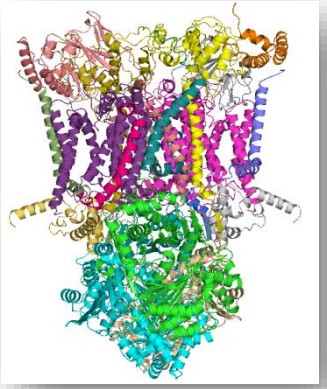
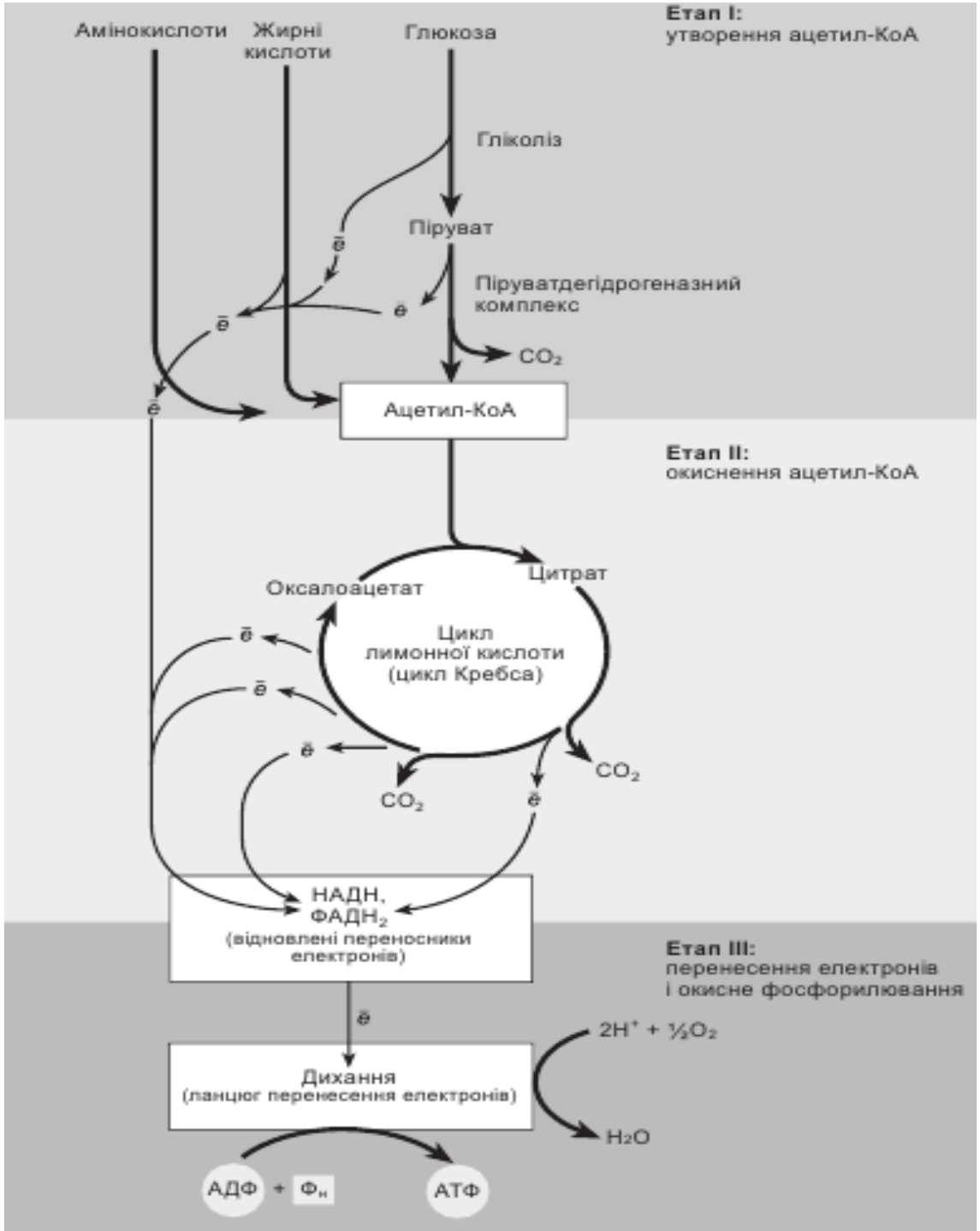
Тема: Дихальний (електрон-транспортний) ланцюг мітохондрій

План

1. Реакції перенесення електронів у мітохондріях
2. Універсальні акцептори і переносники електронів
3. Мультиферментні комплекси дихального ланцюга
4. Запасання енергії у протонному градієнті



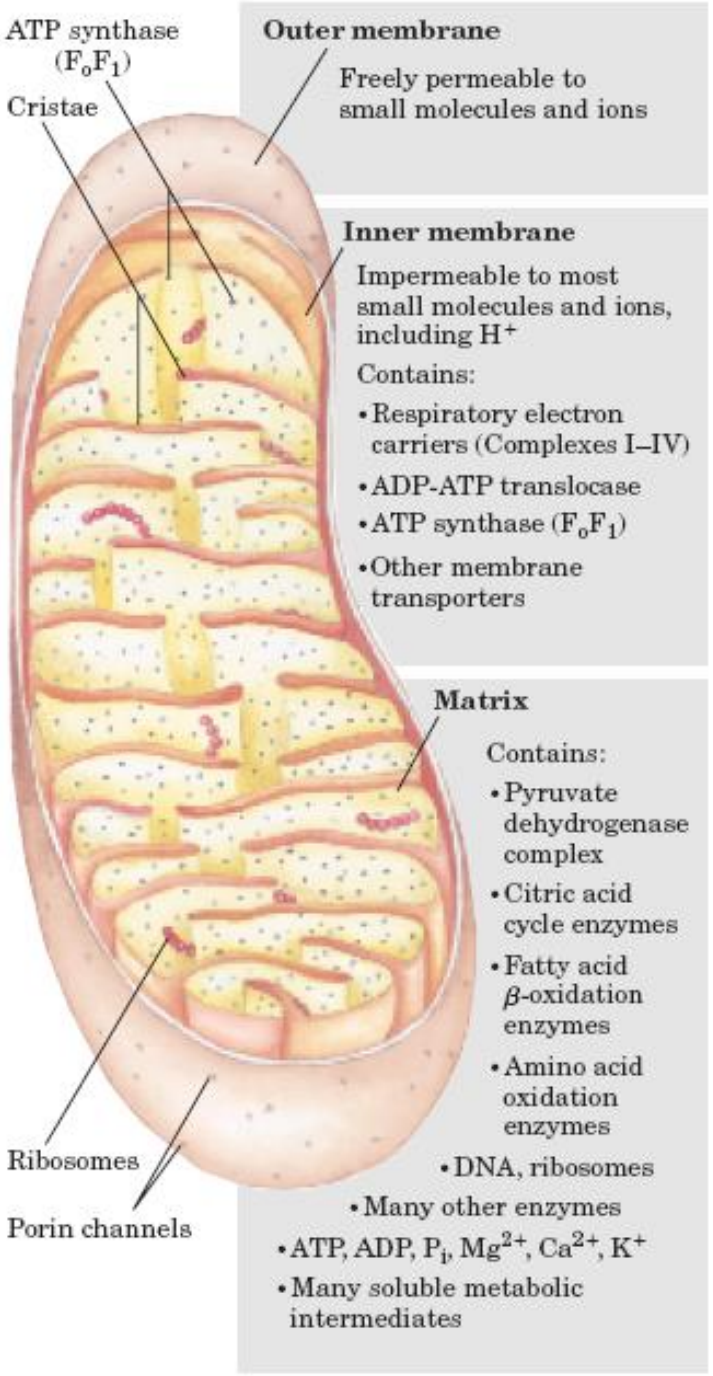
© Babsky



Три основних етапи енергетичних процесів у клітині

- **Етап III**: електрони, переносяться за допомогою НАДН і $ФАДН_2$ і „вливаються” у дихальний ланцюг, утворений переносниками електронів, у якому O_2 повністю відновлюється до H_2O. Цей потік електронів супроводжується продукцією АТФ.

Біохімічна анатомія мітохондрії



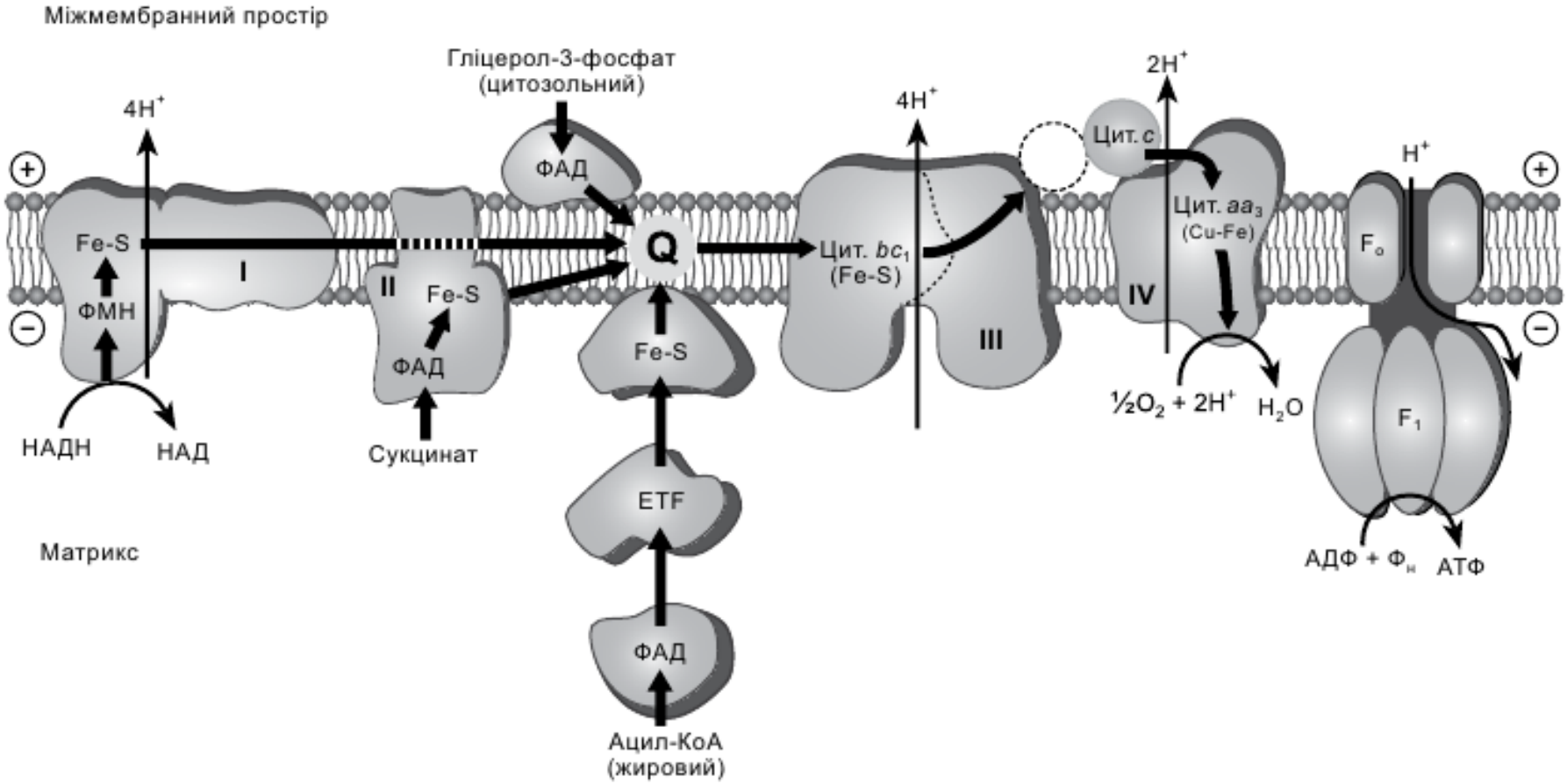
- Кристи збільшують площу поверхні внутрішньої мембрани, яка містить у печінці понад 10 000 (печінка) чи 30 000 (серце) дихальних ланцюгів і молекул АТФ-синтази

- Мітохондріальний запас коензимів та проміжних продуктів функціонально відокремлений від відповідного цитозольного пулу

- Мітохондрії безхребетних, рослин і мікробних еукаріотів за своєю будовою загалом подібні, проте варіюють за розмірами, формою та ступенем складчастості внутрішньої мембрани

© Babsky

Загальна схема потоку електронів і протонів через чотири комплекси дихального ланцюга



Електрони переносяться на Q через комплекси I і II. QH_2 - мобільний переносник e^- та H^+. Він доставляє електрони до комплексу III, який передає їх на цитохром с. Комплекс IV переносить e^- від відновленого цитохрому *с* на O_2. Електронний потік через комплекси I, III і IV супроводжується потоком протонів з матриксу у міжмембранний простір.

© Babsky

Білкові компоненти мітохондріального електрон-транспортного ланцюга

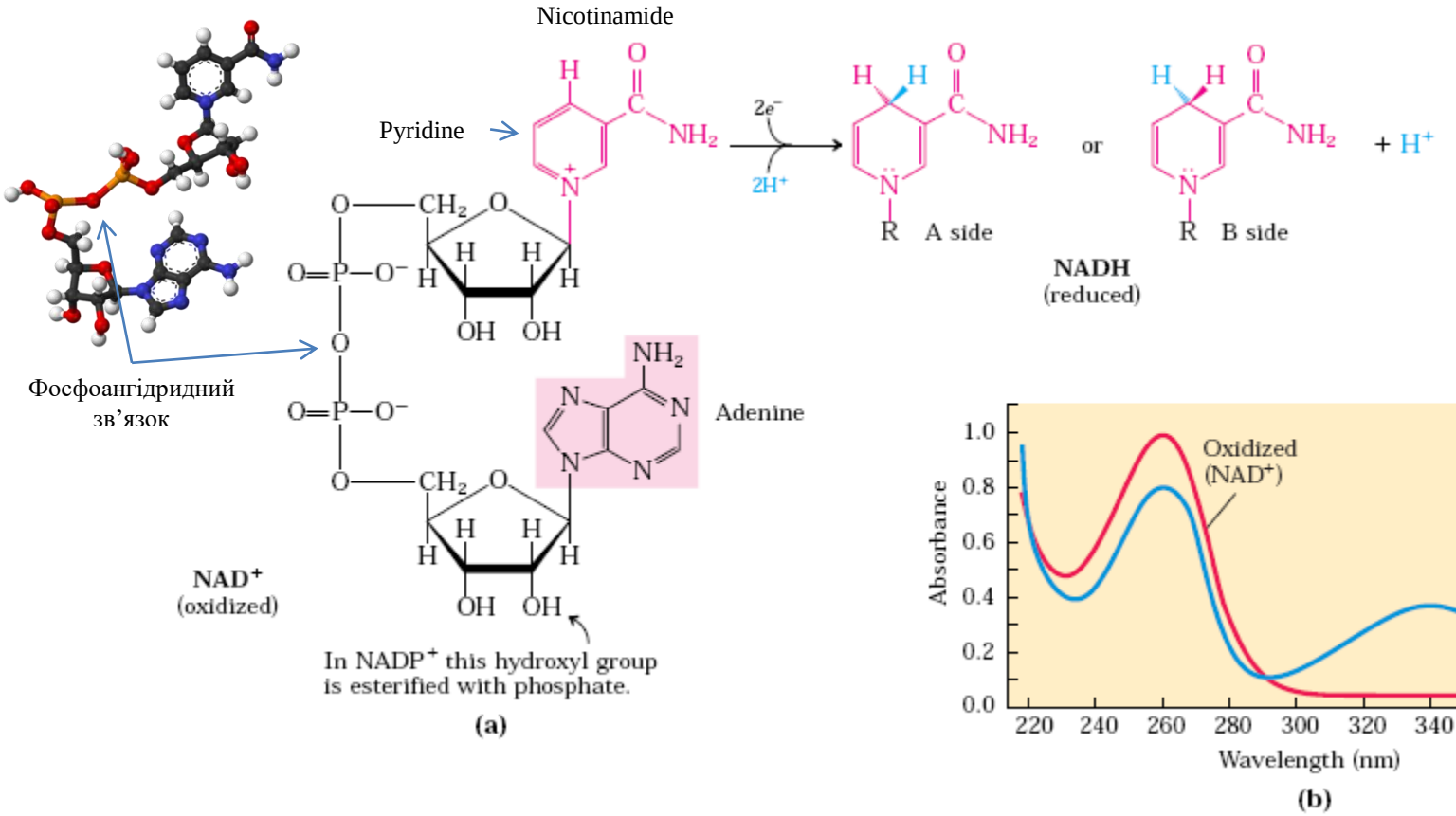
Enzyme complex/protein	*Mass (kDa)*	*Number of subunits*[*]	*Prosthetic group(s)*
I NADH dehydrogenase	850	43 (14)	FMN, Fe-S
II Succinate dehydrogenase	140	4	FAD, Fe-S
III Ubiquinone cytochrome *c* oxidoreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Cytochrome *c*[†]	13	1	Heme
IV Cytochrome oxidase	160	13 (3–4)	Hemes; Cu_A, Cu_B

[*]Numbers of subunits in the bacterial equivalents in parentheses.

[†]Cytochrome *c* is not part of an enzyme complex; it moves between Complexes III and IV as a freely soluble protein.

© Babsky

Нікотинамідаденін-динуклеотид (НАД, NAD^+) та нікотинамідаденін-динуклеотид-фосфат (НАДФ, $NADP^+$)



- ***(а)*** *НАД⁺ та НАДФ⁺ відновлюються до НАДН та НАДФН, приймаючи гідрид-йон (два електрони і протон) від окиснюваного субстрату. Гідрид-йон може приєднуватись як до зовнішньої (А) так і до внутрішньої (Б) поверхні площини кільця нікотинаміду.*
- ***(б)*** *Спектри поглинання НАД⁺ і НАДН. Відновлення нікотинамідного кільця призводить до появи нової широкої смуги поглинання з максимумом при 340нм. Тому швидкість утворення НАДН у ході ферментативої реакції можна оцінювати за збільшенням абсорбції при 340 нм.*

© Babsky

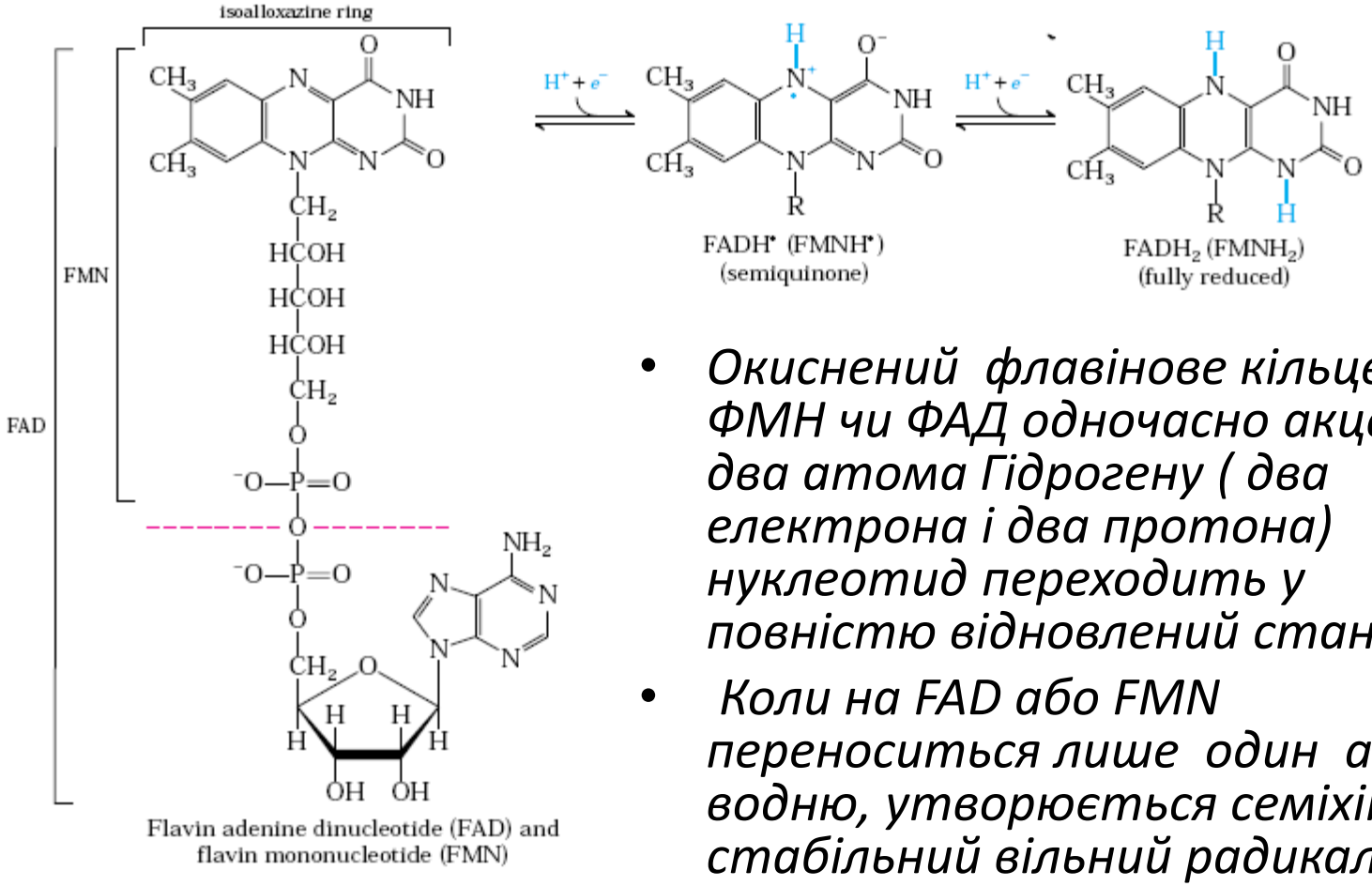
Деякі важливі реакції, що каталізуються НАД(Ф)Н-дегідрогеназами

Reaction[*]	*Location*[†]
NAD-linked	
α-Ketoglutarate + CoA + $NAD^+ \rightleftharpoons$ succinyl-CoA + CO_2 + NADH + H^+	M
L-Malate + $NAD^+ \rightleftharpoons$ oxaloacetate + NADH + H^+	M and C
Pyruvate + CoA + $NAD^+ \rightleftharpoons$ acetyl-CoA + CO_2 + NADH + H^+	M
Glyceraldehyde 3-phosphate + P_i + $NAD^+ \rightleftharpoons$ 1,3-bisphosphoglycerate + NADH + H^+	C
Lactate + $NAD^+ \rightleftharpoons$ pyruvate + NADH + H^+	C
β-Hydroxyacyl-CoA + $NAD^+ \rightleftharpoons$ β-ketoacyl-CoA + NADH + H^+	M
NADP-linked	
Glucose 6-phosphate + $NADP^+ \rightleftharpoons$ 6-phosphogluconate + NADPH + H^+	C
NAD- or NADP-linked	
L-Glutamate + H_2O + $NAD(P)^+ \rightleftharpoons$ α-ketoglutarate + NH_4^+ + NAD(P)H	M
Isocitrate + $NAD(P)^+ \rightleftharpoons$ α-ketoglutarate + CO_2 + NAD(P)H + H^+	M and C

[*] These reactions and their enzymes are discussed in Chapters 14 through 18.
[†] M designates mitochondria; C, cytosol.

© Babsky

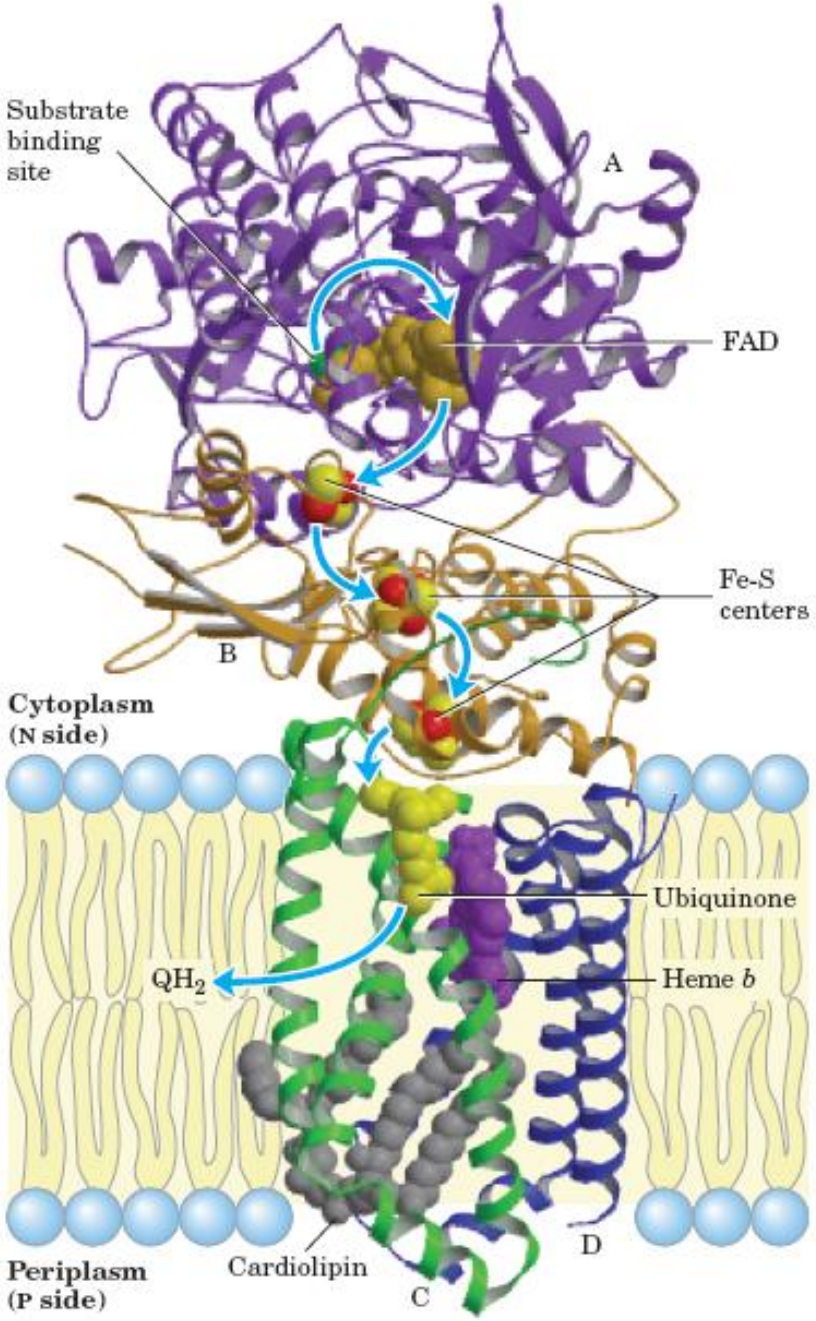
Структура флавін-аденін-динуклеотида (FAD) та флавін-мононуклеотида (FMN) в окисненому та відновленому станах



Flavin adenine dinucleotide (FAD) and flavin mononucleotide (FMN)

- *Окиснений флавінове кільце ФМН чи ФАД одночасно акцептує два атома Гідрогену (два електрона і два протона) нуклеотид переходить у повністю відновлений стан.*
- *Коли на FAD або FMN переноситься лише один атом водню, утворюється семіхінон - стабільний вільний радикал.*

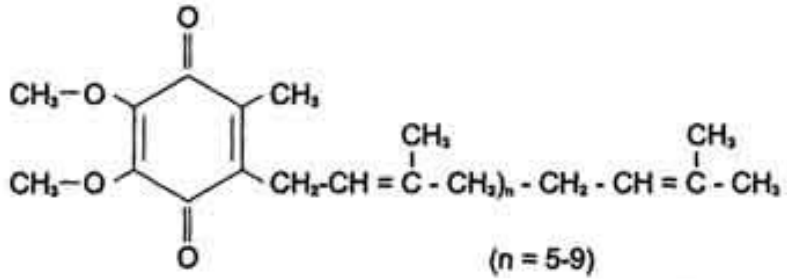
Структура комплексу II (сукцинатдегідрогеназа)

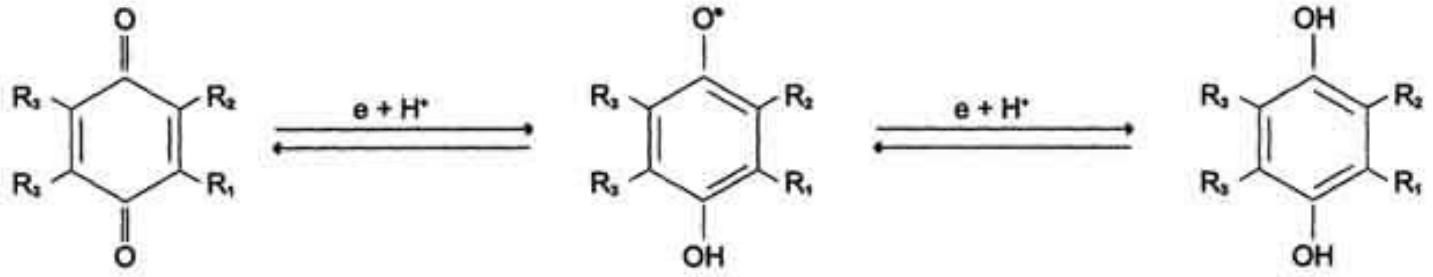


Дві трансмембранні C (зелена) і D (синя) і дві цитоплазматичні B (помаранчева) і A (фіолетова). Транспорт електронів показано голубими стрілками. Гем b не бере участі у транспорті електронів, але запобігає утворенню активних форм кисню (ROS).

© Babsky

Убіхінон (Q, чи коензим Q)



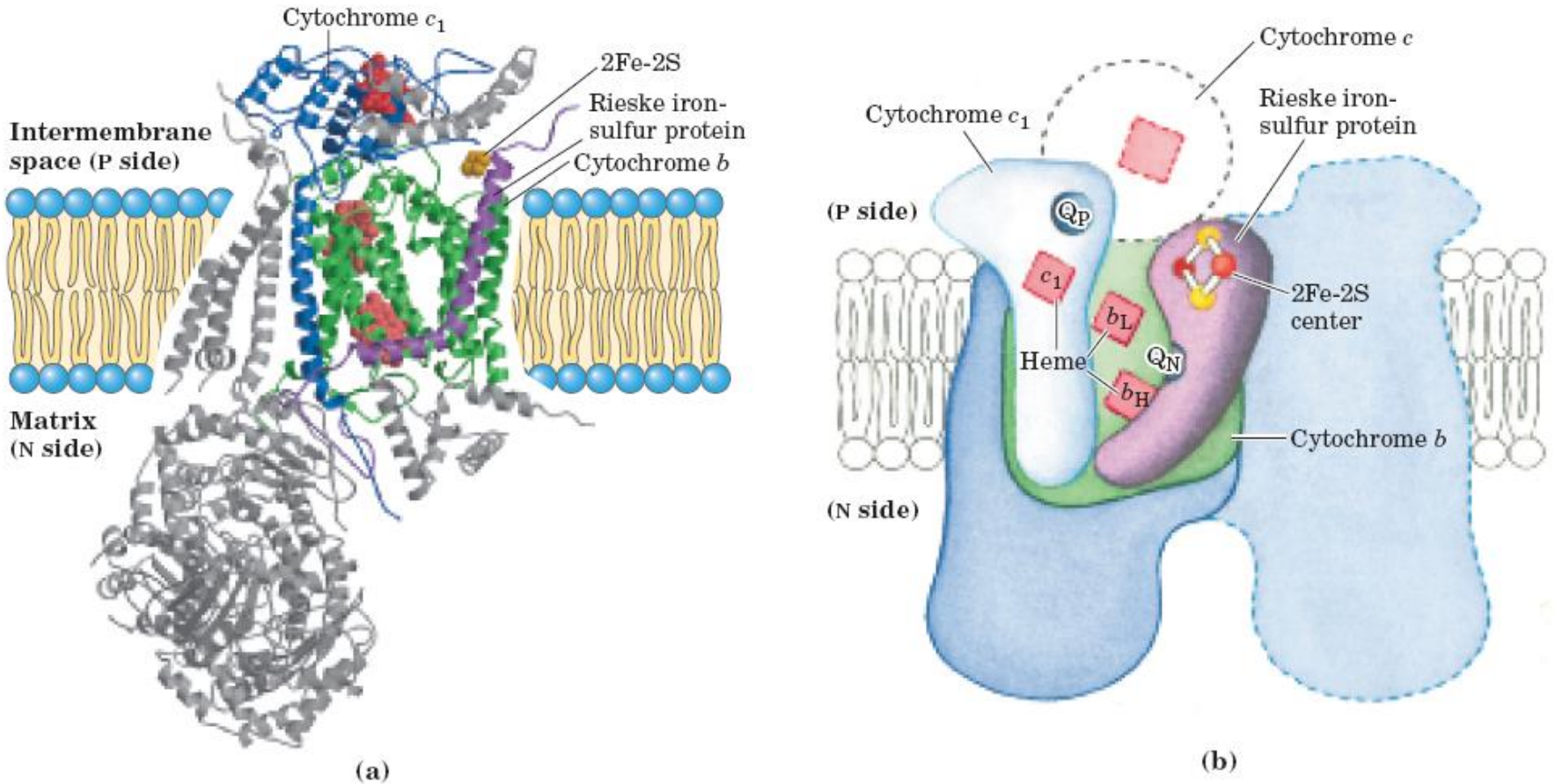


Окислена форма Убісеміхінон Відновлена форма

Повне відновлення убіхінону потребує двох електронів і двох протонів, і проходить упродовж двох етапів з утворенням напівхінонового проміжного радикалу

© Babsky

Комплекс цитохром bc_1 (комплекс III)

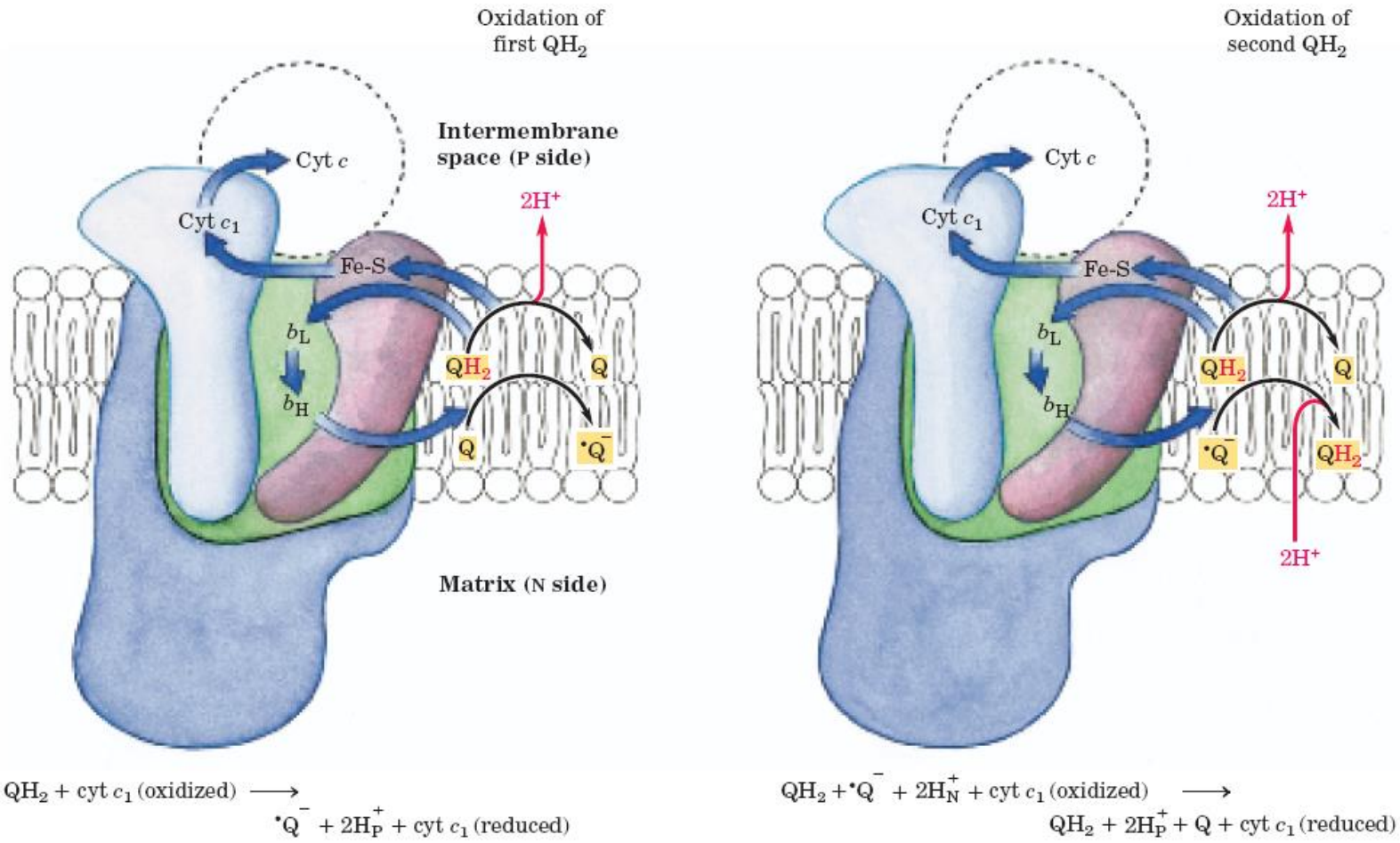


(a) Структура мономера: цитохром *b* (зелений), що містить два геми (b_H і b_L, світло-червоні); залізо-сірковий протеїн Ріске (фіолетовий) з 2Fe-2S - центрами (жовті); і цитохром c_1 (синій) з одним гемом (червоний).

(b) Димерна функціональна одиниця. Цитохром c_1 і залізо-сірковий протеїн Ріске виступають з P-поверхні і у міжмембранному просторі можуть взаємодіяти з цитохромом *c* (який не входить до функціонального комплексу). Комплекс має два окремі центри зв'язування для убіхінона - Q_N і Q_P.

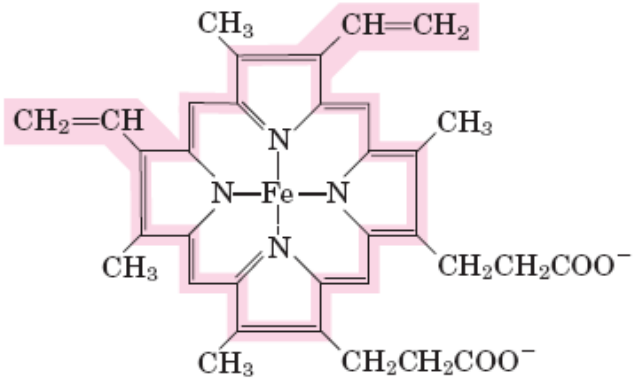
© Babsky

Q-цикл (комплекс III)

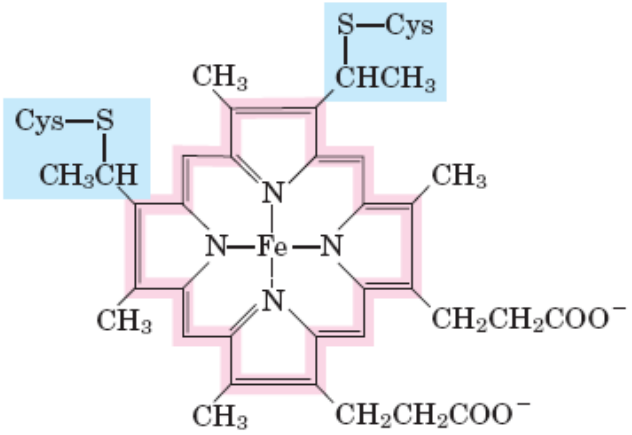


© Babsky

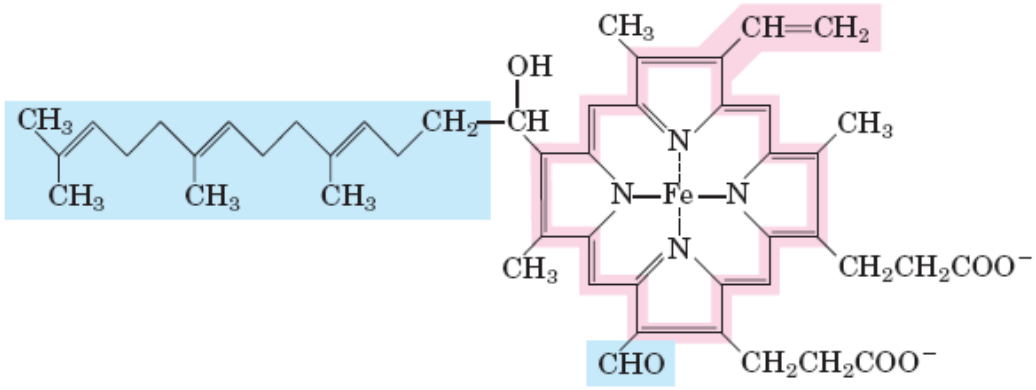
Простетичні групи цитохромів



Iron protoporphyrin IX
(in *b*-type cytochromes)



Heme C
(in *c*-type cytochromes)

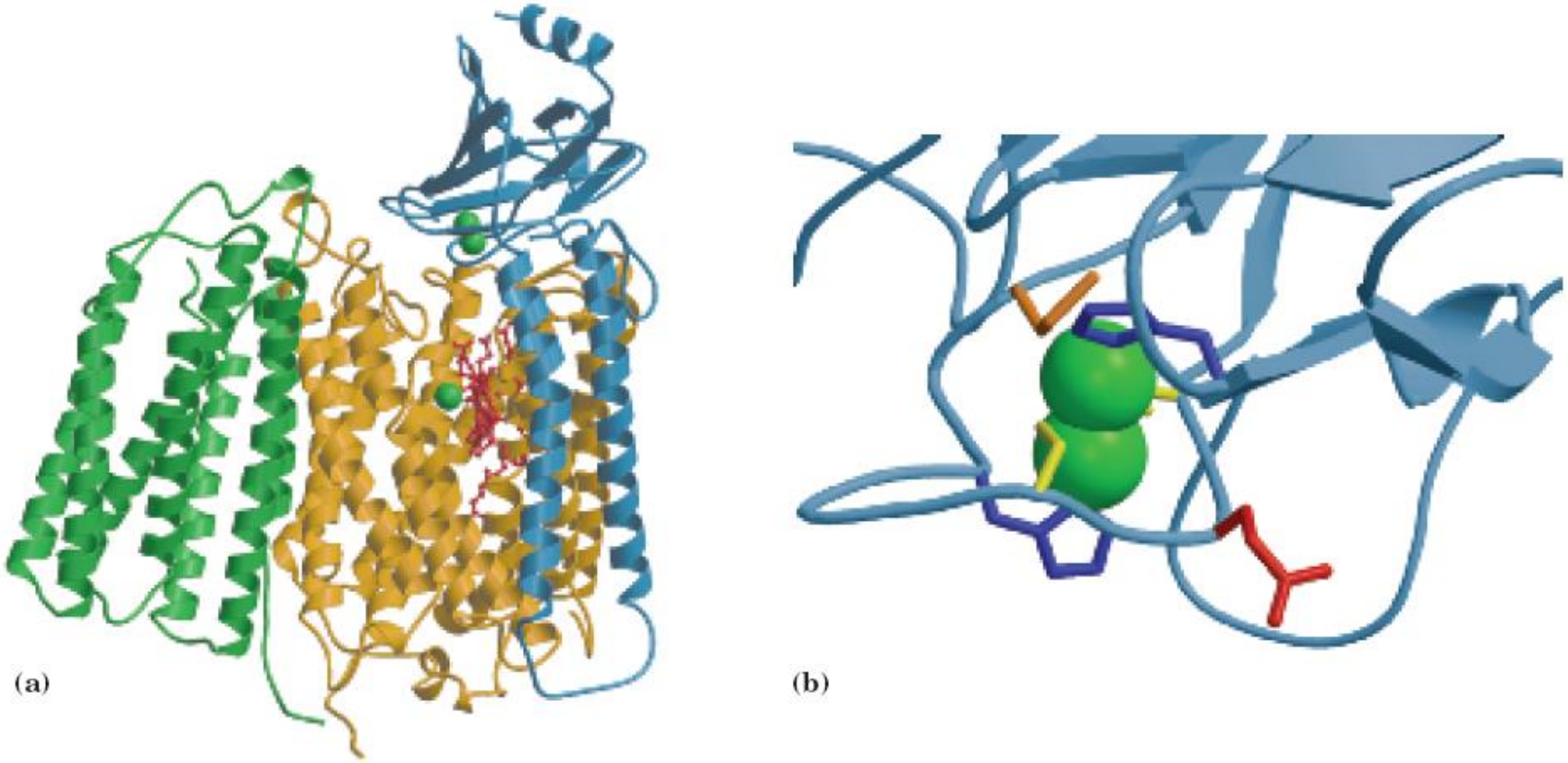


Heme A
(in *a*-type cytochromes)

- Кожна група містить азотовмісний порфірин.
- Чотири атоми азоту зв'язані координаційними зв'язками з центральним атомом заліза – Fe^{2+} чи Fe^{3+}.
- Гем *c* ковалентно зв'язаний з протеїном цитохрому *c* через тіоефірні зв'язки двох залишків Cys.

© Babsky

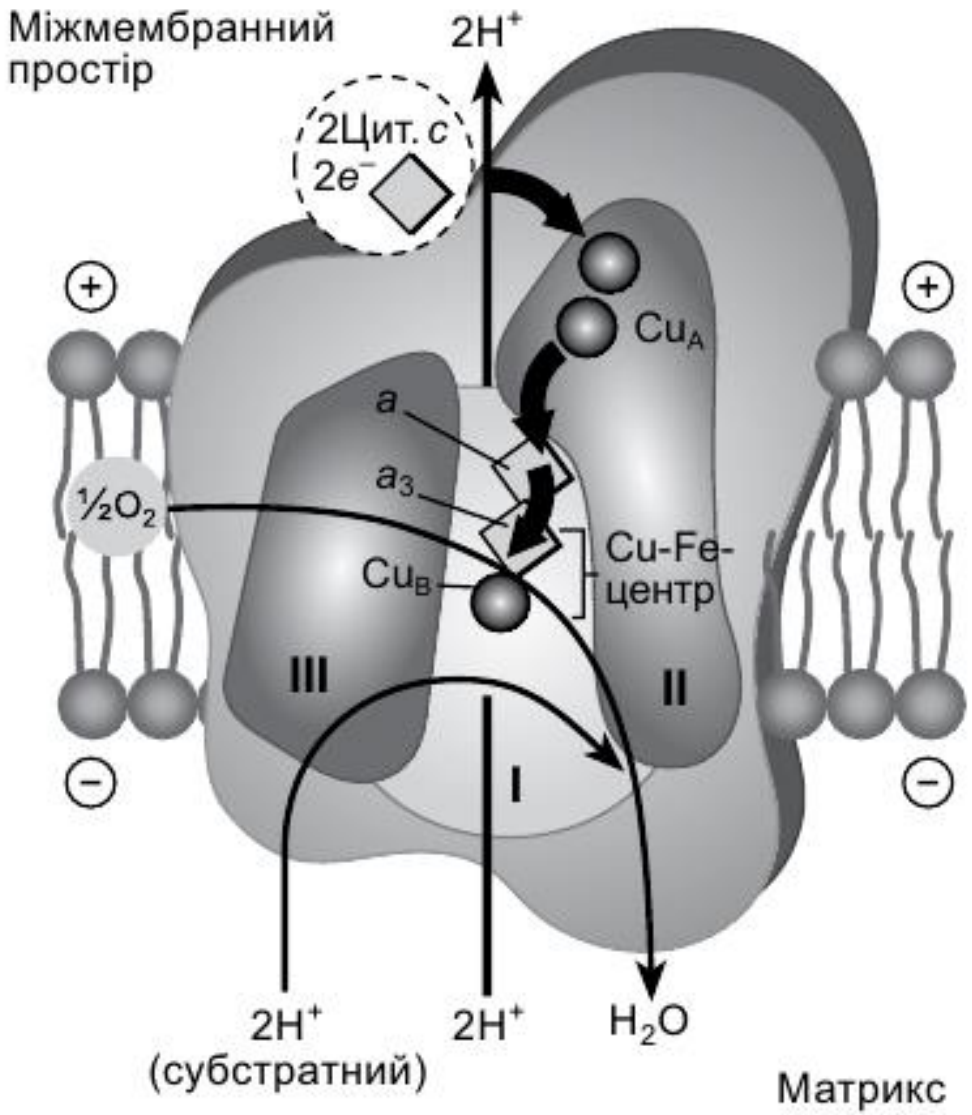
Субодиниці цитохромоксидази (комплекс IV)



(a) Осердя комплексу: субодиниця I (жовта) має дві гемові групи – a і a_3 (червоні) та йон міді - Cu_B (зелена кулька); субодиниця II (блакитна) містить два іони міді (зелені кульки); субодиниця III (зелена)**.**
(b) Двоядерний центр Cu_A. Іони міді (зелені кульки) діляться електронами порівну.

© Babsky

Рух електронів і протонів у комплексі IV



- Цит *c* передає e^- на двоядерний центр Cu_A. Далі електрони рухаються через гем *a* на Fe-Cu - центр
- Кисень зв'язується з гемом a_3 і відновлюється до O_2^{2-}. Унаслідок приєднання ще двох e^- від цит *c* O_2^{2-} перетворюється на дві H_2O
- На пару перенесених електронів транспортується два «субстратних» H^+ з матриксу до міжмембранного простору
- Коли переносяться тільки два e^- проміжні сполуки будуть тісно зв'язані із комплексом доти доки не надійдуть наступні два e^-

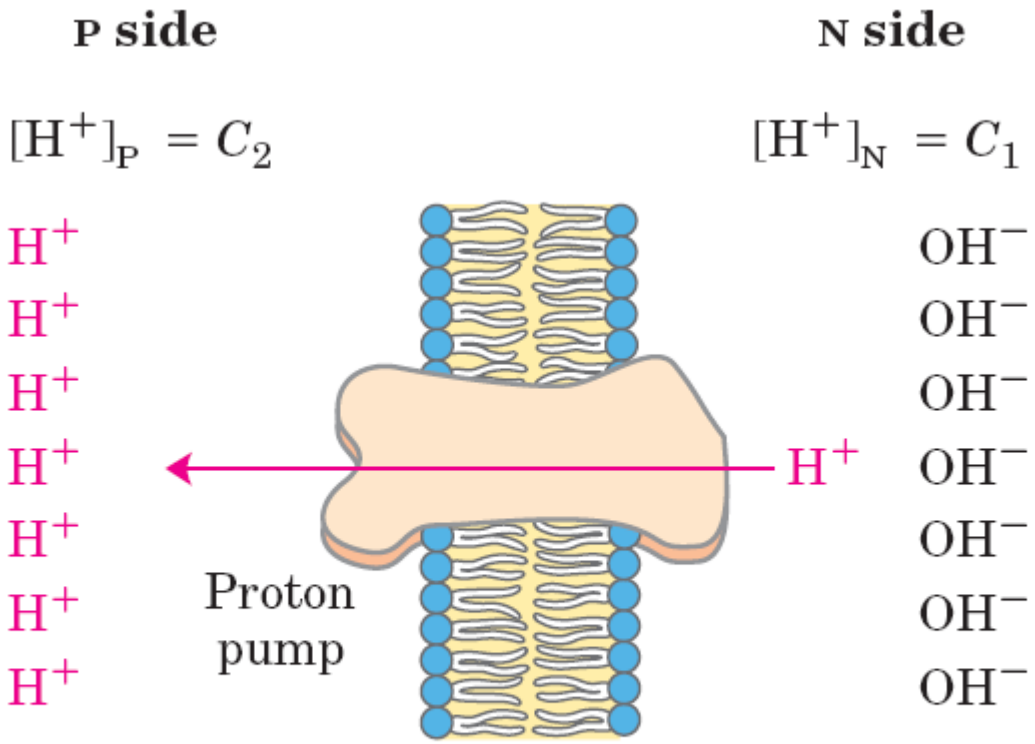
© Babsky

Окисно-відновний потенціал компонентів (у Вольтах) дихального ланцюга у стандартних умовах (концентрація компонентів 1 М, pH 7, 25°С)

H^+/H_2	-0,42
NAD^+/NADH	-0,32
NADH-дегідрогеназа (FMN-форма)	-0,30
FAD-білок/$FADH_2$-білок	-0,05
Сукцинат/фумарат	+0,03
Убіхінон/убіхінол	+0,04
цит. b Fe^{3+}/цит. b Fe^{2+}	+0,07
цит. c_1 Fe^{3+}/цит. c_1 Fe^{2+}	+0,23
цит. c Fe^{3+}/цит. c Fe^{2+}	+0,25
цит. a Fe^{3+}/цит. a Fe^{2+}	+0,29
цит. a_3 Fe^{3+}/цит. a_3 Fe^{2+}	+0,55
½ O_2 + $2H^+$+2e/H_20	+0,82

© Babsky

Протонорушійна сила

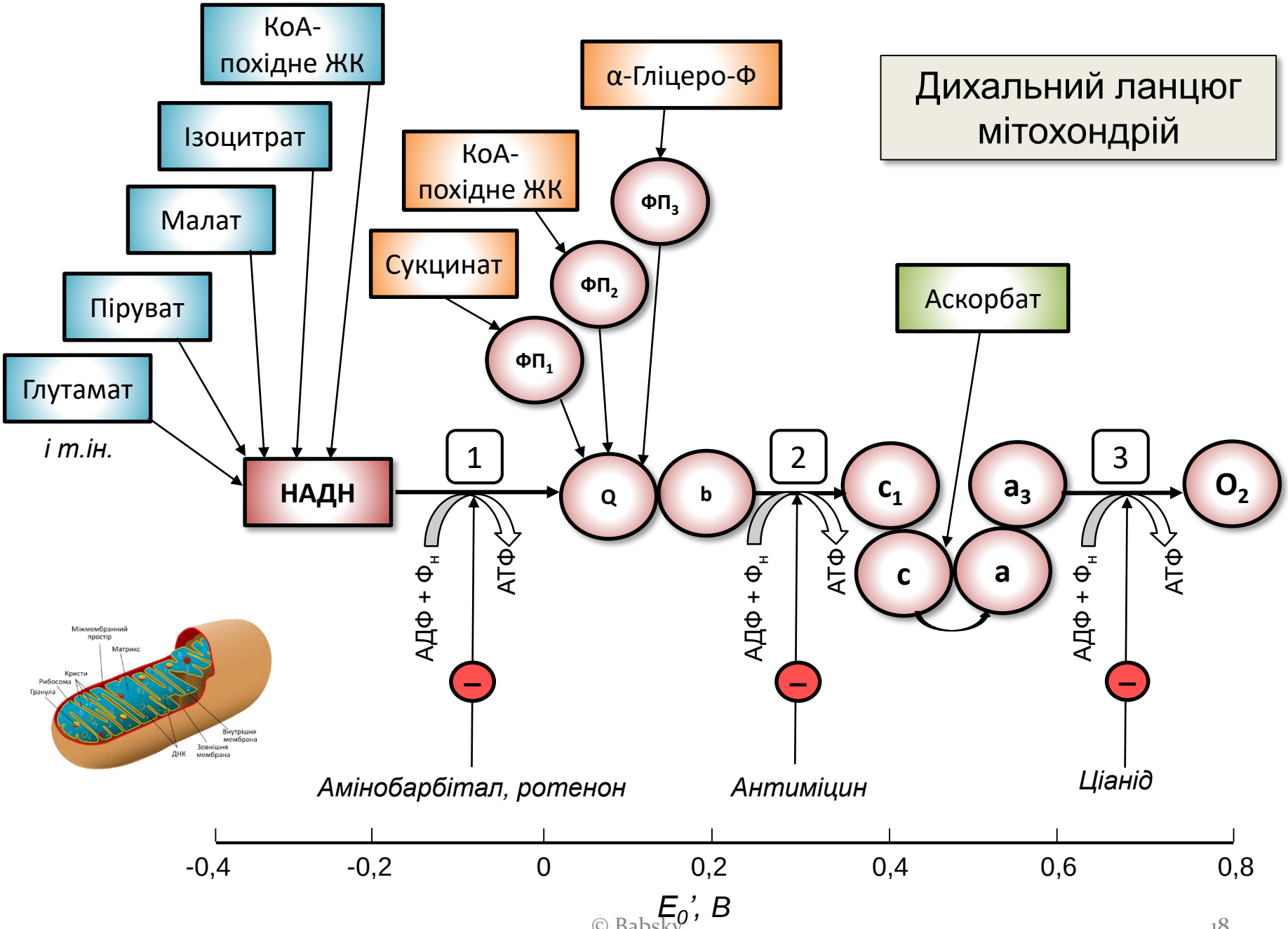


$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z\mathcal{F}\ \Delta\psi$$
$$= 2.3RT\ \Delta\text{pH} + \mathcal{F}\ \Delta\psi$$

Внутрішня мітохондріальна мембрана розділяє два компартменти з різною $[H^+]$, наслідком чого є різниці у хімічній концентрації (ΔpH) і розподілі зарядів ($\Delta\psi$) по обидві сторони мембрани. У результаті виникає протонорушійна сила (ΔG), яку можна обчислити.

© Babsky

Дихальний ланцюг мітохондрій



© Babsky

Додаткова література

1. Бабський А.М., Іккерт О.В., Манько В.В. Основи біоенергетики : підручник [для студ. вищ. навч. закл.] - Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2019. – 312 с. (С.143-158)
2. Нельсон Д.Л., Кокс М.М. Основи біохімії за Ленінджером. Львів: БаК, 2015.
3. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989.
4. Скулачев В.П. Биоэнергетика: Мембранные преобразователи энергии. - М.: Высш. шк., 1989. – 271 с.

© Babsky