхом роз'єднання дихання і фосфорилування - бурий жир. Бурий жир містить багато мітохондрій. У мембрані мітохондрій є великий надлишок дихальних ферментів в порівнянні з АТФ-синтазою. Близько 10 % всіх білків припадає на так званий роз'єднувальний білок - термогенін. Бурий жир є у новонароджених, але його практично немає у дорослої людини. В останні роки з'явилися факти, що свідчать про існування в мітохондріях різних органів і тканин ссавців розбщачаючих білків, схожих за своєю структурою на термогенін бурої жирової тканини. За своєю структурою термогенін близький до АТФ / АДФ - антипортеру, але не здатний до транспорту нуклеотидів, хоча зберіг здатність переносити аніони жирних кислот, які здатні роз'єднувати дихання та окисне фосфорилування.

На зовнішній стороні мембрани аніон жирної кислоти приєднує протон і в такому вигляді перетинає мембрану; на внутрішній стороні мембрани дисоціює, віддаючи протон в матрикс і тим самим знижує протонний градієнт. Утворений аніон повертається на зовнішню сторону мембрани за допомогою АТФ/АДФ - антипортера.

При охолодженні стимулюється звільнення норадреналіну з закінчень симпатичних нервів. В результаті відбуваються активація ліпази в жировій тканині і мобілізація жиру з жирових депо. Утворені вільні жирні кислоти служать не тільки "паливом", а й найважливішим регулятором роз'єднання дихання і фосфорилування.

Лекція. Окисне фосфорилування. Контроль продукції АТФ

Що таке P / O

тобто скільки АТФ зроби пара електронів, якщо пройде по ланцюгу?

Прибутковість електронного транспортного ланцюгу 10 H^+ відкачується за пари електронів від НАДН до кисню

4 H^+ + возвертаються в матрик за 1 АТФ в цитозолі

$10/4 = 2,5$ для електронів, що входять як НАДН

Для електронів, що входять як сукцинат (FADH_2), близько 6 H^+ + закачується в пари електронів до кисню

$6/4 = 1,5$ для електронів, що входять як сукцинат

Шуттелі системи електроннів –e

Найбільша кількість НАДН, що використовується в транспорті електронів, є цитозольний, але НАДН не перетинає внутрішню мембрану мітохондрій.

Что делать?

Працює система переносників (трансферів), які фактично не переносячи НАДН, але переносять H^+ .

Гліцерофосфатний трансфер зберігає електрони в гліцерин-3-Ф, який передає електрони на ФАД

Трансфер малат-аспартат використовує малат для перенесення електронів через мембрану

Чистий вихід АТФ з глюкози

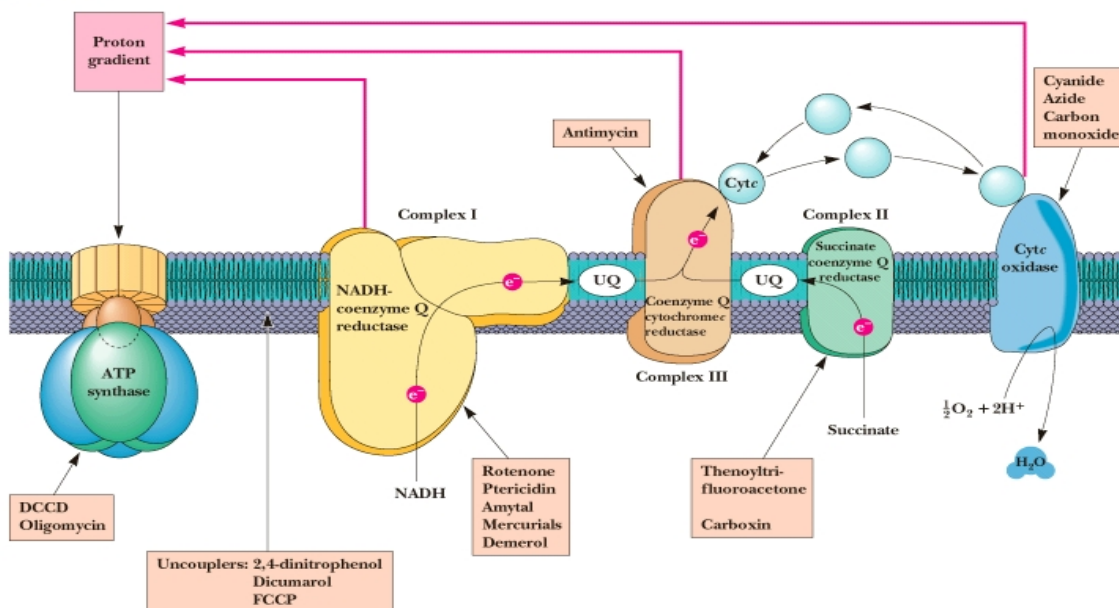
Це залежить від того, який використовується трансфер!

30 АТФ за глюкози, якщо використовується трансфер гліцерин-3-Р

32 АТФ за глюкози, якщо використовується трансфер малат
Тобто максимум 30-32 АТФ.

Лекція. Окисне фосфорилування. Контроль продукції АТФ
Роз'єднання електронного транспорту та окисного фосфорилування

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
 Figure 21.30



Saunders College Publishing

Разобштителі порушують жорсткий зв'язок між електронним транспортом і окисним фосфорилування шляхом розсіювання протонного градієнта.

Разобштителі є гідрофобні молекули з диссоціюючим протоном. Вони курсують туди-сюди через мембрану, несучи протони, щоб розсіяти градієнт.

АТФ-АДФ транслоказа

Для транспорту АТФ із мітохондрій в цитоплазму використовується специфічний для АТФ транспортний білок – АТФ / АДФ – транслоказа. Це інтегральний білок, локалізований у внутрішній мембрані мітохондрій. Має 2 центру зв'язування: з боку матриксу для АТФ, зовні – для АДФ. При зміні конформації АТФ / АДФ – транслокази АДФ переноситься в матрикс, а АТФ – в міжмембранний простір, а потім в цитоплазму, де використовується. Для утворення АТФ в матрикс весь час повинен надходити неорганічний фосфат (Фн). Для цього у внутрішній мембрані мітохондрій є транспортна система, яка забезпечує перенесення фосфату в матрикс сопряженно з перенесенням H^+ . Це білок – переносник, що має 2 центри зв'язування: для Фн і H^+ . Фн і H^+ разом переносяться з міжмембранного простору в матрикс. Речовини – разобштителі окислення і фосфорилування можуть утворювати власні протонні канали у внутрішній мембрані мітохондрій. Тому частина протонів, замість того щоб йти назад в матрикс по протонному каналу АТФ-синтетази, йде туди по каналах речовин – разобштителів. Якщо клітина організму перебуває в умовах спокою, то АТФ мало використовується і накопичується. Тому знижується концентрація АДФ і Фн. У цих умовах АТФ-синтетаза вже не отримує з цитоплазми досить фосфату і АДФ для синтезу АТФ. Її активність знижується, і швидкість руху протонів з міжмембранного простору

Лекція. Окисне фосфорилування. Контроль продукції АТФ в матрикс по протонному каналу цього ферменту теж падає. Тому зберігається високий градієнт концентрацій протонів на внутрішній мембрані мітохондрій. У таких умовах енергії перенесення електронів по ланцюгу мітохондріального окислення вже не вистачає для виштовхування H^+ з матриксу в міжмембранний простір. Перенесення електронів по дихальному ланцюгу гальмується, і припиняється окислення субстратів. Метаболізм у клітині регулюється ставленням АТФ / АДФ, яке характеризує енергетичний заряд клітинию. У нормі ЕЗК = 0,85 – 0,90. Може змінюватися від 0 до 1. Головна функція мітохондріального окислення – забезпечення організму запасами енергії у формі АТФ. АТФ повинна переноситися з мітохондрій!

Pathway	ATP Yield per Glucose	
	Glycerol-Phosphate Shuttle	Malate-Aspartate Shuttle
Glycolysis: glucose to pyruvate (cytosol)		
Phosphorylation of glucose	-1	-1
Phosphorylation of fructose-6-phosphate	-1	-1
Dephosphorylation of 2 molecules of 1,3-BPG	+2	+2
Dephosphorylation of 2 molecules of PEP	+2	+2
Oxidation of 2 molecules of glyceraldehyde-3-phosphate yields 2 NADH		
Pyruvate conversion to acetyl-CoA (mitochondria)		
2 NADH		
Citric acid cycle (mitochondria)		
2 molecules of GTP from 2 molecules of succinyl-CoA	+2	+2
Oxidation of 2 molecules each of isocitrate, α -ketoglutarate, and malate yields 6 NADH		
Oxidation of 2 molecules of succinate yields 2 [FADH ₂]		
Oxidative phosphorylation (mitochondria)		
2 NADH from glycolysis yield 1.5 ATP each if NADH is oxidized by glycerol-phosphate shuttle; 2.5 ATP by malate-aspartate shuttle	+3	+5
Oxidative decarboxylation of 2 pyruvate to 2 acetyl-CoA: 2 NADH produce 2.5 ATP each	+5	+5
2 [FADH ₂] from each citric acid cycle produce 1.5 ATP each	+3	+3
6 NADH from citric acid cycle produce 2.5 ATP each	+15	+15
<i>Net Yield</i>	<u>30</u>	<u>32</u>

Note: These P/O ratios of 2.5 and 1.5 for mitochondrial oxidation of NADH and [FADH₂] are "consensus values." Because they may not reflect actual values and because these ratios may change depending on metabolic conditions, these estimates of ATP yield from glucose oxidation are approximate.