КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АЛЬ-ФАРАБИ

ЛЕКЦИЯ № 6

Трансферазы, гидролазы, лиазы: представители, строение, роль.

Лектор: к.х.н., ассоциированный профессор Литвиненко Ю.А.

Цель и задачи лекции

Цель Понять, как клетка извлекает, преобразует и запасает энергию органических веществ.

- Различать анаболизм и катаболизм, объяснять роль АТФ.
- Характеризовать гликолиз, окисление пирувата и цикл Кребса.
- Объяснять перенос электронов и хемиосмотический синтез АТФ.
- Оценивать энергетический баланс и регуляцию клеточного дыхания.

Маршрут лекции

01

Энергия и АТФ

Откуда берётся энергия

02

Этапы катаболизма

От глюкозы до ацетил-КоА

03

Цикл Кребса

Окисление ацетильных групп

04

Дыхательная цепь

Протонный градиент и АТФ

Метаболизм: две взаимосвязанные стороны

АНАБОЛИЗМ

Синтез сложных соединений из простых. Требует затрат энергии и восстановительных эквивалентов.

Примеры: синтез белков и липидов.

КАТАБОЛИЗМ

Распад и окисление питательных веществ. Обеспечивает образование АТФ и восстановленных коферментов.

Примеры: гликолиз и β-окисление.

Катаболизм поставляет энергию и предшественники для анаболических процессов.

От солнечной энергии к химической

Солнце

Источник энергии

→

Фотосинтез

Энергия химических связей

→

Органические вещества

Углеводы • липиды • белки

→

Клеточное дыхание

АТФ + тепло

Энергия не создаётся в клетке: она преобразуется из одной формы в другую.

АТФ — универсальный переносчик энергии

$$АТФ + H_2O \rightarrow АДФ + Pi + H^+$$

Гидролиз АТФ сопрягается с энергозатратными процессами

Зачем нужна АТФ?

Биосинтез • активный транспорт • движение • поддержание ионных градиентов

Важная деталь

Стандартная биохимическая $\Delta G^{\circ\prime}$ гидролиза ≈ −30,5 кДж/моль; в клетке значение зависит от условий.

Где синтезируется АТФ

ЦИТОЗОЛЬ

Гликолиз

Субстратное фосфорилирование — непосредственное образование АТФ в ферментативной реакции.

МИТОХОНДРИИ

Цикл Кребса: образование ГТФ/АТФ на субстратном уровне.

Дыхательная цепь и АТФ-синтаза: окислительное фосфорилирование.

Расположение путей относится прежде всего к эукариотической клетке.

Два механизма фосфорилирования

01 Субстратное

Фосфатная группа переносится с высокоэнергетического промежуточного соединения на АДФ.

Пример: фосфоенолпируват → пируват.

02 Окислительное

Электроны проходят по дыхательной цепи; возникающая протонодвижущая сила обеспечивает синтез АТФ.

Локализация: внутренняя мембрана митохондрий.

Три этапа энергетического обмена

I

Подготовительный

Гидролиз полимеров до мономеров

II

Бескислородный

Гликолиз: глюкоза → пируват

III

Кислород-зависимый

Окисление пирувата, ЦТК, дыхательная цепь

Важно: сам цикл Кребса не расходует O_2 напрямую, но зависит от регенерации НАД⁺ и ФАД.

I этап. Подготовительное расщепление

- Полисахариды → моносахариды.
- Белки → аминокислоты.
- Триацилглицеролы → глицерин и жирные кислоты.
- Гидролиз в пищеварительном тракте и лизосомах не даёт прямого синтеза АТФ.

Полученные мономеры включаются в различные пути клеточного метаболизма.

II этап. Гликолиз

Глюкоза → 2 пирувата + 2 АТФ + 2 НАДН

Упрощённый итог: чистый выход на 1 молекулу глюкозы

Где?

В цитозоле клеток; кислород не является непосредственным субстратом реакций гликолиза.

Что важно?

10 ферментативных реакций: подготовительная фаза и фаза получения энергии.

Гликолиз: инвестиция и возврат энергии

03

Возврат

9.31

Итог: +2 АТФ (нетто)

Что происходит с пируватом?

Достаточная реоксидация НАДН

Пируват → ацетил-КоА → ЦТК

Недостаточная реоксидация НАДН

Пируват → лактат (регенерация $НАД^+$)

У дрожжей в анаэробных условиях

Пируват → этанол + CO_2

Молочнокислое брожение

$$\text{Пируват} + \text{НАДН} + \text{H}^+ \rightleftarrows \text{Лактат} + \text{НАД}^+$$

- Катализатор: лактатдегидрогеназа.
- Регенерация НАД^+ позволяет гликолизу продолжаться.
- Встречается в тканях при высоком гликолитическом потоке и у молочнокислых бактерий.

Брожение не добавляет АТФ сверх 2 АТФ, образующихся при гликолизе.

Спиртовое брожение

Пируват → Ацетальдегид + CO_2 → Этанол

На втором шаге НАДН окисляется до $НАД^+$

- Характерно для дрожжей и ряда микроорганизмов.
- Применение: хлебопечение, пивоварение, виноделие.
- Энергетический эффект: 2 АТФ на глюкозу за счёт гликолиза.

III этап. Аэробное клеточное дыхание

Пируват

Окислительное декарбоксилирование

→

Ацетил-КоА

Цикл трикарбоновых кислот

→

НАДН / $ФАДН_2$

Электрон-транспортная цепь

→

Протонный градиент

АТФ-синтаза

Кислород — конечный акцептор электронов в митохондриальном дыхании.

Биологическое окисление

Совокупность ферментативных окислительно-восстановительных реакций живой клетки.

- Перенос электронов между донором и акцептором.
- Участие оксидоредуктаз и коферментов.
- Связь с получением энергии, биосинтезом и обезвреживанием веществ.

Редокс-пары и перенос электронов

Донор(восст.) + Акцептор(окс.) ⇄ Донор(окс.) + Акцептор(восст.)

Окисление

Потеря электронов; донор электронов окисляется.

Восстановление

Присоединение электронов; акцептор восстанавливается.

Редокс-потенциал $E^{\circ\prime}$ характеризует тенденцию пары принимать электроны.

Коферменты переноса электронов

$НАД^+$ / НАДН

Часто участвует в окислительном катаболизме

ФАД / $ФАДН_2$

Прочно связан с рядом флавопротеинов

$НАДФ^+$ / НАДФН

Особенно важен в восстановительном биосинтезе

Пути использования кислорода

Оксидазный

O_2 принимает электроны; образование H_2O или H_2O_2.

Монооксигеназный

Один атом O включается в субстрат; другой восстанавливается.

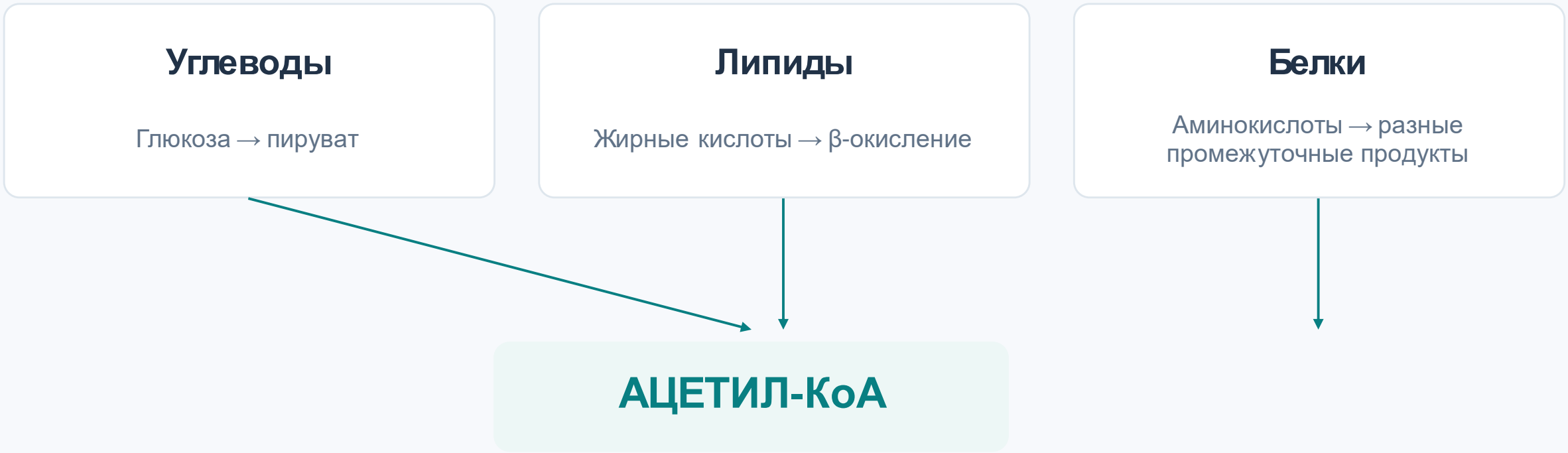
Диоксигеназный

Оба атома O_2 включаются в продукт.

Активные формы O_2

Участие в сигнальных и защитных процессах; избыток опасен.

Сведение катаболических путей к ацетил-КоА



Не все аминокислоты и продукты распада поступают в цикл только через ацетил-КоА.

Окислительное декарбоксилирование пирувата

$$\text{Пируват} + \text{KoA-SH} + \text{НАД}^+ \rightarrow \text{Ацетил-KoA} + CO_2 + \text{НАДН} + H^+$$

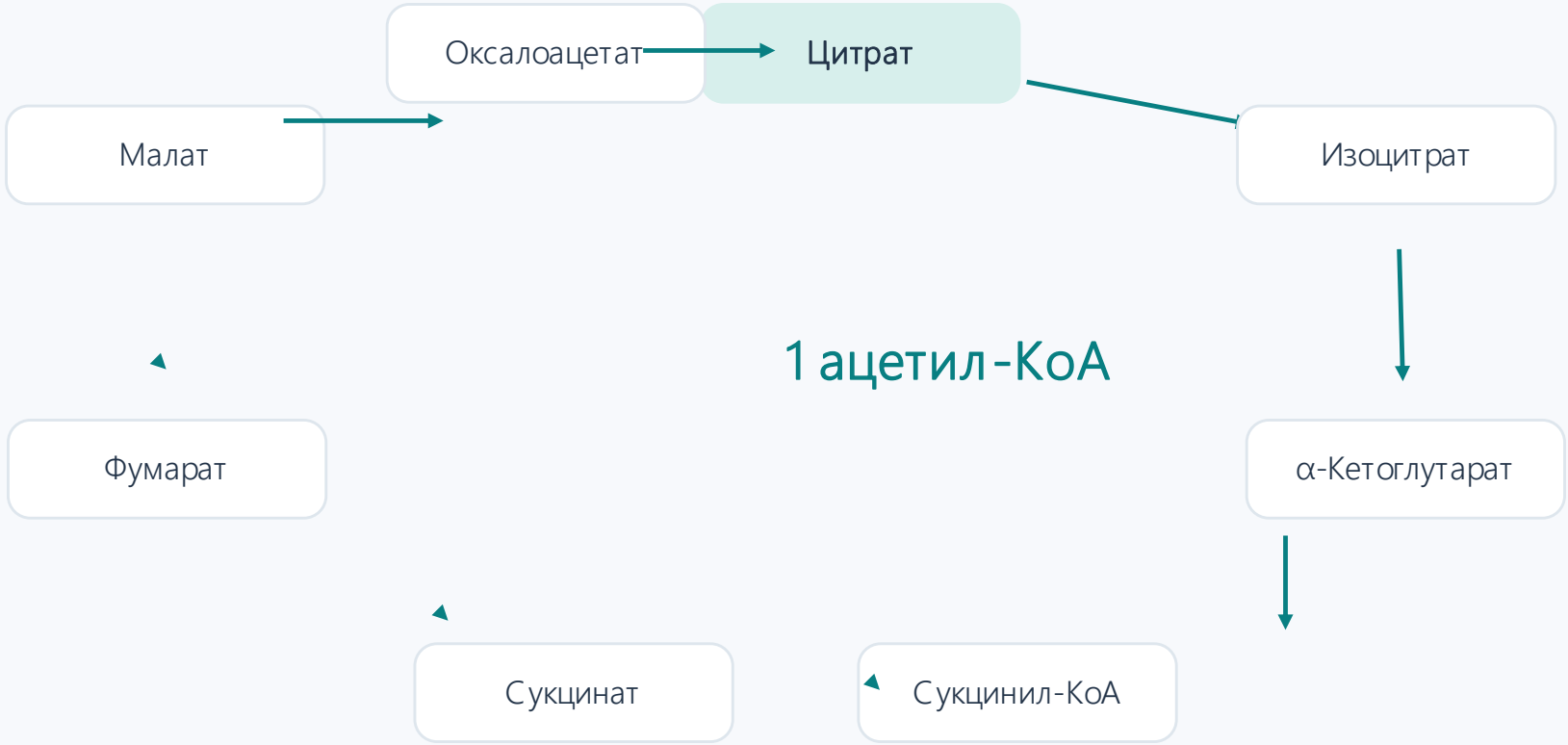
- Ферментный комплекс: пируватдегидрогеназный (ПДГК).
- У эукариот реакция протекает в матриксе митохондрий.
- Кофакторы: ТПФ, липоамид, KoA, ФАД, НАД^+.

Цикл Кребса: центральный путь катаболизма

Ацетил-КоА (2C) + Оксалоацетат (4C) → Цитрат (6C)

- Восемь последовательно протекающих ферментативных реакций.
- За один оборот высвобождаются 2 CO_2 и образуются восстановленные коферменты.
- Большинство ферментов расположено в матриксе митохондрий; сукцинатдегидрогеназа — во внутренней мембране.

Цикл Кребса: карта восьми реакций



3 НАДН • 1 $ФАДН_2$ • 1 ГТФ • 2 CO_2

Реакции 1–2: конденсация и изомеризация

1 ЦИТРАТСИНТАЗА

Оксалоацетат + ацетил-КоА + H_2O → цитрат + КоА-SH.

Необратимая стадия, определяющая вход ацетильной группы в цикл.

2 АКОНИТАЗА

Цитрат ⇄ цис-аконитат ⇄ изоцитрат.

Изомеризация через дегидратацию и гидратацию; перенос положения OH-группы.

Реакция 3: изоцитратдегидрогеназа

$$\text{Изоцитрат} + \text{НАД}^+ \rightarrow \alpha\text{-Кетоглутарат} + CO_2 + \text{НАДН} + H^+$$

- Первое окислительное декарбоксилирование цикла.
- Важная регулируемая стадия: активируют АДФ и Ca^{2+}, тормозят АТФ и НАДН.
- Образуются НАДН и CO_2.

Реакция 4: α-кетоглутаратдегидрогеназа

α-Кетоглутарат + КоА-SH + $НАД^+$ → Сукцинил-КоА + CO_2 + НАДН

- Второе окислительное декарбоксилирование.
- Мультиферментный комплекс с кофакторами ТПФ, липоамид, КоА, ФАД, $НАД^+$.
- Регуляция: торможение НАДН и сукцинил-КоА; активация Ca^{2+}.

Реакция 5: образование ГТФ

Сукцинил-КоА + GDP + Pi ⇄ Сукцинат + ГТФ + КоА-SH

Сукцинил-КоА-синтетаза

Энергия тиоэфирной связи используется для субстратного фосфорилирования.

ГТФ может передать фосфатную группу АДФ с образованием АТФ.

Реакции 6–8: регенерация оксалоацетата

6 Сукцинатдегидрогеназа

Сукцинат → фумарат; ФАД → $ФАДН_2$. Фермент одновременно является комплексом II дыхательной цепи.

7 Фумараза

Фумарат + H_2O ⇄ L-малат.

8 Малатдегидрогеназа

L-малат + $НАД^+$ ⇄ оксалоацетат + НАДН + H^+.

Энергетический баланс одного оборота ЦТК

3	1	1
НАДН	$ФАДН_2$	ГТФ
≈ 7,5 АТФ	≈ 1,5 АТФ	≈ 1 АТФ

≈ 10 АТФ-эквивалентов на 1 ацетил-КоА

Современные приближённые коэффициенты P/O: 2,5 для НАДН и 1,5 для $ФАДН_2$.

Регуляция цикла Кребса

АКТИВИРУЮТ

АДФ и Ca^{2+} сигнализируют о повышенной потребности в энергии.

Доступность $НАД^{+}$, ацетил-КоА и оксалоацетата поддерживает поток по циклу.

ТОРМОЗЯТ

Высокие концентрации АТФ и НАДН отражают энергетическую обеспеченность.

Цитрат, сукцинил-КоА и НАДН могут тормозить отдельные реакции.

Ключевые контрольные узлы: цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа и α-КГ-дегидрогеназа.

Значение ЦТК: больше, чем производство АТФ

- Образование НАДН и $ФАДН_2$ для окислительного фосфорилирования.
- Предоставление промежуточных метаболитов для синтеза аминокислот, гема и липидов.
- Интеграция углеводного, липидного и белкового обмена.
- Амфиболический характер: сочетание катаболических и анаболических функций.

Дыхательная цепь митохондрий

КОМПЛЕКС I

НАДН

→

КОМПЛЕКС II

$ФАДН_2$

→

КОМПЛЕКС III

Коэнзим Q → цитохром c

→

КОМПЛЕКС IV

$O_2 \rightarrow H_2O$

Электроны от комплекса II также поступают к коэнзиму Q; комплекс II не перекачивает H^+.

Как создаётся протонный градиент

Межмембранное пространство • повышенная концентрация H^+

ВНУТРЕННЯЯ МЕМБРАНА

Матрикс митохондрии • пониженная концентрация H^+

Комплексы I, III и IV переносят протоны из матрикса в межмембранное пространство.

Хемиосмотическая теория Питера Митчелла

- Перенос электронов по дыхательной цепи создаёт электрохимический градиент H^+.
- Протонодвижущая сила включает электрический потенциал и разность pH.
- Обратный поток протонов через АТФ-синтазу сопряжён с образованием АТФ.
- Митчелл получил Нобелевскую премию по химии в 1978 году.

Ключевое понятие: преобразование энергии переноса электронов в энергию градиента H^+.

АТФ-синтаза: молекулярная машина

$$\text{АДФ} + \text{Pi} + \text{энергия градиента } H^+ \rightarrow \text{АТФ} + H_2O$$

F_0-часть

Мембранный канал для переноса протонов; обеспечивает вращение ротора.

F_1-часть

Каталитическая головка, где происходят связывание субстратов и образование АТФ.

Сколько АТФ образуется из глюкозы?

Гликолиз	2 АТФ (нетто) + 2 НАДН
Пируватдегидрогеназный комплекс	2 НАДН
Цикл Кребса (2 оборота)	2 ГТФ + 6 НАДН + 2 $ФАДН_2$
Суммарная оценка	**≈ 30–32 АТФ**

Диапазон обусловлен переносом восстановительных эквивалентов цитозольного НАДН в митохондрии.

Проверим понимание

01 Почему гликолиз может протекать без O_2, а дыхательная цепь — нет?

02 Почему цикл Кребса называют амфиболическим путём?

03 Что произойдёт с синтезом АТФ при разрушении протонного градиента?

Основные выводы

- АТФ связывает процессы выделения и использования энергии.
- Гликолиз даёт пируват, АТФ и НАДН; дальнейшая судьба пирувата зависит от клетки и условий.
- ЦТК окисляет ацетильные группы и формирует восстановленные коферменты.
- Дыхательная цепь создаёт протонный градиент, который использует АТФ-синтаза.

Ключевая идея лекции: энергия переносится ступенчато и сохраняется через сопряжённые реакции.