

А. Л. Новокшанова

БИОХИМИЯ ДЛЯ ТЕХНОЛОГОВ

Часть 2

УЧЕБНИК И ПРАКТИКУМ ДЛЯ АКАДЕМИЧЕСКОГО
БАКАЛАВРИАТА

2-е издание, исправленное

*Рекомендовано Учебно-методическим отделом высшего образования
в качестве учебника и практикума для студентов высших учебных
заведений, обучающихся по естественнонаучным направлениям*

*Рекомендовано Учебно-методическим объединением по образованию
в области технологии сырья и продуктов животного происхождения
в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся
по направлению подготовки «Продукты питания животного
происхождения» уровня бакалавриата и специальности «Технология
молока и молочных продуктов»*

Книга доступна в электронной библиотечной системе
biblio-online.ru

Москва ■ Юрайт ■ 2016

Автор:

Новокшанова Алла Львовна — доцент, кандидат технических наук, доцент кафедры химии и физики технологического факультета Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н. В. Верещагина.

Рецензенты:

Свириденко Ю. Я. — доктор биологических наук, профессор, академик РАСХН, директор ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии;

Абдуллаева Л. В. — кандидат технических наук, руководитель группы стандартизации Молочного союза России, ответственный секретарь ТК 470/МТК 532 «Молоко и продукты переработки молока», национальный секретарь Российского комитета Международной молочной федерации.

Новокшанова, А. Л.

Н74 Биохимия для технологов. В 2 ч. Часть 2 : учебник и практикум для академического бакалавриата / А. Л. Новокшанова. — 2-е изд., испр. — М. : Издательство Юрайт, 2016. — 302 с. — Серия : Бакалавр. Академический курс.

ISBN 978-5-9916-8945-8 (ч. 2)

ISBN 978-5-9916-8944-1

Современные достижения биохимии составляют основу любой пищевой технологии, поэтому специалисты по производству и переработке продуктов питания должны иметь целостное представление о процессах и явлениях, происходящих в природе, о компонентном составе живой клетки, роли белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и других биомолекул в функционировании организма. Главная цель учебника — сформировать у студентов твердые знания об особенностях и многообразии обмена веществ, о взаимосвязи метаболизма макромолекул на субстратном, энергетическом и генетическом уровнях, что позволит решать задачи, возникающие при выполнении профессиональных функций.

Соответствует актуальным требованиям Федерального государственного образовательного стандарта высшего образования.

Для студентов академического и прикладного бакалавриата, изучающих курс «Биохимия» по направлению подготовки «Продукты питания животного происхождения» и профилю «Технология молока и молочных продуктов», а также для студентов, обучающихся по направлениям подготовки «Биотехнология», «Продукты питания из растительного сырья», «Технология продукции и организация общественного питания», «Стандартизация и метрология», «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции», специалистов при повышении квалификации, обучении в магистратуре и аспирантуре.

УДК 54(075.8)

ББК 28.072я73



Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав. Правовую поддержку издательства обеспечивает юридическая компания «Дельфи».

ISBN 978-5-9916-8945-8 (ч. 2)
ISBN 978-5-9916-8944-1

© Новокшанова А. Л., 2014
© Новокшанова А. Л., 2016, с изменениями
© ООО «Издательство Юрайт», 2016

Оглавление

Перечень принятых сокращений	5
Глава 9. Обмен веществ и энергии	7
9.1. Классические и современная теории биологического окисления.....	10
9.2. Цикл трикарбоновых кислот	11
9.3. Дыхательная цепь и ее ферменты	12
9.4. Практические примеры	16
<i>Задания для самостоятельной работы</i>	<i>18</i>
Глава 10. Углеводы и их обмен	21
10.1. Строение и свойства моносахаридов	22
10.2. Строение и свойства дисахаридов	30
10.3. Строение и свойства полисахаридов	36
10.4. Переваривание и всасывание углеводов	40
10.5. Поддержание постоянного уровня глюкозы в крови.....	45
10.6. Окисление глюкозы	46
10.6.1. Дихотомический путь окисления глюкозы.....	47
10.6.2. Брожение углеводов.....	50
10.6.3. Апомический путь окисления глюкозы	55
10.7. Глюконеогенез.....	58
10.8. Биосинтез олиго- и полисахаридов.....	61
10.9. Нарушения углеводного обмена.....	65
10.10. Практический пример.....	66
<i>Задания для самостоятельной работы</i>	<i>66</i>
Глава 11. Липиды и их обмен.....	73
11.1. Классификация и структурные компоненты липидов.....	73
11.2. Простые липиды.....	79
11.3. Стероиды.....	82
11.4. Сложные липиды	83
11.5. Физико-химические свойства жиров и масел	86
11.6. Переваривание и всасывание липидов	88
11.7. Транспорт липидов в организме.....	89
11.8. Обмен липидов в тканях	90
11.8.1. Распад липидов	91
11.8.2. Биосинтез триглицеридов.....	100
11.8.3. Биосинтез фосфолипидов.....	103
11.8.4. Значение и обмен холестерина.....	105
11.8.5. Нарушения липидного обмена.....	107
11.9. Практические примеры	108
<i>Задания для самостоятельной работы.....</i>	<i>116</i>
Глава 12. Обмен аминокислот и белков	119
12.1. Переваривание и всасывание белков	119
12.2. Обмен белков и аминокислот в тканях	123
12.3. Обезвреживание аммиака.....	131

12.4. Нарушения обмена белков и аминокислот	131
12.5. Практические примеры	134
<i>Задания для самостоятельной работы</i>	137
Глава 13. Функционирование нуклеиновых кислот	139
13.1. Катаболизм нуклеиновых кислот и их компонентов	139
13.1.1. Распад нуклеотидов	140
13.1.2. Распад азотистых оснований	141
13.2. Анаболические пути нуклеиновых кислот	143
13.2.1. Биосинтез нуклеотидов	143
13.2.2. Биосинтез ДНК и РНК	144
13.2.3. Биосинтез РНК — транскрипция	148
13.2.4. Регуляция синтеза нуклеиновых кислот	150
13.2.5. Регуляция синтеза белка	150
13.2.6. Генетический код	152
13.2.7. Биосинтез белка — трансляция	154
13.2.8. Транспорт синтезированных белков через мембраны и постсинтетическая (посттрансляционная) модификация белков	161
13.3. Практические примеры	162
<i>Задания для самостоятельной работы</i>	164
Глава 14. Минеральный обмен	168
14.1. Превращения минеральных веществ в пищевом канале	168
14.2. Промежуточный обмен минеральных веществ	170
14.3. Минеральные вещества в пищевых продуктах	171
14.4. Обмен макроэлементов	172
14.5. Обмен микроэлементов	178
14.6. Минеральные элементы молока	185
14.7. Практические примеры	186
<i>Задания для самостоятельной работы</i>	187
Лабораторный практикум	192
Меры предосторожности при работе в лаборатории	192
Мытье и сушка химической посуды	193
Лабораторные работы к главе 1	195
Лабораторные работы к главе 2	204
Лабораторные работы к главе 3	206
Лабораторные работы к главе 4	213
Лабораторные работы к главе 5	226
Лабораторные работы к главе 6	229
Лабораторные работы к главе 7	244
Лабораторные работы к главе 10	248
Лабораторные работы к главе 11	261
Лабораторные работы к главе 12	272
Лабораторные работы к главе 14	285
Заключение	292
Литература	293
Приложения	295
Новые издания по дисциплине «Биохимия для технологов» и смежным дисциплинам	302

Перечень принятых сокращений

АДГ	— антидиуретический гормон
АДФ	— аденозиндифосфат (аденозиндифосфорная кислота)
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АМФ	— аденозинмонофосфат (аденозинмонофосфорная кислота)
АО	— азотистые основания
АПБ	— ацилпереносящий белок
АТФ	— аденозинтрифосфат (аденозинтрифосфорная кислота)
АФК	— активные формы кислорода
ВЖК	— высшая жирная кислота
ВМС	— высокомолекулярные соединения
ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения
ГМО	— генетически модифицированные организмы
ГМП	— гликомакропептид
ДАГ	— диацилглицерид (диглицерид)
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКК	— желудочно-кишечный канал
ИДЗ	— иоддефицитные заболевания
ИЭТ	— изоэлектрическая точка
КоА	— кофермент А
ЛП	— липопротеины
ЛПВН	— липопротеины высокой плотности
ЛПНП	— липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	— липопротеины очень низкой плотности
МАГ	— моноацилглицерид (моноглицерид)
ММФ	— Международная молочная федерация
МНЖК	— моновенасыщенные жирные кислоты
НАД ⁺	— никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НЖК	— низшая жирная кислота
НК	— нуклеиновая кислота
НП	— нуклеопротеин
ПВК	— пировиноградная кислота
ПОЛ	— пероксидное окисление липидов
ПНЖК	— полиненасыщенные высшие жирные кислоты
ПФЦ	— пентозофосфатный цикл
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СЖК	— свободные жирные кислоты
СОД	— супероксиддисмутаза
ССЗ	— сердечно-сосудистые заболевания
T ₃	— трийодтиронин
T ₄	— тироксин (тетрайодтиронин)
ТАГ	— триацилглицерид (триглицерид)
ТПФ	— тиаминпирофосфат
УВТ	— ультравысокотемпературный

УМФ	— уридинмонофосфат
ФГА	— фосфоглицериновый альдегид
(3-ФГА)	
ФГК	— фосфоглицериновая кислота
ФМН	— флаavinмононуклеотид
ФАД	— флаvинадениндинуклеотид
цАМФ	— циклический аденозинмонофосфат
ЦМФ	— цитидинмонофосфат
ЦНС	— центральная нервная система
ЦПЭ	— цепь переноса электронов
ЦТК	— цикл трикарбоновых кислот
ЩУК	— щавелевоуксусная кислота
ЭПС	— эндоплазматическая цепь
ЭТЦ	— электронотранспортная цепь
$\bar{e}$	— электрон
H^+	— ион водорода (протон)
Нб	— гемоглобин
NANA	— N-ацетилнейраминовая кислота

Глава 9

ОБМЕН ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ

В результате изучения материала данной главы студент должен:

знать

- значение понятий «обмен веществ», «метаболизм», «анаболизм», «катаболизм» и их взаимосвязь;
- основные этапы катаболизма;
- классические и современные представления об обмене веществ и о биологическом окислении;
- метаболиты и ферменты ЦТК;
- структурную организацию и ферменты дыхательной цепи;

уметь

- составлять схемы превращений ЦТК;
- объяснить работу активных центров ферментов дыхательной цепи;

владеть

- методикой расчета энергетического эффекта на уровне ЦТК и дыхательной цепи.

Темой обмена веществ и энергии открывается раздел «Динамической биохимии», в котором рассматриваются превращения белков, жиров, углеводов и других компонентов в организме.

Обмен веществ — это непрерывный, самосовершающийся, саморегулирующийся процесс синтеза и распада биологических молекул, обеспечивающих организм веществами и энергией для его жизнедеятельности, роста, размножения.

Обмен веществ включает в себя процессы трех видов (рис. 9.1).

Также в обмене веществ часто оперируют понятиями «внешний обмен» и «внутренний обмен». Под *внешним обменом* понимают превращения веществ *вне клетки* на путях их поступления и выделения. *Внутренний* или

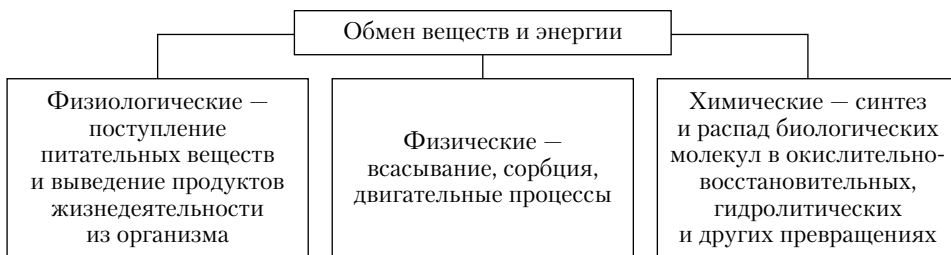


Рис. 9.1. Виды процессов в обмене веществ

промежуточный обмен — это превращения веществ *внутри клетки* с момента их поступления до образования конечных продуктов.

Кроме этого в динамической биохимии пользуются термином **метаболизм** (от греч. *metabole* — перемена, превращение). В наиболее употребительном значении он является синонимом обмена веществ и энергии. В более точном и узком смысле метаболизм означает *промежуточный обмен*. При этом термин «метаболизм» относят и к отдельному классу соединений (метаболизм белков, метаболизм углеводов), и к определенному веществу (метаболизм глюкозы, метаболизм ПВК).

В метаболизме выделяют два противоположно направленных процесса: **анаболизм** и **катаболизм** (рис. 9.2).

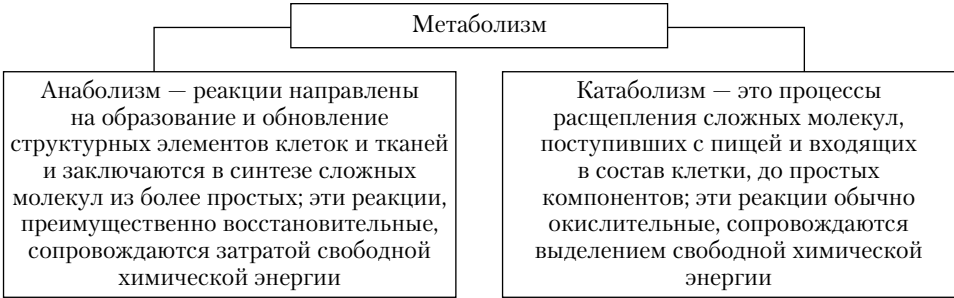


Рис. 9.2. Две стороны метаболизма

Катаболические процессы протекают поэтапно. Каждый этап характеризуется разной степенью деструкции субстратов и различным энергетическим эффектом, как показано в табл. 9.1.

Таблица 9.1

Этапы катаболизма

Этап	Характеристика
Подготовительный	Распад биополимеров до мономеров (белки — до аминокислот, крахмал — до глюкозы, нуклеиновые кислоты — до нуклеотидов и т.д.). Энергетической ценности не имеет, поскольку на данном этапе выделяется примерно 2% всей энергии, заключенной в химических связях. <i>Биологическая значимость</i> — расщепление сложных структур, поскольку дальнейшим превращениям могут подвергаться только мономеры
Частичный	Распад мономеров, при котором выделяется около 20% энергии, заключенной в химических связях. Часть ее рассеивается в виде тепла, часть запасается в макроэнергетических связях АТФ. При этом фосфорилирование АДФ происходит при снятии фосфорного остатка с субстрата. Отсюда термин — « <i>субстратное фосфорилирование</i> ». Примером может служить синтез АТФ при образовании ПВК: 2-фосфоенол-ПВК ПВК Особенность данного этапа — анаэробные условия. В этом заключается его <i>биологическая ценность</i> — обеспечение организма энергией в бескислород-

Этап	Характеристика
	ных условиях. Такие моменты есть и у аэробных организмов. Например, у человека и животных анаэробные условия в тканях считаются нормой при переходе от состояния покоя к выполнению любой физической нагрузки или при увеличении нагрузки
Окончательный	Распад метаболитов до H_2O и CO_2 . <i>Особенность этапа</i> — аэробные условия и максимальное выделение энергии — до 80%. В этом случае вся энергия запасается в виде АТФ, который синтезируется при переносе протонов и электронов с помощью окислительно-восстановительных ферментов. Этот способ синтеза АТФ называют фосфорилирование АДФ на уровне ЭТЦ (дыхательной цепи). Именно этот этап часто называют <i>биологическое окисление</i> или <i>тканевое дыхание</i> ¹

Первые два этапа катаболизма специфичны для каждого вида субстратов. Например, распад глюкозы до ацетил-КоА идет через гликолиз, а распад жирных кислот — через β -окисление. Но завершается 2-й этап образованием нескольких ключевых соединений: ПВК, ацетил-КоА, ЦУК, которые могут вовлекаться в 3-й этап — универсальный для всех метаболитов.

Третий этап катаболизма — биологическое окисление (тканевое дыхание) включает две стадии: *ЦТК* и *дыхательную цепь*. Схематично катаболизм субстратов показан на рис. 9.3.

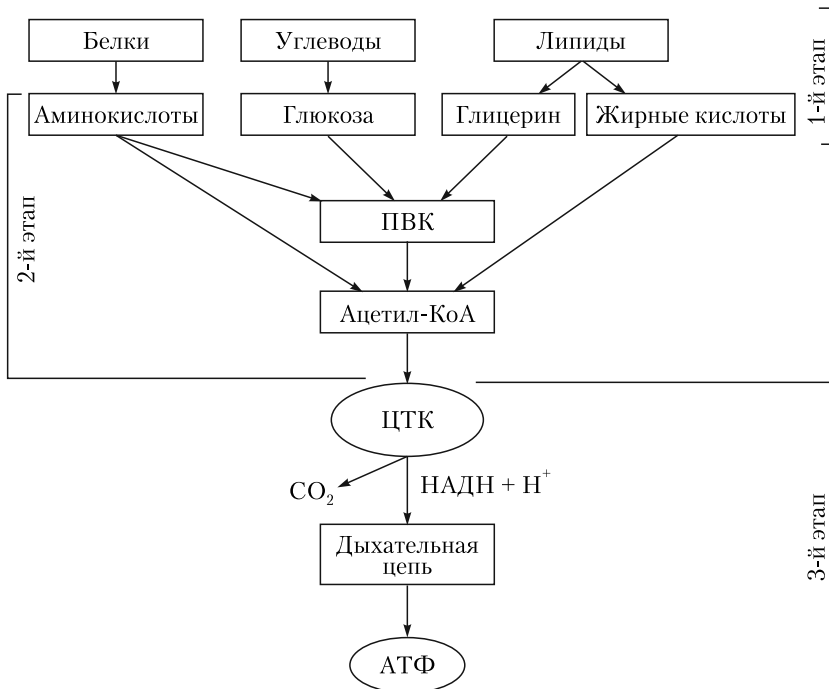


Рис. 9.3. Стадии катаболизма

¹ Такие термины возникли потому, что преимущественное большинство реакций являются окислительными и протекают в живых организмах, отсюда — биологическое окисление. Процессы локализованы в глубине тканей и завершаются присоединением кислорода, а поглощение кислорода часто называют «дыхание» — отсюда тканевое дыхание.

9.1. Классические и современная теории биологического окисления

Одним из первых, кто заинтересовался биологическим окислением, был А. Л. Лавуазье. При дыхании живых организмов и горении свечи выделяется CO_2 . На основании этих экспериментов Лавуазье выдвинул предположение о том, что дыхание является формой горения. По его мнению, различные вещества окисляются с одинаковым энергетическим эффектом, как вне живых организмов, так и внутри них.

Исследование окислительно-восстановительных процессов в живой природе особенно активизировалось с открытием ферментов. Теория Лавуазье получила развитие спустя 100 лет в работах основоположника отечественной биохимии А. Н. Баха, который высказал предположение о роли ферментов в окислительно-восстановительных процессах в живых организмах (табл. 9.2).

Таблица 9.2

Теории биологического окисления

Теория, авторы	Сущность	Недостатки
Классические теории		
«Окисление — это горение», А. Л. Лавуазье (1777)	При дыхании кислород в тканях соединяется с углеродом и водородом с образованием CO_2 и H_2O; при этом выделяется энергия. Энергетический эффект при окислении органических веществ (например, глюкозы) в организме и вне его один и тот же: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + 2881 \text{ кДж/моль}$	Горение проходит при высоких температурах, без воды, энергия освобождается одновременно в виде теплоты. Окисление протекает при сравнительно низких температурах ($36,5\text{--}37^\circ\text{C}$) и менее, без пламени, в присутствии большого количества воды, энергия выделяется поэтапно в виде макроэргических соединений
«Активация кислорода», А. Н. Бах (1897)	Атмосферный кислород реагирует с ферментом оксигеназой с образованием пероксида, который и окисляет субстрат: $\text{Оксигеназа} + \text{O}_2 \rightarrow \text{Оксигеназа} + \text{S} \rightarrow$ $\begin{array}{c} \quad \\ \text{O} - \text{O} \\ \text{Пероксид} \end{array}$ $\rightarrow \text{Оксигеназа} + \text{S} \begin{array}{c} \diagup \text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$ Окисленный субстрат	Теория применима к растениям, которые содержат большое количество ненасыщенных соединений. Не объясняет суть окислительно-восстановительных процессов у анаэробных организмов
«Активация водорода», В. И. Палладин (1908)	Окисление — отщепление водорода под действием ферментов дегидрогеназ: $\text{S} \begin{array}{c} \diagup \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} + \text{Дегидрогеназа} \rightarrow$ Субстрат $\rightarrow \text{S} \begin{array}{c} \diagup \text{H} \\ \\ \text{H} \end{array} + \text{Дегидрогеназа}$ Окисленный субстрат	Теория справедлива для низших растений, анаэробных микробов и многих тканей высших организмов, но не применима к действию таких оксидоредуктаз, как цитохромы

Теория, авторы	Сущность	Недостатки
Современная теория		
О. Варбург, А. Сент-Дьёрдьи, В. А. Энгельгард и др.	Окисление — это отщепление H^+ и $\bar{e}$ или присоединение O_2 . Восстановление — это присоединение H^+ или $\bar{e}$ или отщепление O_2 $Fe^{2+} - \bar{e} \rightarrow Fe^{3+}$ (окисление) $Fe^{3+} + \bar{e} \rightarrow Fe^{2+}$ (восстановление)	Без недостатков. Теория приемлема как для аэробных, так и анаэробных организмов

Постепенное изучение действия — сначала аэробных оксидоредуктаз (оксидаз и оксигеназ) в растительных объектах, а впоследствии — анаэробных дегидрогеназ в животных тканях сформировало современные представления об окислительно-восстановительных процессах в живых организмах. С открытием цитохромов стало ясно, что окисление и восстановление в живых системах не обязательно сопряжено с передачей атомов кислорода и водорода, а может протекать при передаче электронов, как и в неживой природе.

9.2. Цикл трикарбоновых кислот

Цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) иначе называют *цикл лимонной кислоты, энергетический котел* — за высокий энергетический эффект, или *цикл Кребса*¹, по фамилии биохимика Ганса Кребса, описавшего превращения в этом процессе. Превращения протекают в митохондриях при участии кислорода, следовательно, цикл является аэробным.

Как очевидно из рис. 9.3, разные обменные пути — углеводов, липидов и белков, приводят к образованию одного метаболита ацетил-КоА, который и служит субстратом для ЦТК. Основным предшественником ацетил-КоА является ПВК. Она подвергается декарбоксилированию по схеме, представленной на рис. 9.4, а подробный механизм рассмотрен в подпараграфе 6.3.2 (см. рис. 6.12—6.14).

ЦТК включает восемь реакций, в ходе которых образуются ди- и трикарбоновые кислоты: лимонная, изолимонная, α -кетоглутаровая, янтарная, фумаровая, оксиянтарная, ЩУК. Они подвергаются распаду с выделением CO_2 или окисляются путем снятия атомов водорода, которые принимают на себя дегидрогеназы НАД и ФАД. В результате образуются восстановленные эквиваленты этих коферментов — $НАДН + H^+$ и $ФАДН_2$.

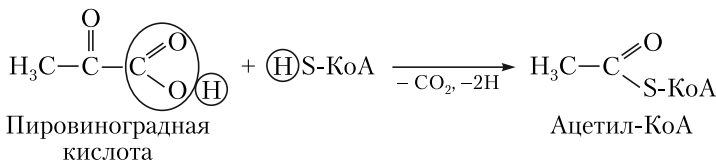


Рис. 9.4. Образование ацетил-КоА

¹ Г. А. Кребс — лауреат Нобелевской премии по физиологии и медицине 1953 г. «За открытие цикла лимонной кислоты».

Цикл регулируется по принципу отрицательной обратной связи аллостерическими ферментами: 1 — *цитратсинтаза*, 2 — *аконитатгидратаза* (аконитаза), 3 — *НАД-зависимая изоцитратдегидрогеназа*, 4 — *НАД-зависимый α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс*, 5 — *сукцинил-КоА-синтаза*, 6 — *ФАД-зависимая сукцинатдегидрогеназа*, 7 — *фумаратгидратаза* (фумараза), 8 — *НАД-зависимая малатдегидрогеназа*, как показано на рис. 9.5.

Вторая реакция катализируется *аконитатгидратазой*, потому что в действительности превращение лимонной кислоты в изолимонную идет через образование цис-аконитовой кислоты в реакции дегидратации-гидратации (рис. 9.5).



Рис. 9.5. Превращения, катализируемые аконитатгидратазой

Регуляторами ЦТК являются сами метаболиты или продукты реакций (табл. 9.3).

Таблица 9.3

Регулирование цикла Кребса

Активаторы	Ингибиторы
ПВК, ЩУК, АДФ, НАД ⁺	Лимонная, сукцинил-КоА, ацетил-КоА, АТФ, НАДН+Н ⁺

Из рис. 9.6 ясно, что в ходе цикла Кребса образуется: 2СО₂, 3НАДН+Н⁺, ФАДН₂ и ГТФ. ГТФ далее расходуется на регенерацию АДФ, в результате чего образуется одна молекула АТФ. Однако это не объясняет, почему процесс получил название «энергетический котел». Ответ на этот вопрос выясняется при рассмотрении завершающего этапа биологического окисления — **дыхательной цепи**.

9.3. Дыхательная цепь и ее ферменты

Атомы Н с восстановленных форм НАДН+Н⁺ и ФАДН₂, образованных в ЦТК, служат «топливом» для дыхательной цепи (другие названия: электронотранспортная цепь (ЭТЦ), цепь переноса электронов (ЦПЭ)).

Дыхательная цепь — это система окислительно-восстановительных ферментов, встроенных во внутреннюю мембрану митохондрии.

Митохондрии человека имеют овальную форму и две мембраны. Поверхность внутренней мембраны больше, чем наружной, поэтому внутренняя мембрана «смята», а наружная — растянута. Мембраны различаются не только размером, но и составом. Наружная состоит наполовину из белков

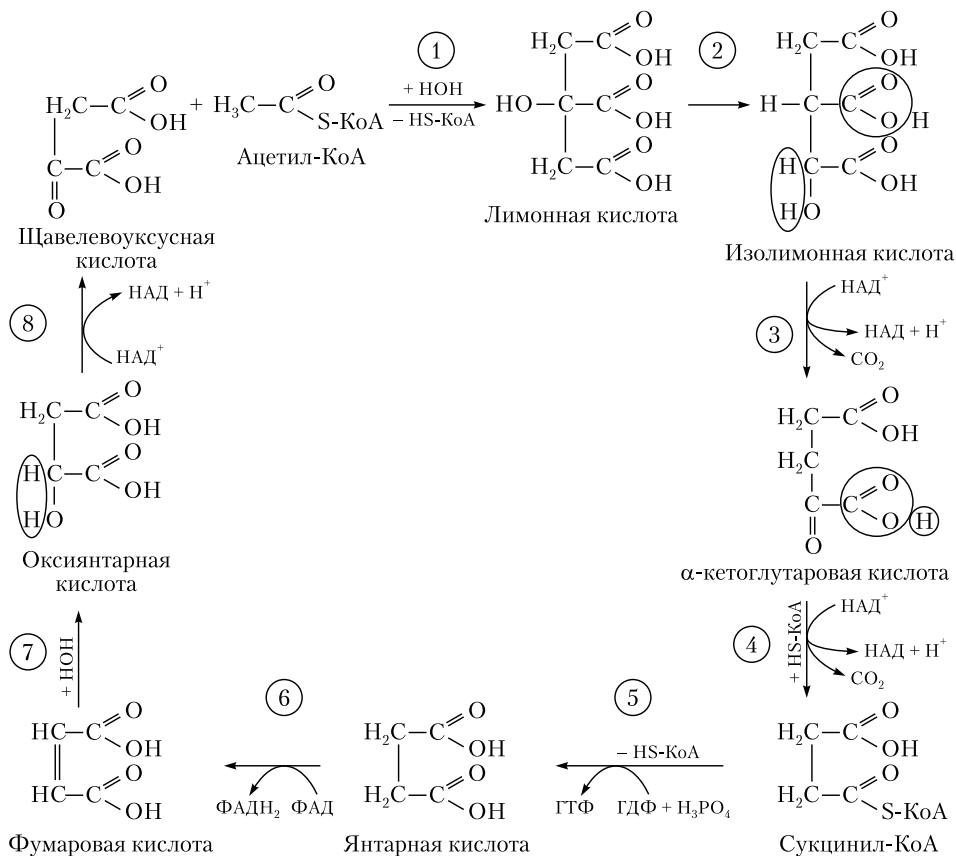


Рис. 9.6. Реакции цикла Кребса

и липидов. Во внутренней мембране преобладают белки, их 75%, а липидов — лишь 25%. Исследования показали, что большая часть белков внутренней мембраны — это ферменты, участвующие в окислительно-восстановительных реакциях и синтезе АТФ.

Если сделать срез митохондрии и рассмотреть его в электронный микроскоп, то на внутренней стороне внутренней мембраны видны многочисленные «горошины» (рис. 9.7).



Рис. 9.7. Срез митохондрии

На участках от одной «горошины» до другой и находятся дыхательные цепи. Ферменты в них расположены в определенной последовательности. Число дыхательных цепей, выделенных из клеток разных тканей, неодинаково. Например, одна митохондрия, выделенная из клеток печени, содержит 5000 дыхательных цепей, а из клеток сердца — 20 000.

В первой половине XX в. были открыты окислительно-восстановительные ферменты, и стал известен факт, что при окислении субстратов происходит синтез АТФ. Эти два факта удалось соединить П. Д. Митчеллу¹ в так называемой хемиосмотической теории энергетического сопряжения в митохондриях². Центральные постулаты этой теории:

- электронопереносящие цепи митохондрий, хлоропластов и бактерий сопряжены с системой синтеза АТФ через разность электрохимических потенциалов ионов водорода ($\Delta\mu_{H^+}$) на сопрягающих мембранах;
- химическая энергия, освобождающаяся при переносе электронов, преобразуется в электрохимическую энергию мембранного потенциала;
- электрохимическая энергия мембранного потенциала преобразуется в химическую энергию связи АТФ.

Схематично цепь ферментов, встроенная во внутреннюю мембрану митохондрии, показана на рис. 9.8.

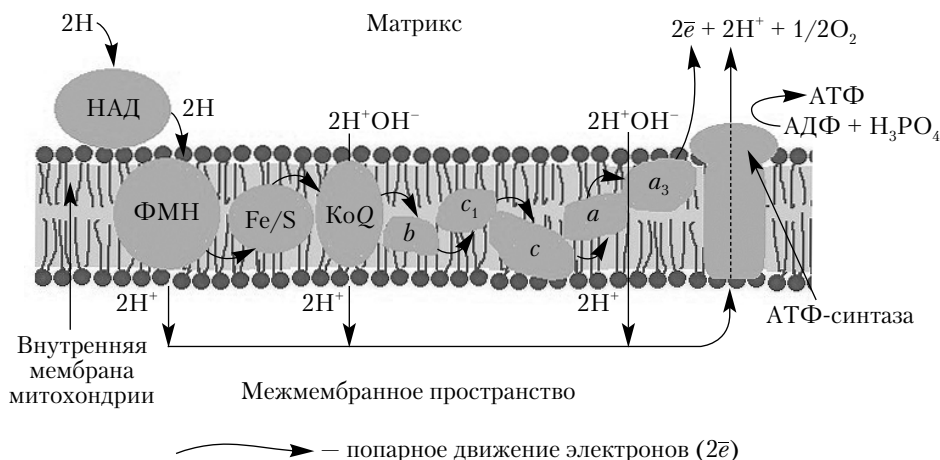


Рис. 9.8. Схема работы дыхательной цепи

Первой дегидрогеназой является НАД, для которого мембрана митохондрии непроницаема. Поэтому НАД «снимает» атомы водорода с растворенных в матриксе субстратов: ПВК, изолимонной, α -кетоглutarовой, оксиянтарной кислот. При этом НАД⁺ из окисленной формы переходит в восстановленную НАДН+H⁺. Атомы водорода с НАДН+H⁺ поступают на ФМН.

ФМН называют вторичной дегидрогеназой, поскольку она принимает атомы водорода не с субстрата, а с кофермента НАД. В ряде случаев первичной дегидрогеназой является ФАД. Ее субстрат в дыхательной цепи — янтарная кислота.

¹ П. Д. Митчелл — лауреат Нобелевской премии по химии 1978 г. «За вклад в понимание процесса переноса биологической энергии, сделанный благодаря созданию хемиосмотической теории».

² Николс Д. Биоэнергетика. Введение в хемиосмотическую теорию : пер. с англ. М. : Мир, 1985.

За флавиновыми дегидрогеназами следуют *железосерные белки* (Fe/S). Атомы Fe в них ковалентно связаны с белком через атомы S остатков Цис и с другими атомами Fe через серные мостики. Активный центр этих ферментов напоминает ячейку, которая переносит только электроны (рис. 9.9). Одна ячейка может передать лишь один электрон, поэтому Fe/S соединяются парами.

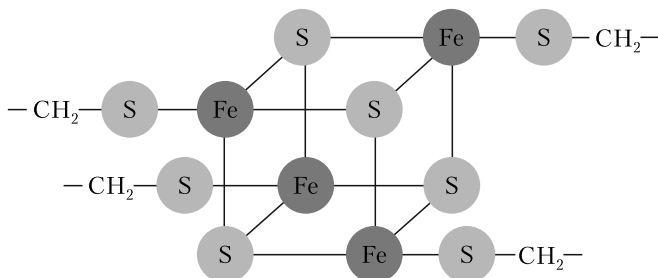


Рис. 9.9. Строение небелковой части железо-серных белков

Следующая дегидрогеназа — убихинон, иначе *кофермент Q* (КоQ). При-соединя атомы H, убихинон переходит в убихинол (см. рис. 6.22).

Завершающие дегидрогеназы — *цитохромы*. Не передают H^+ , но принимают и передают электроны друг другу, за счет изменения валентности Fe, как показано на рис. 6.25.

Из всех цитохромов только цитохром a_3 передает электроны на кислород, поэтому его называют *цитохромоксидазой*.

Как очевидно из рис. 9.8, в дыхательной цепи переносчики H^+ и электронов (коферменты НАД, ФМН (ФАД) и КоQ) чередуются с переносчиками только электронов (Fe/S и цитохромы). Это вызывает перемещение H^+ из матрикса в межмембранное пространство и ведет к возникновению на внутренней мембране митохондрии химического потенциала ΔpH .

Каждая из этих окислительно-восстановительных пар ферментов обладает определенным окислительно-восстановительным потенциалом ϕ , величина которого возрастает при переходе в направлении от НАД к O_2 . Таким образом, электроны как бы разгоняются и втягиваются в дыхательную цепь. В результате на внутренней мембране митохондрии генерируется электрохимический потенциал:

$$\Delta\mu_{H^+} = \Delta pH + \Delta\phi.$$

Величина μ_{H^+} на трех участках цепи больше 0,2 В при переносе электронов:

- с НАД на ФМН;
- с цитохрома b на цитохром c ;
- с цитохрома a на цитохромоксидазу a_3 .

В эти моменты и наблюдается синтез АТФ. Причем выяснено, что мембрана митохондрий проницаема для H^+ лишь в сторону межмембранного пространства. Обратное движение H^+ в матрикс осуществляется через протонный канал *АТФ-синтазы* и служит катализатором синтеза АТФ.

АТФ-синтазу можно увидеть в электронный микроскоп в виде «горошин» на поверхности внутренней мембраны митохондрии со стороны матрикса. АТФ-синтаза — мультиферментный комплекс, образованный двумя ферментами. Их принято обозначать F_0 и F_1 (рис. 9.10).

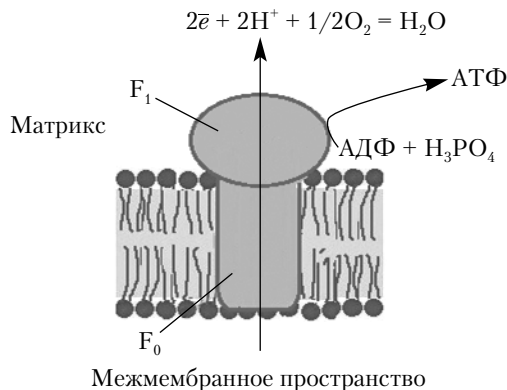
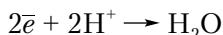


Рис. 9.10. Схематичное строение и результат действия АТФ-синтазы

F_0 насквозь пронизывает внутреннюю мембрану митохондрии и может захватывать H^+ из межмембранного пространства. В этом и заключается его функция. F_1 сопряжен с F_0 и выступает над поверхностью внутренней мембраны в сторону матрикса. Именно эта часть АТФ-синтазы и видна в электронный микроскоп. F_1 отвечает за синтез АТФ.

В конечном счете на кислород поступают два электрона с цитохромоксидазы и два иона H^+ с АТФ-синтазы, что в сумме дает молекулу воды:



При этом выделяется такое количество энергии, что в лабораторных условиях реакция может протекать с выделением пламени. В митохондриях вся выделяющаяся энергия запасается в макроэргических связях АТФ. Считается, что поток H^+ , протекающий через протонный канал F_0 субъединицы, катализирует фосфорилирование АДФ в F_1 части АТФ-синтазы.

Установлено, что *если первичной дегидрогеназой является НАД, то образуется три молекулы АТФ, если первичной дегидрогеназой является ФАД, то образуется две молекулы АТФ.*

Таким образом, теперь можно произвести расчет энергетического эффекта и для ЦТК, в котором образуется $3НАДН + H^+$, $ФАДН_2$ и ГТФ.

Три восстановленных $НАДН + H^+$ дают девять молекул АТФ. При передаче атомов H с $ФАДН_2$ образуется две молекулы АТФ и молекула АТФ образуется за счет ГТФ. Таким образом, при окислении ацетил-КоА в ЦТК синтезируется 12 молекул АТФ.

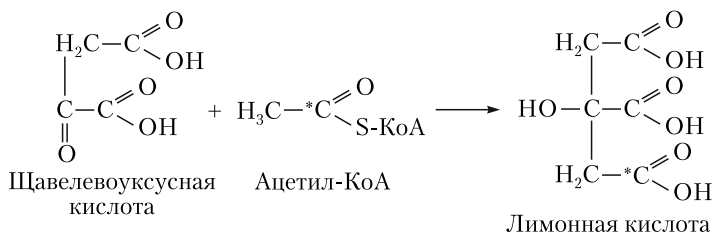
9.4. Практические примеры

1. Изучение процессов метаболизма с помощью меченых атомов.

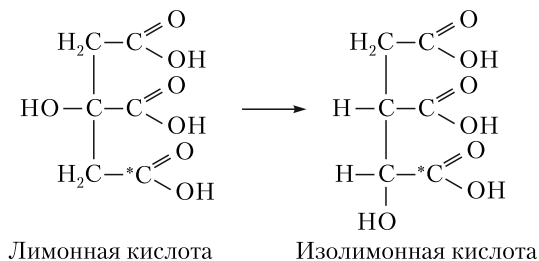
Известно, что в цикле Кребса метаболиты окисляются с образованием CO_2 . Можно ли в этом убедиться, если к препарату митохондрий добавить ацетил-КоА, содержащий ^{14}C , связанный с атомом серы? Для того, чтобы ответить на вопрос, необходимо проследить за превращениями меченого атома углерода в данном процессе и воспользоваться схемой цикла Кребса (см. рис. 9.6).

Из уравнения реакции очевидно, что первое превращение, которое происходит с ацетил-КоА, — конденсация со щавелевоуксусной кислотой. В ре-

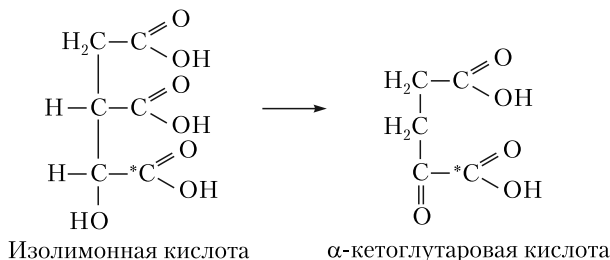
зультате образуется лимонная кислота. Следует записать это уравнение, выделив звездочкой, цветом или как-то иначе меченый ^{14}C .



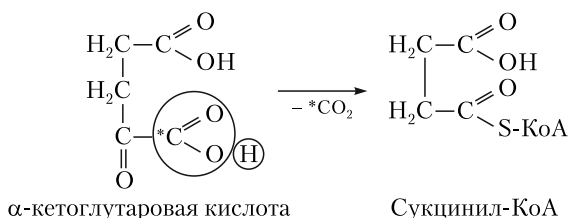
Следующая реакция — изомеризация лимонной кислоты в изолимонную:



Далее изолимонная кислота преобразуется в α -кетоглутаровую:



Из α -кетоглутаровой кислоты путем декарбоксилирования и дегидрирования образуется сукцинил-KoA:



Именно в этом превращении и происходит выделение CO_2 , в состав которого включен ^{14}C .

II. Расчет количества АТФ, образованного при окислении субстратов, проводят для определения энергетического эффекта. Например, следует выяснить, какое количество АТФ синтезируется в процессе образования α -кетоглутаровой кислоты из изолимонной. Такое превращение есть в цикле Кребса.

Прежде всего следует написать его схему:

