

Биоэнергетика бактериальной клетки

Профессор Бойченко М.Н.



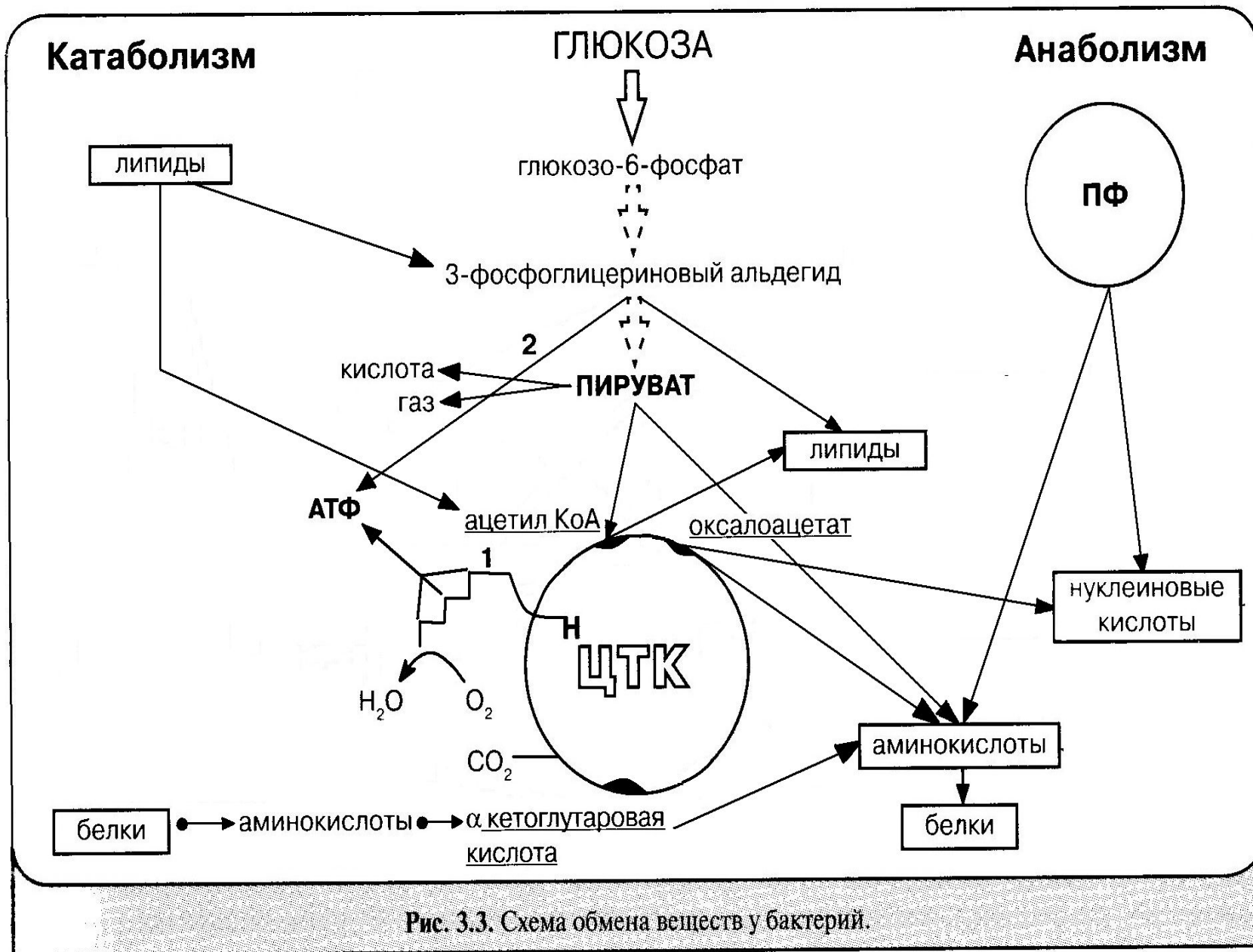


Рис. 3.3. Схема обмена веществ у бактерий.

Утилизация углеводов

- 1. Расщепление экзоферментами до моно и дисахаров (гексоз), которые проникают в клетку активным транспортом или через фосфотрансферную систему
- 2. Расщепление гексоз пополам. Перевод продуктов расщепления в **пировиноградную кислоту**

СНЗ – СО-СООН

- ▣ **Пировиноградная кислота является исходным соединением в процессах биосинтеза и распада**

Пути расщепления глюкозы

- 1. ФДФ (фруктозо 1,6-дифосфатный путь: Эбдена Мейергофа-Парнаса)
- 2. Пентозный цикл (окислительный ментозофосфатный путь: Варбурга-Дикенса-Хорегера)
- 3. Этнера-Дудорова (2 кето, 3 дезокси-6-фосфоглюконовая кислота) (КДФГ-путь)

Глюкоза-6-фосфат

- Глюкоза вначале фосфорилируется в положение 6
- **Глюкоза-6-фосфат** – метаболически активная форма глюкозы-исходное соединение для всех 3 путей ее распада

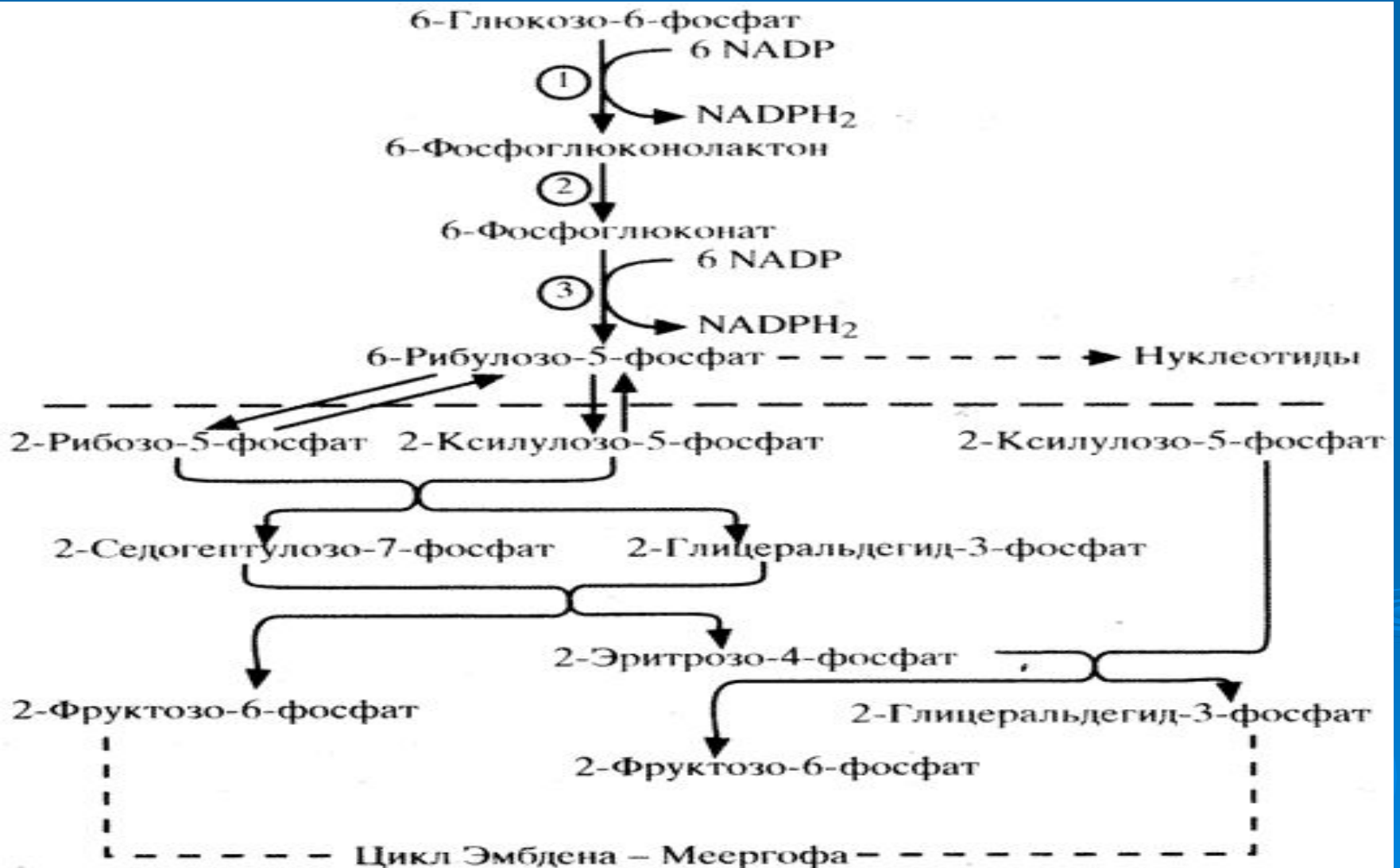
ФДФ-путь



ФДФ-путь

- Все реакции обратимы за исключением **ФОСФОФРУКТОКИНАЗЫ, ГЕКСОКИНАЗЫ и ПИРУВАТКИНАЗЫ**
- **Баланс: 2 пирувата**
- **2 АТФ**
- **2 НАДН**

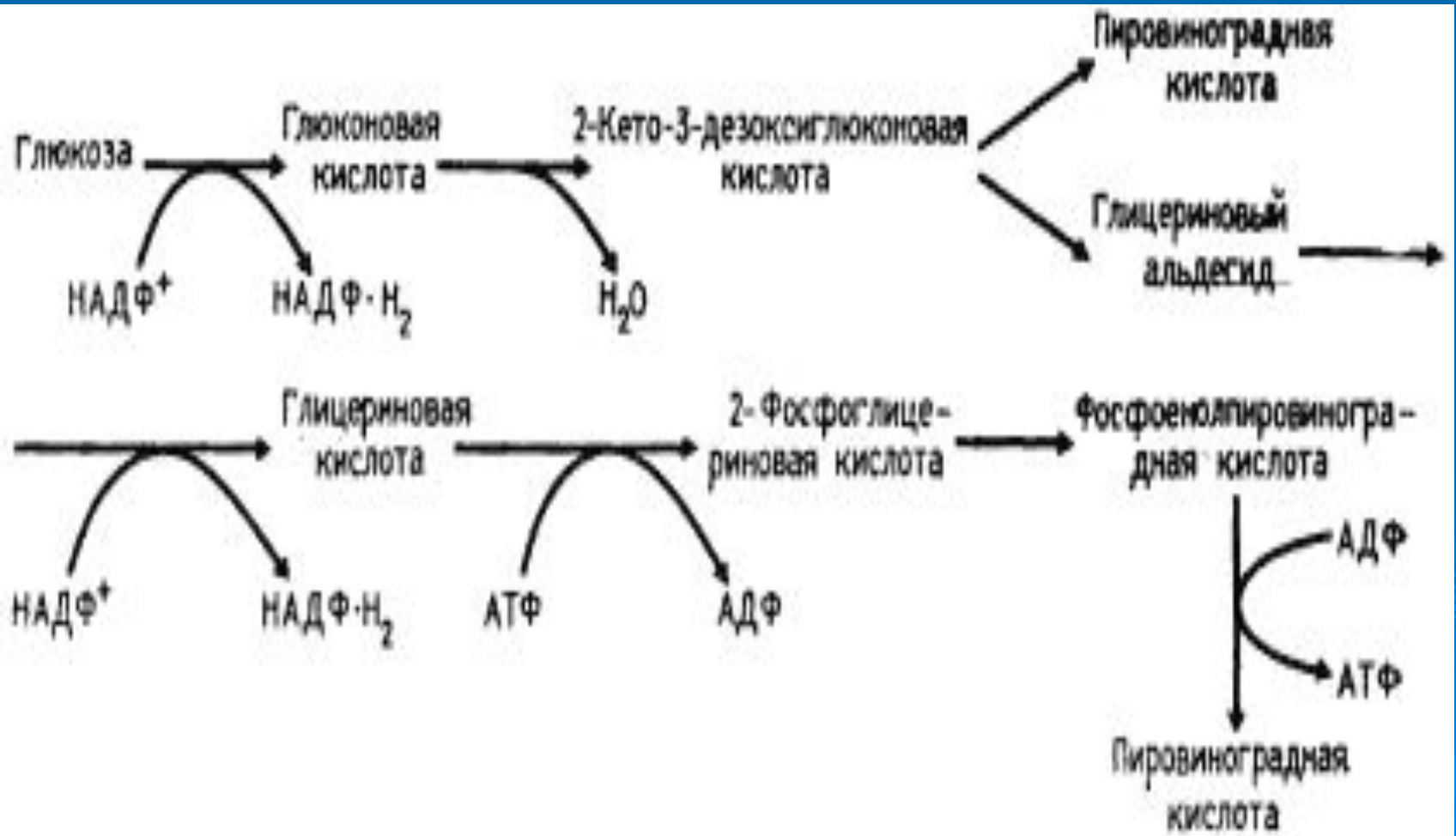
Пентозный цикл



Пентозный цикл

- Итог: подготовка исходных веществ для биосинтетических процессов.)
пентозофосфаты= предшественники нуклеотидов)
- 1 CO₂
- 2 НАДФ Н

КДФГ



КДФГ путь

Путь Энтнера-Дудорова

- Модификация ПФП расщепления глюкозы:
дегидратаза
- 6-фосфоглюконовая кислота → 2-кето-3-дезоксифосфоглюконовая кислота + H₂O
лиаза

2-кето-3-дезоксиглюконовая к-та → ПВК + 3-ФГА

3-ФГА → гликолиз

ПВК → ацетил-КоА

Результат пути: 1 молекула АТФ (2-1); НАДН и НАДФН

Бактерии: широкий круг, грам(-), факультативные
аэробы: р. Azotobacter, Pseudomonas, Alcaligenes,
Rhizobium, Spirillum, Xantomonas, Thiobacillus

КДФГ-путь

- Принципиальное значение имеет при использовании глюконовой кислоты в качестве источника С и энергии.
Баланс: 1 НАДФ Н
- 1 НАД Н
- 1 АТФ
- 2 пирувата
- Используется псевдомонадами

Получение АТФ

- АТФ-универсальный переносчик химической энергии между реакциями дающими и использующими энергию
- Энергией богаты пиросфотные связи между фосфатными группами АТФ

Получение АТФ

- Регенерация АТФ осуществляется за счет 3 процессов:
- 1. Фосфорилирование на уровне субстрата (при окислении триозофосфата)
- 2. Окислительное фосфорилирование в дыхательной цепи
- 3. Фотофосфорилирование

Окислительное фосфорилирование

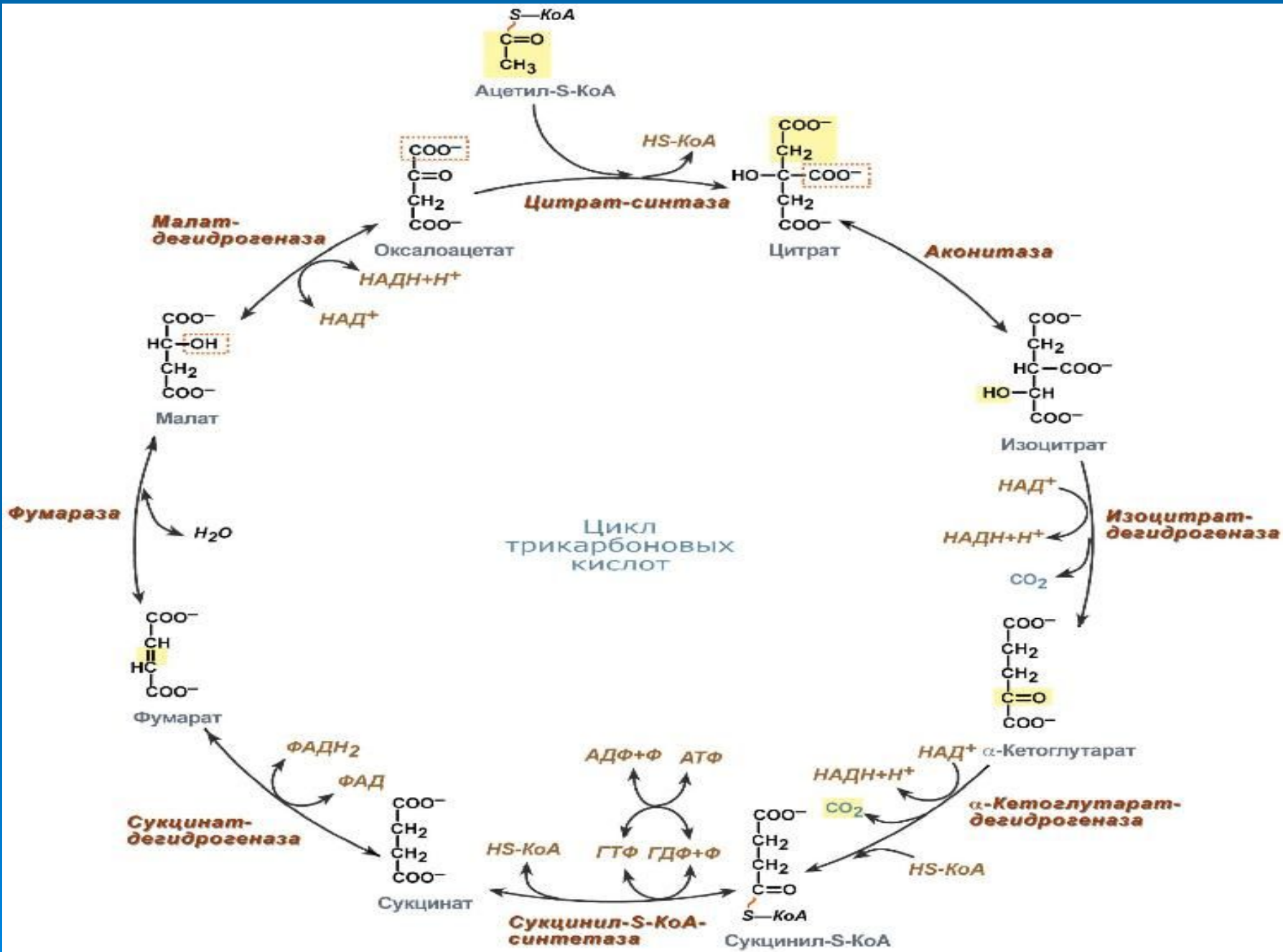
- При окислительном фосфорилировании происходит одновременный перенос 2 электронов, при этом от субстрата отщепляются 2 протона (H^+), т.е. происходит дегидрирование
- Термины донор протонов (H^+) и донор электронов употребляются как синонимы

Процесс дегидрирования

- H^+ переносится дегидрогеназами на коферменты НАД и НАДФ
- НАД участвует в процессах дыхания и брожения
- НАДФ участвует в восстановительных этапах биосинтетических процессов

Распад гексоз

- Ключевым веществом распада гексоз является пируват
- Пируват при участии ко-факторов и дегидрогеназы превращается в активированную форму АЦЕТИЛ Ко А
- Ацетил Ко А связывается с ЩУК и постепенно окисляется в ЦТК до CO_2 с отщеплением H^+



Распад гексоз (ЦТК)

- Атомы H^+ при помощи **изоцитрат, альфа-кетоклюторат и малат-дегидрогеназ** поступают в АТФ-генерирующую систему дыхательной цепи, в которой окисление сопряжено с синтезом АТФ
- Итог: окисление пирувата в ЦТК дает: **2 молекулы CO_2 и 8 (H^+)**

ЦТК

- ЦТК выполняет не только функцию, связанную с получением энергии, но и предоставляет исходные соединения для синтеза структурных компонентов клетки
- **Предшественники:**
 - альфакетоглютаровая кислота
 - Щавелевоуксусная кислота
 - Янтарная кислота

Анаплерические реакции

- Восполнение потери промежуточных продуктов происходит при помощи АНАПЛЕРИЧЕСКИХ реакций, одной из функций которых, является регенерация ЩАВЕЛЕУКСУСНОЙ (ОКСАЛОАЦЕТАТА) кислоты

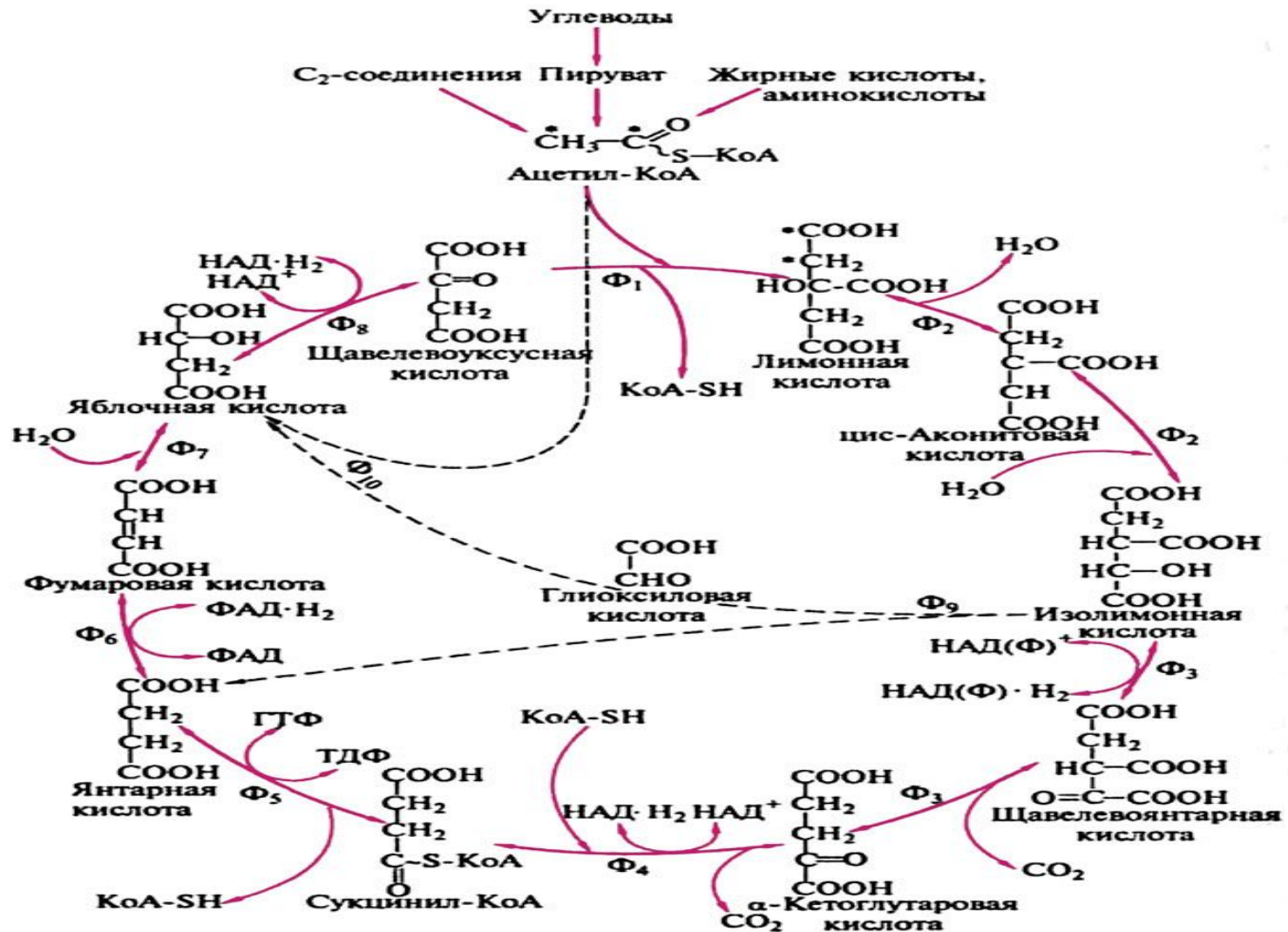
Анаплерические реакции

- При росте на среде с глюкозой, она используется для синтеза всех компонентов клетки. В этом случае анаплерические реакции служат для бесперебойной работы ЦТК
- При росте на средах с ацетатом, Глиоксилатом, пируватом анаплерические пути требуются
 - 1. бесперебойной работе ЦТК
 - 2. образования промежуточных продуктов синтеза сахаров

Цикл Кребса -Корнберга

- Рост на среде с АЦЕТАТОМ возможен благодаря глиоксилатному циклу или циклу Кребса-Корнберга.
- Он основан на действии 2 ферментов:
- 1. ИЗОЦИТРАТ-ЛИАЗА расщепляет изоцитрат на янтарную и глиоксиловую кислоты
- 2. МАЛАТ-СИНТЕТАЗА присоединяет глиоксиловую кислоту к Ацетил-Ко А с образованием яблочной кислоты (малата)

Цикл Кребса-Корнберга



Цикл Кребса-Корнберга



Цикл дикарбоновых кислот

- Когда рост бактерий протекает на среде с глиоксилатом, его окисление происходит по **циклу дикарбоновых кислот**. Он превращается в глицериновую кислоту, которая превращается в 3 фосфоглицериновую кислоту и фосфоенолпируват

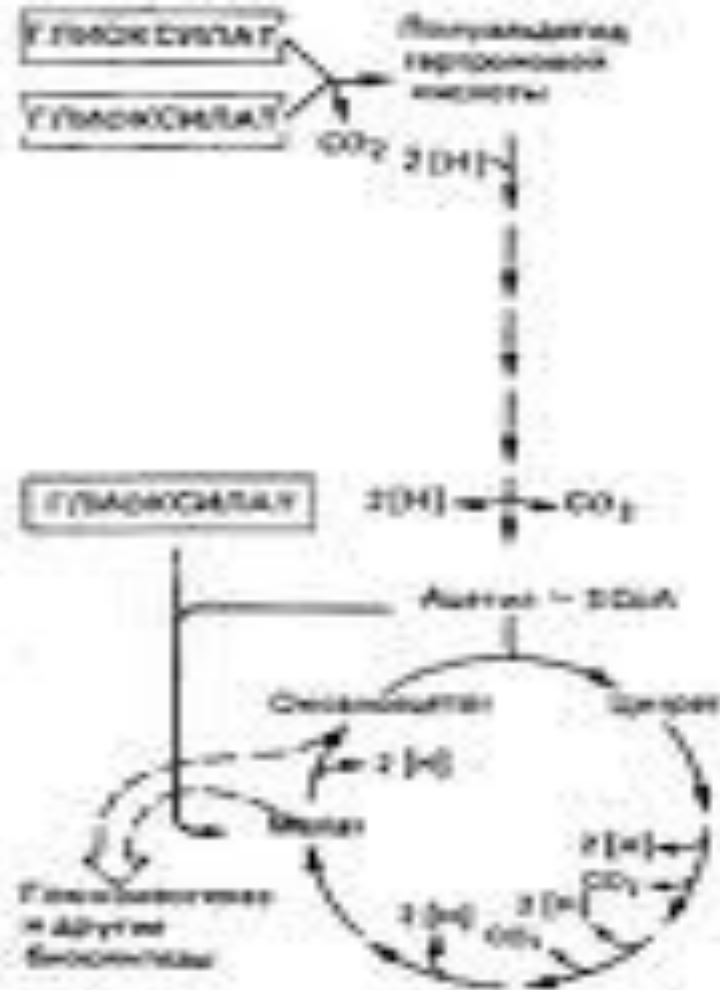
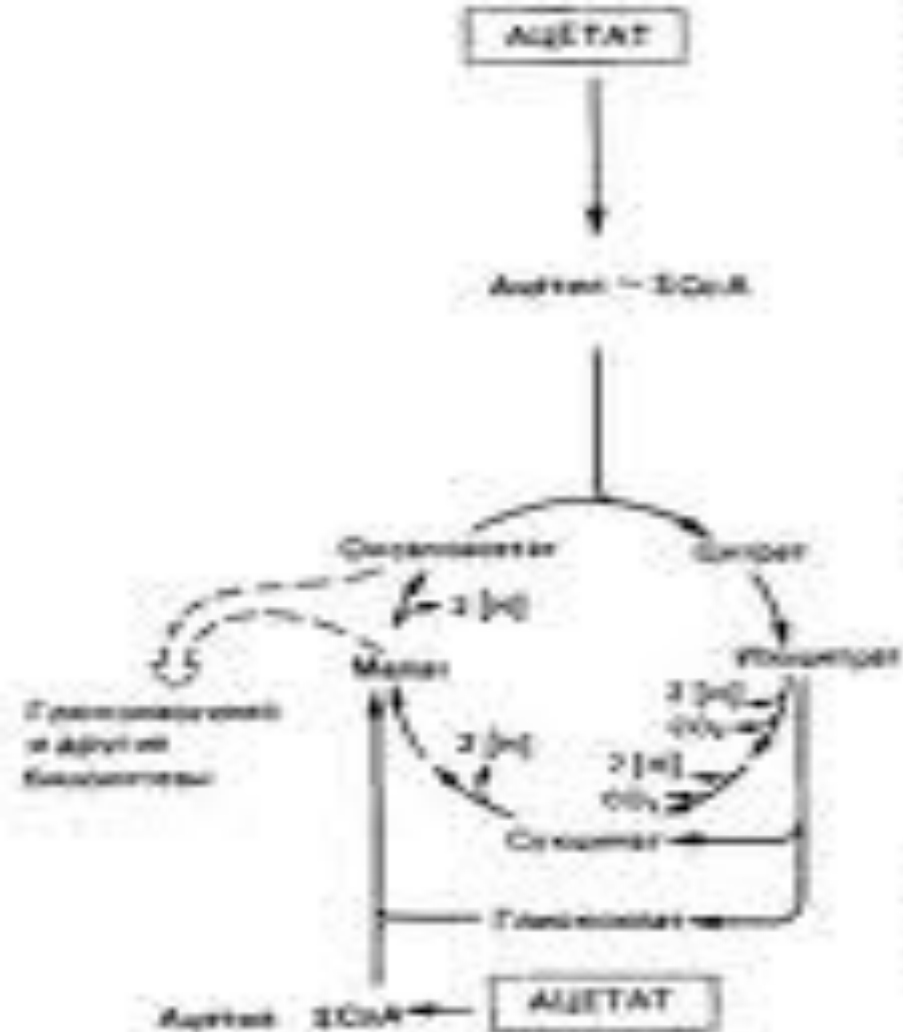


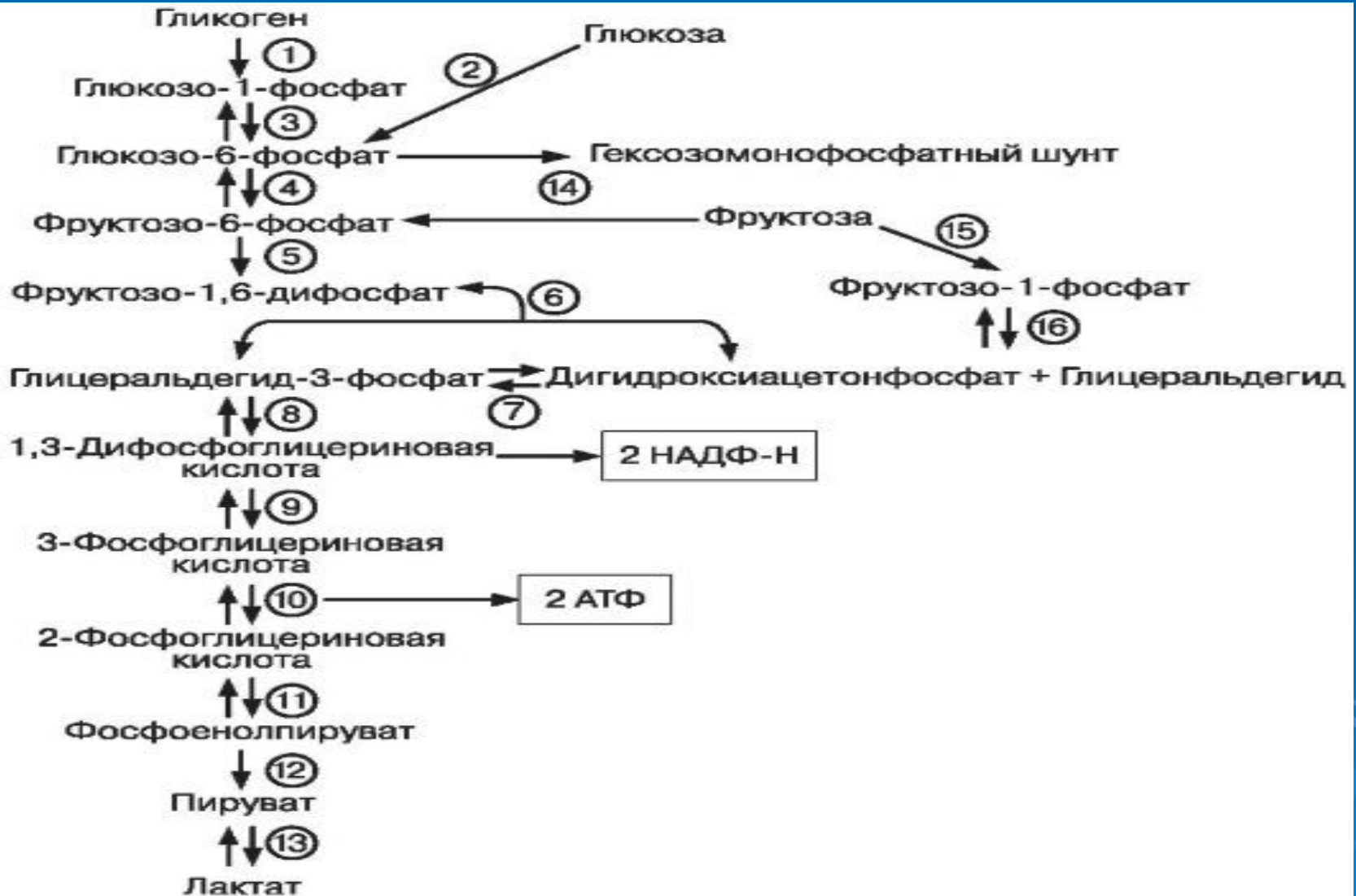
Рис. 7.14. Метаболические пути, обеспечивающие клетку энергией и углеродными компонентами во время роста на среде с ацетатом. Путь расщепления (цикл трикарбоновых кислот) показан черными, а анаэроботический путь (глиоксидный шунт) — красными стрелками. (H. L. Kottberg.)

Рис. 7.15. Метаболические пути, обеспечивающие клетку энергией и углеродными компонентами при росте на среде с глиоксидатом, глиоксиалатом или молочной кислотой. Глиоксиалат по D-глиоксиалатному пути превращается в ацетил-CoA и окисляется в цикле трикарбоновых кислот (черные стрелки). Анаэроботический путь показан красными стрелками. (L. N. Ornston, M. K. Ornston.)

Брожение

- В анаэробных условиях при сбраживании углеводов используется энергия, полученная в результате превращения триозофосфата в пируват. В этом случае баланс разложения глюкозы: 2АТФ 2 НАДН 2пирувата

ФДФ-путь



Брожение

- При брожении отщепившийся от триозофосфата (H^+) переносится на НАД
- Одновременно происходит фосфорилирование на уровне субстрата с образованием АТФ
- (H^+) не может выделиться в молекулярной форме, он передается на органические акцепторы, которыми являются предшественники пирувата

Реакция Стикленда

- Сопряженное сбраживание 2 аминокислот-реакция Стикленда
- Пептолитические клостридии гидролизуют белки с образованием аминокислот, которые сбраживаются друг с другом

Реакция Стикленда

- Аланин сбраживается с глицином
- Аланин – днор (H^+)
- Глицин –акцептор (H^+)
- Донор дезаминируется с образованием кетокислоты
- Кетокислота окислительно декарбоксилируется в жирную
- Эти превращения сопряжены с фосфорилированием, т.е. получением энергии

Реакция Стикленда



СПИРТОВОЕ БРОЖЕНИЕ

- Спиртовым брожением называется процесс расщепления сахара микроорганизмами с образованием **этилового спирта** и **углекислого газа**.



Возбудителями спиртового брожения являются **дрожжи сахаромицеты**, некоторые **мицеальные грибы**.

Молочнокислое брожение

- Молочнокислое брожение- это анаэробное превращение сахара молочнокислыми бактериями с образованием **молочной кислоты.**

По характеру брожения различают 2 группы молочнокислых бактерий:
гомоферментативные и гетероферментативные.

Молочнокислое брожение

- Процесс превращения глюкозы до пировиноградной кислоты у **гомоферментативных** молочнокислых бактерий протекает Г-6-Ф пути. Далее ввиду отсутствия у этих бактерий пируватдекарбоксилазы, пировиноградная кислота не подвергается расщеплению, она является в этом брожении конечным акцептором водорода. Пировиноградная кислота вступает во взаимодействие с восстановленным НАД Н₂ (кофермент) - образуется молочная кислота. -..



Гетероферментативное молочнокислое брожение

- Отсутствие фермента адьдолазы меняет начальный путь превращения глюкозы. После фосфорилирования гексоза окисляется (отщепляется водород) и декарбоксилируется, превращаясь в пентозофосфат. Пентозофосфат при участии фермента фосфокеталазы расщепляется на фосфоглицериновый альдегид. Фосфоглицериновый альдегид превращается в пировиноградную кислоту, которая восстанавливается в молочную.

**Гексоза ----пентофасфат----
фосфоглицериновый альдегид----пируват---
молочная кислота**

Маслянокислое брожение

- Маслянокислое брожение - это процесс превращения сахара маслянокислыми бактериями в анаэробных условиях с образованием масляной кислоты, углекислого газа и водорода. .



Кроме основных продуктов брожения получают и побочные продукты - **бутиловый спирт, ацетон, этиловый спирт.**

Маслянокислое брожение

- Пировиноградная кислота декарбоксилируется с образованием углекислого газа и уксусного альдегида. Далее под действием фермента карболигазы уксусный альдегид конденсируется и из 2 молекул уксусного альдегида образуется - ацетальдоль



Возбудители брожения- маслянокислые бактерии относятся к роду *Clostridium*

Муравьинокислое брожение

- $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$
- HCOOH Ac CoA
- H_2 CO_2
- Происходит образование кислот и газов, которые выявляются в реакции метил-рот

Муравьинокислое брожение

- По второму варианту происходит конденсация 2 молекул пирувата с последующими двумя декарбоксилированием с образованием ацетоина, который выявляется в реакции Фогес-Проскауэра

Регуляция углеводного обмена

Эффект Пастера

- Торможение брожения дыханием
- Связан с конкуренцией между системами дыхания и брожения за АДФ, что сводится к регуляции фосфофруктокиназы.
- АТФ-ИНГИБИТОР фосфофруктокиназы
- АДФ- положительный эффектор

Регуляция углеводного обмена

Эффект Пастера

- Эффект Пастера обеспечивает экономию для клетки углеводов, так как дыхание энергетически более выгодно, чем брожение



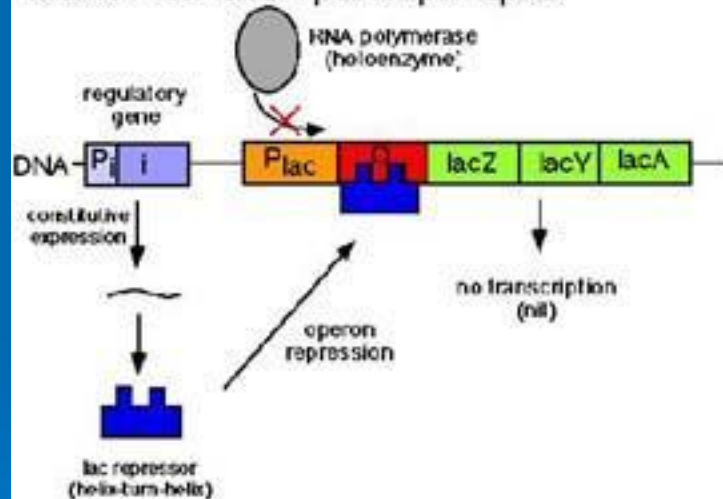
Катаболическая репрессия

- Приспособление клетки к использованию в первую очередь наиболее легко усвояемых источников энергии
- При присутствии в среде одновременно глюкозы и лактозы, сначала используется глюкоза, так как она препятствует синтезу ферментов лактозного оперона, обеспечивающих утилизацию лактозы, уменьшая количества ц-АМФ

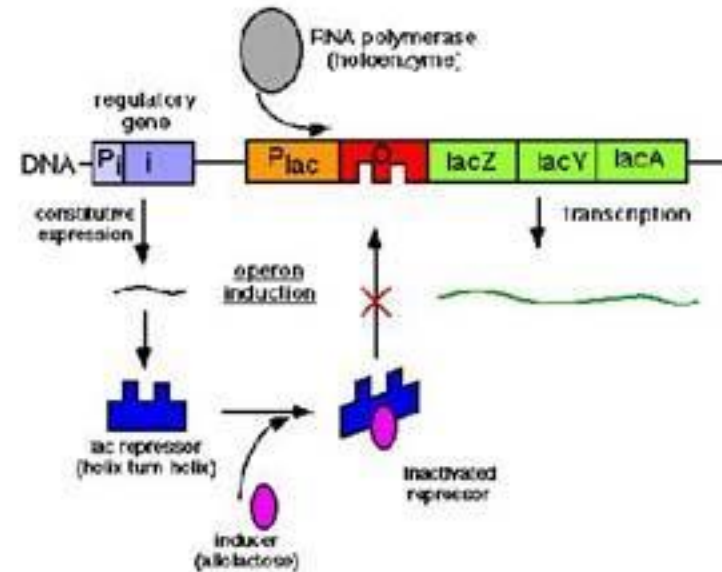
Регуляция активности генов: *lac*-оперон бактерии *E. coli*

гены метаболизма лактозы работают, когда лактоза есть в клетке

В отсутствии лактозы белок-репрессор связывается с оператором. РНК-полимераза не может начать транскрипцию

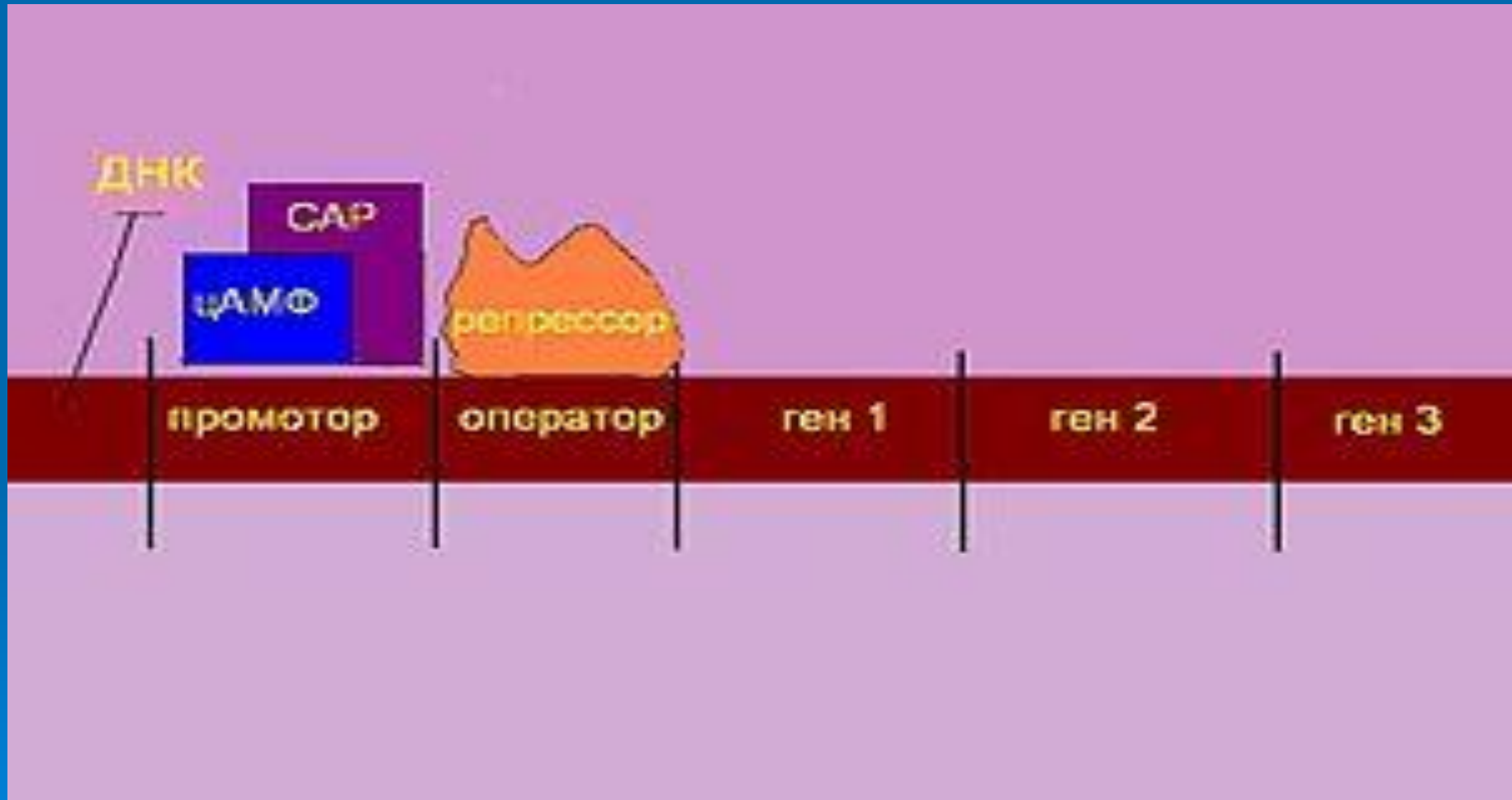


Лактоза инактивирует белок-репрессор и он теряет сродство к оперону. Транскрипция возможна.



Оперон - группа генов, транскрибируемых с одного промотора.

Функционирование лактозного оперона



Катаболическая репрессия

- К.Р. Связана с фосфотрансферной системой
- ФТС обеспечивает накопление в клетке глюкозы, маннозы, манитола в виде фосфорных эфиров (гл.-1-ф)
- В процессе транспорта этих углеводов, ФТС переносит на их молекулы фосфорильные группы от ФЕП с участием специфических ферментов и белков -переносчиков

ФТС

- Богатая энергией фосфатная группа передается от ФЕП на белок-переносчик $H - Pr$, превращая его в
- $P \sim HPr$, донора фосфатных групп, для всех сахаров, проникающих в клетку через ФТС
- Фосфорилирование каждого сахара осуществляется специфическим для него ферментом E II

ФТС

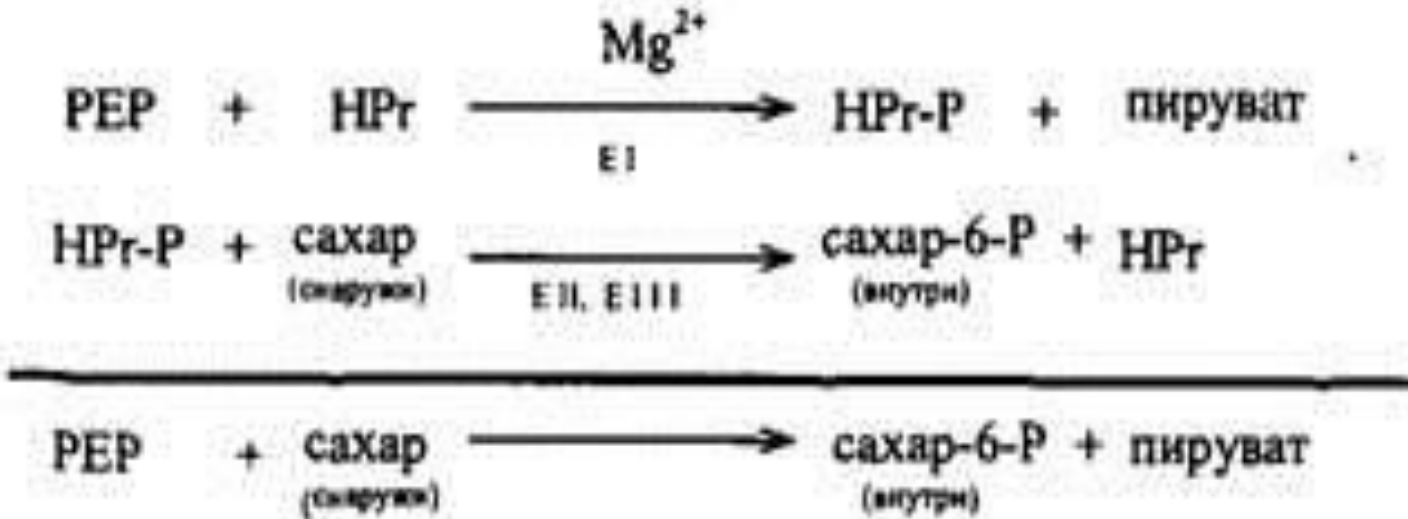


Рис. 38. Последовательность реакций векторного фосфорилирования в фосфотрансферазной системе:

PEP — фосфоенопируват; E I — фермент 1 (кодируется геном *pts1*); HPr — низкомолекулярный полипептид (кодируется геном *ptsH*) оперона *pts* *Escherichia coli*; E II — фермент 2, является сахароспецифичным «узнающим» компонентом, интегральным мембранным белком, осуществляющим транслокацию сахара через мембрану, сопровождающуюся фосфорилированием с помощью периферического белка E III, также специфичного к сахарам

Катаболическая репрессия

- При низкой концентрации глюкозы в среде происходит накопление ФЕП, который способен активировать аденилатциклазу, повышая уровень ц-АМФ, который активирует лактозный оперон, способствуя утилизации лактозы

Катаболическая репрессия

- При высокой концентрации глюкозы в среде, ФЕП дефосфорилируется, что приводит к ингибции аденилатциклазы и падению синтеза ц-АМФ и торможению утилизации лактозы