

**Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М.,
Левіч С. В.**

**ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ
РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ. ЦИКЛ
ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ**

**методичний посібник з ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА
ХІМІЯ» ДЛЯ ВИКЛАДАЧІВ**

Запоріжжя, 2015

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ

**Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М.,
Левіч С. В.**

**ЗАГАЛЬНІ ЗАКОНОМІРНОСТІ ОБМІНУ
РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ. ЦИКЛ
ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ**

**методичний посібник З ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА
ХІМІЯ» ДЛЯ ВИКЛАДАЧІВ**

Запоріжжя, 2015

УДК 577.112.8(075)

ББК 28.072 я 73

З-14

Рекомендовано Центральною методичною радою ЗДМУ в якості методичного посібника з дисципліни «Біологічна хімія» для викладачів.

Автори:

Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М., Левіч С. В.

Рецензенти:

Прийменко Б. О. д.фарм.н., професор, професор кафедри органічної хімії Запорізького державного медичного університету;

Приходько О. Б. д.біол.н., доцент, завідувач кафедри медбіології, паразитології та генетики Запорізького державного медичного університету

Загальні закономірності обміну речовин та енергії. Цикл трикарбонових кислот : методичний посібник з дисципліни «Біологічна хімія» для викладачів / К. В. Александрова, О. С. Шкода, Д. А. Васильєв [та ін.]. – Запоріжжя : [ЗДМУ], 2015. – 43 с.

Методичний посібник складений у відповідності до програми з біологічної хімії для проведення занять зі студентами вищих медичних навчальних закладів III-IV рівней акредитації для спеціальності 7.12020101 «Фармація», що затверджена наказом МОН.

Методичний посібник рекомендований для використання при проведенні занять з дисципліни «Біологічна хімія».

УДК 577.112.8(075)

ББК 28.072 я 73

Запорізький державний медичний університет

Александрова К. В., Шкода О. С., Васильєв Д. А., Юрченко Д. М., Левіч С. В., 2015.

ЗМІСТ

1	АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ.....	5
2	НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ ЗАНЯТТЯ.....	6
3	ВИХОВНІ ЦІЛІ.....	7
4	БАЗОВИЙ РІВЕНЬ ПІДГОТОВКИ. МІЖПРЕДМЕТНА ІНТЕГРАЦІЯ.....	8
5	ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ.....	9
6	ПЛАН І ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА ЗАНЯТТЯ.....	10
7	АЛГОРИТМ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ.....	12
8	КОНТРОЛЬ ЗАКЛЮЧНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ З ТЕМИ.....	15
9	ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ.....	17
10	ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»	20
11	ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ.....	25
	Ферментативні реакції циклу трикарбонних кислот	24
	Біохімічні функції циклу Кребса.....	34
	Регуляція циклу трикарбонних кислот.....	34
	Електронний транспорт та окисне фосфорилування. Шляхи витягу енергії з відновлених коферментів.....	35
	Структура мітохондрій.....	36
	Роль коферментів у ЦТК	37
	Особливості структури сукцинатдегідрогенази	38
	ПИТАННЯ ДЛЯ САМОПІДГОТОВКИ СТУДЕНТІВ	39
	РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	40

1. АКТУАЛЬНІСТЬ ТЕМИ

Обмін речовин у живій клітині тісно пов'язаний з обміном енергії. Більшість реакцій біосинтезу, функціонування систем йонного транспорту через клітинні мембрани та робота спеціалізованих внутрішньоклітинних структур є ендоенергетичними процесами. Порушення енергетичного обміну часто виступає в якості важливої ланки патогенезу цілого ряду захворювань. Тому його корекція фармакологічними препаратами складає основу профілактики і лікування цих захворювань.

2. НАВЧАЛЬНІ ЦІЛІ ЗАНЯТТЯ №7

Вивчити біохімічні закономірності протікання обміну речовин та енергії. Вміти трактувати біохімічні закономірності функціонування, механізми регуляції та ключову роль ЦТК в обміні речовин та енергії. Вивчити біохімічні основи процесу біологічного окиснення.

Необхідно знати:

1. Загальні уявлення про метаболізм і обмін енергії в організмі. Катаболічні, анаболічні і амфіболічні шляхи метаболізму, їх взаємозв'язок.
2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції. Макроергічні фосфати. АТФ, як універсальне джерело енергії в клітині.
3. Стадії катаболізму для екзогенних і ендогенних біомолекул в організмі. Загальні і специфічні шляхи катаболізму. Кінцеві продукти катаболічних шляхів в організмі людини.
4. Цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса): внутрішньоклітинна локалізація і характеристика ферментів, послідовність реакцій, регуляція і біологічна роль. Енергетичний баланс ЦТК.

Необхідно вміти:

- визначати активність сукцинатдегідрогенази м'язів.

3. ВИХОВНІ ЦІЛІ

Ознайомитись з біохімічними закономірностями протікання обміну речовин та енергії, механізми регуляції та ключовою роллю ЦТК в обміні речовин та енергії. Навчитись визначати активність сукцинатдегідрогенази м'язів.

4. **БАЗОВИЙ РІВЕНЬ ПІДГОТОВКИ. МІЖПРЕДМЕТНА ІНТЕГРАЦІЯ**

Дисципліни	Отримані навички
Попередні: Органічна хімія	Класифікація органічних сполук. Реакції електрофільного та нуклеофільного заміщення, приєднання-відщеплення, елімінації.
Неорганічна хімія	Типи хімічної реакції. Поняття каталізатори, каталіз.
Нормальна фізіологія	Поняття про травну, метаболічну, захисну та інші функції ферментів.
Фізична та колоїдна хімія	Поняття про структуру фермента та термодинамічні характеристики
Наступні Лабораторна діагностика, Фармакотерапія, Клінічна фармакологія	Ферменти, що мають діагностичне значення, визначення активності ферментів у сироватці. Використання ферментів в якості лікарських засобів. Визначення одиниць активності ферментів.

5. ЗМІСТ НАВЧАЛЬНОГО МАТЕРІАЛУ

1. Загальні уявлення про метаболізм і обмін енергії в організмі. Катаболічні, анаболічні і амфіболічні шляхи метаболізму, їх взаємозв'язок.
2. Екзергонічні та ендергонічні біохімічні реакції.
3. Макроергічні фосфати. АТФ, як універсальне джерело енергії в клітині.
4. Стадії катаболізму для екзогенних і ендогенних біомолекул в організмі. Загальні і специфічні шляхи катаболізму. Кінцеві продукти катаболічних шляхів в організмі людини.
5. Цикл трикарбонових кислот (ЦТК, цикл Кребса): внутрішньоклітинна локалізація і характеристика ферментів, послідовність реакцій, регуляція і біологічна роль. Енергетичний баланс ЦТК.

6. ПЛАН І ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА ЗАНЯТТЯ

Етапи	Час у хв	Навчальні матеріали		Місце проведення
		Засоби навчання	Обладнання	
1. Організаційний момент	5	Перевірити присутніх, провести співбесіду щодо організації навчальної роботи на кафедрі (структуру занять, правила поведінки, порядок відробок заборгованостей, порядок проведення підсумкових занять тощо), провести екскурсію по кафедрі.		Навчальна кімната
2. Співбесіда з питань про структуру, властивості, класифікацію ферментів	15	Провести пояснення важливих термінів: ЦТК, ферменти ЦТК, НАДН, ФАДН ₂ , АТФ, ГТФ		Навчальна кімната
Фізіологічна перерва	10			
<p>Поділити навчальну групу на 2 бригади з моменту розподілення м'язової маси у пробірки для виконання лабораторної роботи.: №№ 1, 2. Зміст практичної роботи для кожної бригади:</p> <p>№ 1: Визначення активності сукцинатдегідрогенази м'язів (одна робота).</p>				
3. Початок роботи студентів згідно тем лабораторних робіт	15	Протоколи для лабораторних робіт	Обладнання та реагенти до лабораторних робіт, протоколи для	Навчальна кімната

			лабораторних робіт	
4. Проведення письмової контрольної роботи	20	Початок часу інкубації є початком письмової роботи.	Картки з завданнями, зошити для контрольних робіт	Навчальна кімната
5. Продовження виконання практичної частини заняття	10	Студенти мають час закінчити проведення експериментів.	Протоколи для лабораторних робіт	Навчальна кімната
6. Оформлення результатів лабораторних робіт	10 хв		Підручник, Практикуми	Кімната для навчання
7. Заключна співбесіда згідно результатів усіх типів робіт студентів на протязі заняття	15 хв	Перевірка та підпис протоколів лабораторних робіт, аналіз успішності студентів на занятті, інформування студентів про тему наступного заняття, видання завдань для самостійної роботи	Список літератури у допомогу для ліквідації недоліків у вивчанні теми	Кімната для навчання

7. АЛГОРИТМ ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ

Визначення активності сукцинатдегідрогенази м'язів.

Принцип методу. Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) каталізує окиснення (дегідрування) янтарної кислоти у фумарову. Коферментом СДГ служить флавін-аденіндинуклеотид (ФАД). Дію цього ферменту можна спостерігати в аеробних умовах при додаванні до янтарної кислоти акцепторів водню – метиленового синього або 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію (обидва розчини синього кольору), що супроводжується знебарвленням розчинів (внаслідок утворення відновленої форми реагенту).

Обладнання та реактиви: штатив, пробірки, піпетки, ножиці, марля, воронка, фільтрувальний папір, м'язова тканина, фосфатний буфер (рН 7,4), 3 % розчин янтарної кислоти, 0,1 н розчин NaOH, 3 % розчин малонової кислоти, 3 % розчин янтарної кислоти, 0,001 н розчин 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію.

Хід роботи. Свіжу м'язову тканину (біля 1г) подрібнюють ножицями і розтирають в ступці з невеликою кількістю води (2-3 мл) протягом 1 хвилини, потім м'язову кашку переносять на подвійний шар марлі у воронці, промивають водою, поміщають на фільтрувальний папір і висушують. У три пробірки наливають по 3 мл фосфатного буфера (рН 7,4) і додають в кожну з них по 0,1 г м'язової кашки. Потім в досліджувану пробірку додають 5 крапель 3 % розчину янтарної кислоти і (для нейтралізації) 5 крапель 0,1 н розчину NaOH, а в контрольну пробірку доливають 10 крапель дистильованої води. У третю пробірку додають 5 крапель 3 % розчину малонової кислоти, 5 крапель 3 % розчину янтарної кислоти і 5 крапель 0,1 н розчину NaOH. В усі пробірки додають по 1 мл 0,001 н розчину 2,6-дихлорфеноліндофеноляту натрію і вміст пробірок

перемішують. Проби термостатують при 37 °С 40 хв. Після інкубації досліджувану пробірку порівнюють з контролем і з пробіркою, де знаходився конкурентний інгібітор СДГ – малонова кислота.

Очікуваний результат. Інтенсивність знебарвлення 2,6-дихлорфеноліндофенляту натрію в присутності янтарної кислоти характеризує активність сукцинатдегідрогенази.

8. КОНТРОЛЬ ЗАКЛЮЧНОГО РІВНЯ ЗНАНЬ З ТЕМИ

Вариант 1

1. Найдите ключевые ферменты цикла Кребса (используя их обозначение), назовите их и опишите их регуляцию.
2. Найдите начальные субстраты для цикла Кребса (используя их обозначения), назовите их.

Вариант 2

1. Найдите полиферментную систему цикла Кребса (используйте ее обозначение), опишите ее состав.
2. Найдите метаболиты цикла Кребса, участвующие в окислительном декарбоксилировании, назовите их.

Вариант 3

1. Найдите ключевой фермент цикла Кребса (используйте его обозначение), чья активность стимулируется накоплением АДФ в матриксе митохондрий. Назовите все его ингибиторы.
2. Найдите обозначения для оксалоацетата и цис-аконитата соответственно. Какое из этих веществ является начальным субстратом для цикла?

Вариант 4

1. Найдите обозначения для фермента цикла Кребса, который катализирует субстратное фосфорилирование. Назовите этот фермент и докажете тип реакции.
2. Найдите обозначения для метаболитов сукцинат и изоцитрат. Какой из указанных метаболитов включается в окислительное декарбоксилирование?

Вариант 5

1. Найдите обозначения ферментов катализирующих окислительное декарбоксилирование. Назовите их соответственно и докажете тип реакции.
2. Найдите обозначение для метаболита сукцинил-КоА. Укажите тип реакции, в которой участвует данный метаболит как исходный субстрат.

Вариант 6

1. Найдите обозначение ферментов цикла Кребса, чья активность позволяет образовать восстановленную форму НАДН. Назовите эти ферменты соответственно обозначению.
2. Найдите продукт действия фермента фумаразы в цикле Кребса. Назовите его.

Вариант 7

1. Назовите конечные продукты цикла Кребса в расчете на 1 цикл. Найдите все ферменты, благодаря которым образуются эти продукты.
2. Найдите обозначение метаболита альфа-кетоглутарат. Укажите тип реакции, в которой участвует данный метаболит.

Вариант 8

1. Найдите ферменты цикла Кребса, благодаря действию которых происходит укорочение углеродного скелета промежуточных метаболитов цикла. Назовите эти ферменты и укажите витамины, участвующие в образовании их структуры.
2. Найдите все трикарбоновые кислоты в цикле Кребса. Назовите их.

9. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Укажіть клітинну локалізацію ферментів циклу Кребса:

- A. Мітохондрії
- B. Цитоплазма
- C. Ендоплазматичний ретикулум
- D. Ядро
- E. Лізосоми

2. Цикл трикарбонних кислот – друга назва циклу Кребса. Укажіть трикарбонну кислоту з циклу Кребса:

- A. α -Кетоглутарат
- B. Ізоцитрат
- C. Сукцинат
- D. Фумарат
- E. Малат

3. Укажіть продукт першої реакції циклу Кребса:

- A. Цис-аконітат
- B. Ізоцитрат
- C. Цитрат
- D. α -Кетоглутарат
- E. Малат

4. Укажіть фермент циклу Кребса, необхідний для синтезу ГТФ:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

5. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого знижується при накопиченні в матриксі мітохондрій ацилів вищих жирних кислот:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

6. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого знижується при накопиченні в матриксі мітохондрій маленової кислоти:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

7. Укажіть фермент циклу Кребса, активність якого лімітує швидкість протікання всього процесу в цілому:

- A. Цитратсинтаза
- B. Сукцинатдегідрогеназа
- C. Ізоцитратдегідрогеназа
- D. Сукциніл-КоА-тіокіназа
- E. Малатдегідрогеназа

8. Укажіть енергоефект циклу Кребса (у молях АТФ), який забезпечується процесом окисного фосфорилування в розрахунку на 1 моль ацетил-КоА:

- A. 8АТФ
- B. 11АТФ
- C. 12АТФ

D. 9АТФ

E. 3АТФ

9. Укажіть метаболіт циклу Кребса, який є макроергичною речовиною:

A. Цитрат

B. Ізоцитрат

C. Сукцинат

D. Сукциніл-КоА

E. Фумарат

10. Найдіть положення, яке доказує амфіболічність циклу Кребса:

A. Оксалоацетат використовується в глюконеогенезі

B. Ацетил-КоА повністю утилізується в ЦТК

C. Оксалоацетат відновлюється в останній реакції

D. В процесі утворюються трикарбо-нові кислоти

E. Відбувається генерація відновле-них форм коферментів

10. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ ПІДГОТОВКИ ДО ЛІЦЕНЗІЙНОГО ІСПИТУ «КРОК-1»

У мальчика двух лет нарушен энергетический обмен – снижена скорость процессов окисления и синтеза АТФ; в крови повышено содержание метаболитов цикла Кребса. Какой продукт обмена веществ является конкурентным ингибитором сукцинатдегидрогеназы?

- A. Аспаргат
- B. Малат
- C. Глутамат
- D. Малонат
- E. Цитрат

Цикл трикарбоновых кислот начинается с конденсации оксалоацетата и ацетил-КоА с образованием лимонной кислоты. Какую роль в цикле Кребса играет оксалоацетат (ЩУК)?

- A. Ингибитор
- B. Репрессор
- C. Реактиватор
- D. Модификатор
- E. Субстрат

Цикл трикарбоновых кислот является конечным этапом окисления углеводов, аминокислот, жирных кислот. Укажите, с каким субстратом вступает в первую реакцию ЦТК ацетил-КоА:

- A. С шавелевоуксусной кислотой
- B. С лимонной кислотой
- C. С изолимонной кислотой
- D. С фумаровой кислотой
- E. С яблочной кислотой

Митохондрии – субклеточные органеллы, присущие всем клеткам, кроме зрелых эритроцитов, бактерий, синезеленых водорослей. В каких основных клеточных функциях принимают участие митохондрии?

- A. Секреция
- B. Сборка рибосом
- C. Гидролиз веществ
- D. Окислительное фосфорилирование
- E. Транскрипция

В синтезе АТФ в клетке принимают участие целый ряд ферментов.

Ферменты дыхательной цепи, обеспечивающие синтез АТФ, локализованы в:

- A. Ядре
- B. Лизосомах
- C. Рибосомах
- D. Митохондриях
- E. Пероксисомах

Во время электронной микроскопии в клетке зафиксирована деструкция митохондрий. О нарушении каких процессов это свидетельствует?

- A. Нарушение синтеза АТФ
- B. Нарушение синтеза нуклеиновых кислот
- C. Нарушение синтеза жиров
- D. Нарушение синтеза белка
- E. Нарушение гликолиза

Нуклеозидтрифосфаты являются макроэргическими соединениями.

Универсальной энергетической “валютой” клетки называют:

- A. УТФ
- B. АТФ

- C. ГТФ
- D. ЦТФ
- E. ТТФ

В результате процесса дыхания в организм поступает кислород. В каких клеточных органоидах происходят процессы окислительного фосфорилирования с участием кислорода?

- A. Ядре
- B. Эндоплазматическом ретикулуме
- C. Митохондриях
- D. Лизосомах
- E. Рибосомах

Цикл трикарбоновых кислот начинается с конденсации оксалоацетата и ацетил-КоА с образованием лимонной кислоты. Какую роль в цикле Кребса играет оксалоацетат (ЩУК)?

- A. Ингибитор
- B. Репрессор
- C. Реактиватор
- D. Модификатор
- E. Субстрат

Какое количество молекул АТФ может синтезироваться при полном окислении ацетил - КоА в цикле трикарбоновых кислот ?

- A 1
- B 12
- C 5
- D 8
- E 3

Центральным промежуточным продуктом всех обменов (белков, липидов, углеводов) является:

- A. Ацетил-КоА
- B. Сукцинил-КоА
- C. Щавелево-уксусная кислота
- D. Лактат
- E. Цитрат

Для нормального метаболизма клеткам необходимы макроэргические соединения. Какое из нижеуказанных веществ относят к макроэргам?

- A. Креатинфосфат
- B. Креатин
- C. Креатинин
- D. Глюкозо-6-фосфат.
- E. Аденозинмонофосфат.

Цикл Кребса играет важную роль в реализации глюकोпластичного эффекта аминокислот (участие в синтезе глюкозы). Это обусловлено обязательным превращением некоторых аминокислот в:

- A. Малат
- B. Сукцинат
- C. Оксалоацетат
- D. Фумарат
- E. Цитрат

11. ТЕОРЕТИЧНИЙ МАТЕРІАЛ З ТЕМИ ЗАНЯТТЯ

ЦТК - джерело відновних коферментів НАДН і ФАДН₂ Дихальний ланцюг – як ефективний механізм екстракції енергії відновних коферментів.

Хеміосмотична теорія Мітчелла. Формування трансмембранних концентраційного і електричного потенціалів.

Цикл трикарбонових кислот (цикл лимонної кислоти, цикл Кребса) — циклічна послідовність ферментативних реакцій, у результаті яких ацетил – КоА ($\text{CH}_3 - \text{CO} \sim \text{S} - \text{CoA}$) – продукт катаболізму основних видів метаболічного палива (вуглеводів, жирів, амінокислот), окислюється до двоокису вуглецю з утворенням атомів водню, які використовуються для відновлення первинних акцепторів дихального ланцюга мітохондрій — нікотинамідних або флавінових коферментів.

Загальна характеристика циклу трикарбонових кислот

Цикл трикарбонових кислот (ЦТК) —це загальний кінцевий шляхокислювального катаболізму клітини в аеробних умовах. Реакції та ферменти ЦТК локалізовані в матриксі та внутрішній мембрані мітохондрій. Вони функціонально та біохімічно спряжені з мітохондріальними електронотранспортними ланцюгами, що використовують для відновлення атомів кисню. Відновлювальні еквіваленти від НАДН ($\text{НАДН} + \text{H}^+$) та ФАДН₂ або ФМНН₂ і утворюють АТФ у ході окисного фосфорилування.

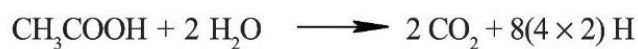
Схема функціонування ЦТК

Цикл трикарбонових кислот починається з взаємодії (конденсації) двовуглецевої молекули ацетил – КоА (С₂) з чотиривуглецевою (С₄)

щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом), що призводить до утворення шестивуглецевої (C6) молекули лимонної кислоти (цитрату). В результаті подальшого багатоступеневого перетворення три – та дикарбонових кислот (інтермедіатів ЦТК) відбувається регенерація оксалоацетату (C4) та виділяються дві молекули двоокису вуглецю (C2).

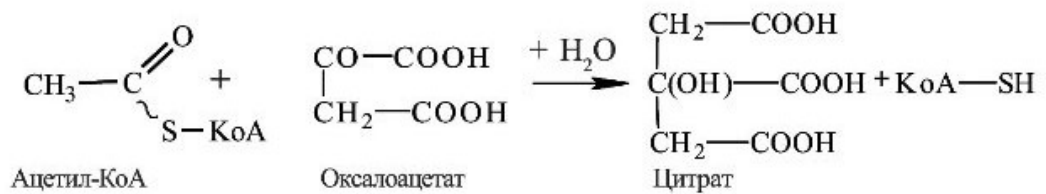


Таким чином, коензим А відщеплюється від ацетил – КоА («активної форми оцтової кислоти») вже в першій реакції ЦТК; у ході функціонування подальших реакцій циклу відбувається відщеплення від цитрату (альтернативна назва ЦТК — цитратний цикл) двох молекул двоокису вуглецю та чотирьох пар атомів водню (4 x 2H), що дозволяє подати таке сумарне рівняння ЦТК:



Ферментативні реакції циклу трикарбонових кислот

1. Утворення лимонної кислоти (цитрату) за рахунок конденсації ацетил – КоА з щавлевооцтовою кислотою (оксалоацетатом):



Реакція каталізується ферментом *цитратсинтазою*. Вона є регуляторним ферментом, активність якого гальмується АТФ, НАДН, сукциніл – КоА та довголанцюговими ацил – КоА.

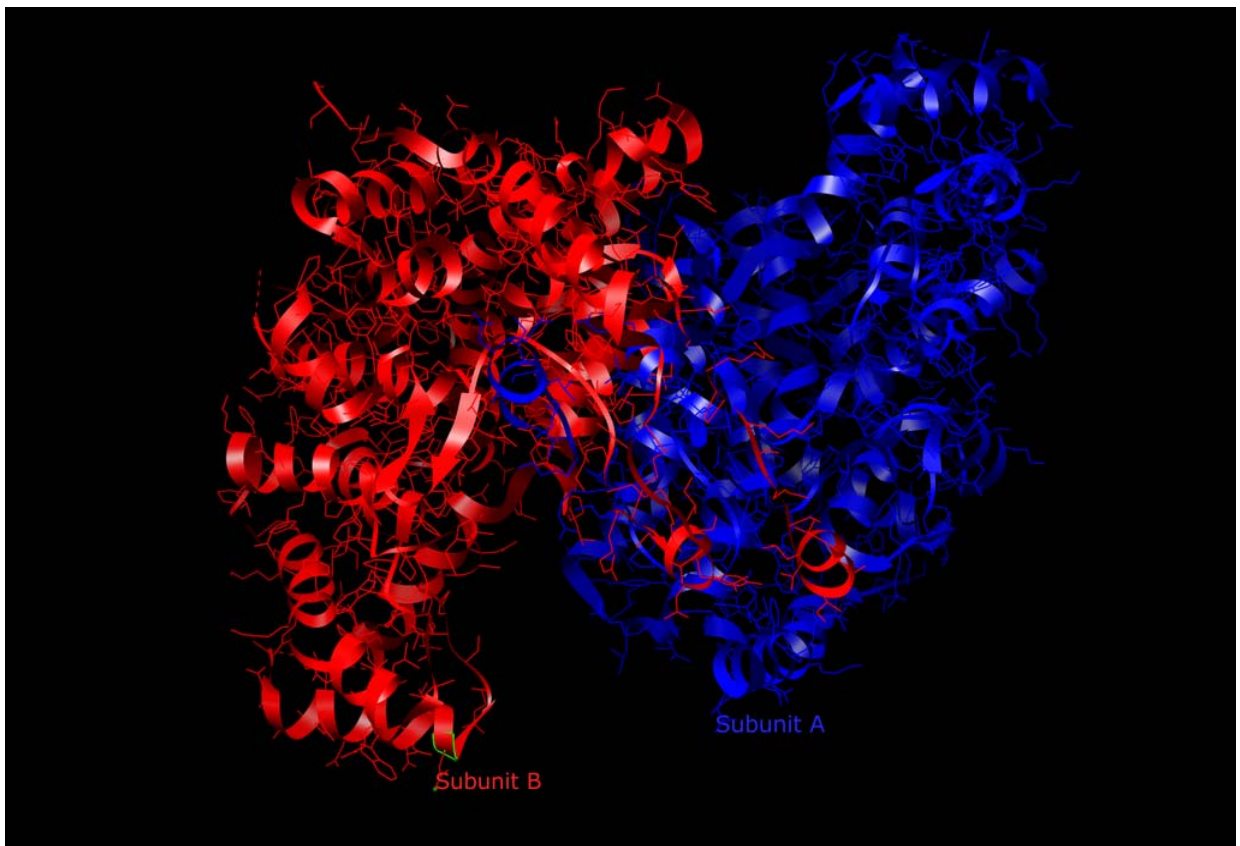


Рис. 1 Цитратсинтаза

2. Перетворення (ізомеризація) цитрату на ізоцитрат. Реакція каталізується ферментом аконітазою і складається з двох етапів:

2.1. Дегідратація лимонної кислоти з утворенням цис – аконітової

кислоти (цис – аконітату):

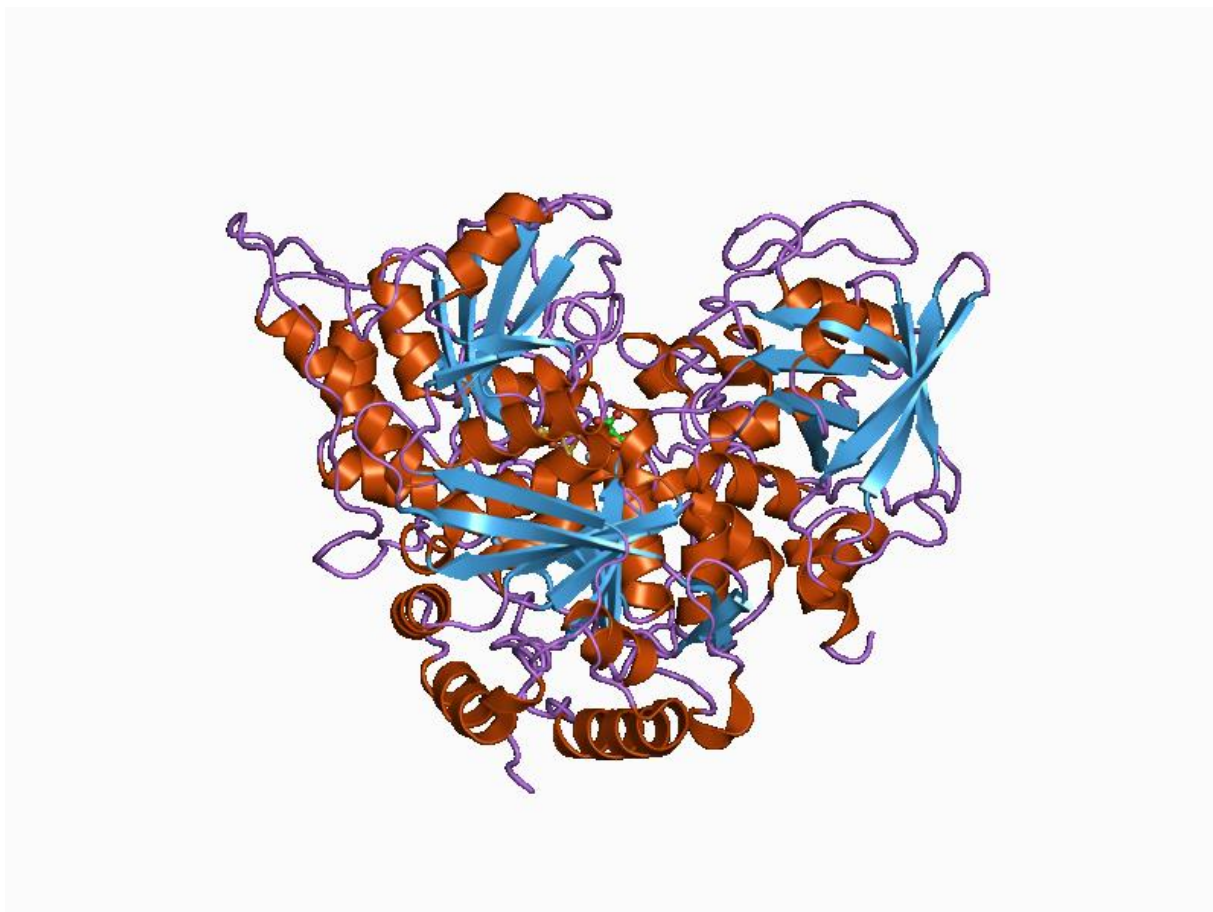
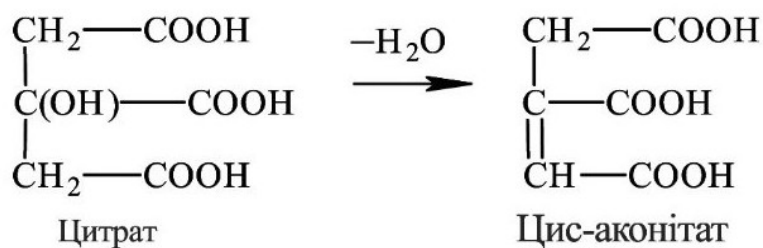
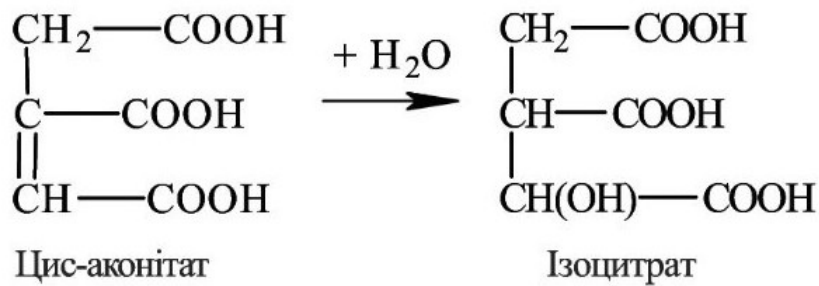


Рис 2. Аконітаза

2.2. Приєднання до цис–аконітату молекули води.

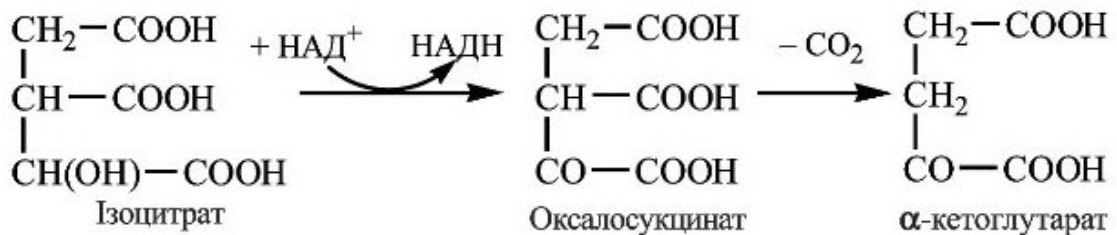
При приєднанні до подвійного зв'язку в складі цис – аконітату H^+ та OH – у транс – положенні результатом реакції є утворення ізолимонної кислоти (ізоцитрату):



3. Дегідрування та декарбоксилювання ізоцитрату.

Реакція каталізується НАД – залежною ізоцитратдегідрогеназою і призводить до утворення α – кетоглутарової кислоти (α – кетоглутарату).

Ізоцитратдегідрогеназа є регуляторним ферментом, позитивний модулятор якого — АДФ, негативний — НАДН.



Фермент має дві молекулярні форми — мономерну (молекулярна маса ізоцитратдегідрогенази з мітохондрій серця дорівнює 330 кД) та димерну. В присутності позитивного модулятора АДФ мономери агрегують між собою з утворенням димеру. Негативний модулятор НАДН протидіє індукованій АДФ агрегації мономерних форм ферменту. Обидві молекулярні форми ізоцитратдегідрогенази мають каталітичні властивості, але за умов низької концентрації АДФ димер значно більш активний.

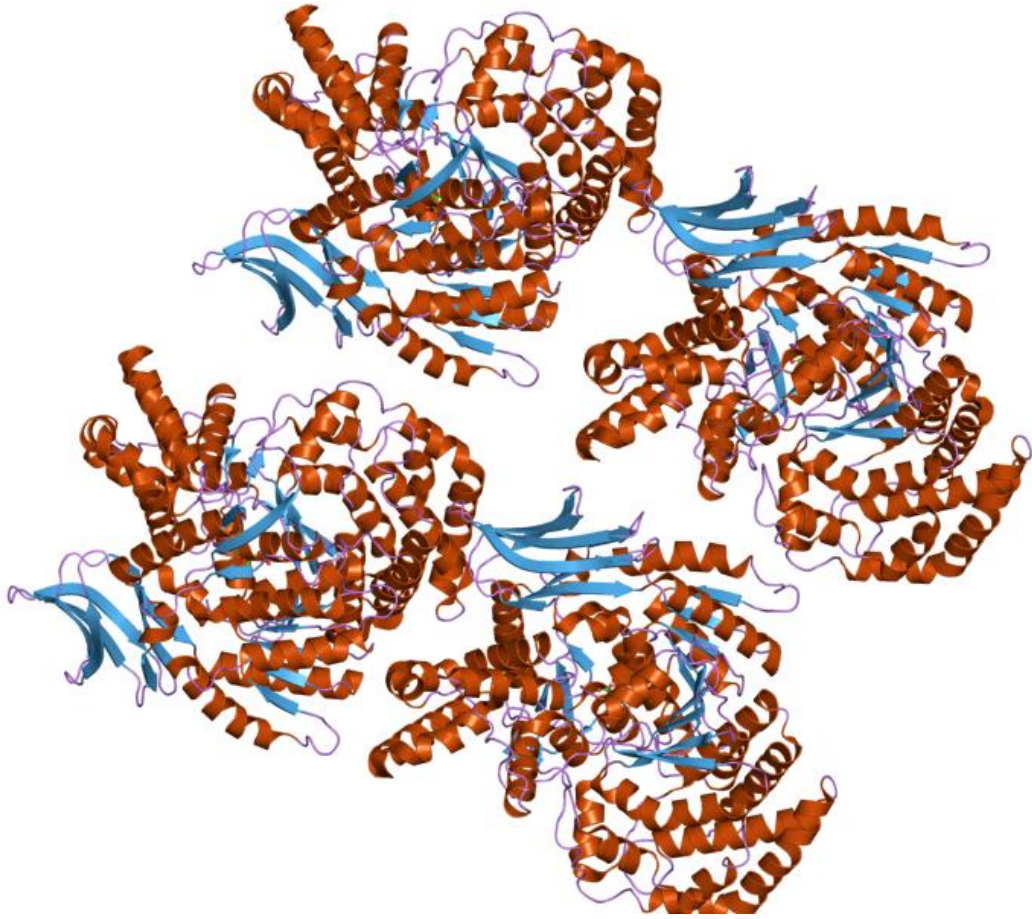
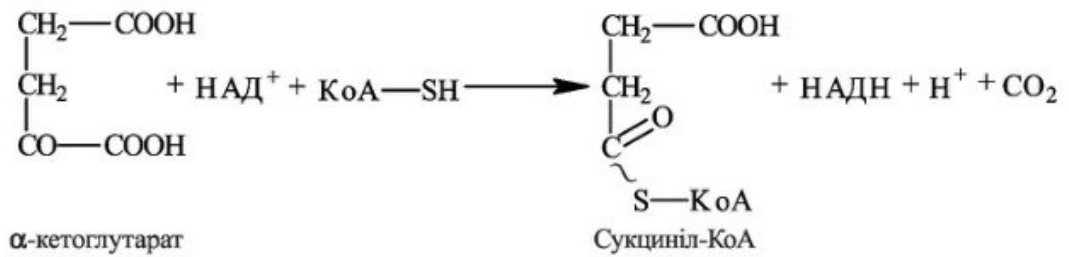


Рис. 3. Ізоцитратдегідрогеназа

4. Окислення α – кетоглутарату до сукцинату

Цей процес відбувається у дві стадії

4.1. Окислювальне декарбоксилювання α – кетоглутарату з утворенням сукциніл – КоА — стадія, що каталізується мультиензимним α – кетоглутарат–дегідрогеназним комплексом. Кінцевий продукт — високоенергетичний тіоефір сукциніл~ КоА, в макроергічному зв'язку якого акумульовано хімічну енергію окислювально – відновлювальною реакцією, що мала місце:



НАДН, що утворився в цій реакції, окислюється в дихальному ланцюзі мітохондрій із генерацією 3 молекул АТФ.

За механізмом реакції цей процес нагадує окислювальне декарбоксілювання пірувату до ацетил – КоА; як і піруватдегідрогеназний, α – кетоглутаратдегідрогеназний комплекс має у своєму складі коферменти тіаміндифосфат (ТДФ), ліпоєву кислоту (ЛК), КоА, НАД⁺ та ФАД. Молекулярна маса цього комплексу з клітин E.Coli дорівнює $2,1 \cdot 10^6$.

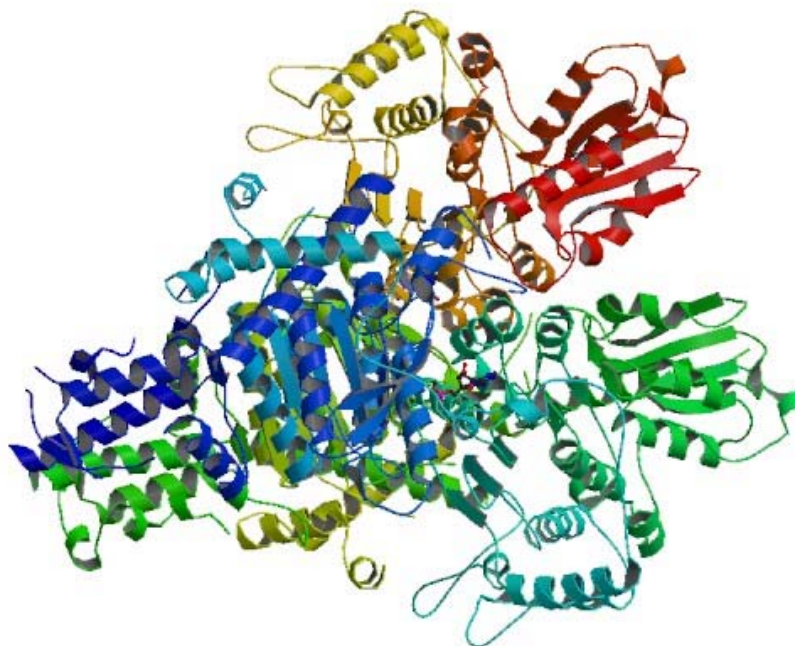
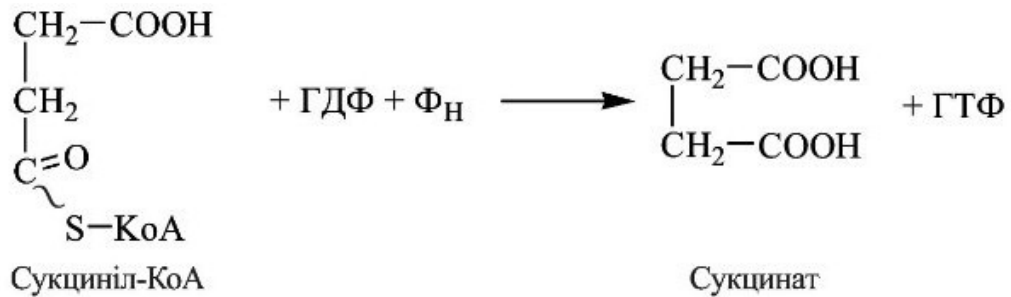


Рис. 4. Кетоглутаратдегідрогеназний комплекс

4.2. Деацилювання сукциніл – КоА (перетворення на янтарну кислоту (сукцинат)). Реакція каталізується ферментом сукцинілтіокіназою. У результаті розщеплюється макроергічний зв'язок у молекулі сукциніл – КоА, та за рахунок цієї енергії утворюється нова макроергічна сполука нуклеозидтрифосфат ГТФ:



Потім ГТФ передає свою кінцеву фосфатну групу на АДФ у нуклеозидфосфокіназної реакції з утворенням АТФ:

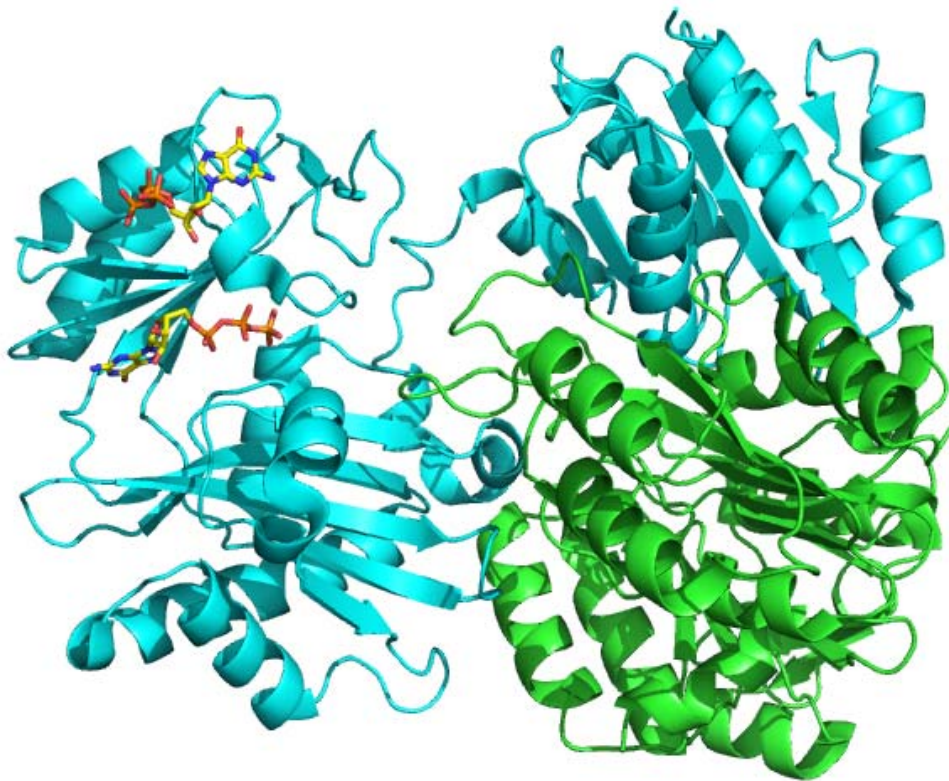
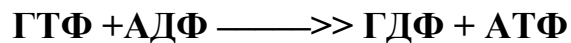


Рис .5. Сукцинілтіокіназа

5. Окислення янтарної кислоти до фумарової кислоти (фумарату).

Реакція каталізується ФАД-залежним ферментом сукцинатдегідрогеназою:



Окислення відновленого коферменту (ФАДН₂) за допомогою коензиму Q дихального ланцюга мітохондрій призводить до синтезу за рахунок окисного фосфорилування 2 молекул АТФ.

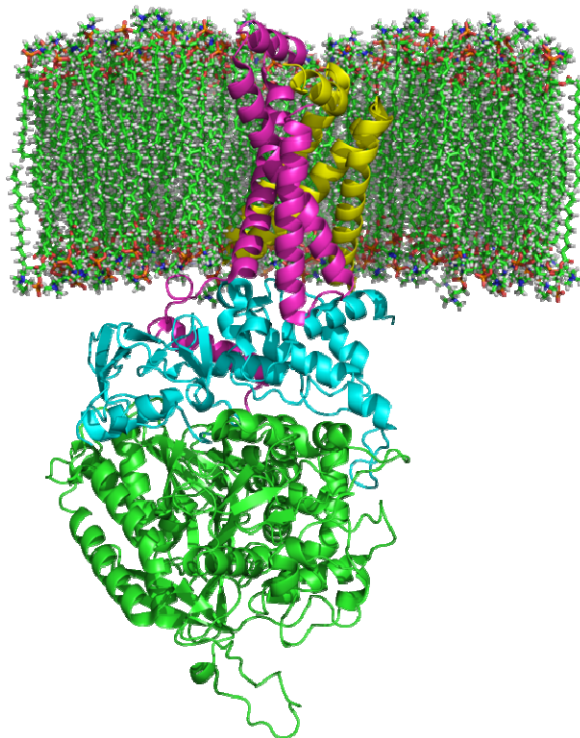


Рис. 7. Сукцинатдегідрогеназа

6. Перетворення фумарової кислоти на яблучну кислоту (малат) внаслідок приєднання до фумарату молекули води.

Реакція каталізується ферментом фумаратгідратазою (фумаразою):

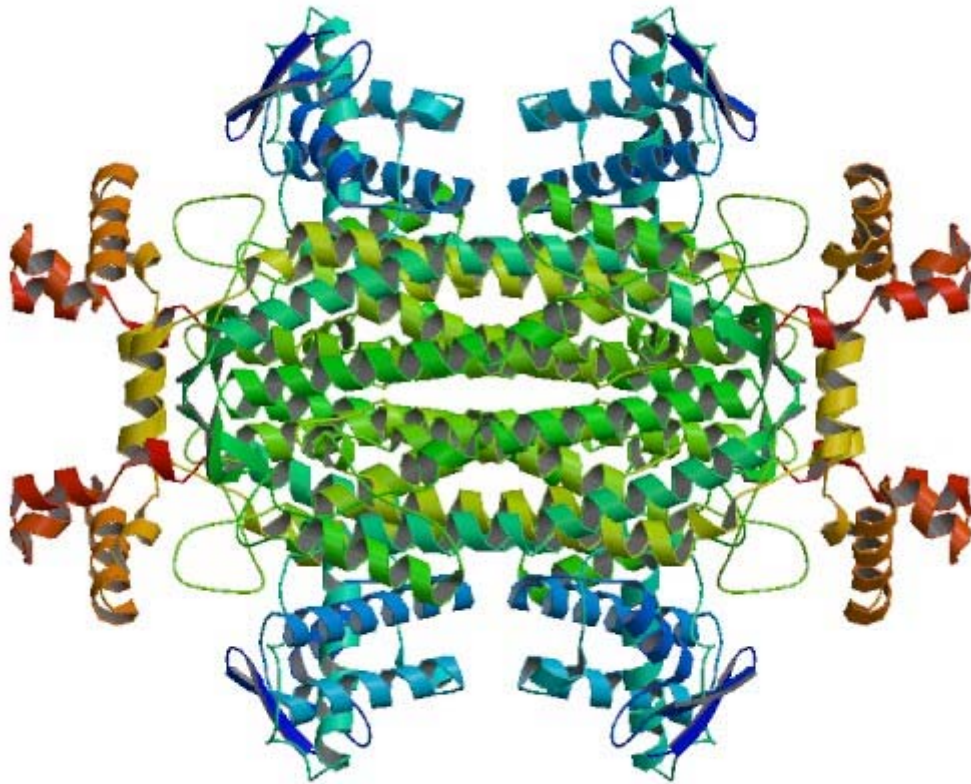
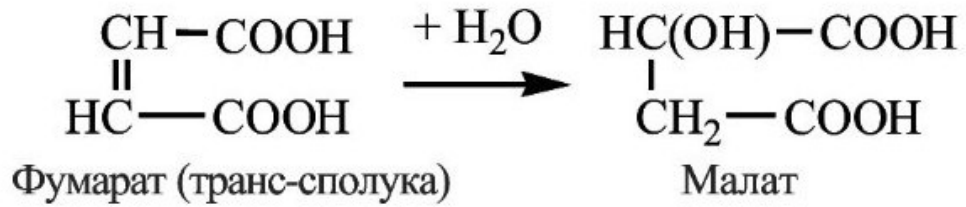
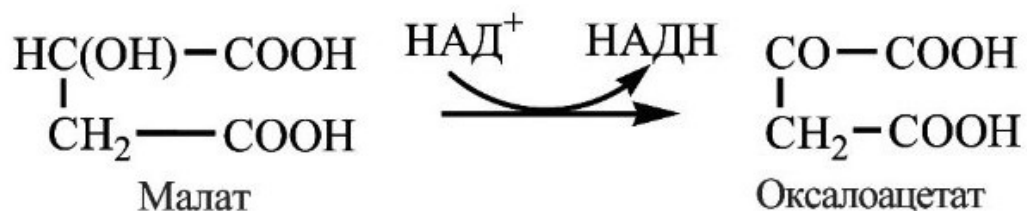


Рис. 8. Фумараза

7. Окислення малату до оксалоацетату (щавлевооцтової кислоти).

Реакція каталізується НАД – залежним ферментом — малатдегідрогеназою мітохондрій:



Окислення НАДН, що утворився, в дихальному ланцюзі мітохондрій призводить до генерації 3 молекул АТФ.

Малатдегідрогеназна реакція завершує цикл трикарбонових кислот. Оксалоацетат, який є продуктом даної реакції, здатний до взаємодії з новими молекулами ацетил – КоА.

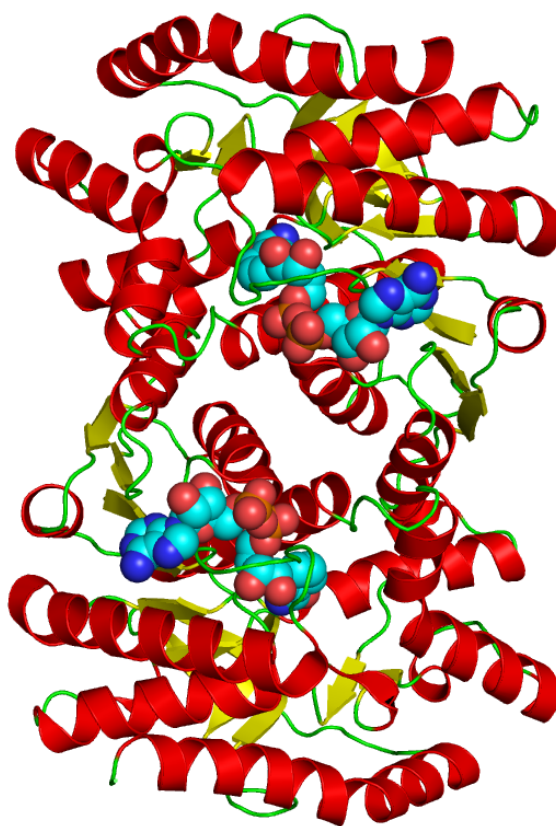


Рис. 9. Малатдегідрогеназа

Біохімічні функції циклу Кребса

Цикл Кребса виконує в організмі людини такі найважливіші біохімічні функції:

- а) **інтегративну** – цикл Кребса є своєрідним метаболічним «колектором», який об'єднує шляхи розпаду вуглеводів, ліпідів і білків;
- б) **амфіболічну** – цикл Кребса виконує подвійну функцію: катаболічну, оскільки у ньому проходить розпад ацетил – КоА, і анаболічну, оскільки субстрати циклу Кребса використовуються для синтезу інших речовин. Так, оксалоацетат йде на синтез аспарагінової кислоти і глюкози, 2 – оксоглутарат – глутамінової кислоти, сукцинат – гему;
- в) **енергетичну** – в ході реакцій циклу Кребса утворюється одна молекула ГТФ на рівні субстрату (сукциніл – КоА – синтетазна реакція);
- г) **водневодонорна** — цикл Кребса є основним генератором гідрогену для дихального ланцюга мітохондрій. У циклі Кребса утворюється 4 пари атомів гідрогену, три із яких з'єднані з НАД⁺ і одна з ФАД.

Регуляція циклу трикарбонових кислот:

1) **цитратсинтази** (ацетил–КоА та оксалоацетат є активаторами ферменту);

2) **ізоцитратдегідрогенази** (АДФ, АМФ—алостеричні активатори ферменту, АТФ, НАДН — інгібітори);

3) **2 – оксоглутаратдегідрогеназного комплексу** (АТФ, ГТФ, НАДН, сукциніл – КоА – алостеричні інгібітори, іони Ca²⁺ – активатори ферментативного комплексу).

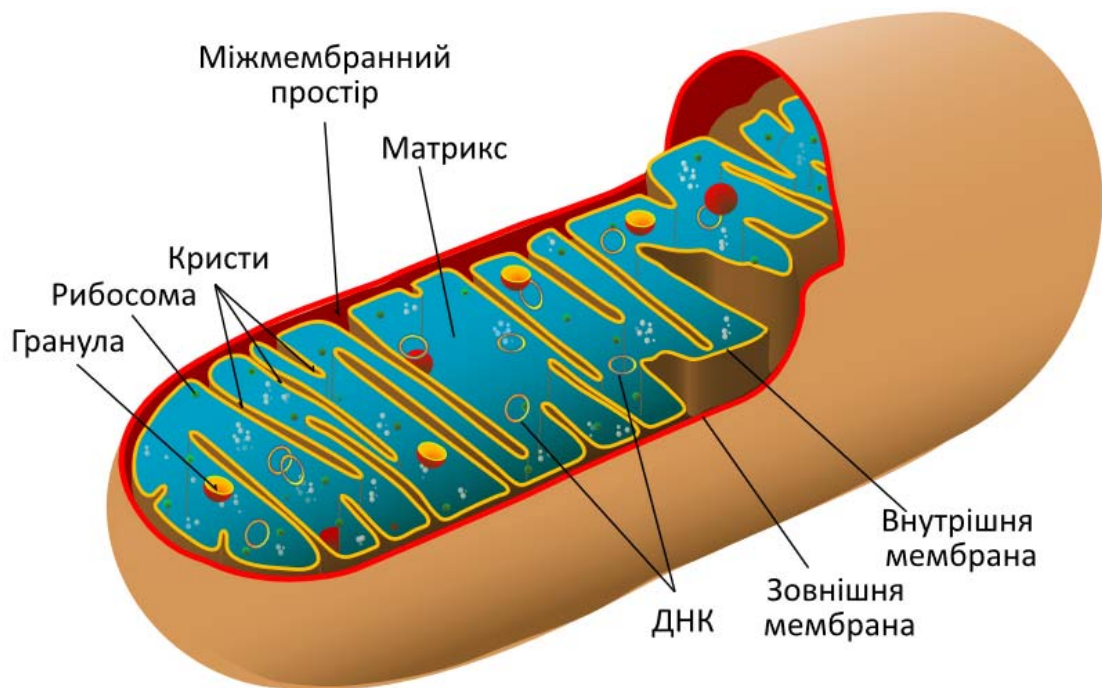
Електронний транспорт та окисне фосфорилування. Шляхи витягу енергії з відновлених коферментів

В цілому, реакції, які отримують всю енергію з молекули в одному кроці, не ефективні: вони витрачають більшу частину доступної енергії. Шлях, використовуваний для відбору енергії від НАДН, включає кілька етапів, що дозволяє більш ефективно вилучення енергії від молекули. Процес складається з двох фаз: електронного транспорту й окисного фосфорилування.

Механізм отримання енергії з відновлених кофакторів був предметом серйозних дискусій. Хеміосмотична гіпотеза, запропонована Пітером Мітчеллом в 1961 році, має найбільшу експериментальну підтримку, і, напевно, правильна в його істотних пунктах. По суті, Митчел запропонував, що шлях перенесення електронів зберігає енергію від електронів, що транспортуються, шляхом створення протонного градієнта через мембрану мітохондрій, і що цей протонний градієнт потім використовується, щоб забезпечити енергію, необхідну для синтезу АТФ. Як працюють ці процеси вже були предметом численних досліджень.

При передачі електронів від НАДН до кисню звільняється $-219,2$ кДж / моль. Це значно більше, ніж ΔG гідролізу АТФ ($-30,5$ кДж / моль). Очевидно НАДН має велику кількість енергії, запасеної в молекулі. Завдання транспортного шляху електрона, щоб зберегти цю енергію у формі, яка може бути використана для синтезу більше одного АТФ.

Структура мітохондрій



Для того, щоб зрозуміти роботу шляхів транспорту електронів і окисного фосфорилування, ми повинні дивитися на загальну структуру мітохондрії. Мітохондрія містить дві мембрани: зовнішня мембрана, яка, як видається в значній мірі нести відповідальність за підтримання форми органели, і набагато менш проникною внутрішній мембрані. Зовнішня мембрана містить поріни, білки, які утворюють пори, які дозволяють вільно дифундувати через мембрану досить великим молекулам ~ 10 кДа.

Область між мембранами називається міжмембранним простором. Міжмембранний простір займають розчинні білки досить велики, так що вони не можуть пройти через поріни. Для малих молекул, цитоплазма і міжмембранний простір, по суті, прилеглі райони.

Внутрішня мембрана діє як бар'єр, щоб запобігти рух більшості молекул. Кілька молекул мають певні транспортери, які дозволяють їм увійти або вийти з мітохондрії. Внутрішня мембрана містить кристи - складки внутрішній мембрані. Функція крист, щоб збільшити площу внутрішній мембрани.

Нарешті, у внутрішній мембрані є матрикс. Матрикс являє собою дуже щільний розчин білка (50% білка за вагою). Ферменти ЦТК розташовані в матриксі, так само як ферменти для кількох інших метаболічних шляхів. Мітохондрії містять невеликий геном (-16500 б.п.). Геном містить 22 генів транспортної РНК, 2 гени рибосомальної РНК і 13 генів поліпептидів; поліпептиди все залучені в транспортному шляху електронів або шляху окисного фосфорилування. Зверніть увагу, що ферменти ЦТК (включаючи сукцинатдегідрогеназу) всі зроблені з ядерних генів; мультисубодиничні комплекси транспортного шляху електронів і АТФ-синтази (за винятком сукцинатдегідрогенази) складаються з білків, отриманих з обох ядерних та мітохондріальних генів.

Роль коферментів у ЦТК

НАДН і ФАДН₂ можуть передати електронні пари спеціального набору білків, які діють в якості електронного каналу до кисню: електронно-транспортному ланцюгу. Як електрони передаються вниз по ланцюжку, вони втрачають значну частину своєї вільної енергії. Деяка частина з цієї енергії може бути захоплена і збережена у вигляді протонного градієнта, який може бути використаний для синтезу АТФ з АДФ, інша частина енергії втрачається у вигляді тепла. Термін "протонний градієнт" означає, що одна сторона мембрани (в даному випадку, сторона внутрішньої мембрани мітохондрій міжмембранного простору) має більш високу концентрацію протонів, ніж з іншого боку. Градієнти концентрації будь-якого виду містять

деяку кількість енергії. Протонний градієнт утворюється транспортом електронів і має концентраційний та електричний потенціал. У внутрішній мембрані мітохондрій знайдено в цілому п'ять білкових комплексів, що задіяні у шляхах транспорту електронів і окисного фосфорилування. Комплекси I, II, III і IV є частиною ланцюга транспорту електронів. Комплекс V є ферментний комплекс, який здійснює реакцію окисного фосфорилування: фактичне перетворення АДФ в АТФ. Всі вони великі мультібілкові комплекси. На додаток до мембранозв'язаних комплексів, ланцюг перенесення електронів вимагає мобільні електронні носії: цитохром с і коензим Q. Коензим Q не є білком, але пов'язаний з мембраною кофактор. Цитохром с є невеликий розчинний білок, що знаходиться в міжмембранному просторі.

Загальна реакція включає окислення НАДН або ФАДН₂ кофакторів, і призводить до відновлення кисню у воду. Цей процес є основною причиною потреби у кисні в більшості організмів. Електронно-транспортний шлях часто називають "дихальний ланцюг", тому що цей шлях є основною причиною для дихання (= дихання у тварин).

Особливості структури сукцинатдегідрогенази

Сукцинатдегідрогеназа є одним з ферментів в ЦТК . Це єдиний фермент ЦТК вбудований у внутрішній мембрані мітохондрій. Перетворення сукцината в фумарат призводить до відновлення пов'язаного з ферментом ФАД. Окислення відновлених флавінів вимагає передачу електронів до коензиму Q; іншими словами, фермент не може каталізувати реакцію якщо електронний транспорт не функціонує. Сукцинатдегідрогеназа не качає протони.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОПІДГОТОВКИ СТУДЕНТІВ

1. Охарактеризуйте ферменти з прихованою функцією.
2. Укажіть роль неорганічних коферментів в ЦТК.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Базова

1. Біохімія: підручник./ за загальною редакцією проф. Зайгайка А. Л. та проф. Александрової К. В. – Харків: Форт, 2014. – 728 с.
2. Губський Ю.І. Біологічна хімія. - Київ-Тернопіль: Укрмед- книга, 2000. - 508 с.
3. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия.-М.:Медицина, 1990. – 528 с.
4. Бышевский А.Ш., Терсенов О.А. Биохимия для врача. - Екатеринбург:Урал. рабочий, 1994. - 384 с.
5. Губський Ю. І. Біоорганічна хімія. - Вінниця: НОВА КНИГА, 2004. - 464 с.
6. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник .-Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744 с.
7. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. и др. Биохимия. К.: Выща шк. Изд-во при КГУ, 1988. - 432 с.
8. Николаев А.Я. Биологическая химия.- М.: Мед. информац. агентство, 1998. - 496 с.
9. Хмелевский Ю.В, Губский Ю.И., Зайцева С.Д. и др. Биологическая химия: Практикум. - К.: Вища шк., 1985. - 212 с.

Допоміжна

1. Балаболкин М.И. Эндокринология. - М.: Универсум паблшинг, 1998. – 582 с.
2. Боєчко Л.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни: Навч. посібник. - К.: Вища шк., 1993. - 528 с.
3. Болдырев А.А. Введение в биохимию мембран: Учебн.пособие. М.: Высш. шк., 1986. - 112 с.

4. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3 т.- М.: Мир, 1985. - 1056 с.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2 т. - М.: Мир, 1993. - т.1 - 381 с.; т.2 - 414 с.
6. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов. - М.: Медицина, 1985. - 432с.
7. Николс Д.Дж. Биоэнергетика. Введение в хемио-осмотическую теорию. – М.: Мир, 1985. - 190 с.
8. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. - М.: Мир, 1977. - 407 с.
9. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. - М.: Просвещение, 1987. - 815 с.
- 10.Парк Д. Биохимия чужеродных соединений. - М.: Медицина, 1973. - 288 с.
- 11.Розен В.Б. Основы эндокринологии. - М.: Высш. шк., 1984. - 336 с.
- 12.Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. – М.: Наука, 1989. – 564с.
- 13.Тюкавкина Н. А., Бауков Ю. И. Биоорганическая химия. – М.: Медицина, 1985. – 480с.
- 14.Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. - М.: Мир, 1986. - 374 с.
- 15.Хухо Ф. Нейрохимия: основы и принципы.- М.: Мир, 1990. - 384 с.
- 16.Черних В. П., Зіменковський Б. С., Грищенко І. С. Органічна хімія: у 3 кн. – Харків: Основа, 1997. – Кн. 1. – 145 с.; Кн. 2. – 480 с.; Кн. 3. – 256 с.
- 17.Руководство к лабораторным занятиям по биоорганической химии. / Под ред. Н.А.Тюкавкиной. – М.: Медицина, 1985. – 256 с.
- 18.Halkerston I.D.K. Biochemistry: 2nd edition. The National medical series for independent study. - 1988. - 522 p.

19. Murray R.K, Granner D.K., Mayes P.A., Rodwell V.W. . Harper`s Illustrated Biochemistry., LANGE medical books, 26-edition, India, 2006.- 868 p.
20. Stryer L. Biochemistry. - W.H.Freeman and Company. New York. - 1995. - 1064 p.

Рассмотрено и утверждено на заседании цикловой методической комиссии химических дисциплин Запорожского государственного медицинского университета (протокол № _____ от _____ 2015 года)

Копирование и тиражирование только по письменному согласию ЗГМУ