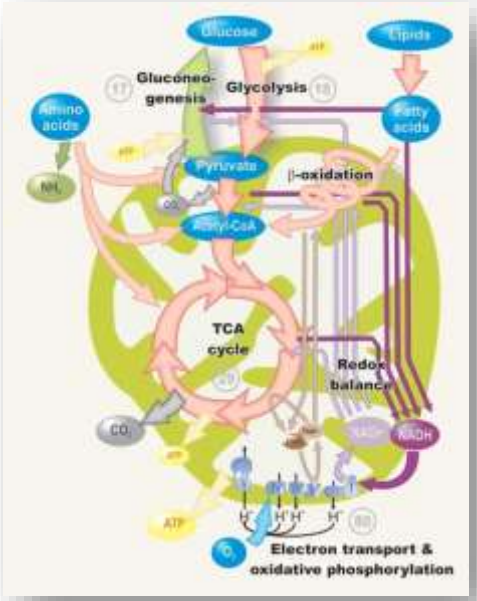
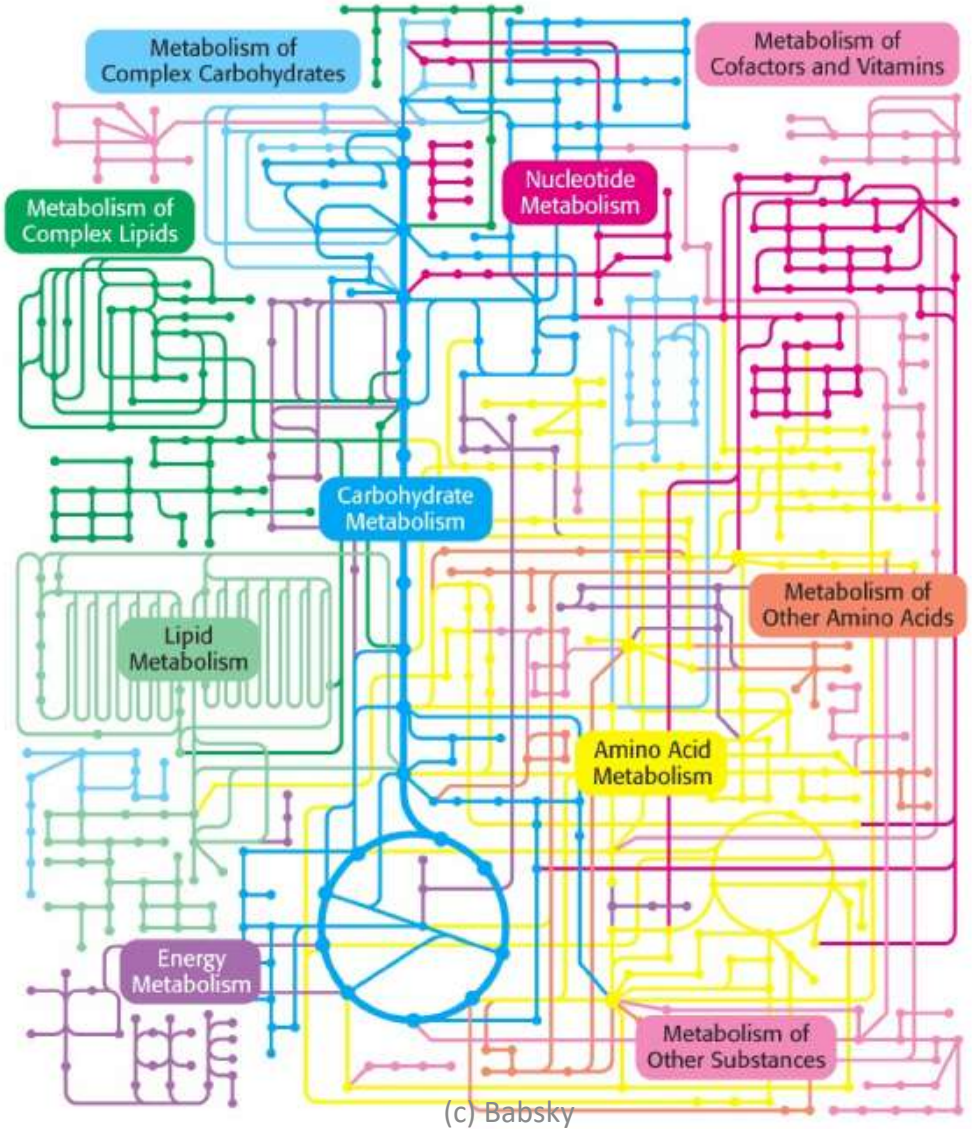
Лекція: Біоенергетика: джерела енергії

План

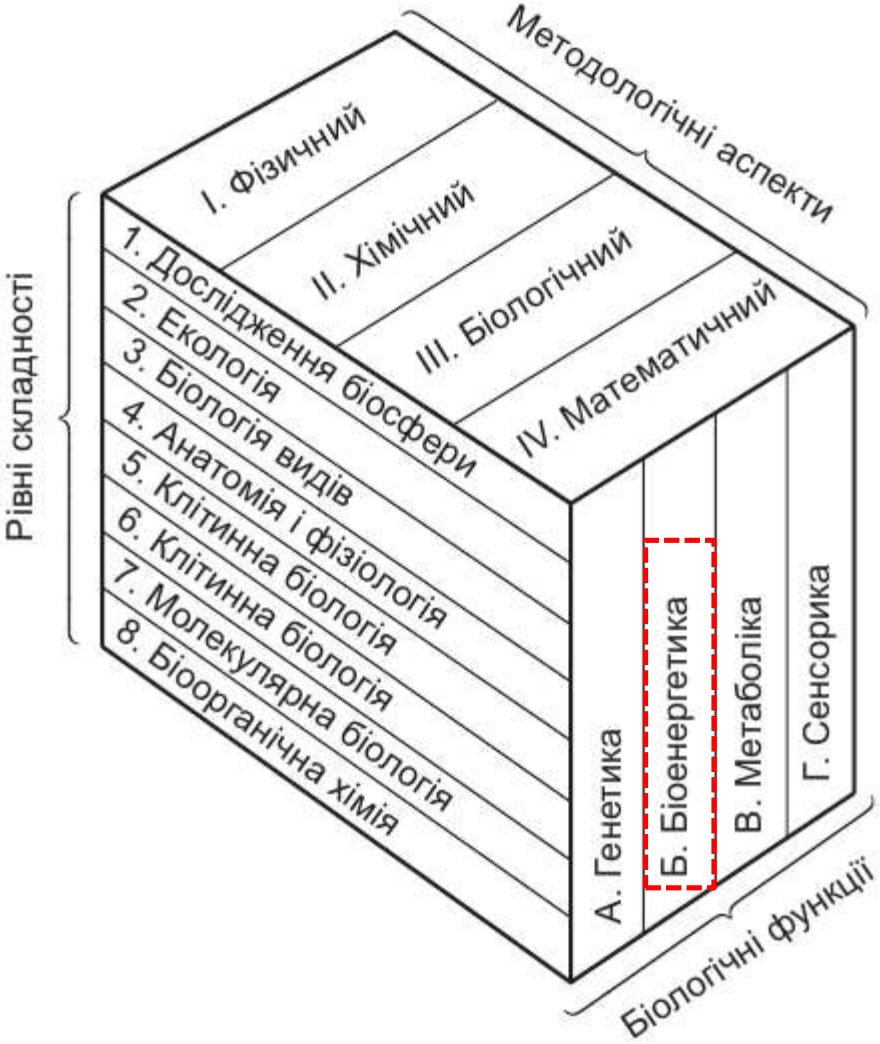
1. Перетворення енергії і загальний обмін речовин
2. АТФ як форма запасання енергії
3. Потік електронів як джерело біологічної енергії
4. Гліколіз
5. Жирні кислоти і триацилгліцероли
6. Катаболізм білків



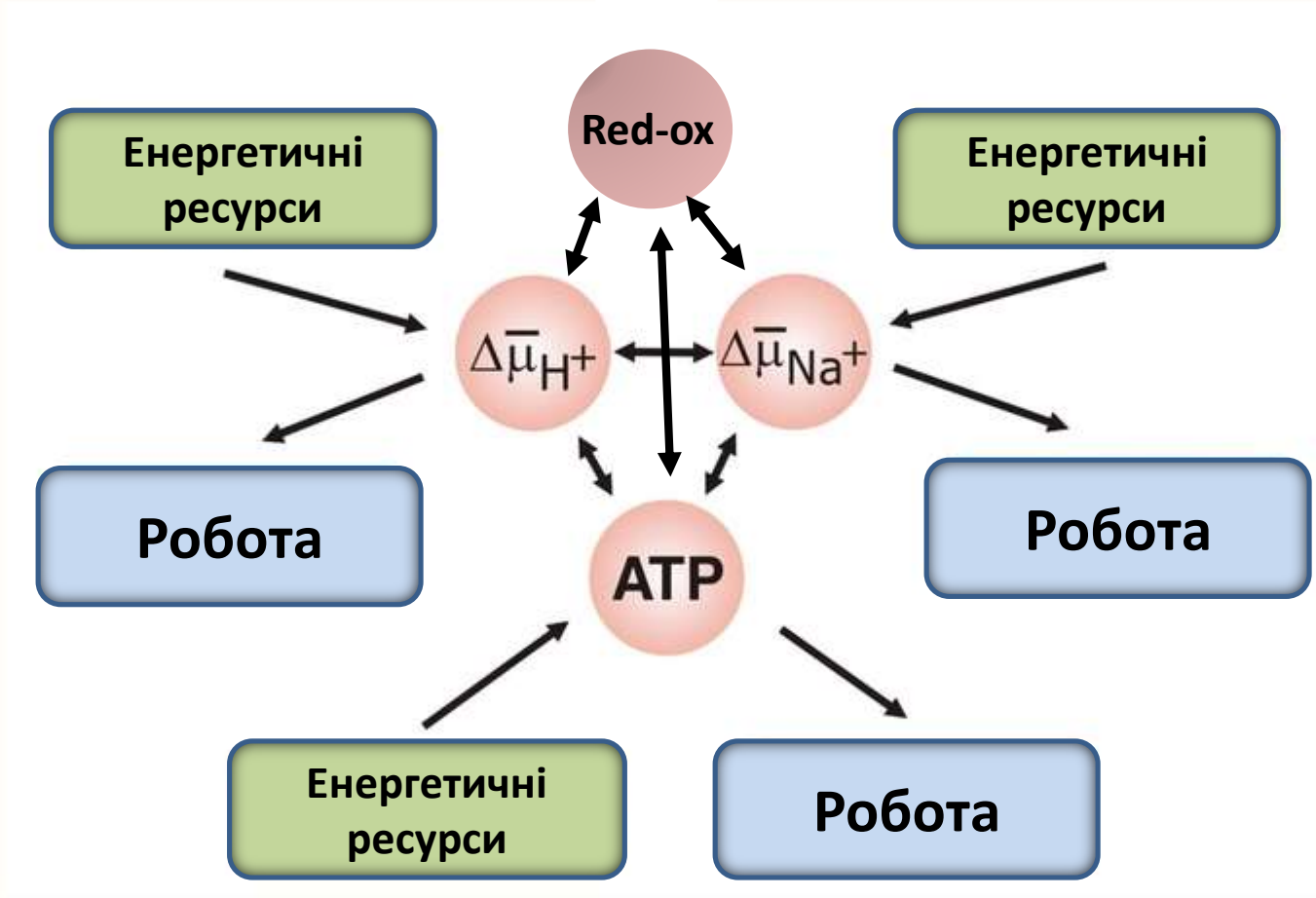
Метаболізм - це тонко координований процес клітинної діяльності, за перебігу якого численні мультиферментні системи клітини взаємодіють між собою для виконання основних фізіологічних функцій



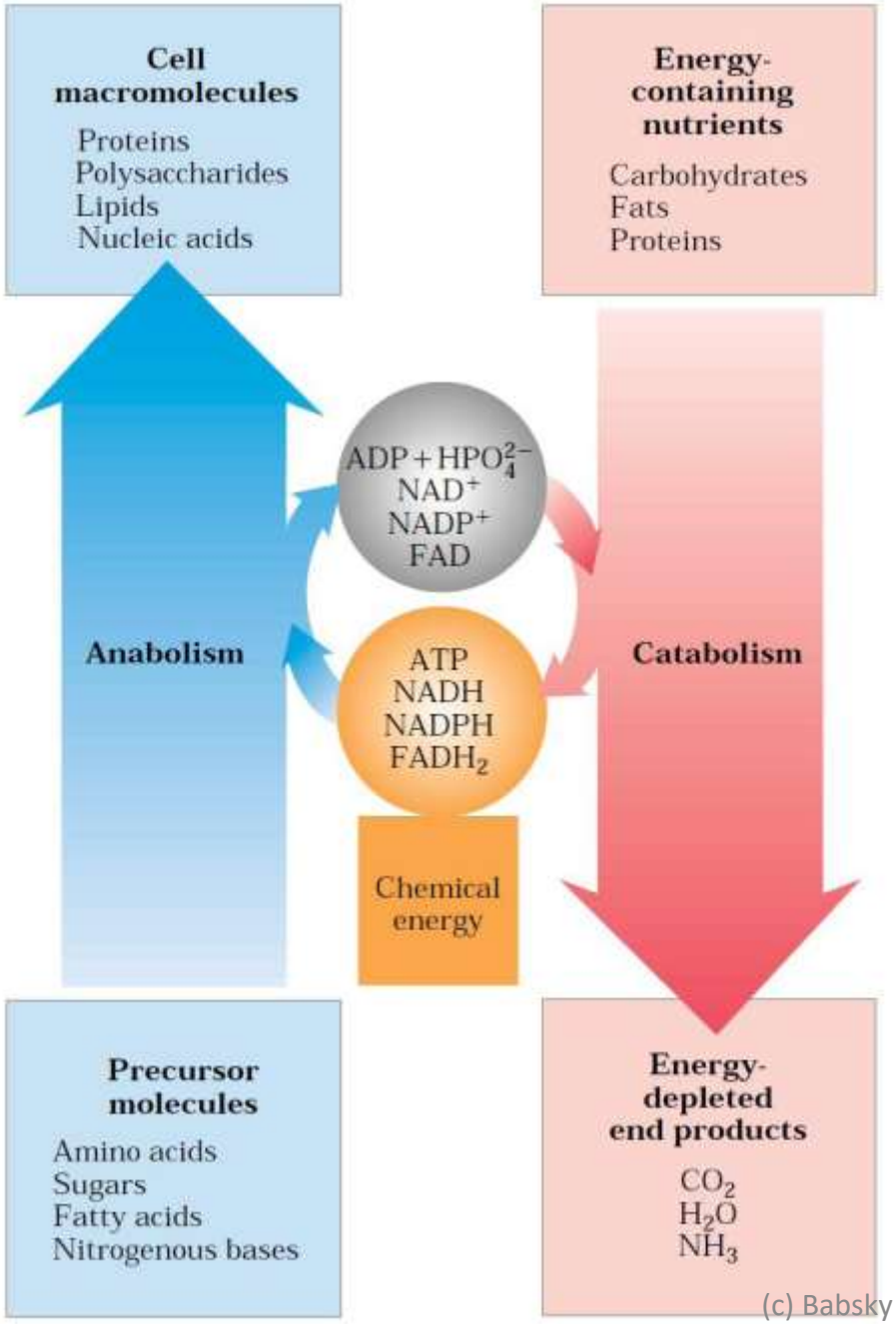
Співвідношення біологічних наук (*за Скулачовим, 1989*)



Форми запасання енергії



Енергетичні взаємозв’язки між катаболічними та анаболічними шляхами



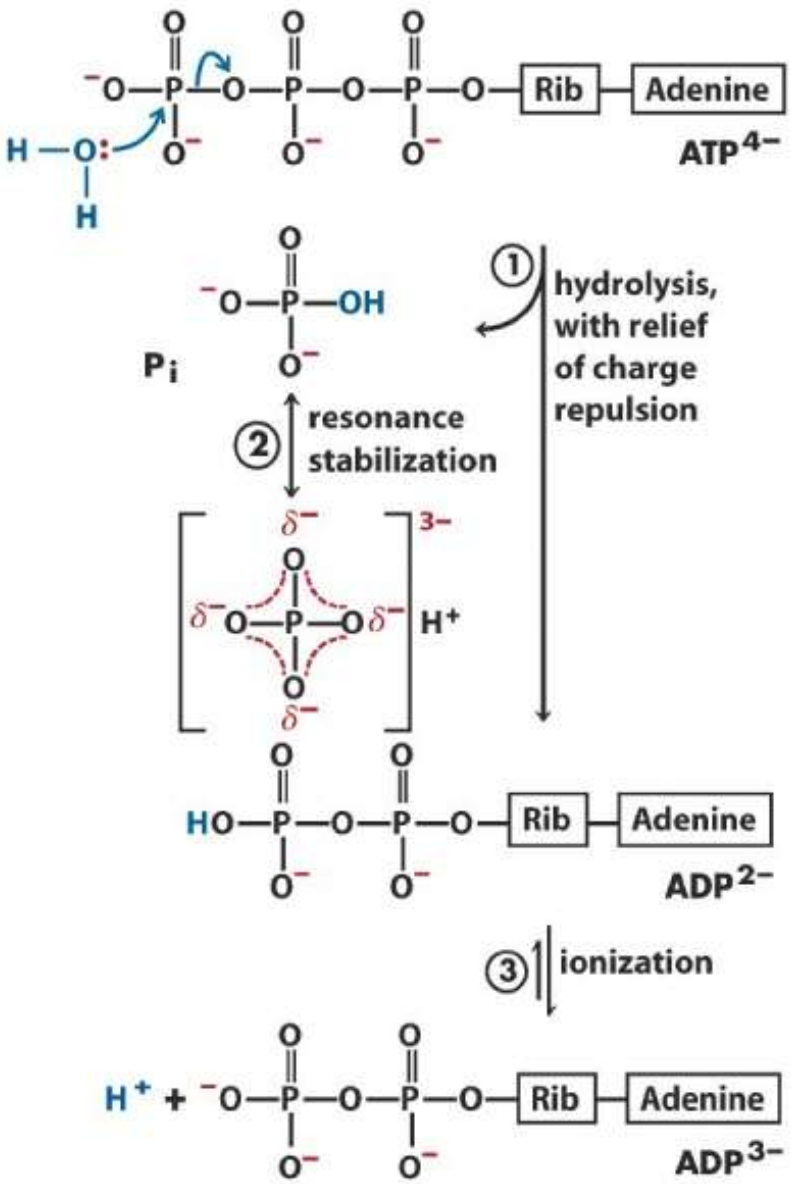
- Вивільнена у ході катаболічних реакцій енергія запасається у вигляді АТФ, НАДН, НАДФН та ФАДН$_2$ та ін.
- Ці переносники енергії використовуються в анаболічних реакціях для синтезу макромолекул з невеликих молекул-попередників

Фактори вивільнення великої вільної енергії за гідролізу макроергічних зв'язків

- **Електростатичне відштовхування.** За pH 7,0 у молекулі АТФ чотири гідроксильні групи (OH^-) фосфатних залишків несуть негативні заряди ($АТФ^{4-}$). Відштовхування однойменних зарядів призводить до ***електростатичної напруги*** в молекулі, особливо у зв'язку P-O-P. Коли зв'язок розривається, електростатичне напруження знімається за рахунок ***просторового розведення негативно заряджених продуктів*** гідролізу - $АДФ^{3-}$ і HPO_4^{2-}
- **Фактор конкурентного резонансу.** Два продукти гідролізу (АДФ і $Ф_н$) є ***резонансними гібридами***, що мають підвищену стійкість, бо частина їхніх електронів перебуває в конфігураціях з нижчими енергетичними рівнями, порівняно з АТФ
- **Виділення протонів.** Сумарне рівняння гідролізу АТФ:

  $АТФ^{4-} + H_2O \rightarrow АДФ^{3-} + HPO_4^{2-} + H^+$. Зв'язування протона з буферним середовищем ***зсуває реакцію вправо***, що вносить вклад у зміну вільної енергії.

Зміна стандартної вільної енергії в реакції гідролізу АТФ – величина велика і негативна



$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow ADP^{3-} + P_i^{2-} + H^+$$

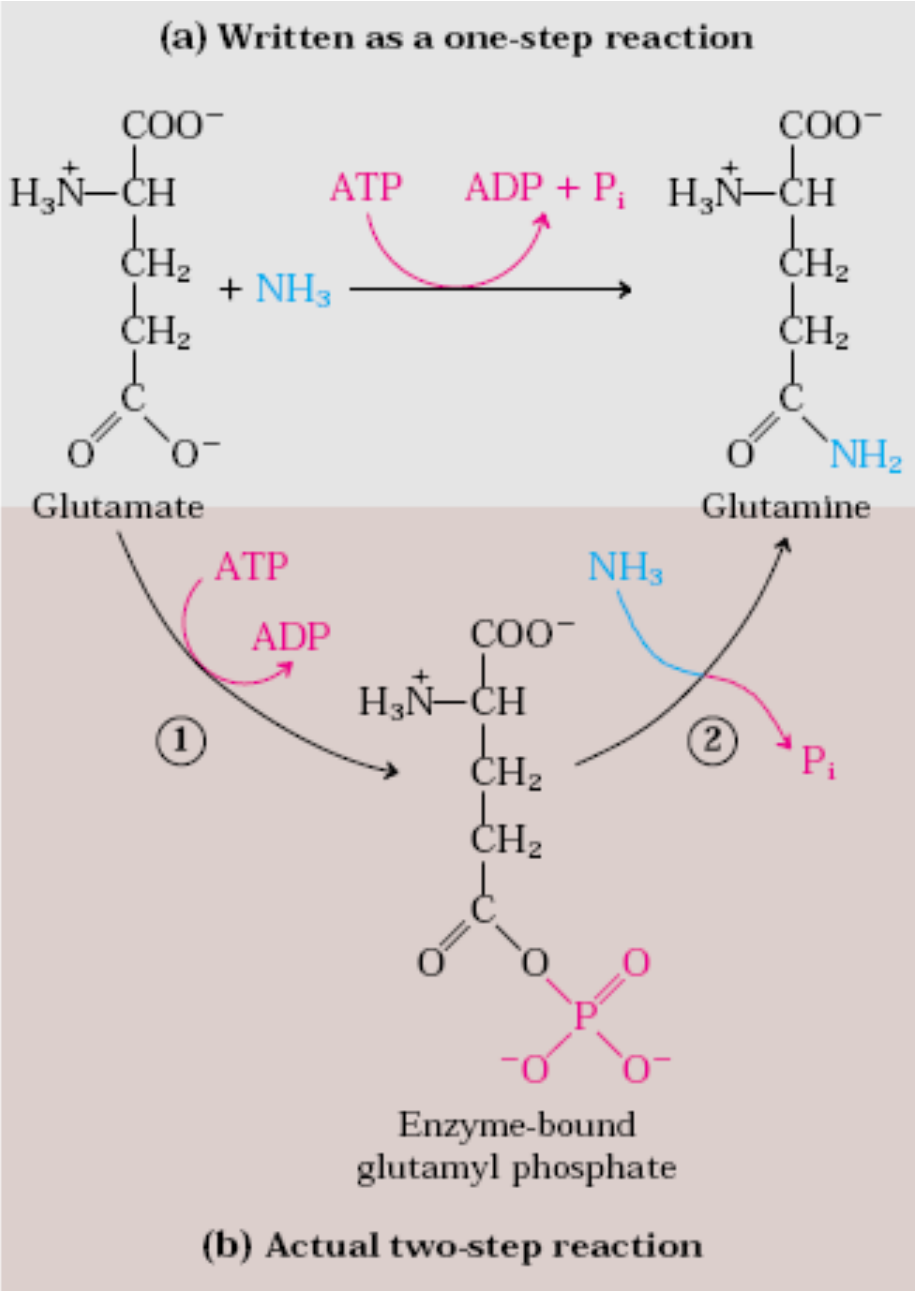
$$\Delta G'^{\circ} = -30.5 \text{ kJ/mol}$$

- Швидке **розщеплення фосфоангідридного зв'язку** можливе лише за умови ферментативного каталізу з АТФазою
- Коли цей зв'язок розривається, електростатичне напруження всередині молекули АТФ послаблюється
- Структура вивільненого **$Ф_н$** (HPO_4^{2-}) **стабілізується** внаслідок його переходу в резонансну форму
- **$АДФ^{2-}$** відразу **іонізується**, вивільнюючи **протон** у середовище з низькою концентрацією H^+ (10^{-7}M)
- Оскільки концентрації продуктів гідролізу АТФ у клітині є значно нижчою, ніж рівноважні концентрації, згідно закону діючих мас рівновага гідролізу АТФ у клітині зміщується в бік завершення реакції

Концентрація аденінових нуклеотидів, неорганічного фосфату та фосфокреатину в деяких клітинах

	Концентрація (мМ)				
	АТФ	АДФ=	АМФ	Фн	ФКр
Гепатоцити щура	3,38	1,32	0,29	4,8	0
Міоцити щура	8,05	0,93	0,04	8,05	28
Нейрони щура	2,59	0,73	0,06	2,72	4,7
Еритроцити людини	2,25	0,25	0,02	1,65	0
Клітини E. Coli	7,90	1,04	0,82	7,9	0

- Дійсна вільна енергія гідролізу (ΔG) АТФ у живій клітині - величина змінна, оскільки концентрації АТФ, АДФ та $Ф_н$ відрізняються між собою і є значно нижчими, ніж стандартна концентрація 1М
- *= Наведено загальні концентрації сполук; справжнє значення концентрації вільного АДФ може бути значно нижчим.*

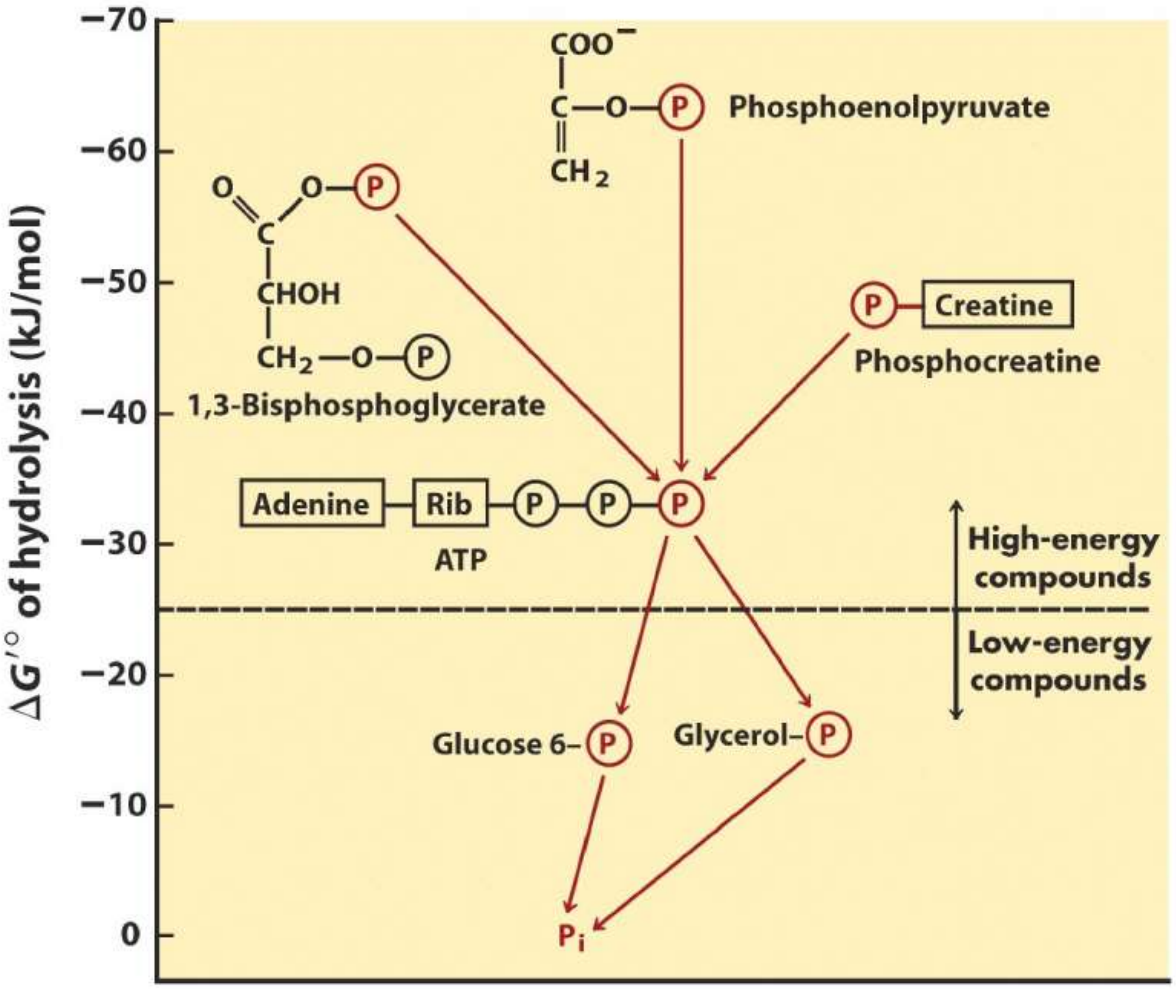


Гідроліз АТФ у більшості випадків відбувається у два етапи

На прикладі АТФ-залежної **глутамінсинтетази**:

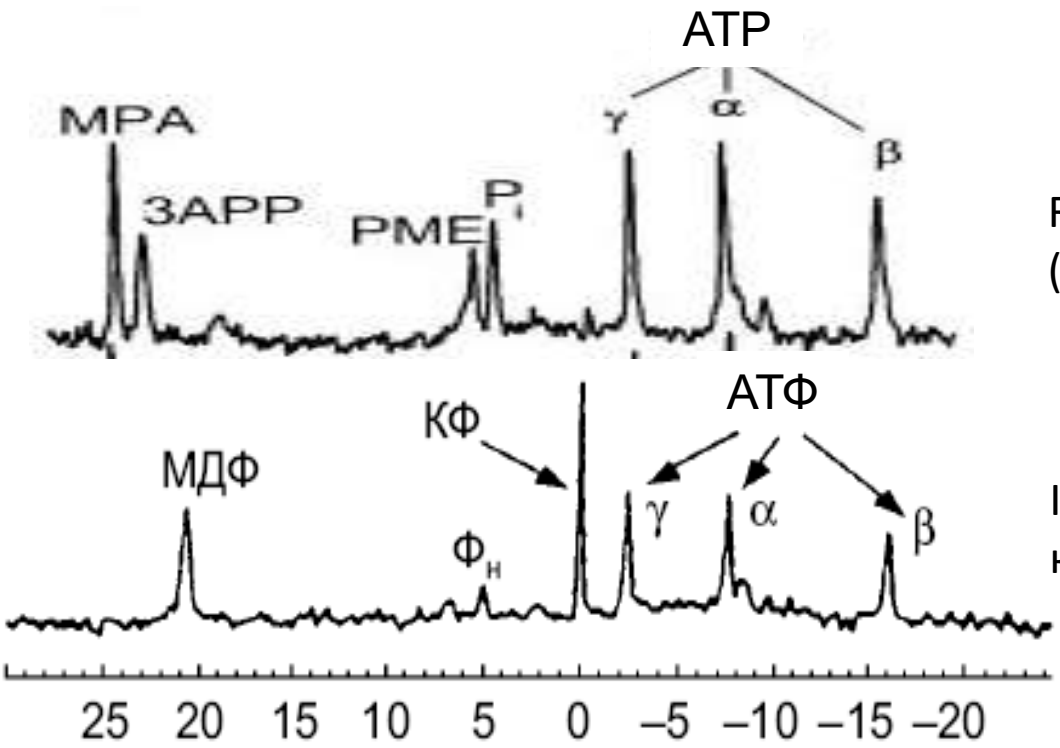
- Фосфатна група спочатку переноситься від АТФ до глутамату
- Після цього відбувається **заміщення фосфатної групи на NH_3**, та вивільнення фосфату $Ф_н$
- АТФ бере участь в утворенні ковалентного зв’язка у ферментативних реакцій

Розподіл біологічних фосфорильованих сполук за $\Delta G^{0'}$



- ✓ Перенесення фосфатних груп (P) від високоенергетичних донорів через АТФ на акцепторні молекули, які перетворюються на низькоенергеничні фосфорильовані похідні
- ✓ Перенесення P каталізується **кіназами** і супроводжується загальною втратою $\Delta G^{0'}$
- ✓ За гідролізу низькомолекулярних фосфорильованих сполук вивільнюється H_2PO_4 із ще нижчим потенціалом перенесення фосфатних груп

^{31}P ядерно-магнітний резонанс: спектральні піки АТФ і креатинфосфату



- Doliba Nat et al. Metabolic control of sodium transport in streptozotocin induced diabetic rat hearts. *Biochemistry (Moscow).* 65(4): 590-597, 2000.
- Babsky A et al. Effects of temperature on intracellular sodium, pH and cellular energy status in RIF-1 tumor cells. *NMR Biomed*, 17(1): 33-42, 2004.

Чотири способи передачі електронів від молекули-донора до молекули-акцептора

1. Безпосереднє перенесення електронів:

$$Fe^{2+} + Cu^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + Cu^{+}$$

2. Перенесення електронів у складі атомів водню:

$$AH_2 \rightarrow A + 2e^{-} + 2H^{+}$$

$$AH_2 + B \rightarrow A + BH_2$$

3. Перенесення електронів у складі гідрид-іону ($:H^{-}$), який має два електрони

4. Перенесення електронів за прямої взаємодії відновника з киснем:

$$R\text{-}CH_3 + ½O_2 \rightarrow R\text{-}CH_2\text{-}OH$$

Стандартні відновлювальні потенціали деяких важливих біологічних реакцій за pH 7,0 та 25 °C (298 K)

Напівреакція	***E'⁰ (V)***
½ O_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → H_2O	0,816
Fe^{3+} + e^- → Fe^{2+}	0,771
NO_3^- + $2H^+$ + $2e^-$ → NO_2 + H_2O	0,421
Цитохром f (Fe^{3+}) + e^- → Цитохром f (Fe^{2+})	0,365
$Fe(CN)_6^{3-}$ (фериціанід) + e^- → $Fe(CN)_6^{4-}$	0,36
Цитохром a_3 (Fe^{3+}) + e^-→ Цитохром a_3 (Fe^{2+})	0,35
O_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → H_2O_2	0,295
Цитохром a (Fe^{3+}) + e^-→ Цитохром a (Fe^{2+})	0,29
Цитохром c (Fe^{3+}) + e^-→ Цитохром c (Fe^{2+})	0,254
Цитохром c_1 (Fe^{3+}) + e^-→ Цитохром c_1 (Fe^{2+})	0,22
Цитохром b (Fe^{3+}) + e^-→ Цитохром b (Fe^{2+})	0,077
Убіхінон + $2H^+$ + $2e^-$ → Убіхінон + H_2	0,045
Фумарат$^{2-}$ + $2H^+$ + $2e^-$ → сукцинат$^{2-}$	0,031
$2H^+$ + $2e^-$ → H_2 (за стандартних умов, pH 0)	0,00
Кротоніл-КоА + $2H^+$ + $2e^-$ → бутирил-КоА	-0,015
Оксалоацетат$^{2-}$ + $2H^+$ + $2e^-$ → малат$^{2-}$	-0,166
Піруват$^-$ + $2H^+$ + $2e^-$ → лактат$^-$	-0,185
Ацетальдегід + $2H^+$ + $2e^-$ → етанол	-0,197
ФАД + $2H^+$ + $2e^-$ → $ФАДH_2$	-0,219*
Глутатіон + $2H^+$ + $2e^-$ → 2 глутатіон відновлений	-0,23
S + $2H^+$ + $2e^-$ → H_2S	-0,243
Ліпоєва кислота + $2H^+$ + $2e^-$ → Дигідроліпоєва кислота	-0,29
НАД + H^+ + $2e^-$ → НАДН	-0,32
НАДФ + $2H^+$ + $2e^-$ → НАДФН	-0,324
Ацетоацетат + $2H^+$ + $2e^-$ → β-гідроксибутират	-0,346
α-кетоглутарат + CO_2 + 2H + $2e^-$ → ізоцитрат	-0,38
$2H^+$ + $2e^-$→ H_2 (при pH 7,0)	-0,414
Феродоксин(Fe^{3+}) + e^- → Феродоксин(Fe^{2+})	-0,432

* Це значення *E''⁰* для вільного ФАД; ФАД, зв'язаний зі специфічним флавопротеїдом (наприклад, сукцинатдегідрогеназою) має інше значення *E'⁰*.

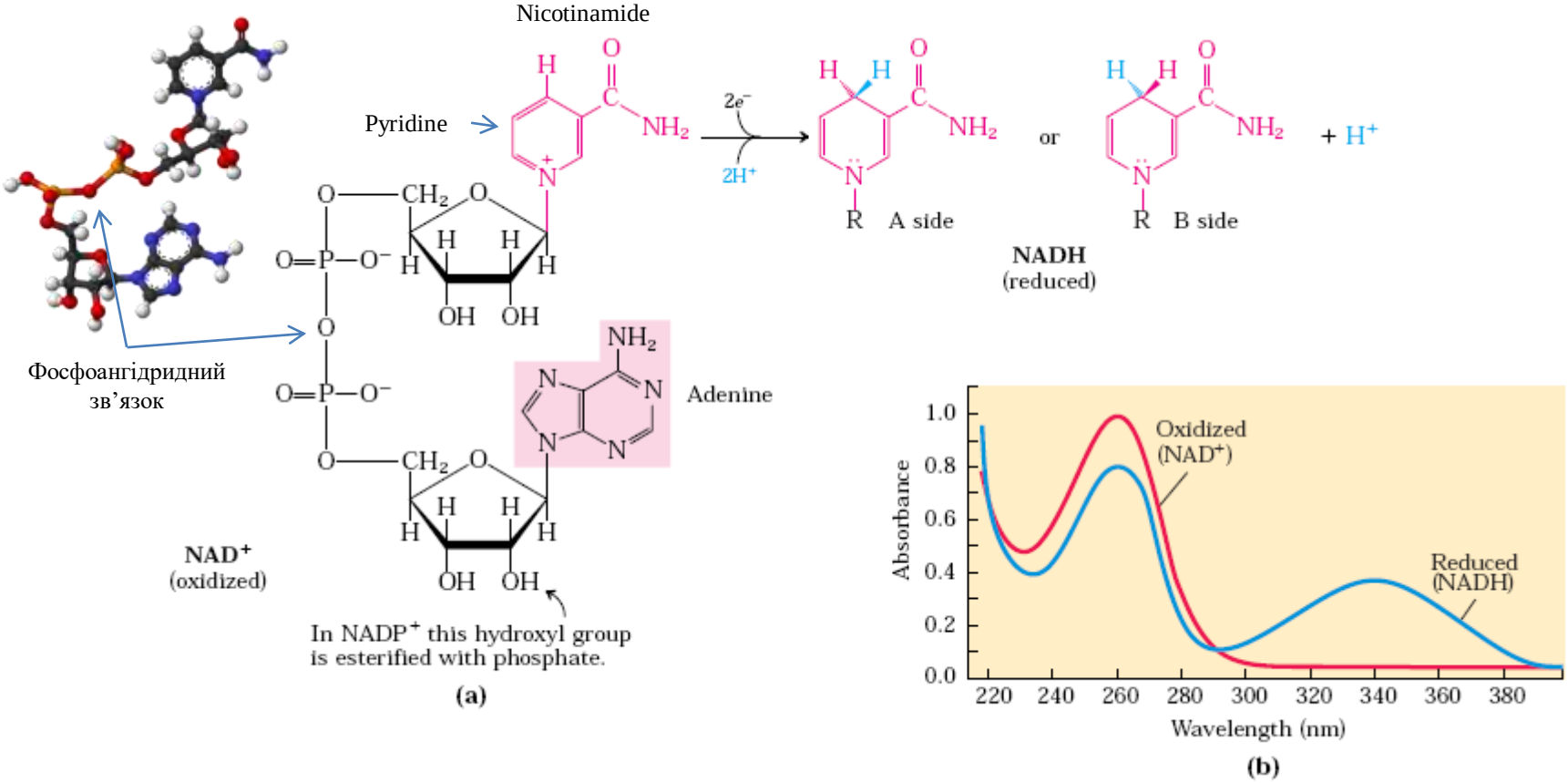
(c) Babsky

Величина енергії ($\Delta G^{0'}$), вивільненої за спонтанного перенесення електронів, пропорційна зміні стандартного відновлюваного потенціалу ($\Delta E^{0'}$)

$$\Delta G^{0'} = - n F \Delta E^{0'}$$

- n - кількість електронів, перенесених під час реакції
- F – число Фарадея

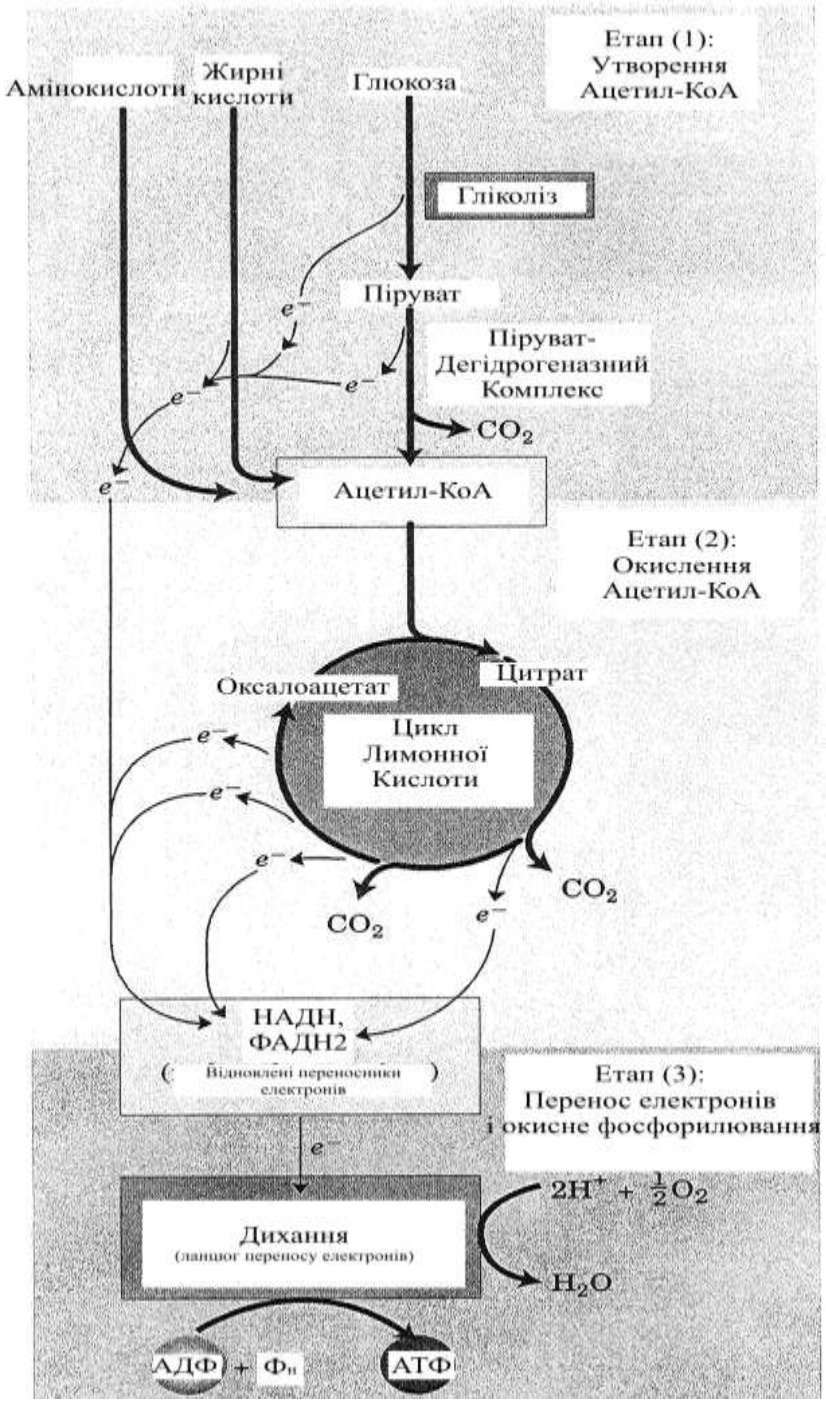
Нікотинамідаденін-динуклеотид (НАД, NAD^+) та нікотинамідаденін-динуклеотид-фосфат (НАДФ, $NADP^+$)



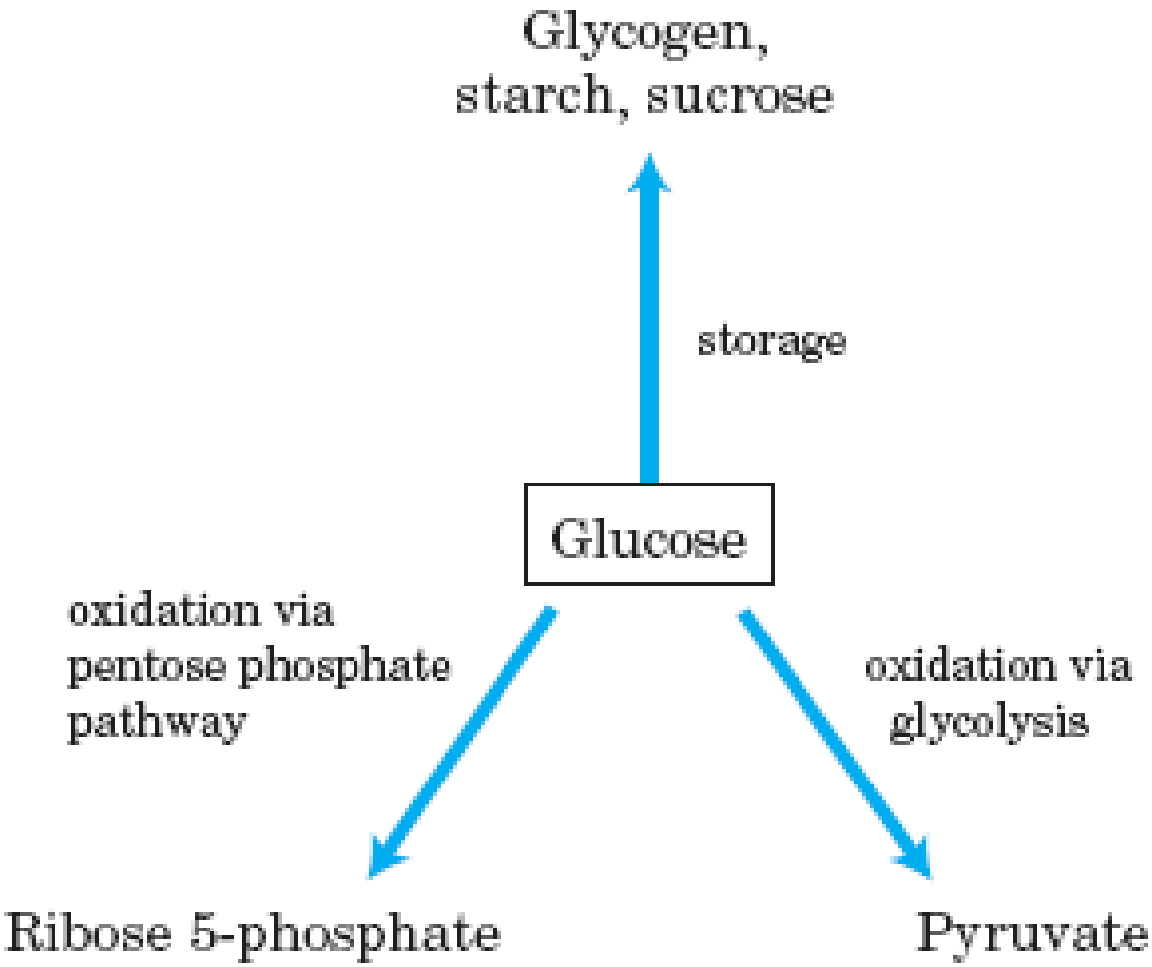
(а) *НАД⁺ та НАДФ⁺ відновлюються до НАДН та НАДФН, приймаючи гідрид-іон (два електрони і протон) від окиснюваного субстрату. Гідрид-іон може приєднуватись як до зовнішньої (А) так і до внутрішньої (Б) поверхні площини кільця нікотинаміду*

(б) *Спектри поглинання НАД⁺ і НАДН. Відновлення нікотинамідного кільця призводить до появи нової широкої смуги поглинання з максимумом при 340нм. Швидкість утворення НАДН оцінюю за збільшенням абсорбції при цій довжині хвилі*

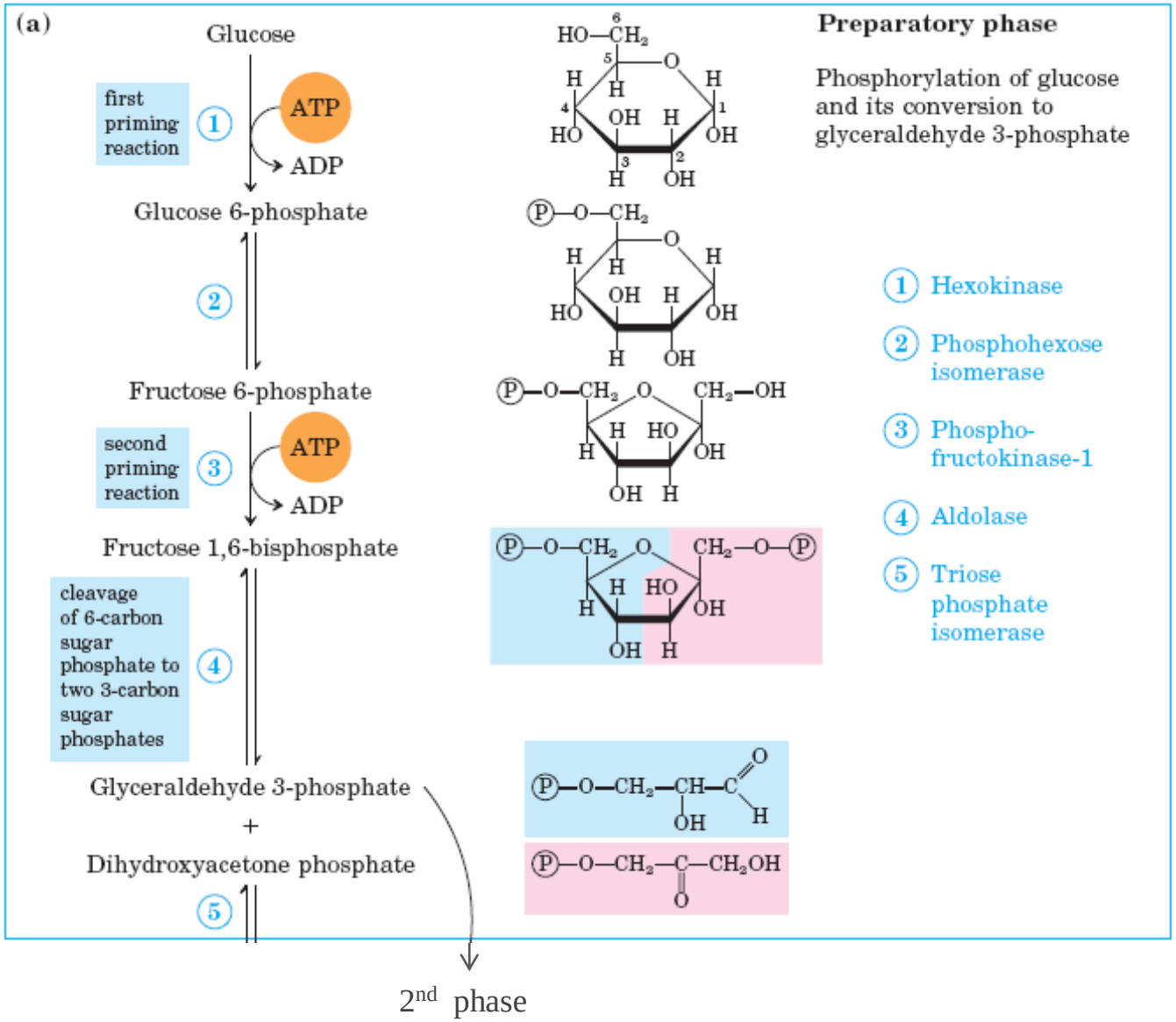
Три основних етапи енергетичних процесів у клітині (за Нельсон, Кокс, 2015)



Основні шляхи утилізації глюкози

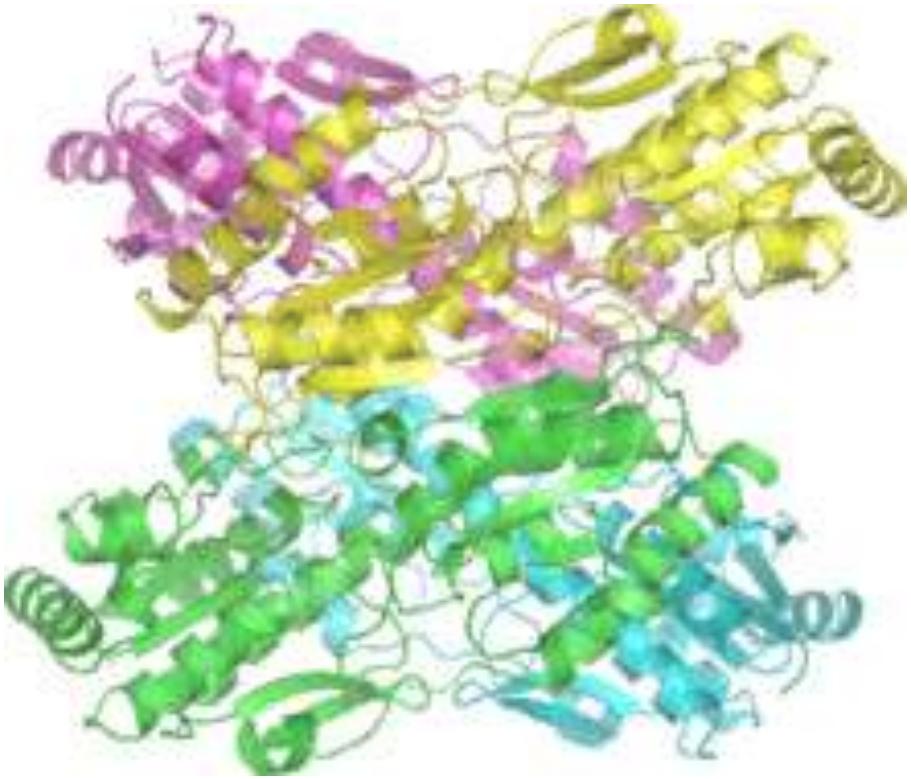


Перша фаза гліколізу



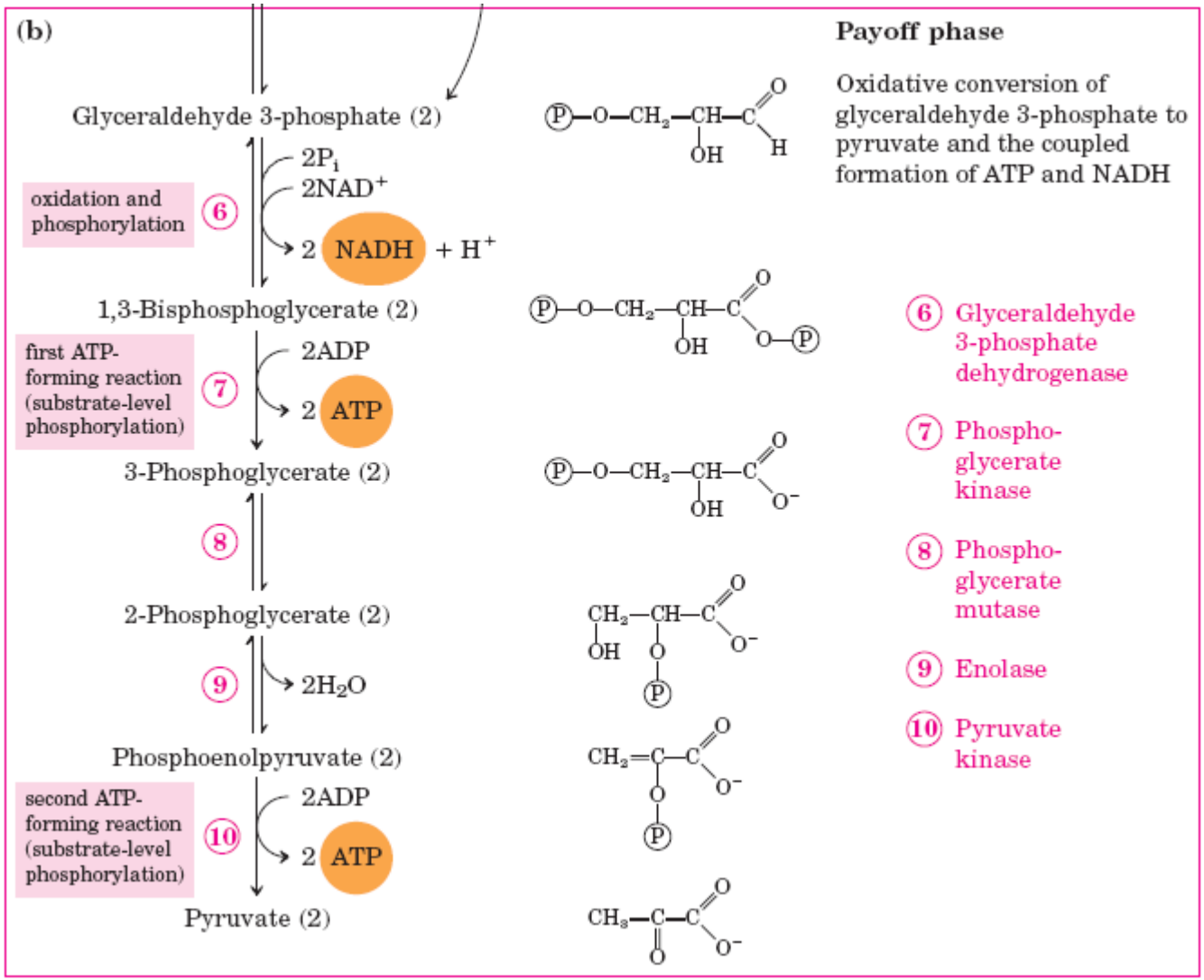
- Із кожної молекули глюкози утворюється дві молекули гліцеральдегід-3-фосфату, які використовуються у другій фазі. При цьому дві АТФ використовуються у першій фазі.

Фософофруктокіназа (ФФК1)



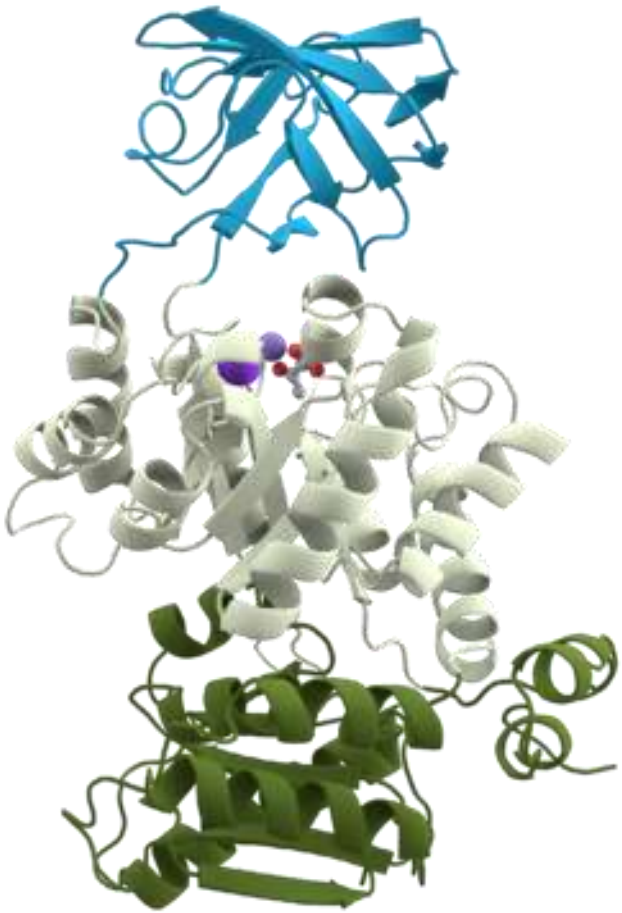
- 340 кД (у ссавців)
- Тетрамер, що складається з трьох субодиниць: м’язової (M), печінкової (L) і тромбоцитарної (P)
- Основний **регулятор гліколізу**
- Активність **зростає** коли у клітині вичерпуються запаси АТФ або накопичуються продукти її розщеплення – АДФ чи АМФ
- Активність **пригнічується**, коли клітина містить достатню кількість АТФ або іншого клітинного палива

Друга фаза гліколізу



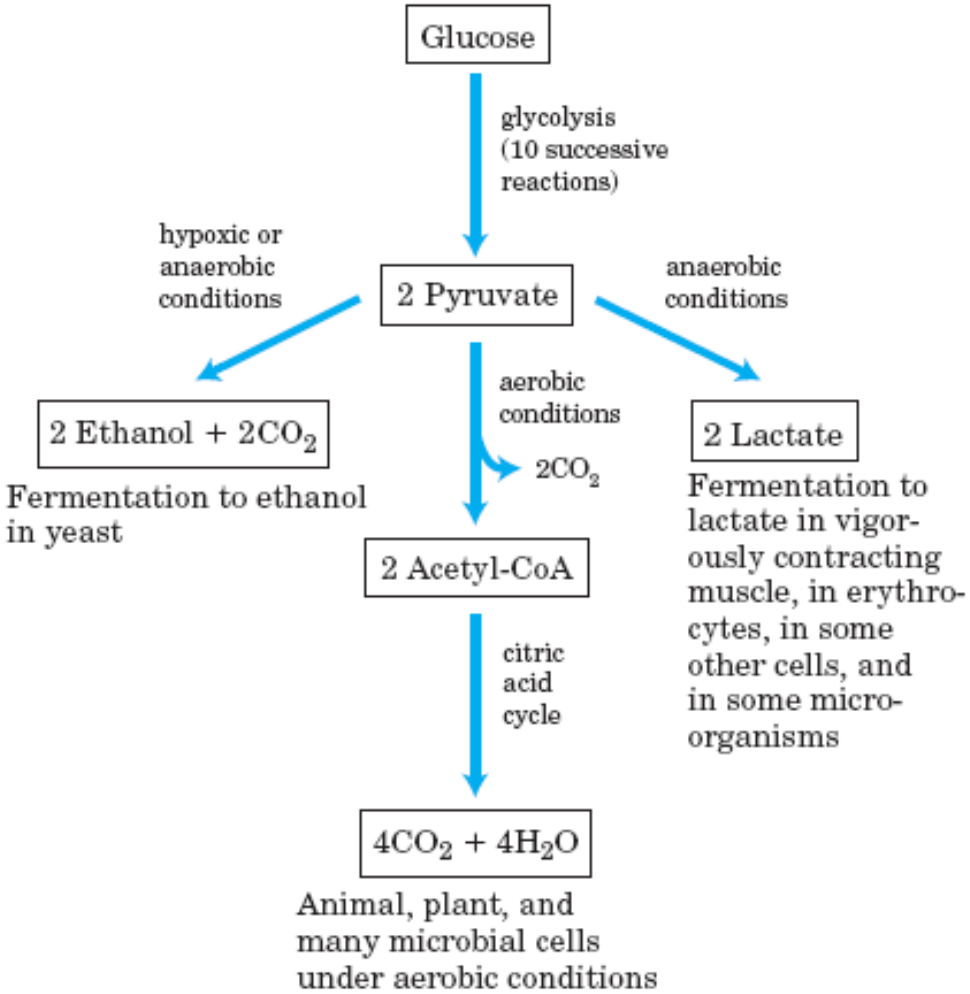
Піруват є кінцевим продуктом другої фази. На цьому етапі утворюється чотири АТФ та один НАДН

Піруваткіназа



- Каталізує перенесення фосфатної групи від **фосфоенолпірувату** на АДФ
- Кофактори - іони K^+, Mg^{2+} чи Mn^{2+}
- Величина $\Delta G'^0$ гідролізу піруватa становить –61,9 кДж/моль
- Піруваткіназна реакція є практично **незворотньою**
- Дефіцит активності фермента спричиняє **гемолітичну анемію**

Три можливі катаболічні варіанти метаболізму пірувату утвореного в процесі гліколізу



- Піруват використовується і як попередник у багатьох анаболічних реакціях

Автори циклу Ембдена – Меєргофа - Парнаса

Gustav Embden,
1874–1933

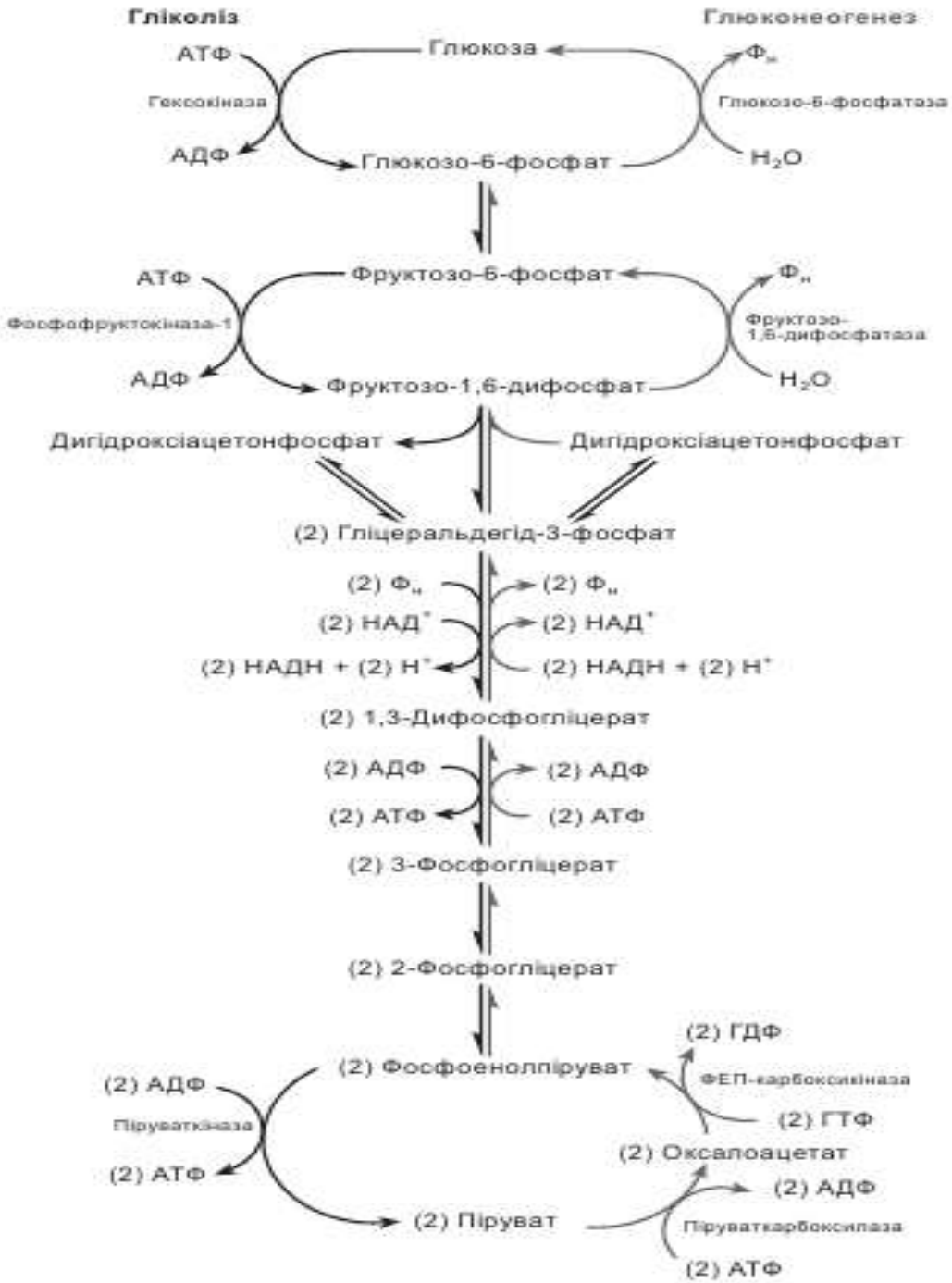
Otto Meyerhof,
1884–1951

Jakub K.Parnas,
1884-1949

- Вклад Я. Парнаса і його школи: Перенесення окремих хімічних груп з молекули на молекулу може відбуватись без стадії „вільного існування”. Такі „трансреакції” (трансфосфорилювання, трансамінування, трансметилювання) дозволяють здійснюватись реакціям без теплової деградації хімічного потенціалу [Парнас Я.О., 1960]

Проф. Я. Парнас серед співробітників кафедри фізіологічної хімії Львівського університету, Львів, 1929 р..

Гліколіз і глюконеогенез у печінці щурів

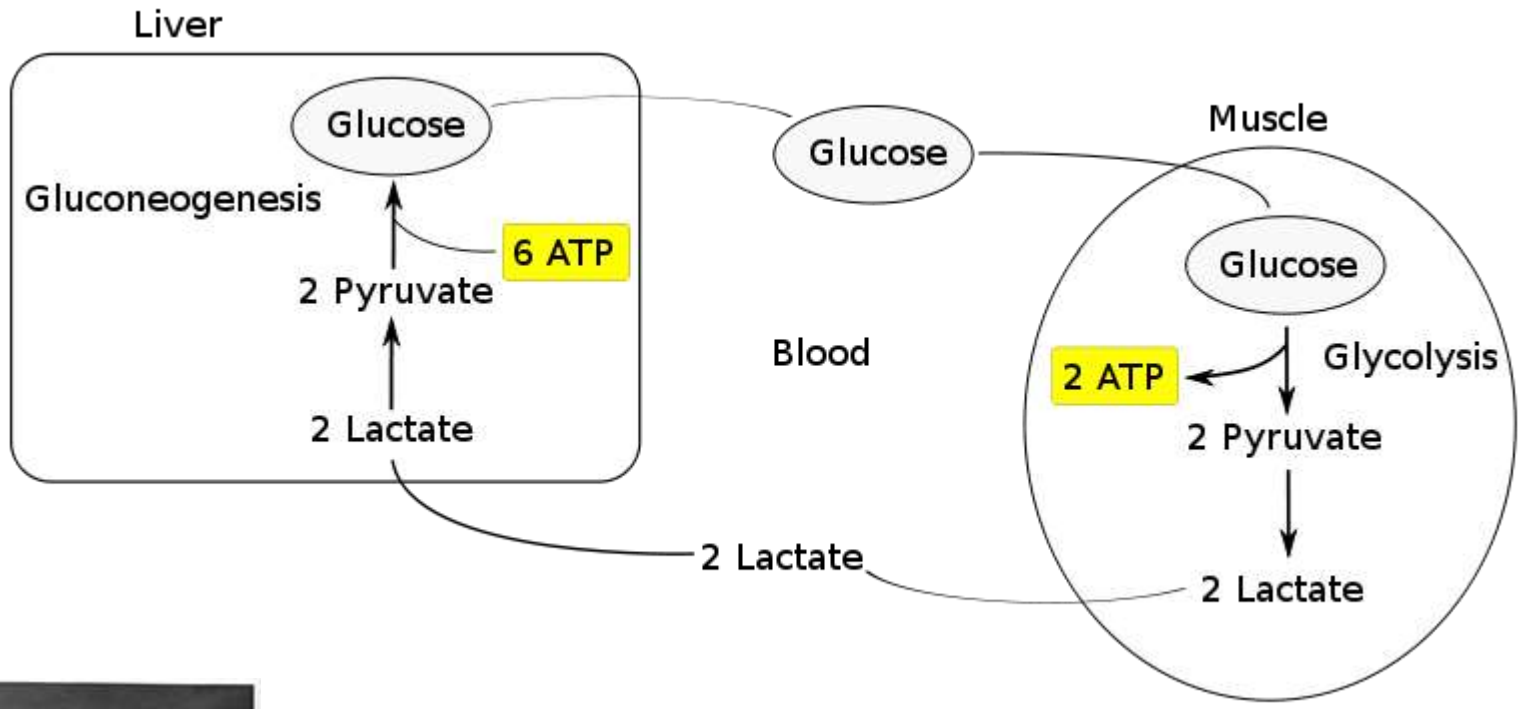


Сумарна реакція глюконеогенезу:

2 піруват + 4 АТФ + 2 ГТФ + 2 НАДН + 2 H^+ + 4 H_2O →
глюкоза + 4 АДФ + 2 ГДФ + 6 $Ф_н$ + 2 НАД

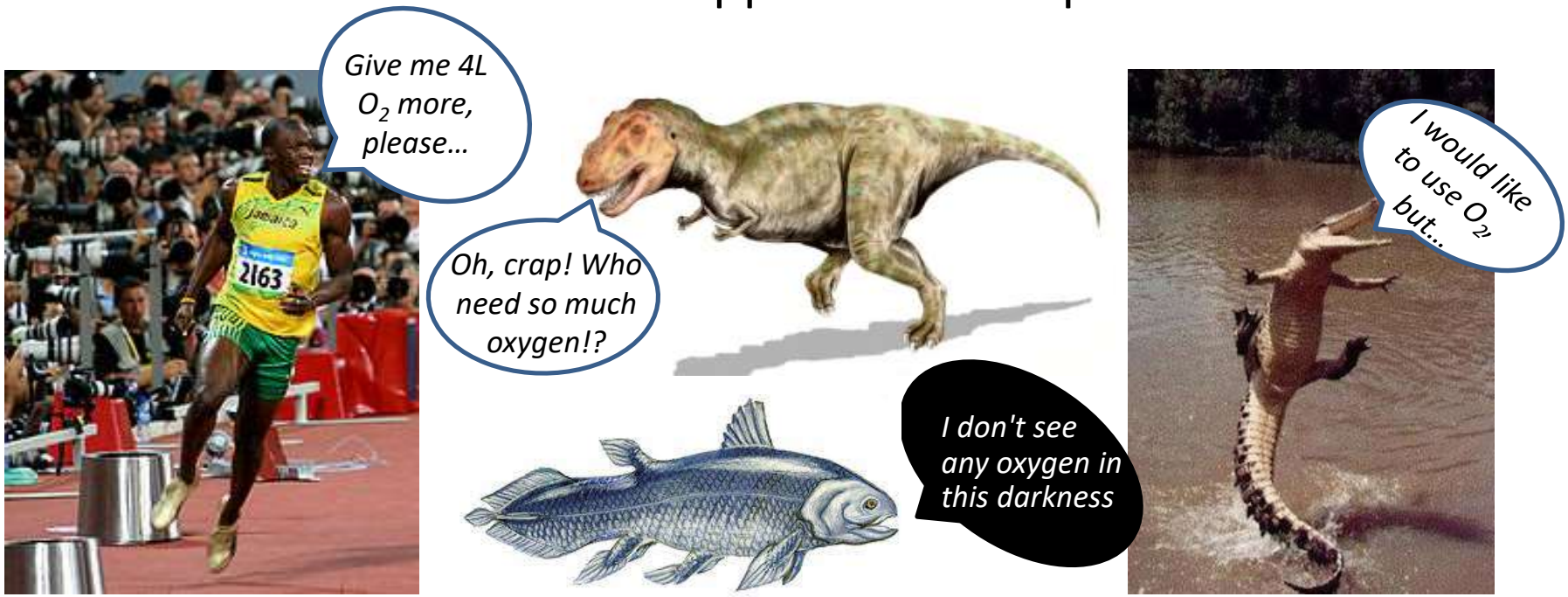
- **Глюконеогенез** – енергозатратний і реципрокний до гліколізу процес синтезу глюкози
- Для утворення однієї молекули глюкози треба використати чотири молекули АТФ, дві молекули ГТФ і дві молекули НАДН

Цикл Корі



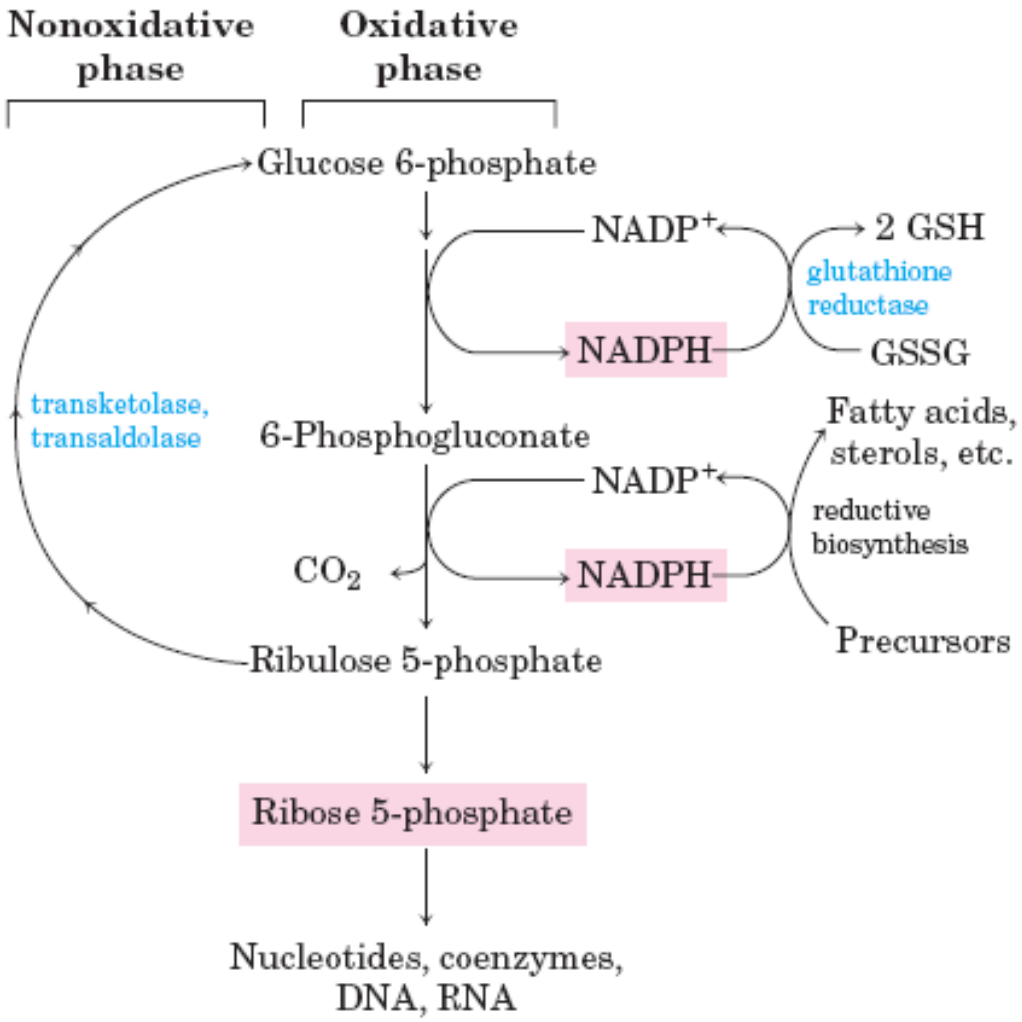
- Ферментативні транспортні процеси транспорту **лактата з м'язів** в печінку з наступним синтезом глюкози в процесі **глюконеогенезу**
- Функціонує у разі **інтенсивної м'язової роботи**
- Ферменти глюконеогенезу розташовані у печінці
- Реакція перетворення лактата в піруват каталізується **лактатдегідрогеназою**, далі піруват піддається окисному декарбоксилюванню або бродінню

Гліколіз в умовах нестачі кисню: атлети, алігатори та глибоководні мешканці



- У більшості хребетних глюкоза перетворюється анаеробно до лактату лише протягом короткого відрізку часу
- Бурхливі спалахи активності у **крокодилів** та **алігаторів** є короткочасними і супроводжуються довгим періодом відновлення
- Процес молочнокислого бродіння був, скоріш за все, джерелом постачання енергії для роботи м’язів у **динозаврів**
- В тканинах риби **латимерії**, яка живе на глибині 4 км, переважають анаеробні метаболічні процеси перетворення вуглеводів на лактат, більша частина якого виводиться з організму

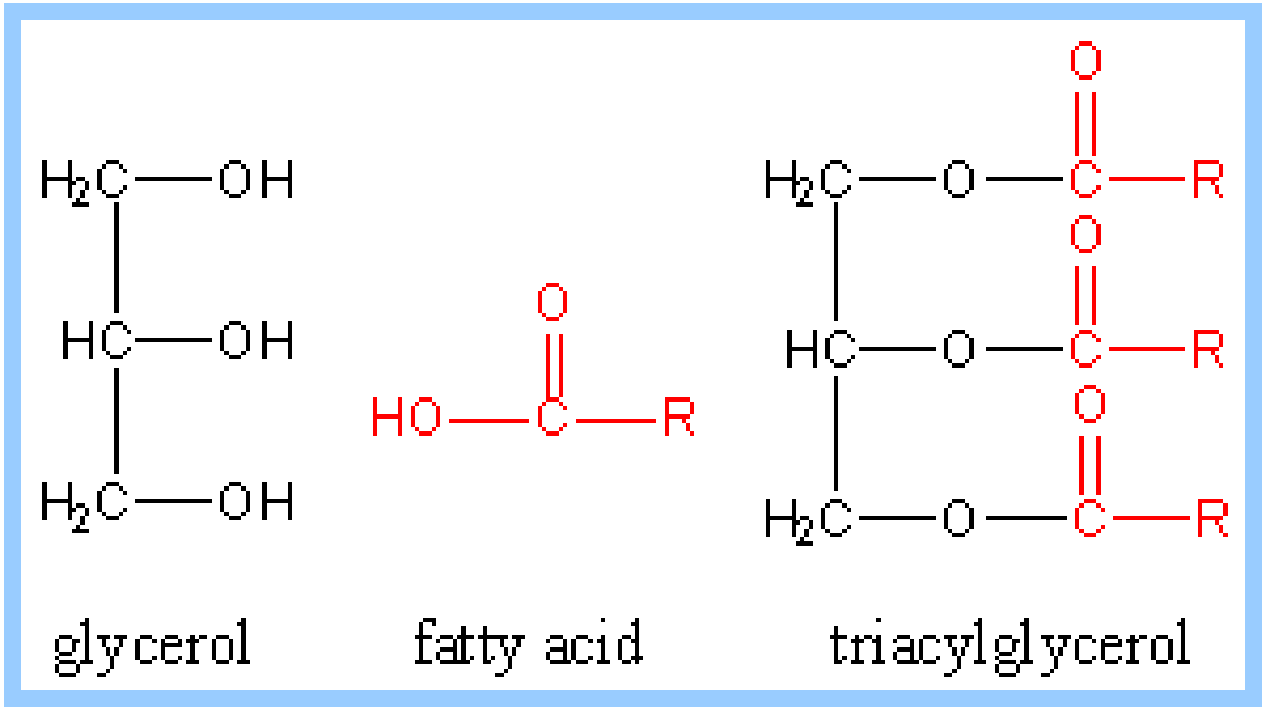
Загальна схема пентозофосфатного шляху

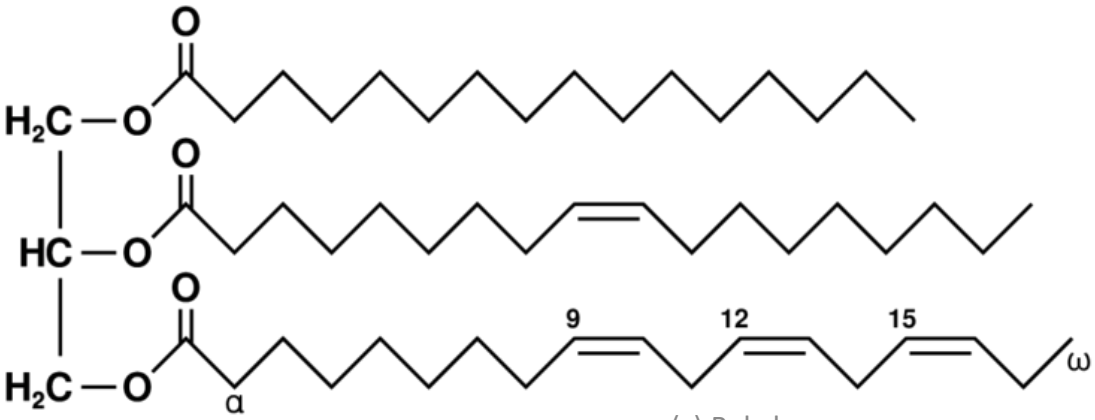


- Утворений в **оксидативній фазі** НАДФН використовується для зменшення **глутатіону** (GSSG) і пригнічення біосинтезу жирів. Інший продукт оксидативної фази **рибозо-5-фосфат** (Р-5-Ф) є попередником нуклеотидів, коензимів та нуклеїнових кислот

- У клітинах, які не використовують Р-5-Ф для біосинтезів, в **неоксидативній фазі** шість пентоз конвертуються в п’ять гексоз (Г-6-Ф), що дозволяє продовжити продукування НАД(Ф)Н і перетворення Г-6-Ф (в 6-ти вуглецевих циклах) до CO_2

Будова тригліцеролів



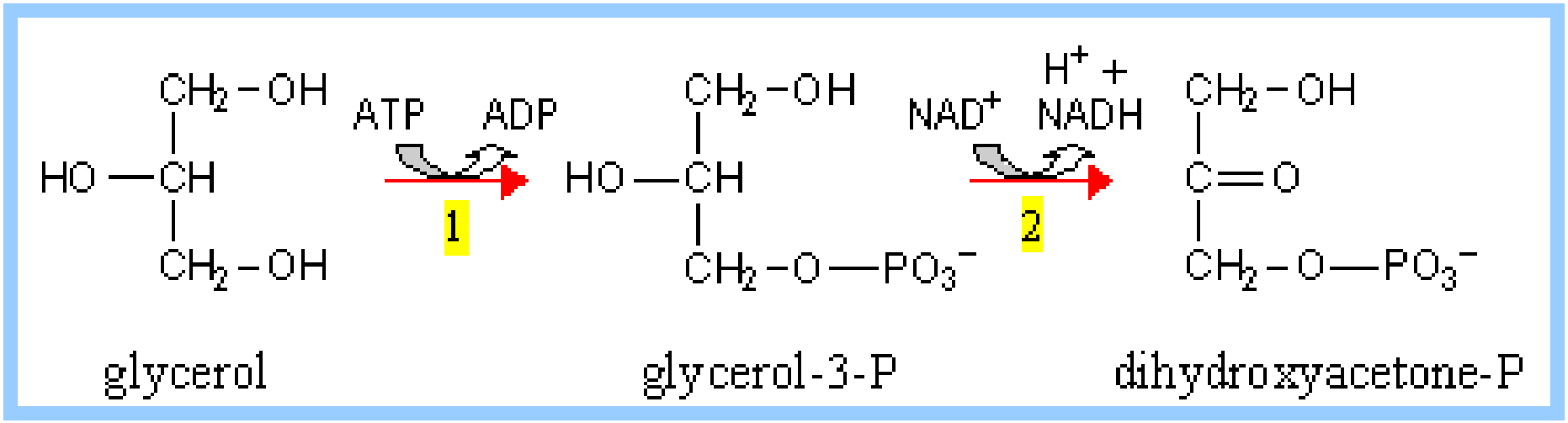


palmitic acid

oleic acid

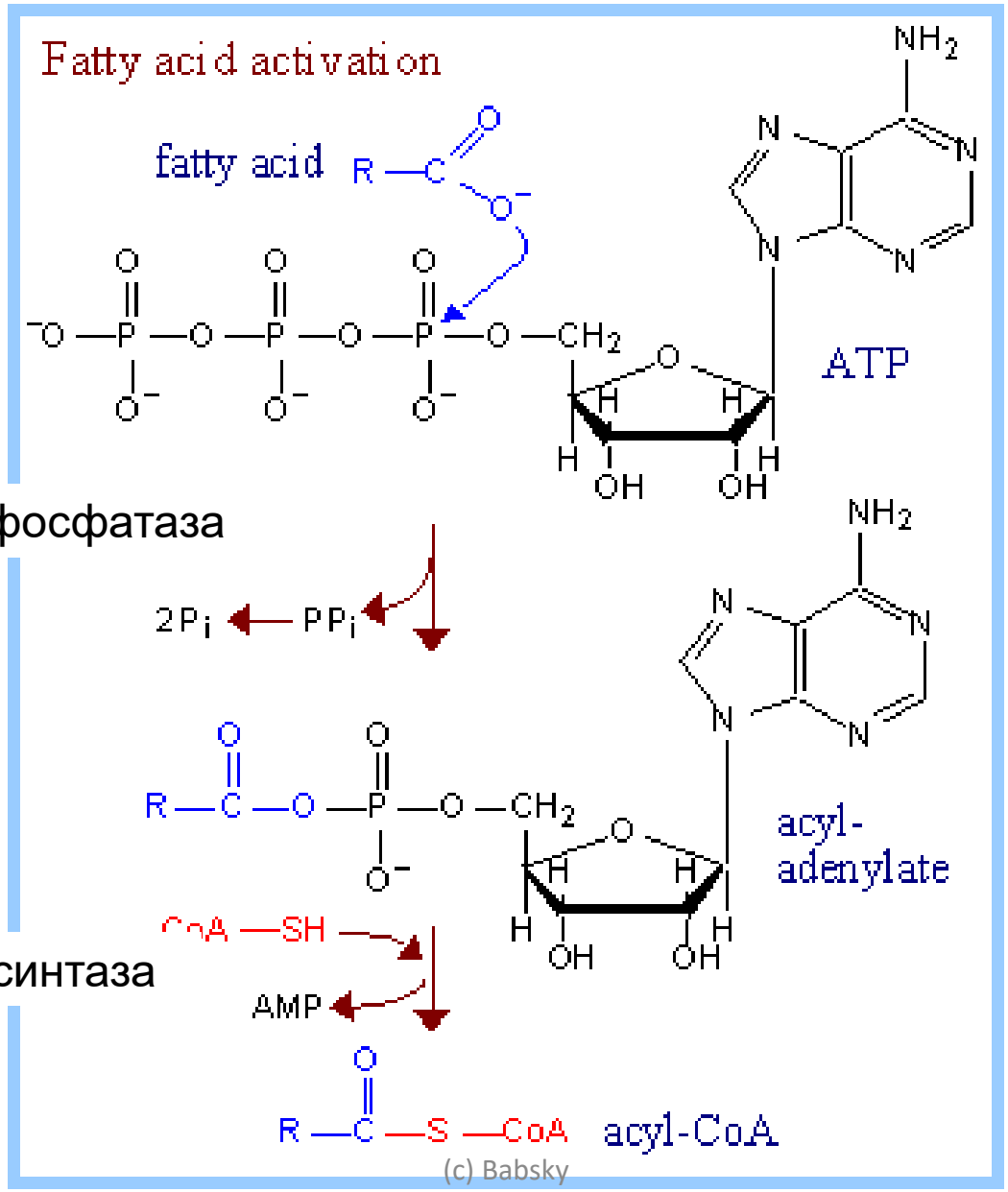
α-linolenic acid

Залучення гліцеролу в гліколіз



1 – гліцерол кіназа
2 –гліцеролфосфат дегідрогеназа

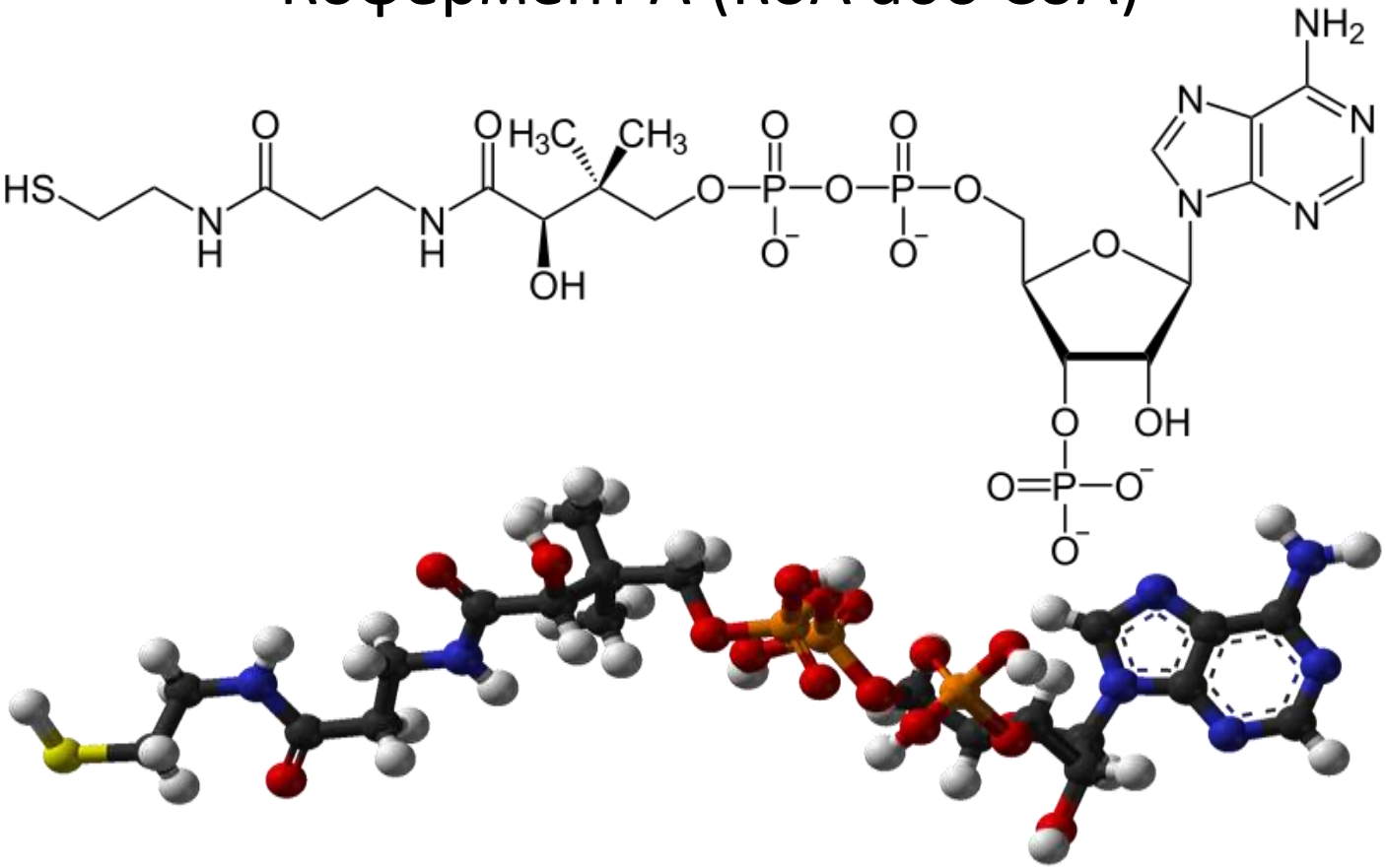
Активування жирних кислот



Пірофосфатаза

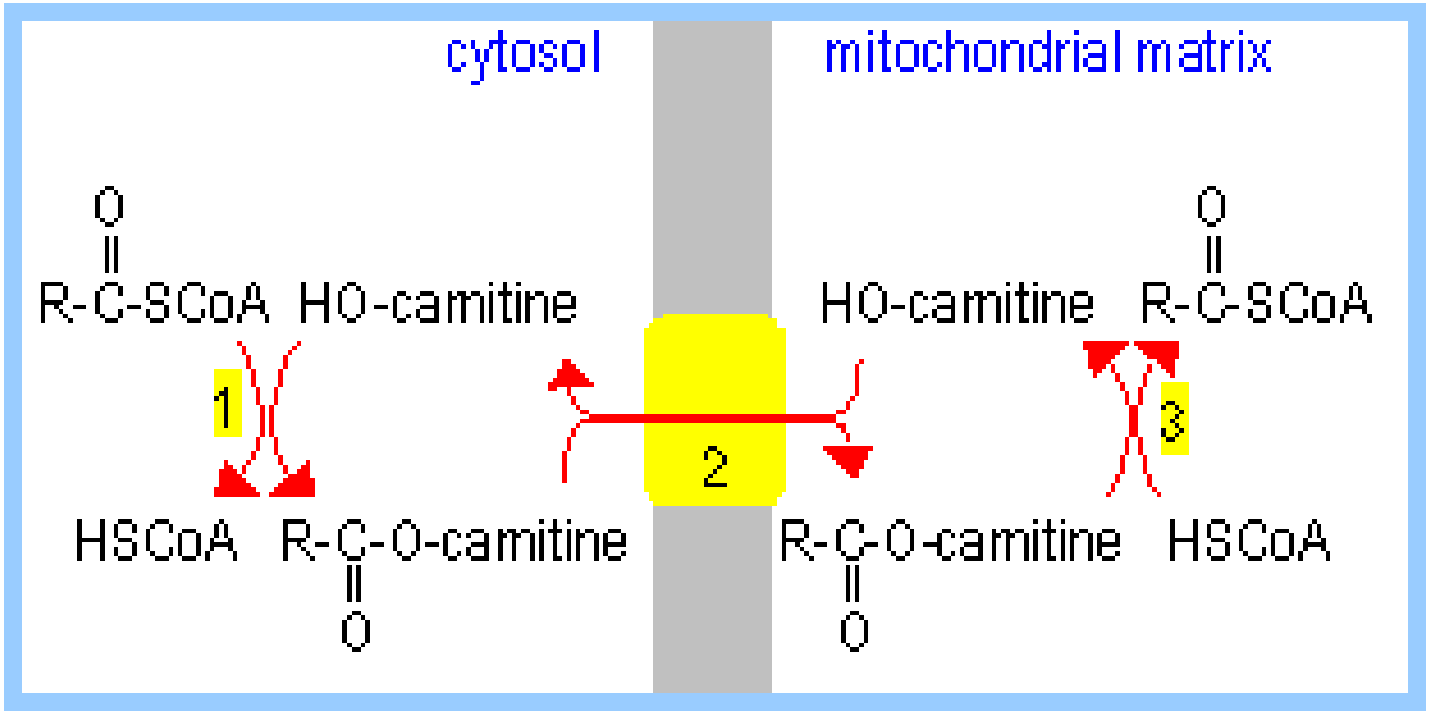
Ацил-КоА синтаза

Кофермент А (КоА або СоА)



- Кофермент **ацилювання** (зокрема ацетилювання). Бере участь в реакціях перенесення ацильних груп
- Молекула КоА складається із залишків **аденілової** та **пантотенової** кислот, зв'язаних пірофосфатом
- Із КоА пов'язана низка біохімічних реакцій розпаду та синтезу жирних кислот, жирів, перетворень продуктів розпаду вуглеводів

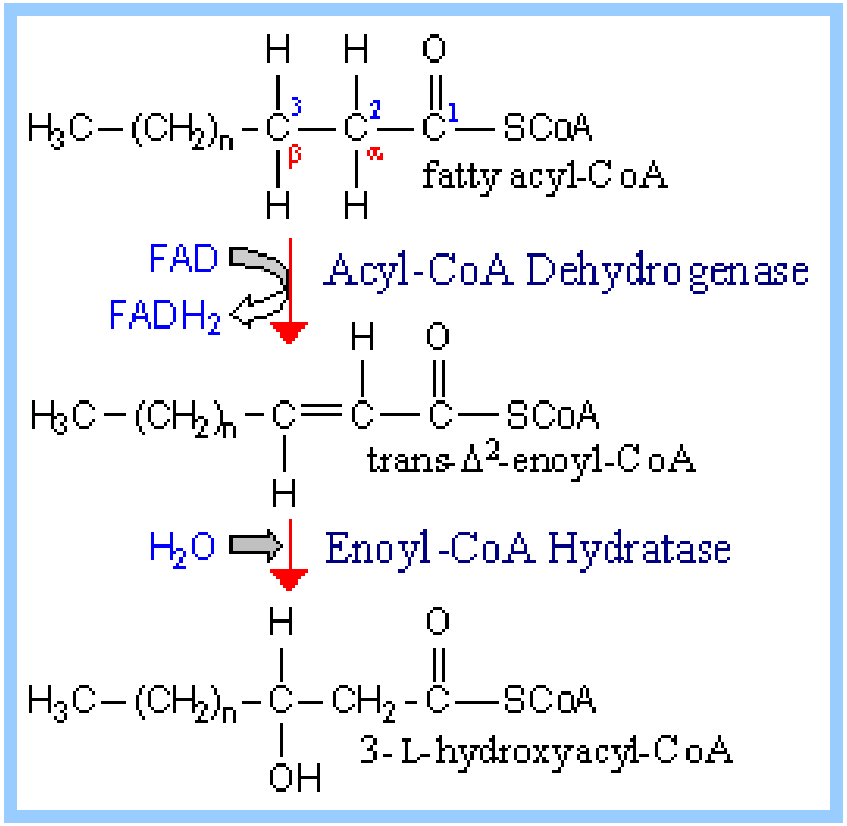
Транспорт жирних кислот крізь внутрішню мітохондріальну мембрану



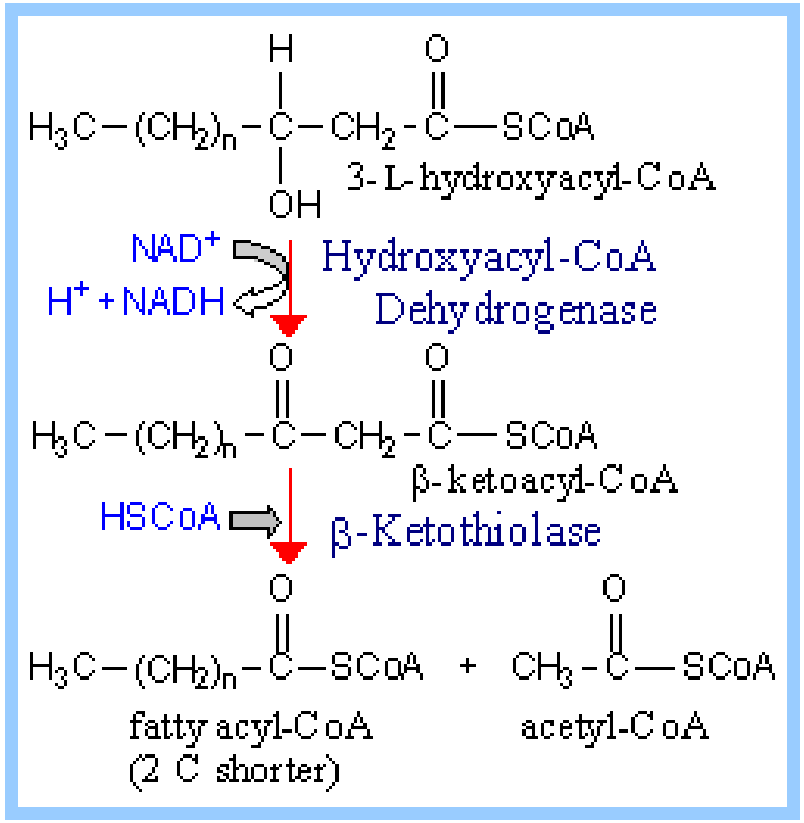
1 - Карнітин-пальмітоїл-трансфераза I
2 - Карнітин-ацил-транфераза
3 - Карнітин-пальмітоїл-трансфераза II

β-окислення жирних кислот

Етапи 1 і 2



Етапи 3 і 4



Умови утворення кетонових тіл

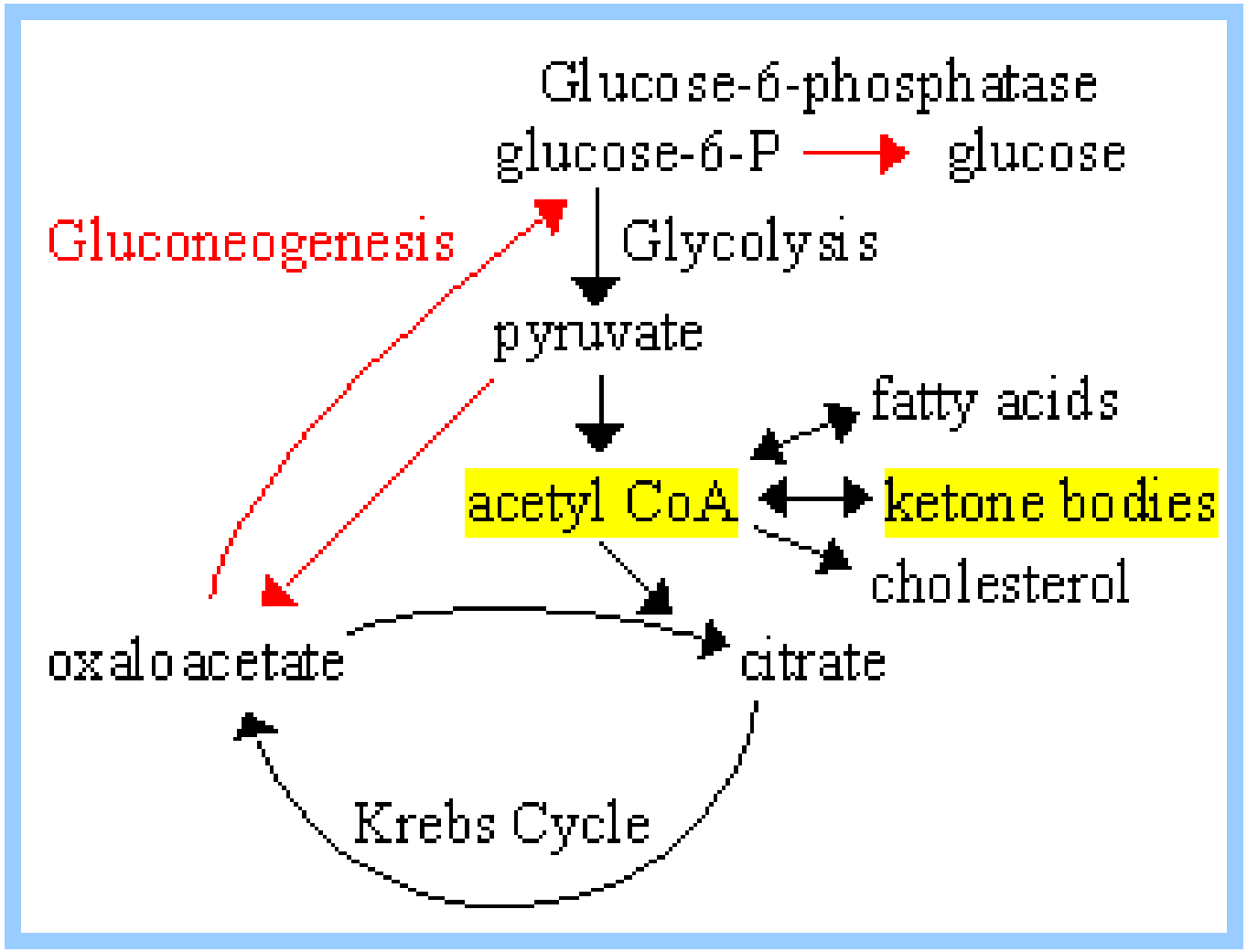
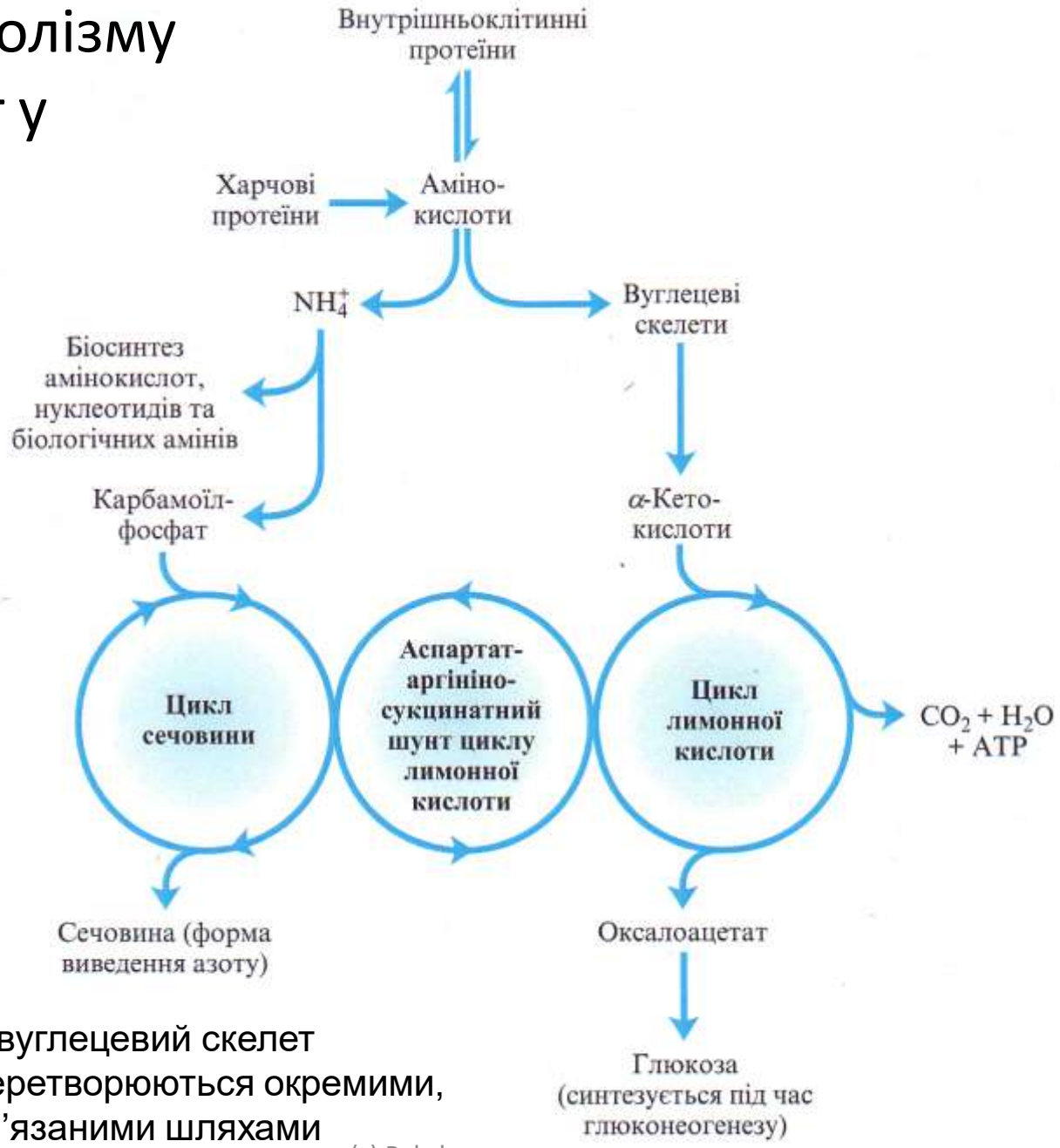
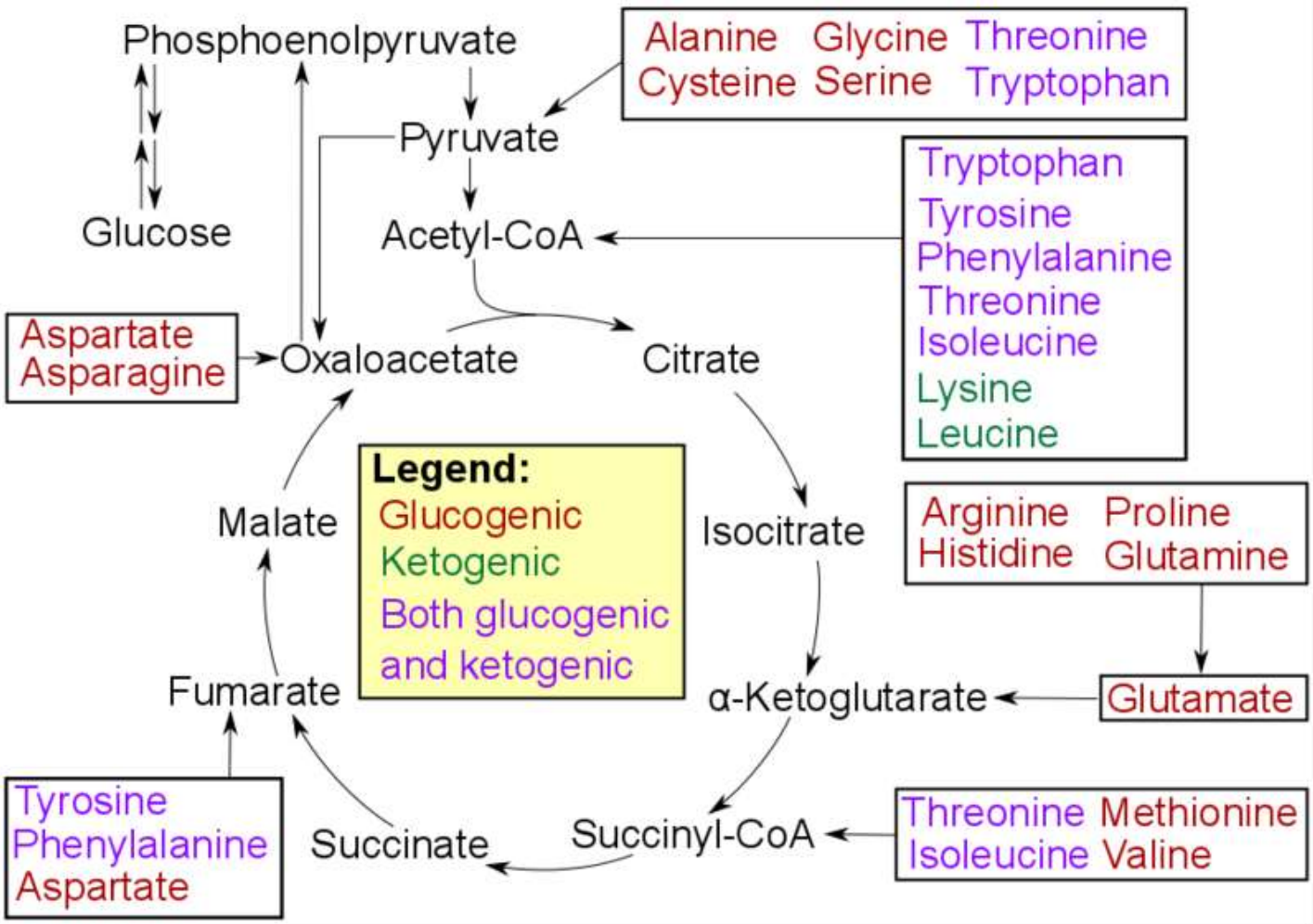


Схема катаболізму амінокислот у ссавців



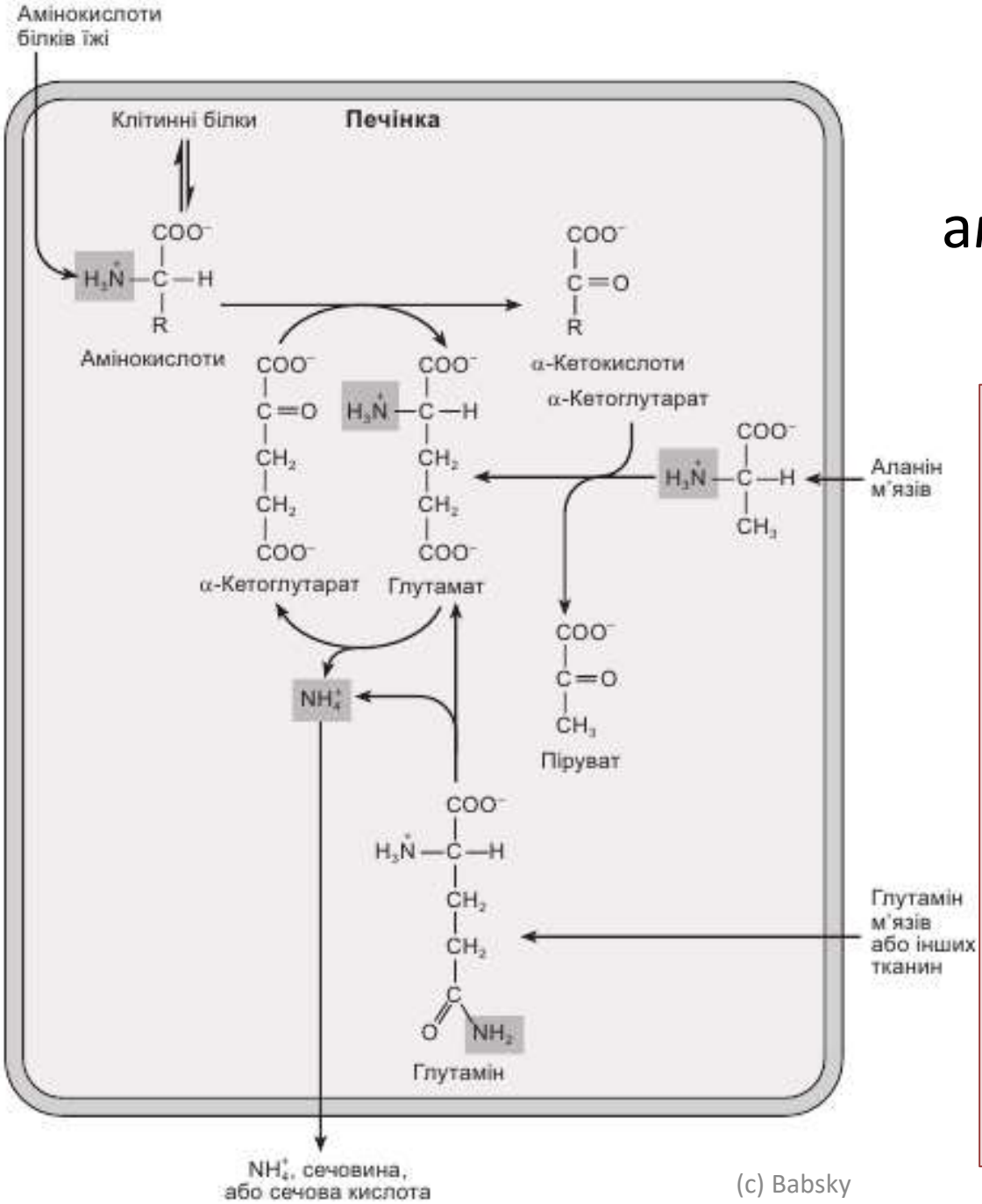
Аміногрупи та вуглецевий скелет амінокислот перетворюються окремими, але взаємопов’язаними шляхами

Утворення субстратів циклу Кребса з амінокислот



- "**Глюкогенні**" амінокислоти можуть перетворюватись у глюкозу в процесі глюконеогенезу.
- "**Кетогенні**" амінокислоти можуть бути використані для кетогенезу та синтезу ліпідів.
- Амінокислоти "**змішаного**" типу катаболізуються як у глікогенні, так і кетогенні продукти.

Катаболічні перетворення амінокислот у печінці ссавців



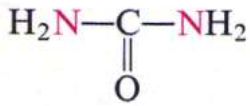
- Спочатку від вуглецевого скелета **відщеплюється аміногрупа** і переміщається переважно на α-кетоглутарат з утворенням глутамату
- Глутумат надходить у мітохондрії, де **глутуматдегідрогеназа** вивільняє аміногрупи у формі NH_4
- Трансамінування вимагає наявності коферменту **піридоксальфосфату** (простетичної групи трансаміназ)

Форми виведення азоту з організму

NH_4^+

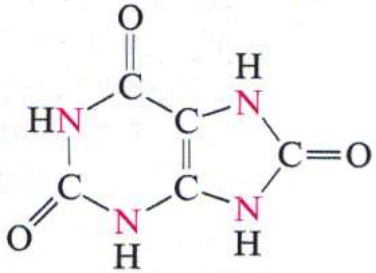
Аміак (у формі іона амонію)

Амоніотельні[1] тварини: більшість водних хребетних, таких як кісткові риби, а також личинки амфібії



Сечовина

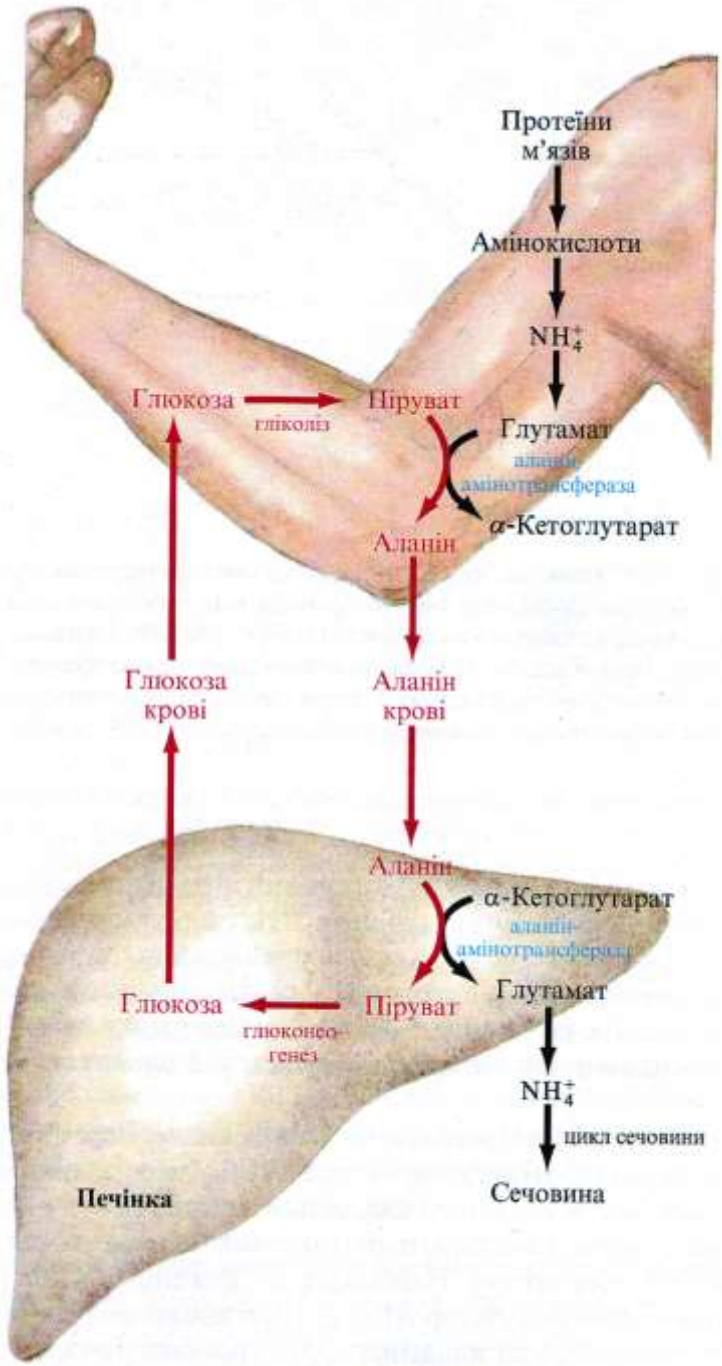
Уреотельні тварини: більшість наземних хребетних, а також акули



Сечова кислота

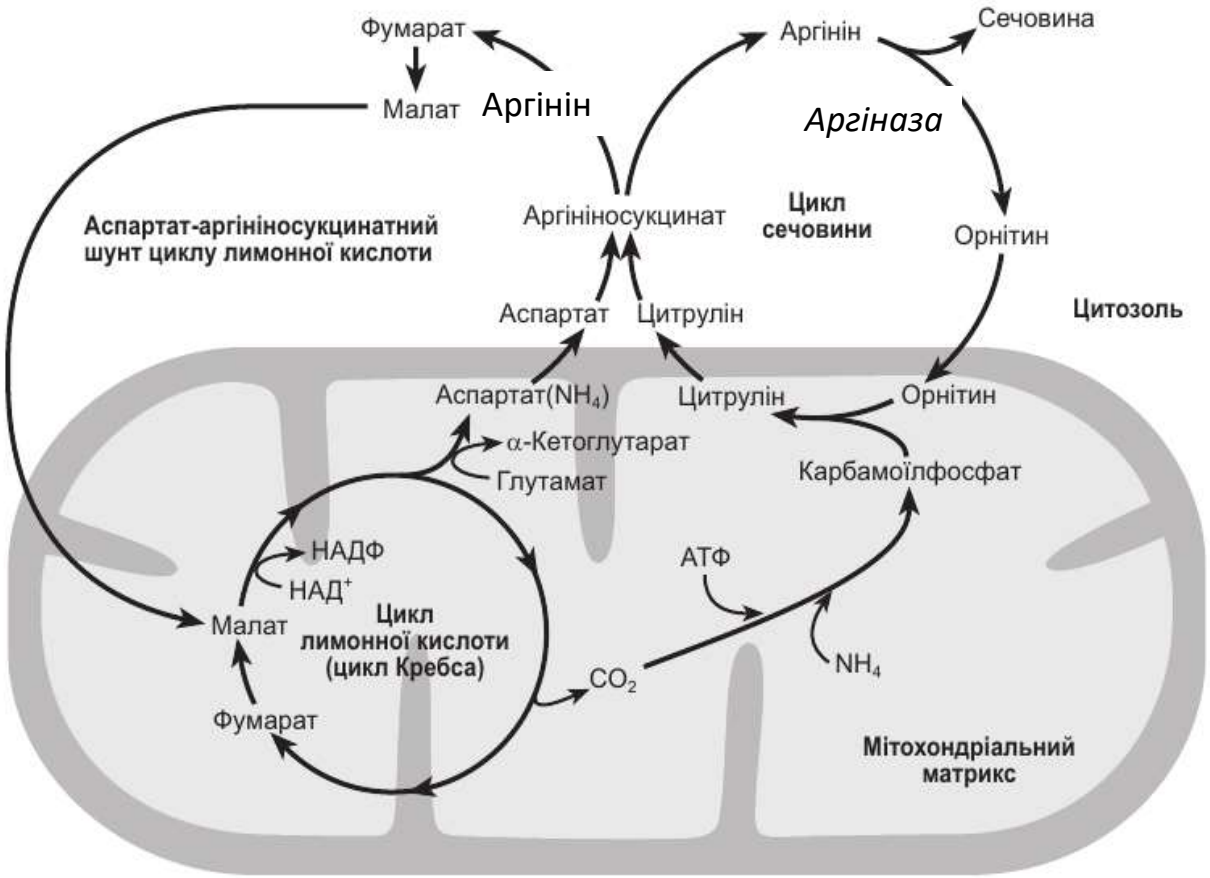
Урикотельні тварини: птахи, рептилії

Глюкозо-аланіновий цикл відновлення рівня глюкози



- Надлишок аміаку в скелетних м'язах перетворюється на **глутамат** або **аланін**, який переміщується у печінку
- Аланін у печінці перетворюється на глюкозу у процесі **глюконеогенезу**
- Глюкоза транспортується назад до м'язів
- У більшості тварин концентрації глутамату і **глутаміну** є найвищою серед амінокислот

Спряження циклів Кребса і сечовини: аспартат-аргініносукци-натний шунт



$CO_2 + NH_4 +$ АТФ = карбамоїлфосфат

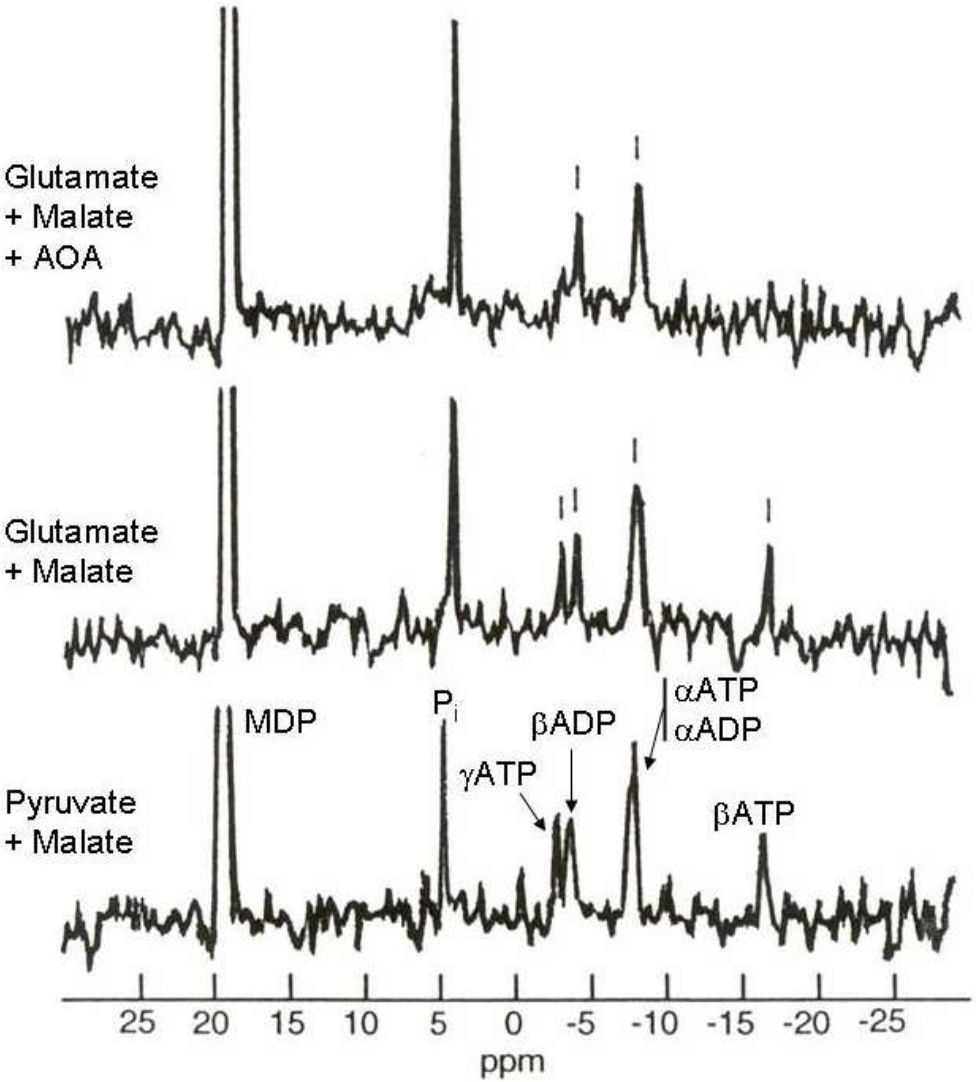
1. Утворення **цитруліну** з орнітину та карбамоїлфосфату: цитрулін виходить у цитозоль (надходження першої аміногрупи).

2. Утворення **аргініносукцинату** через формування цитруліл-АМР (надходження другої аміногрупи).

3. Утворення аргініну з аргініносукцинату: вивільняється **фумарат**, який через **малат** надходить у цикл Кребса.

4. Утворення **сечовини**: ця реакція забезпечує також регенерацію орнітину.

Вклад трансаміназних реакції в енерготворчі процеси у мітохондріях



^{31}P ЯМР спектри суперфузованих мітохондрій серця за окиснення різних субстратів

- Концентрації (у мМ): піруват, 5; малат, 5; глутамат, 5; аміноокcиацетат, 0,5.
- Позначено піки: MDP – метилендифосфонатний стандарт, P_i – неорганічний фосфат, ADP – АДФ (α,β), ATP – АТФ (α,β,γ).

Рекомендована література по темі “Біоенергетика: джерела енергії”

1. Бабський А.М., Іккерт О.В., Манько В.В. Основи біоенергетики. Львів: ЛНУ імені Івана Франка, 2019. - 312 с.
2. Кондрашова М.Н. Взаимодействие процессов переаминирования и окисления карбоновых кислот при разных функциональных состояниях ткани // Биохимия. – 1991. – Т. 56, № 3. – С. 388–405.
3. Нельсон Д., Кокс М. Біохімія за принципами Ленінджера. Львів: БаК, 2016. – 1256 с.
4. Gnaiger E. Mitochondrial Pathways to Complex I: Respiration with pyruvate, glutamate and malate // Mitochondrial Physiology Network. – 2011. – Vol. 11, N 4. – P. 1–9.
5. Harris D.A. Bioenergetics at a Glance, Blackwell Science, Oxford. - 1995.
6. Hanson R.W. The role of ATP in metabolism // Biochem Educ. – 1989. – Vol. 17. - P. 86-92.
7. Nicholls D.G., Ferguson S.J. *Bioenergetics* (3rd ed.). Academic Press, 2002.
8. Lane A.N., Fan T.W., Higashi R.M. Metabolic acidosis and the importance of balanced equations // Metabolomics. – 2009. – Vol. 5, N 2. – P. 163–165.
9. Pollak N. et al. The power to reduce: pyridine nucleotides – small molecules with a multitude of functions // Biochem. J. – 2007. – Vol. 402, N2. – P. 205–218.
10. Steiber A., Kerner J., Hoppel C. Carnitine: a nutritional, biosynthetic, and functional perspective // Mol. Aspects Med. – 2004. – Vol. 25, N 5–6. – P. 455–473.
11. Sznol S. Akademik Jakub Karol Parnas. Herosi, gangsterzy, konformiści. Warszawa: Bellona Press, - 2004. – P. 296–312.