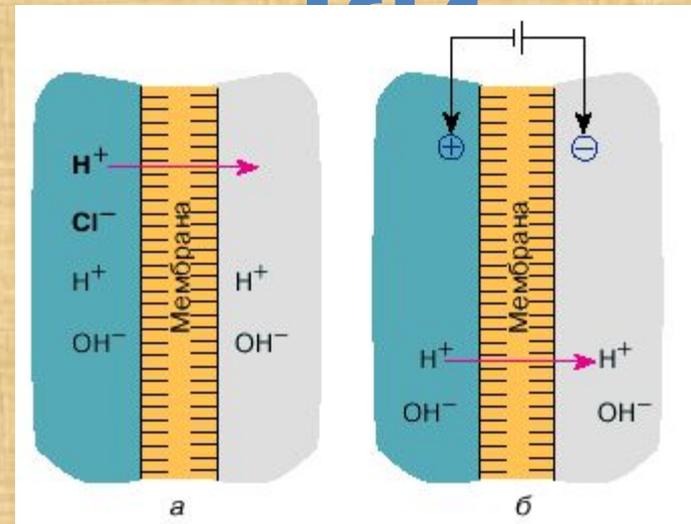


Деев Анатолий Иванович
Кафедра медицинской
биофизики
adeyev@mail.ru



**Скулачёв Владимир
Петрович,
академик РАН, профессор,
директор
Института физико-
химической биологии
им. А.Белозерского**

ЗАКОНЫ БИОЭНЕРГЕТИ





Биоэнергетика – наука о преобразовании энергии в живых системах

Владимир Александрович

1931

Энгельгардт 1939

Окислительное
фосфорилирование
(синтез АТФ)

Миозин – это
механофермент
(гидролиз АТФ)

**Энергия окисления →
Энергия гидролиза АТФ**

**Энергия АТФ →
Механическая работа**

Митохондрии

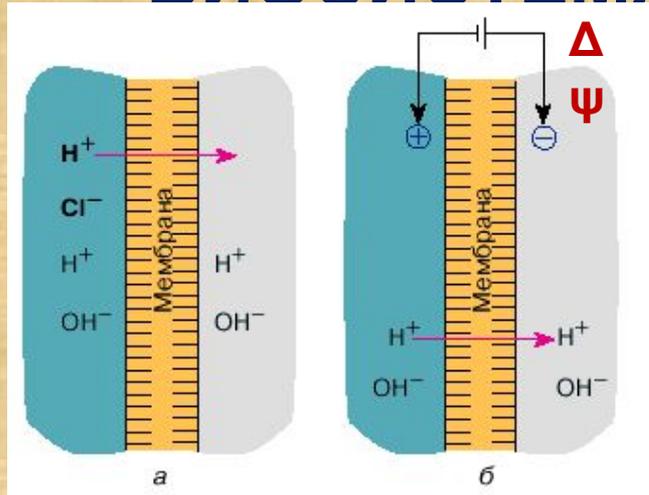
Работа мышцы

**Дыхательная
цепь**

**Ферменты как механо-
химическая машина**

**Теория
Митчела**

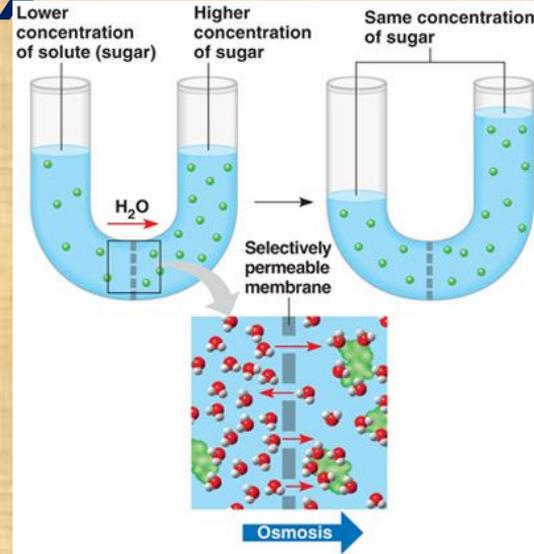
ОСНОВНЫЕ ФОРМЫ ЭНЕРГИИ В БИОСИСТЕМАХ



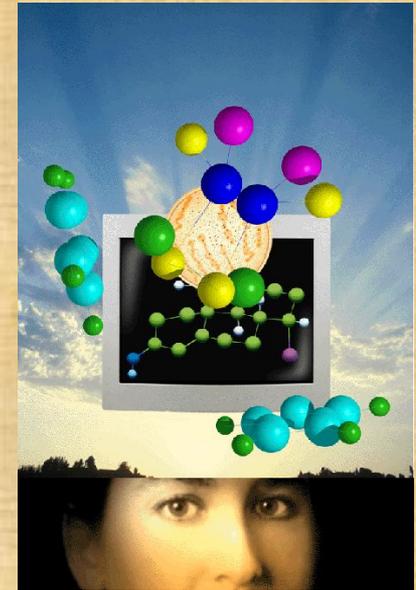
Электрическая -
преодоление сил
электрического
отталкивания при
наличии разности
потенциалов $\Delta\psi$

Изменение электрoхимического
потенциала ($\Delta\mu$):

$$\Delta\mu = \Delta\mu_0 + RT \ln(c_2/c_1) + zF(\psi_1 - \psi_2)$$



Осмотическая –
концентрирование
раствора от
концентрации c_1 до c_2



Химическая – энергия
для синтеза
1 моля вещества
(состояние 2) из
исходных веществ
(состояние 1) и
поместить его в
растворитель

$$\Delta\mu_0 = \mu_{02} - \mu_{01}$$

Как изменяется величина электрохимического потенциала при переносе иона Na^+ через мембрану внутрь клетки?

1) При переносе иона через мембрану не происходит никаких химических превращений и он оказывается примерно в том же водном окружении, что и раньше, то $\Delta\mu_0 = 0$.

2) Концентрация Na^+ внутри клетки равна 0,015 М (c_1), а снаружи (c_2) — 0,15 М, поэтому **осмотическая работа** на каждый моль перенесённого иона при 37° С равна

$$RT \ln(0,15/0,015) = 5,9 \text{ кДж/моль.}$$

3) Внутри клетки электрический потенциал $\psi_1 = -60$ мВ относительно потенциала снаружи $\psi_2 = 0$ мВ, поэтому **электрическая работа** составляет:
 $zF\Delta\psi = 9,65 \cdot 10^4 \text{ Кл/моль} \cdot 60 \cdot 10^{-3} \text{ В} = 5,8 \text{ кДж/моль.}$

Отсюда: $\Delta\mu = 0 + 5,9 + 5,8 = + 11,7 \text{ кДж/моль}$ (1)

Для гидролиза фосфатной связи в реакции:



За счёт энергии гидролиза АТФ осуществляется энергетическое сопряжение с другими реакциями, требующими затраты энергии.

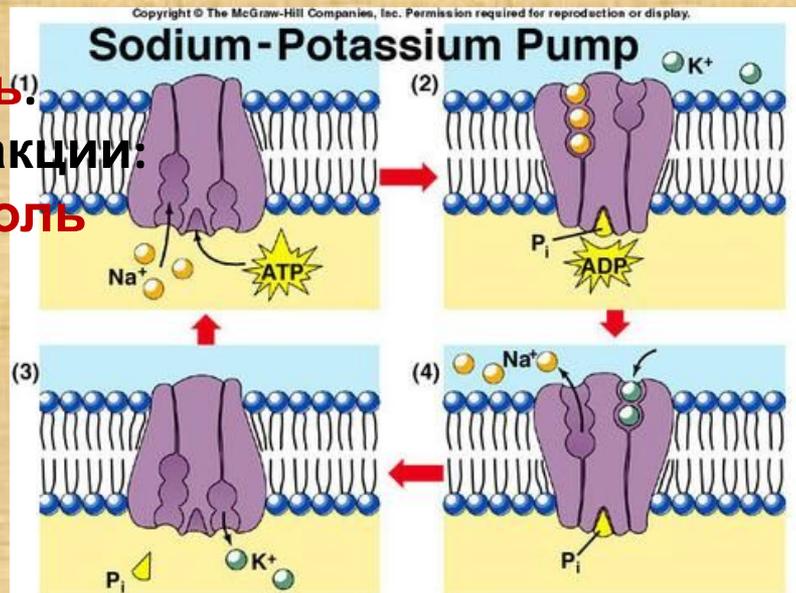
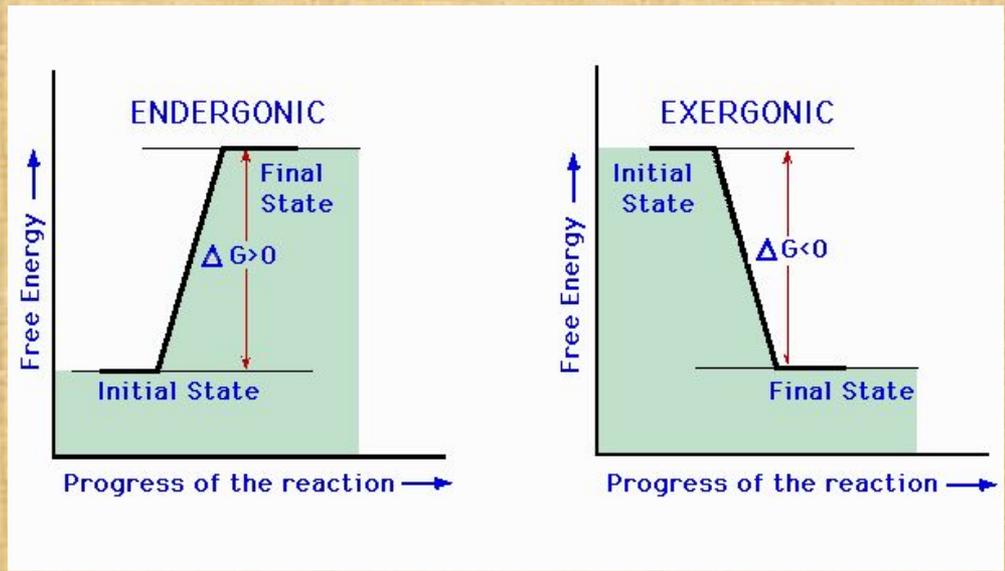
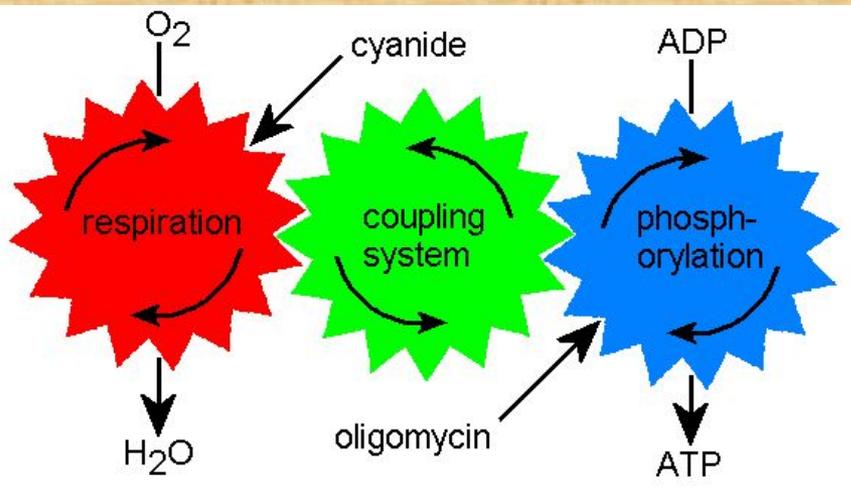
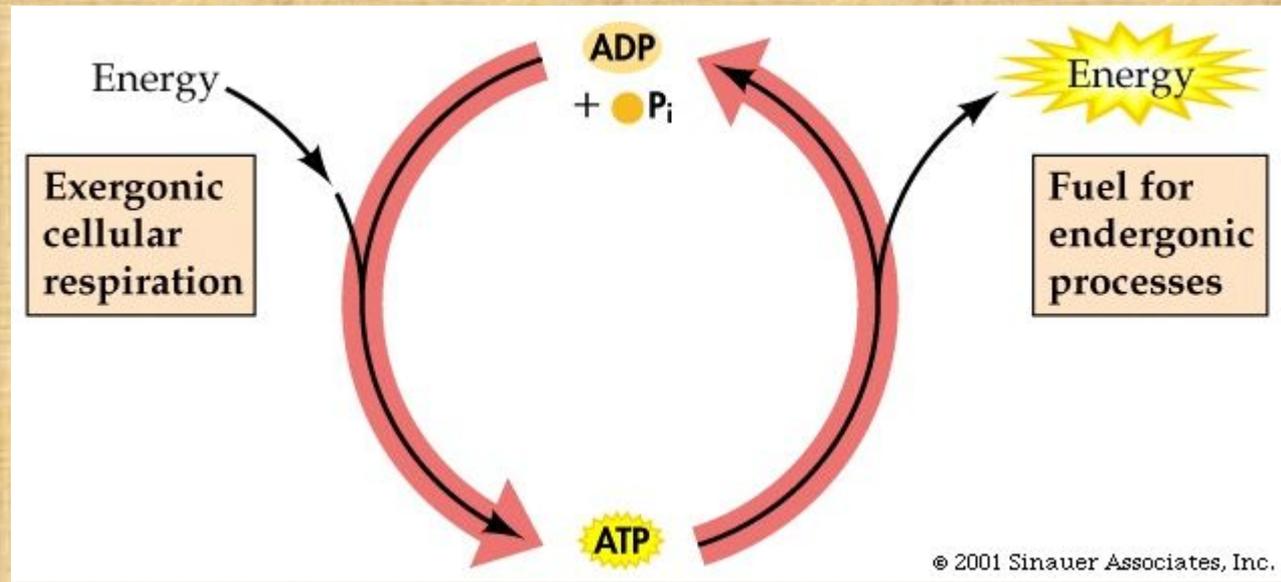
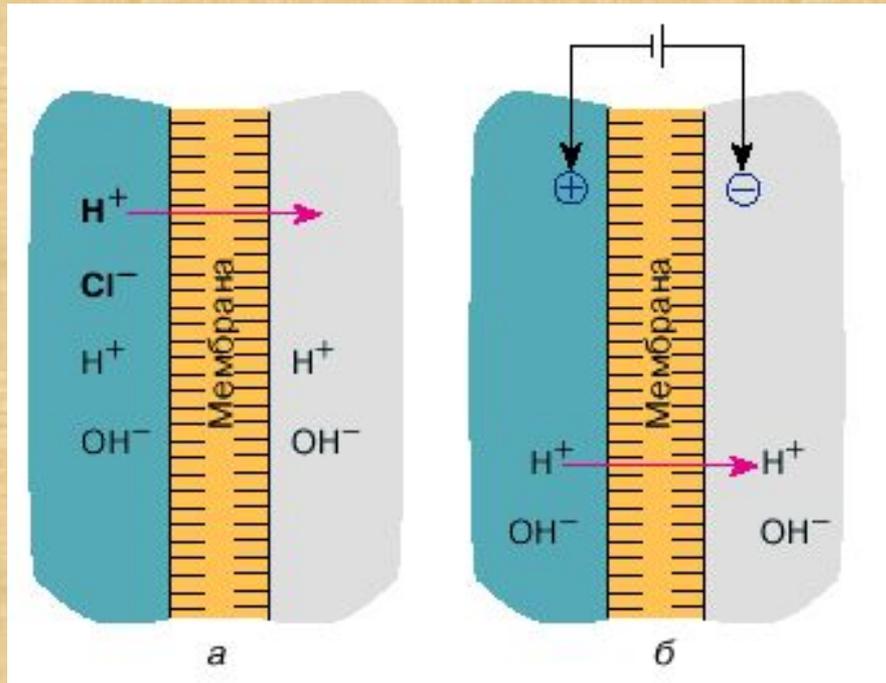


СХЕМА СОПРЯЖЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ В КЛЕТКЕ

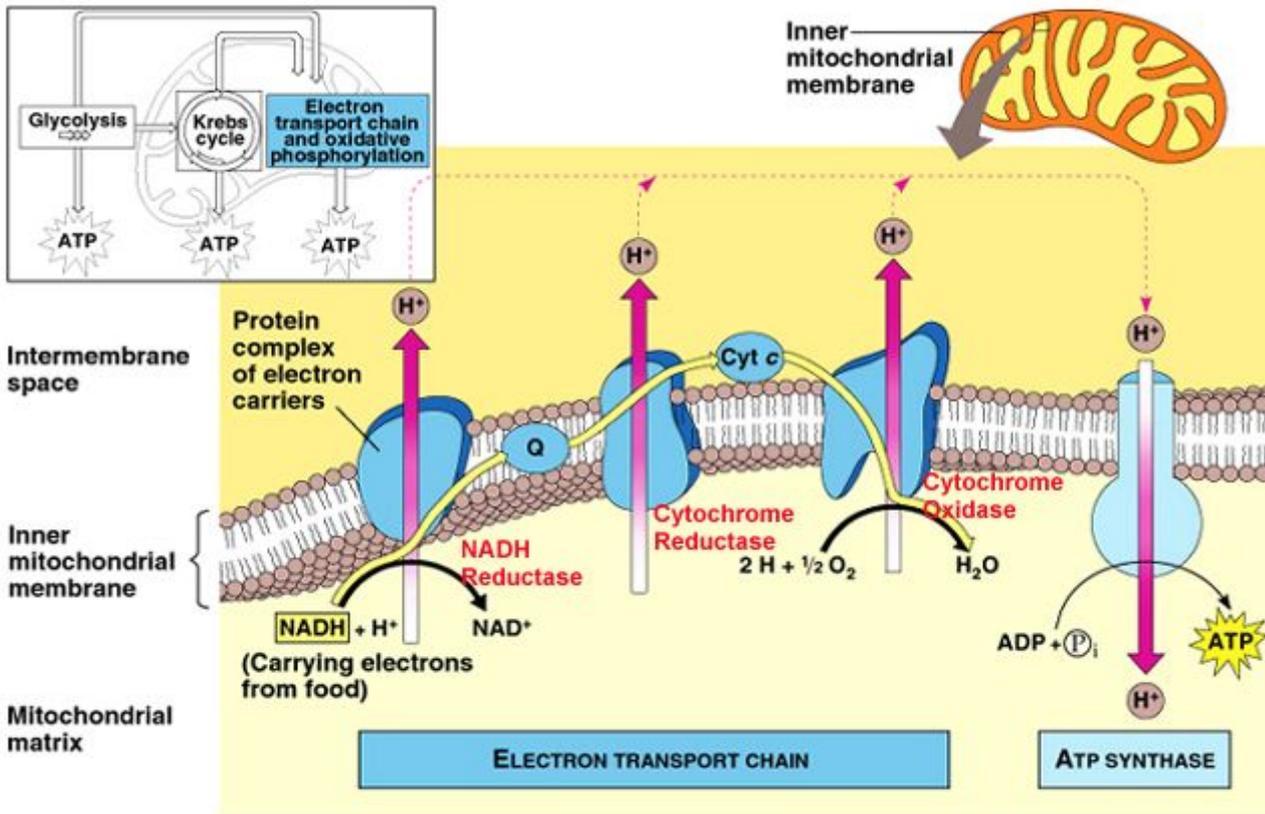


Две формы протонного потенциала: градиент кислотности (а) и электрического поля (б)

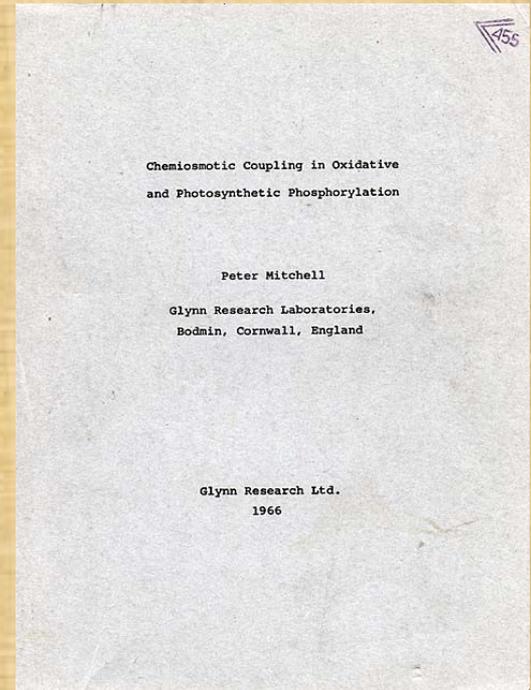
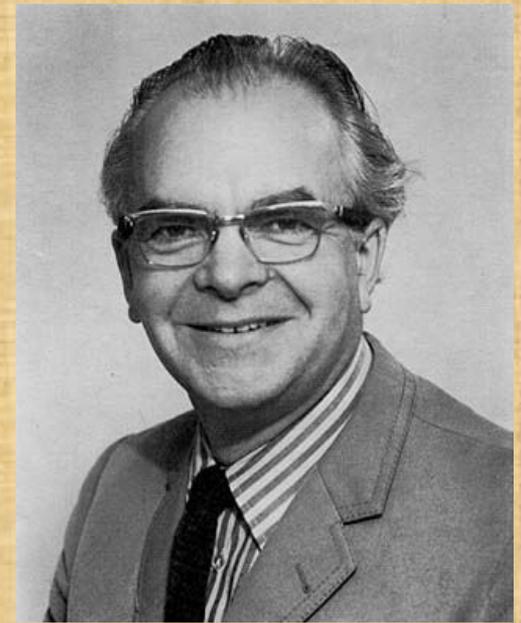


Представим себе два водных объема, разделенных мембраной. Добавим в один из них, допустим левый, кислоту (а). Эта простая операция приведет к появлению разности концентраций ионов H^+ между двумя объемами. Поскольку ионов H^+ слева оказалось больше, чем справа, они устремятся в правый отсек, если разрешить им пересечь мембрану. Протонный ток того же направления также появится, если вместо закисления левого объема опустить в оба объема электроды и подключить их к батарее, заряжающей левый объем положительно относительно правого объема (б).

В этом случае ионы H^+ пойдут слева направо под действием электрического поля.

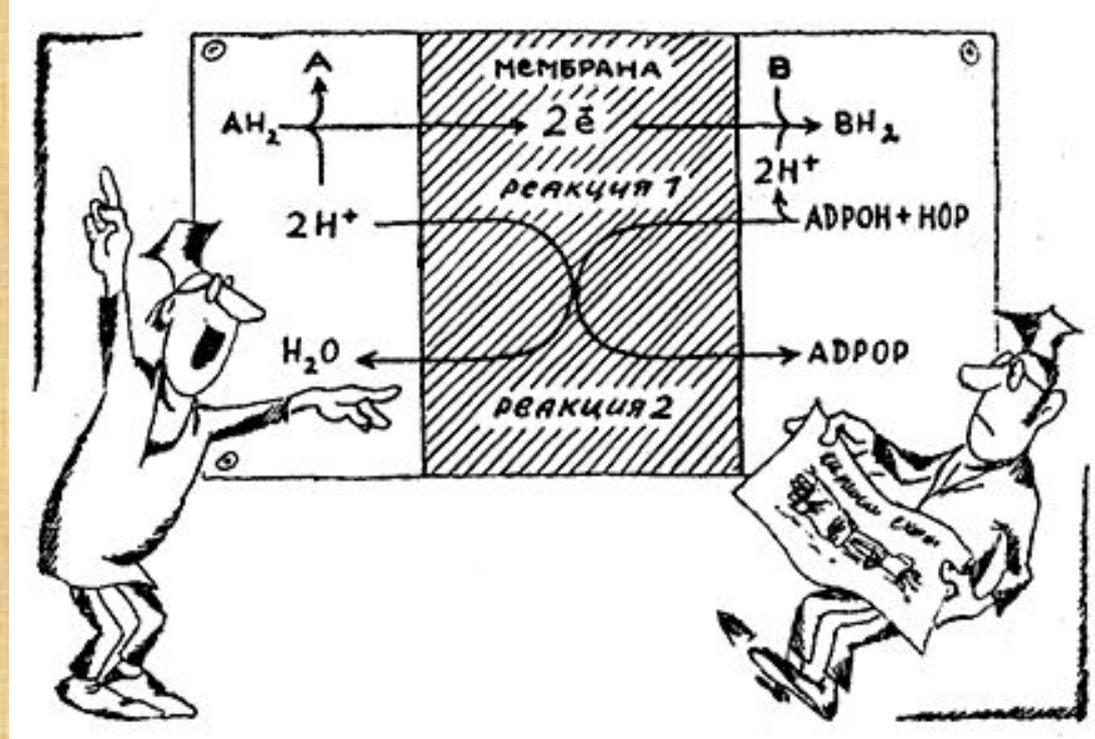


©1999 Addison Wesley Longman, Inc.



**Питер Митчелл,
лауреат Нобелевской премии (1978),
автор хемиосмотической теории**

Окисление субстрата AH_2 (реакция 1) ферментом - акцептором электронов, происходит на левой поверхности мембраны. В результате электроны присоединяются к ферменту, а протоны уходят в воду. Затем электроны переносятся ферментом на правую сторону мембраны и там восстанавливают молекулярный кислород или какой-нибудь другой акцептор водорода (в общей форме обозначен буквой В). Вещество В, присоединив электроны, связывает ионы AH_2 справа от мембраны, превращаясь в BH_2 .

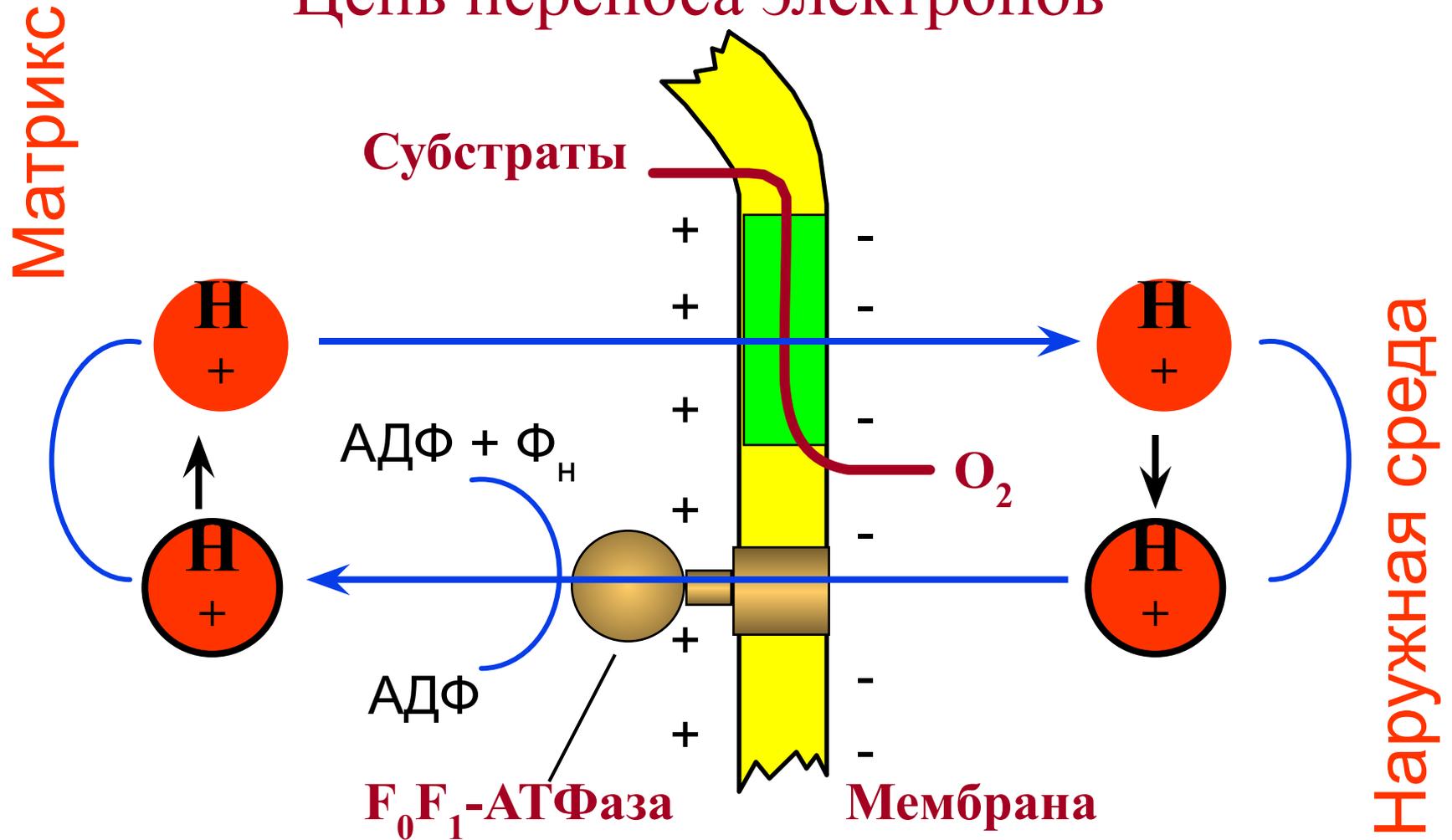


Синтез АТФ (реакция 2) происходит таким образом, что два иона H^+ отщепляются от АДФ и фосфата справа от мембраны, компенсируя потерю двух H^+ при восстановлении вещества В. Один из кислородных атомов фосфата переносится на другую сторону мембраны и, присоединив два иона H^+ из левого отсека, образует H_2O . Остаток фосфорила присоединяется к АДФ, давая АТФ.

ХЕМИОСМОТИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ

Окислительное фосфорилирование (По Митчеллу)

Цепь переноса электронов



1. **Липидный бислой** – изолятор для протонов. Его повреждение приводит к разобщению окислительного фосфорилирования.
2. Электрическая энергия **электронов** преобразуется в электрическую энергию **протонов** белковыми переносчиками дыхательной цепи.
3. **Электрическая энергия** протонов преобразуется в **химическую энергию** макроэргических связей АТФ митохондриальной АТФ-синтазой.

Владимир Петрович Скулачев

Экспериментальное
подтверждение теории
Митчелла:

1. Протонофоры разобщают окислительное фосфорилирование строго пропорционально их способности переносить протоны через липидный слой.
2. Методом флуоресцентных зондов и электрометрически показано образование электрического потенциала на мембране при энергизации митохондрий.

*(Государственная Премия СССР за
1975 г., Е.А.Либерман, В.П.
Скулачев, Л.М.Цофина)*

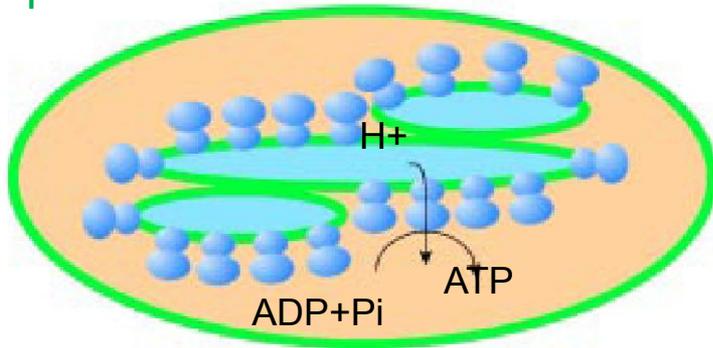


Почему при разрыве макроэргической связи выделяется большое количество энергии?

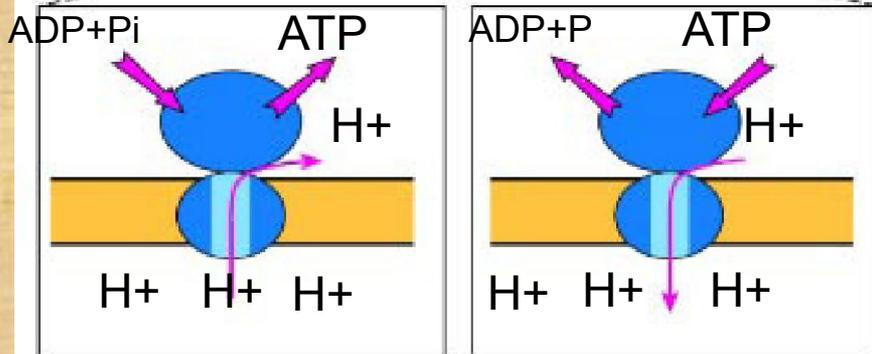
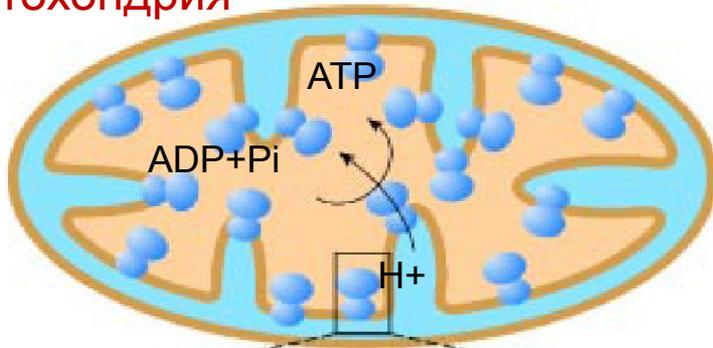
При разрыве образуется отрицательно заряженный фосфат, который гидратируется (покрывается «шубой» из молекул воды). Как вы помните, вода – это диполь и за счет гидратирования эта энергия и получается. Но если синтез АТФ идет в той среде, где воды нет, т.е. в гидрофобной среде, то макроэргической эта реакция не является.

Показано, что когда происходит образование ковалентной связи между фосфатными группами молекул АДФ и Ф, ферменту практически не требуется энергии. Реакции синтеза и гидролиза АТФ в каталитическом центре фермента активно идут при отсутствии внешнего источника энергии. Условия, в которых находятся молекулы АДФ и Ф в каталитическом центре, существенно отличаются от условий протекания реакции в водной среде, благодаря чему образование молекулы АТФ в активном центре фермента может происходить энергетически "бесплатно". Энергия "падающих" протонов тратится потом на то, чтобы «выпихнуть» вон АТФ, отцепить его от каталитической субъединицы.

хлоропласт

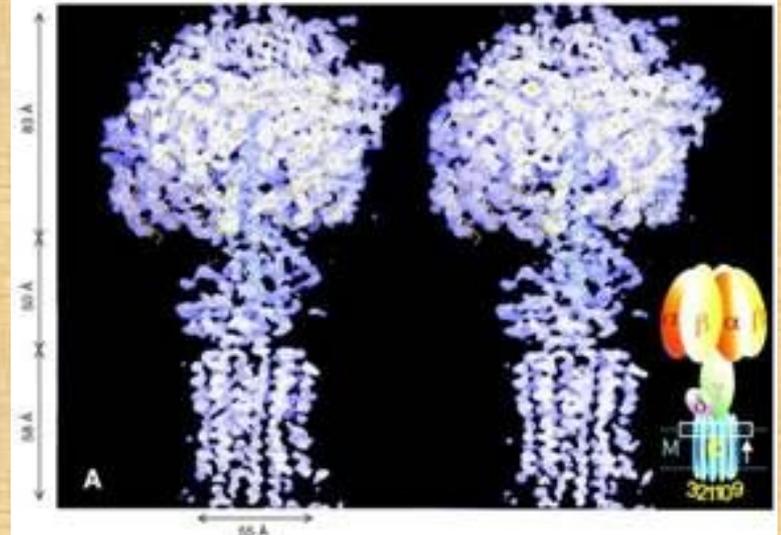


МИТОХОНДРИЯ

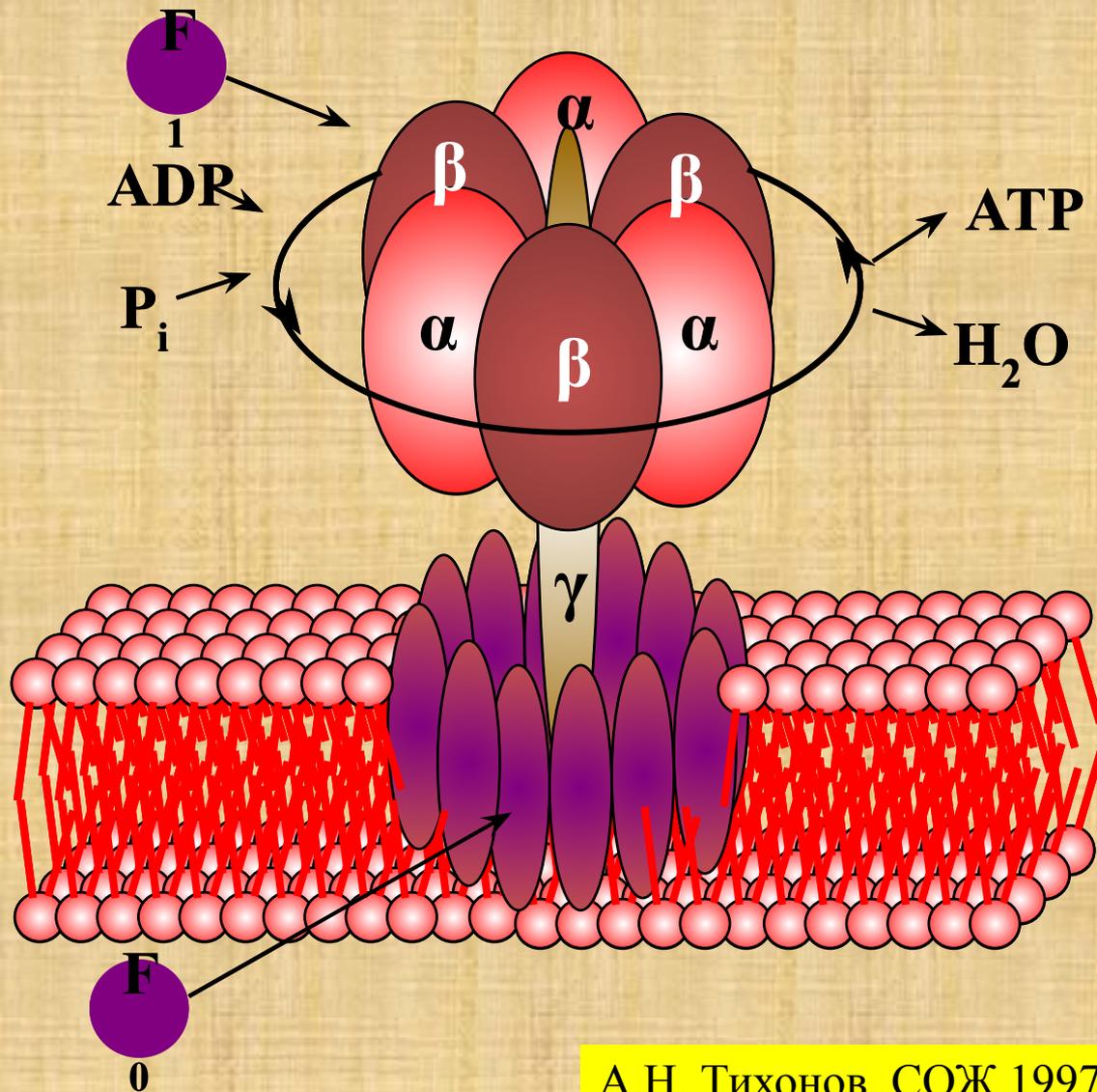


 области с высоким протонным потенциалом

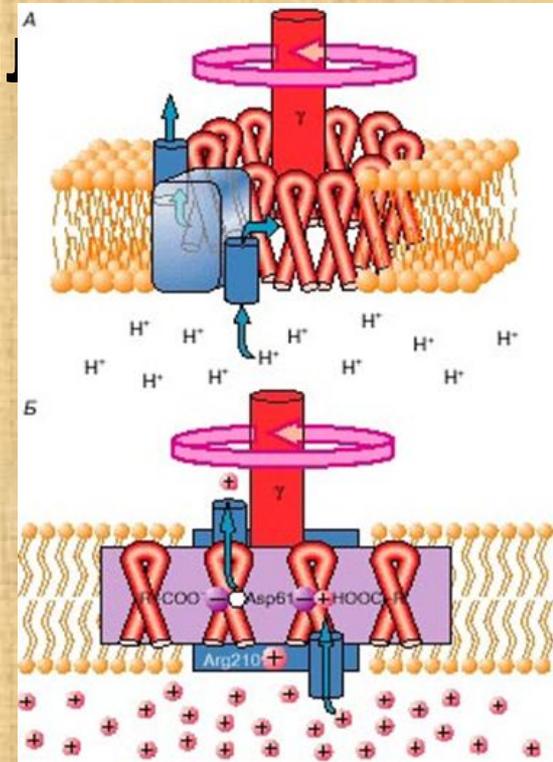
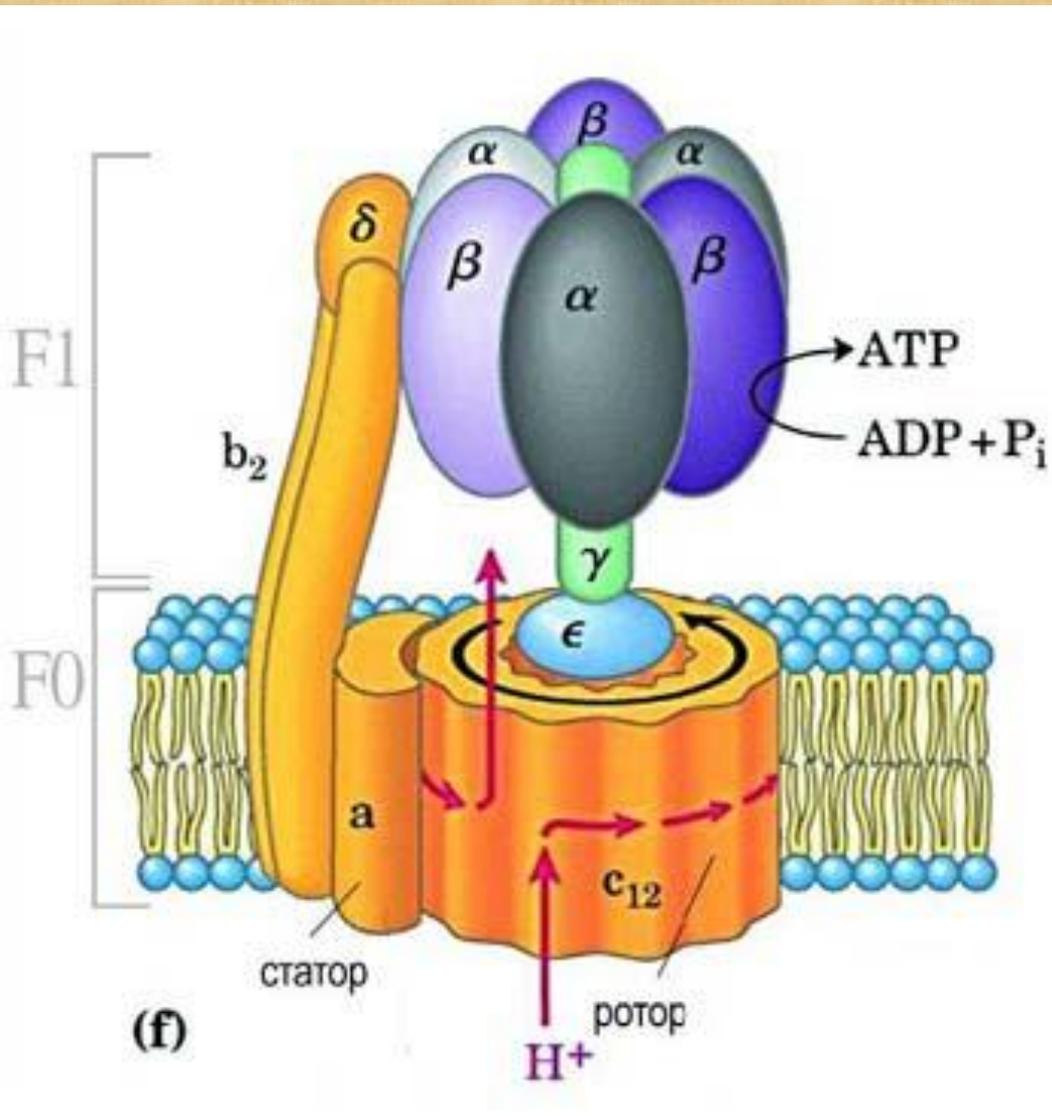
Расположение АТФ-синтазы в митохондриях и хлоропластах



Пространственное строение H^+ / АТФ синтазного комплекса

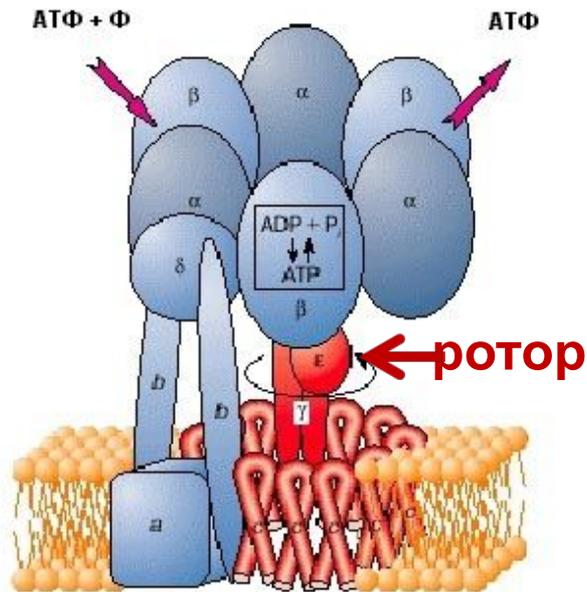


Пространственное строение H^+ / АТР-синтазного компл.

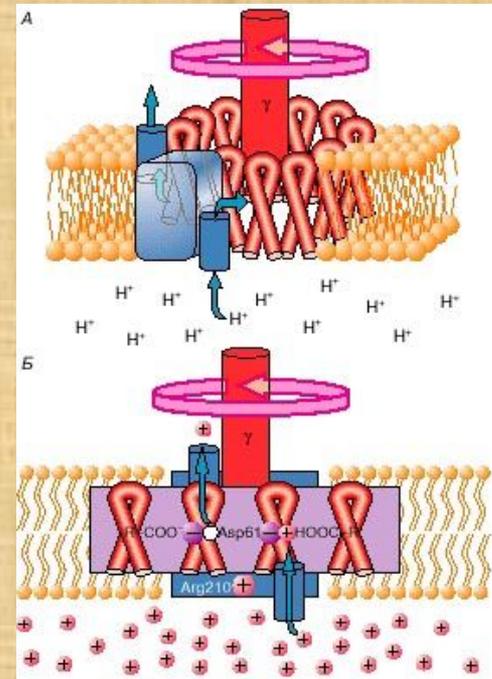
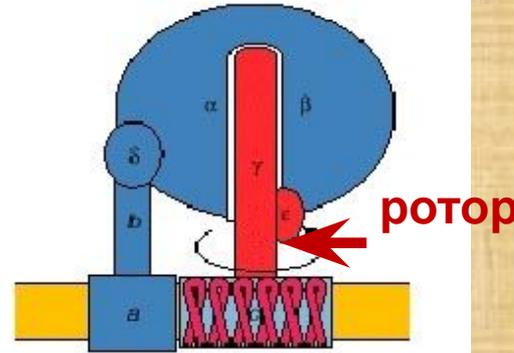


Механизм состоит из двух частей. Вращающаяся часть этого механизма (F_0) встроена в мембрану и работает под действием протондвижущей силы, которая выделяется восходящими механизмами в цепочке транспорта электронов.

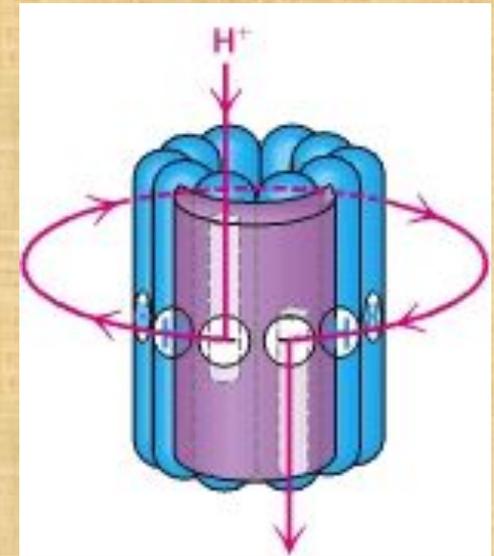
Строение АТФ-синтазы



Ансамбль α и β субъединиц имеет размер 8 нм в высоту и 10 нм в диаметре



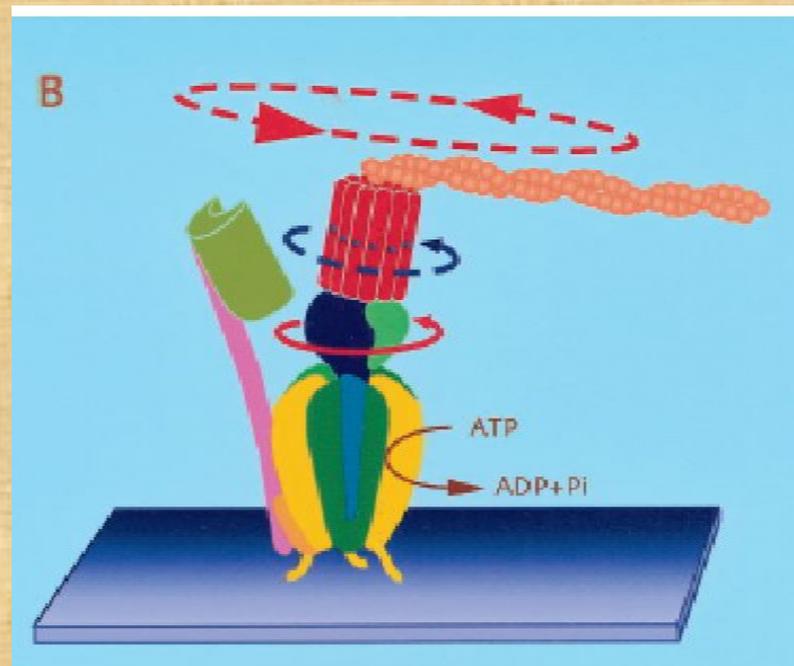
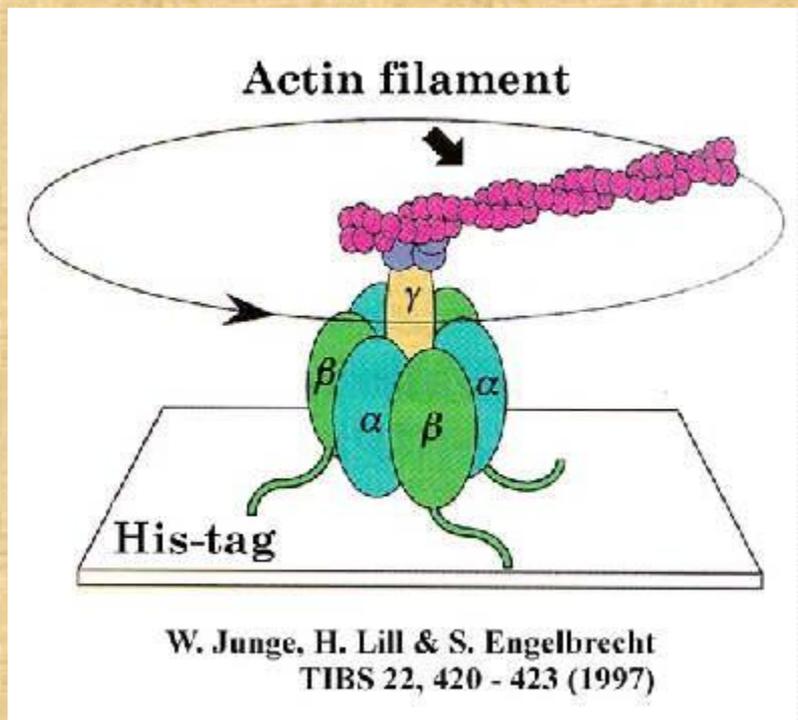
В F_0 имеется протонный канал, состоящий из из двух половинок (полу-каналов), которые, к тому же, смещены одна относительно другой. Протон входит в полуканал и протонирует аминокислоту на роторе, уменьшая её отрицательный заряд. Протонированная кислота на роторе доходит до полуканала, ведущего внутрь, и теряет протон, заряжаясь отрицательно. Заряды в роторе и статоре расположены таким образом, что протонирование – депротонирование приводит к повороту машины. Таким образом, протон в два приема проваливается внутрь митохондрии, и за счет этого мотор проворачивается. За объяснение ферментативного механизма, лежащего в основе синтеза АТФ, два исследователя получили Нобелевскую премию: Пол Д. Бойер, США и Джон Э. Уолкер, Великобритания (Нобелевская премия 1997 года).



<http://www.strf.ru/Attachment.aspx?Id=33387>

Мембранный комплекс F_0 под действием электрического тока протонов начинает крутиться с высокой скоростью (7000 об/мин), вращая соединенную с ним субъединицу γ . Субъединица γ , по форме длинный цилиндр неправильной формы, вращаясь, циклически изменяет свойства расположенных вокруг нее неподвижных субъединиц α и β (их всего 6, по три каждой); это приводит к синтезу в них молекул АТФ. За один оборот фермент успевает синтезировать три молекулы АТФ; конкретные участки, из которых те «вылетают», располагаются в субъединицах β симметрично, под углом 120 градусов.

Как учёные увидели работу наномоторчика АТФ-синтазы?



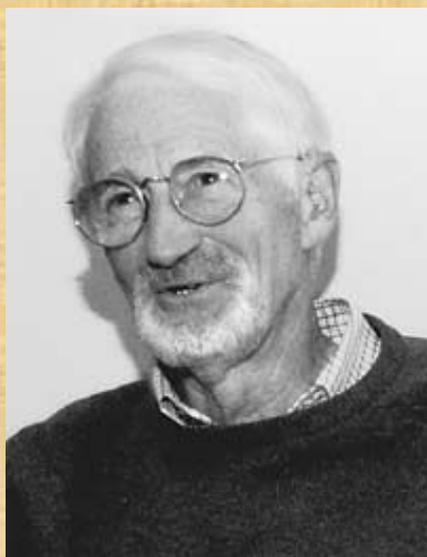
Для того, чтобы доказать, что в АТФ синтазе вращается часть машины, F1 фрагмент перевернули, «пришили» к неподвижной подложке, а к гамма-субъединице навесили искусственным образом нить актина (длинный белок, который можно было увидеть в микроскоп, так как он был мечен флуоресцентной меткой). Затем подали к этой системе энергию в виде АТФ, и оказалось, что при наличии АТФ гамма субъединица начала крутиться. Все это сняли на пленку. Было видно, как крутится флуоресцентная метка на актиновом хвостике, и было показано, что действительно происходит вращение во время работы этой молекулярной машины.

The Nobel Prize in Chemistry

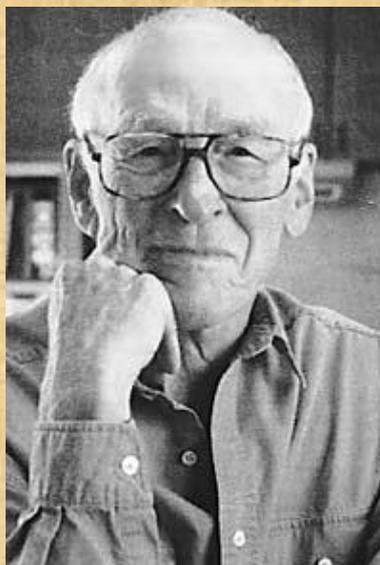
1997

Премию поделили датчанин *Йенс Скоу* из Орхусского университета, американец *Пол Бойер* из Лос-Анджелесского университета и англичанин *Джон Уолкер* из Молекулярно-биологической лаборатории в Кембридже.

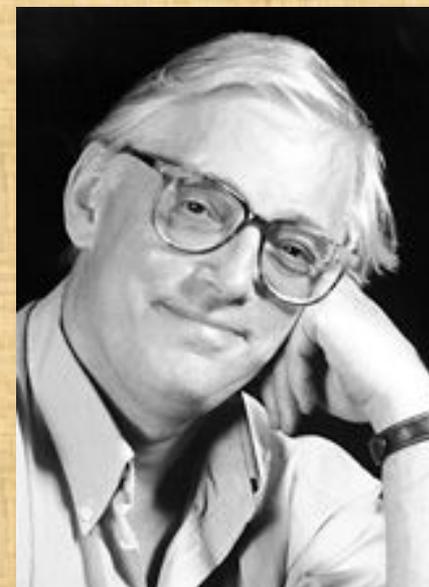
Отмечены их исследования ферментов, обратимо преобразующих химическую энергию АТФ в трансмембранный градиент ионов и протонов.



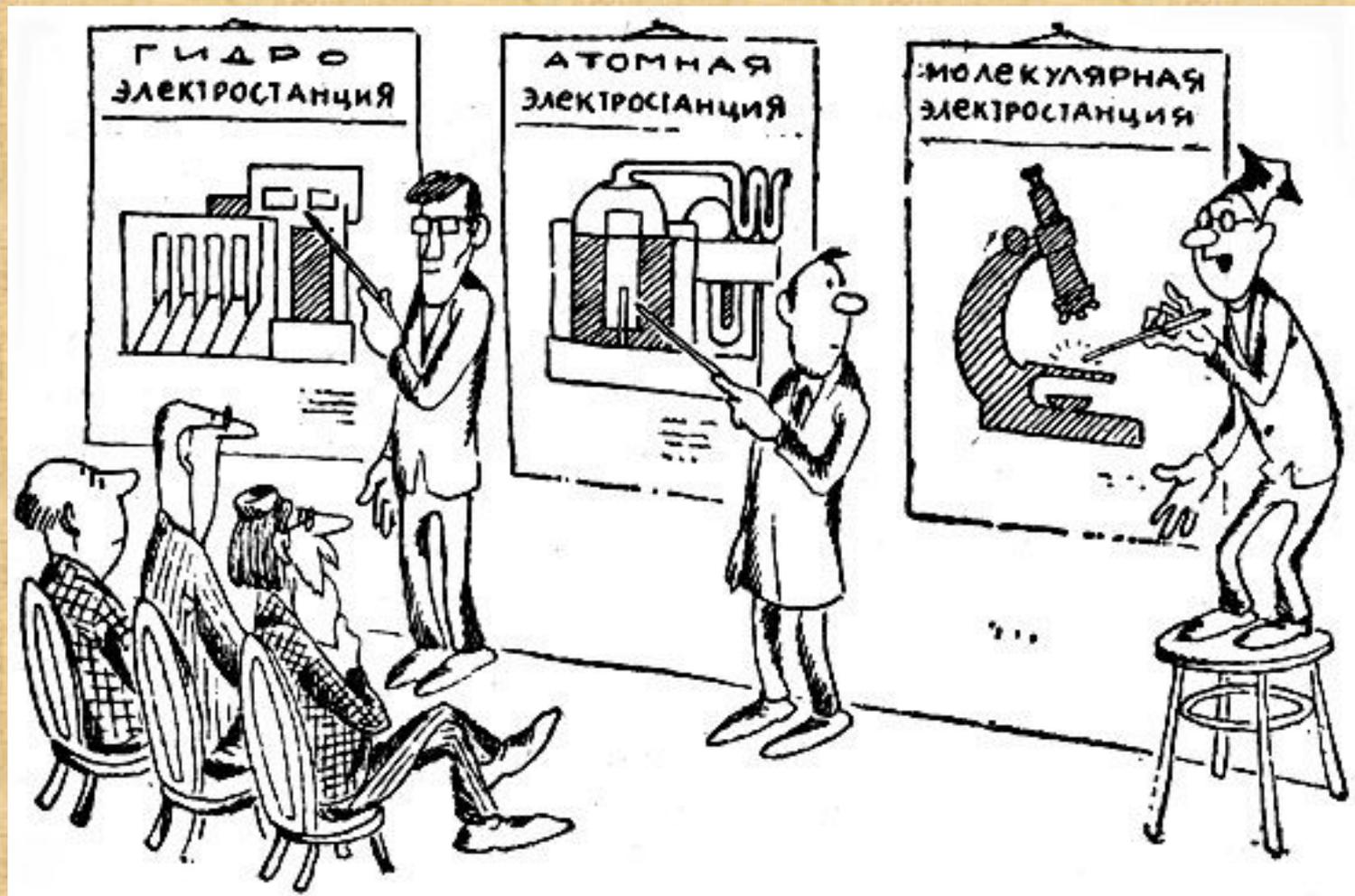
Йенс Скоу



Пол Бойер



Джон Уолкер



АТФ-синтаза («наномоторчик с пропеллером») – миниатюрная молекулярная электростанция наноразмеров.

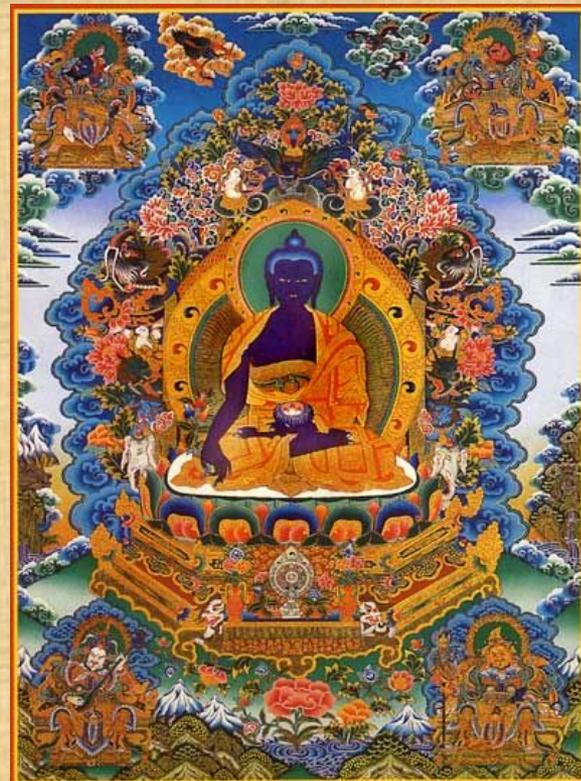


Образование и использование протонного потенциала в митохондриях животных: 1 - откачка ионов H^+ из внутреннего объема митохондрий наружу посредством ферментов дыхательной цепи сопряженно с окислением кислородом дыхательных субстратов (AH_2) в продукты (A); 2 - возвращение ионов H^+ внутрь митохондрий посредством H^+ -АТФ-синтазы сопряженно с синтезом АТФ из АДФ и фосфата; 3 - возвращение ионов H^+ внутрь митохондрий с образованием тепла, минуя H^+ -АТФ-синтазу



Младенец Будда в лотосе
(Линшань, Китай)

ПОЧЕМУ ИМЕННО ЛОТОС ЯВЛЯЕТСЯ ТЁПЛЫМ ТРОНОМ БУДДЫ?



БУДДА МЕДИЦИНЫ (МАНЛА)



“Цветы лотоса - корабль, на котором утопающий среди океана жизни может найти свое спасение”, - говорили в Индии. Священным цветком открытой сердечности считался лотос и в Китае. Он часто изображается утонченно и величественно парящим над темной водой, символизируя ошеломляющую чистоту среди загрязненного окружения. Это цветок, символизирующий лето; цветок, в котором был рожден возлюбленный Будда Падмасамбхава.

Учёные из Аделаидского университета (Австралия) открыли поразительный факт: в ночь перед тем, как распуститься, бутон лотоса неожиданно нагревается. Холодный ночной воздух остужает его лепестки, но под ними становится всё теплее. Растение всё энергичнее „дышит“: впитывает больше кислорода и выделяет больше углекислого газа. Углеводы усиленно расщепляются, выделяя энергию; то же происходит в организме людей и млекопитающих, когда им холодно. На следующие сутки, если ночью теплеет, эта естественная „печь“ убавляет обороты, но температура бутона остаётся неизменной, почти человеческой — 35 градусов.

Тепло выделяют митохондрии, которых в лотосе гораздо больше, чем любом другом растении. В лепестках лотоса митохондрий **в 400 раз больше**, чем в зёрнах кукурузы.



Если насекомое с вечера заберётся в бутон лотоса, то в тепле ему не захочется спать. Всю ночь напролёт оно будет неторопливо, в полной безопасности, ползать по своим апартаментам, постепенно перемазывая себя пыльцой с ног до головы.

Насекомые, выбравшие для ночёвки другое укрытие — не такое тёплое, — быстро заснут. Их тельце не тронет ни одна пылинка. С рассветом они выберутся из цветка, оплатив ему за ночлег лишь небольшим взятком пыльцы. Подобный трюк, „придуманный“ лотосом, помогает и самим насекомым. Когда поутру бутон вновь раскроется, пчела или жук, отогревшись за ночь, бодрёхонько вылетают оттуда. Их остывшие собратья ещё вялы и слабы; они легко становятся добычей врагов.

Исследования показали, что многим насекомым, чтобы взлететь, нужно разогреть своё тельце до 30 °С и выше. Бутоны лотоса — лучшее „горячительное“ средство для теплолюбивых насекомых.



Эволюция АТФ-синтазы считается примером **модульной эволюции**, при которой две субъединицы, каждая обладающая своими функциями, соединились и получили новые функции.

Гексамер $\alpha_3\beta_3$, входящий в состав компонента F1 проявляет существенное сходство с гексамерной ДНК-геликазой. Оба типа ферментов образуют кольцо с вращательной симметрией 3 порядка, обладающее центральной порой. Действие каждого из них также зависит от относительного вращения макромолекулы внутри поры: геликазы используют спиральную форму ДНК для движения вдоль неё и для обнаружения суперскручивания, тогда как $\alpha_3\beta_3$ -гексамер использует изменения своей конфигурации из-за вращения γ -субъединицы для осуществления каталитической реакции.

Протонный мотор компонента F0 проявляет большое функциональное сходство с протонными моторами жгутиков. И там, и там присутствует кольцо из множества небольших богатых α -спиралями белков, вращающихся относительно соседних неподвижных белков за счёт энергии протонного градиента.

В. П. Скулачѳв: Эволюция механизмов запасания энергии



Среди биохимиков бытует афоризм: „**Белок может всё**“. Однако в явном противоречии с этой максимой находится факт, состоящий в том, что такие важнейшие функции клетки, как хранение и реализация генетической информации, обеспечиваются прежде всего **нуклеиновыми кислотами**, а составляющие их **мономеры-нуклеотиды** используются клеткой в качестве коферментов и „**конвертируемой энергетической валюты**“.

Исходной посылкой в нашем рассуждении будет гипотеза о том, что в те далѳкие времена, когда зарождалась жизнь, азотистые основания нуклеотидов служили той **антенной, которая улавливала ультрафиолетовые кванты**, ответственные, как мы полагаем, за энергообеспечение первичных биохимических реакций.

Есть основания считать, что на заре биологической эволюции ультрафиолетовые кванты свободно достигали поверхности Земли, лишённой в те времена современной кислородсодержащей атмосферы её поглощающим ультрафиолетовый свет озоновым слоем.

Моделируя атмосферу древнейшей Земли, К. Саган пришёл к выводу о существовании в ней „окна“ в области 240–290 нм, прозрачного для ультрафиолетового света, поскольку основные простые компоненты этой атмосферы (H_2O , CH_4 , NH_3 , CO_2 , CO и HCN) поглощают свет короче 240 нм, а формальдегид, также входивший, как полагают, в её состав, имеет максимум поглощения длиннее 290 нм. Именно в этом „окне“ располагаются спектральные максимумы пуринов и пиримидинов.

Ещё в 60-е годы С. Понамперума и сотрудники экспериментально показали, что облучение ультрафиолетовым светом синильной кислоты ведёт к химическому синтезу аденина и гуанина. Обнаружено также, что облучение смеси метана, аммиака, водорода и воды вызывает образование как пуринов, так и пиримидинов, причём с наибольшим выходом для аденина.

К. Саган и С. Понамперума приводят следующие доводы в пользу заключения о том, что в качестве антенны для ультрафиолетового света аденин имеет преимущества по сравнению с другими пуринами и пиримидинами:

- 1) наибольшее поглощение света в спектральном „окне“ (240–290 нм), о котором шла речь выше;
- 2) наибольшая стабильность к разрушительному действию ультрафиолетового света и
- 3) большее время жизни возбуждённого состояния, возникающего в ответ на поглощение ультрафиолетового кванта.

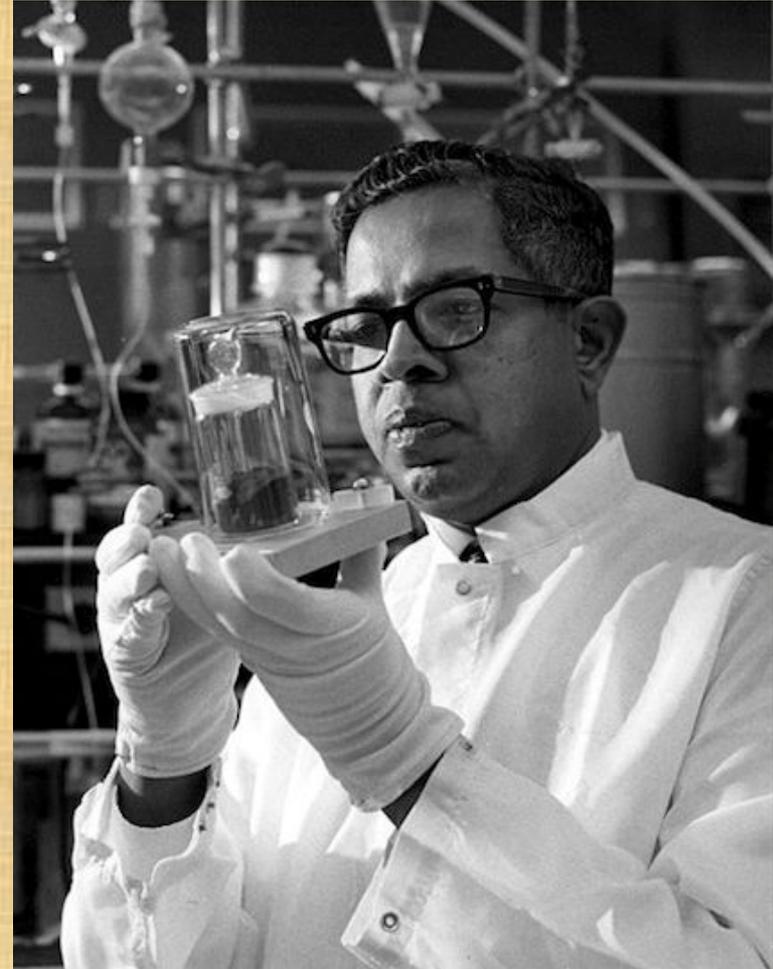
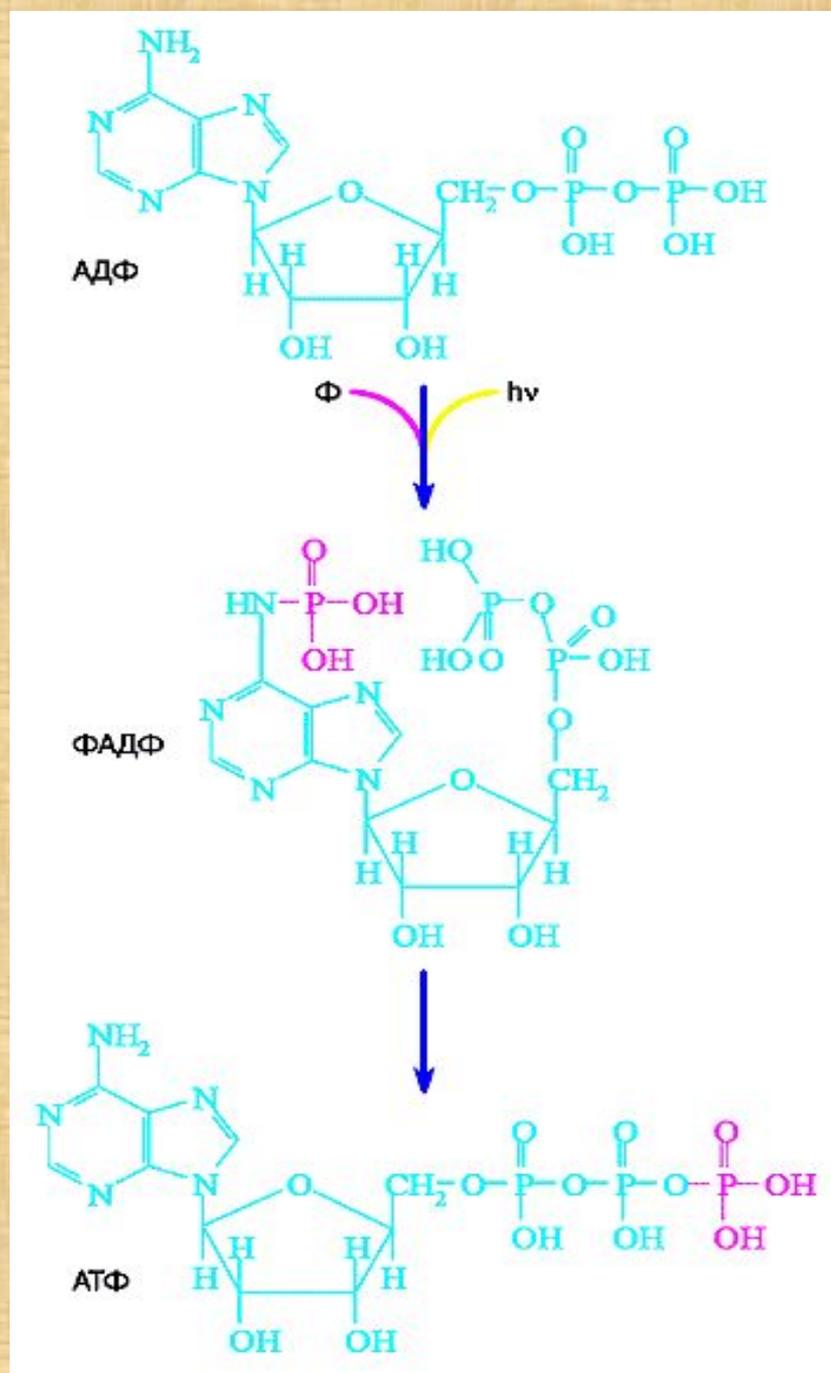


Схема „аденинового“ фотосинтеза — предполагаемого первичного механизма запасания энергии в живой клетке. Квант ультрафиолетового света поглощается адениновой частью аденозиндифосфата (АДФ), переводя её в возбуждённое состояние. Возбуждение облегчает присоединение неорганического фосфата (Φ) к аминогруппе аденина. В результате образуется ФАДФ, изомер аденозинтрифосфата (АТФ), где третий фосфат присоединён не к пирофосфатному „хвосту“, а к адениновой „голове“ АДФ. Затем происходит перенос фосфата от „головы“ к „хвосту“ с образованием обычного АТФ.



Аденин и реже другие пурины или пиримидины входят в состав ключевых коферментов и простетических групп ферментов, таких, как никотинамидадениндинуклеотид (НАД⁺), никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ⁺), флавинадениндинуклеотид (ФАД), кофермент А (КоА), тиаминпирофосфат (производное витамина В₁, витамин В₁₂). Все эти соединения, как правило, построены по одному и тому же принципу. Они содержат: 1) ту или иную функциональную группу, непосредственно участвующую в катализе, 2) пурин или реже пиримидин и 3) гибкую связку, позволяющую сблизить две другие части молекулы. Особенно наглядно устройство динуклеотидов: в них плоские остатки никотинамида (в НАД⁺ и НАДФ⁺) или изоаллоксазина (в ФАД) лежат на также плоском остатке аденина. Продемонстрирован перенос энергии от остатка аденина к остатку никотинамида или изоаллоксазина в ответ на поглощение аденином ультрафиолетового кванта.

Поэтому можно предположить, что **аденин, возбуждаясь ультрафиолетовым светом, передавал энергию на функциональную группу кофермента, который использовал эту энергию для проведения энергоёмких химических реакций (например, восстановления простых веществ среды до более сложных соединений первичной клетки).**

В дальнейшем не слишком специфичный и нерегулируемый катализ, осуществляемый низкомолекулярными коферментами, был дополнен (а затем и вытеснен) процессами с участием высокомолекулярных катализаторов-ферментов, отличающихся огромной избирательностью в отношении субстратов и возможностью регулировать катализ.

По-видимому, первыми ферментами были рибонуклеиновые кислоты (РНК) — полимеры, составленные из мономеров-нуклеотидов.

Можно полагать, что адениновый фотосинтез катализировался комплексами РНК с магниевыми солями АДФ и фосфата.

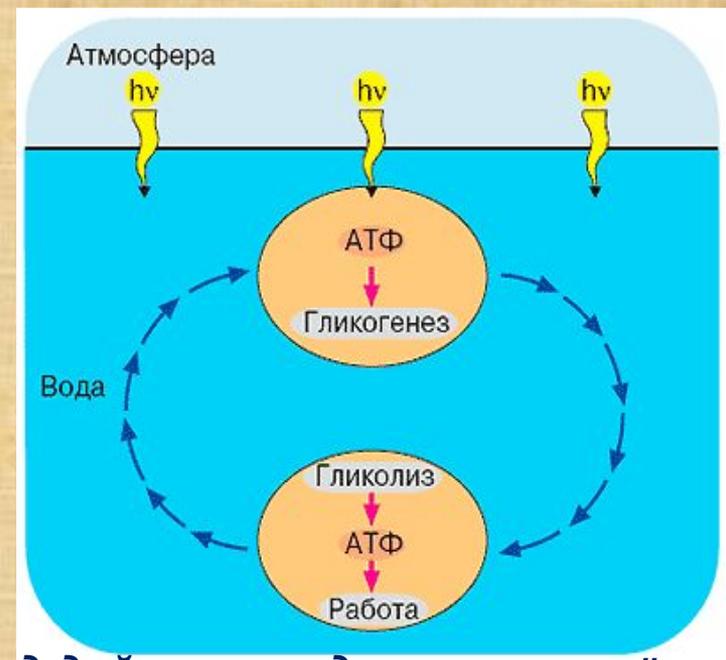
При этом РНК могла бы выполнять также роль антенны, собирающей ультрафиолетовый свет и передающей возбуждение на АДФ.



Удивительное свойство рибозима состоит в том, что он способен к автокаталитическому вырезанию самого себя из более длинной молекулы РНК. Участки, остающиеся после такого автокаталитического расщепления РНК, окрашены на рисунке в серый цвет.

Как избежать разрушительных эффектов ультрафиолетового света?

Энергетика первичной живой клетки, основанная на „адениновом“ фотосинтезе. Предполагается, что ультрафиолетовые кванты, достигая поверхности первичного океана, использовались клеткой для синтеза АТФ, который запускал синтез углеводов (гликогенез). Клетка, увлекаемая потоком океанской воды с поверхности на некоторую глубину, оказывалась вне досягаемости ультрафиолетового облучения. Здесь происходило расщепление накопленных углеводов и синтез АТФ, использовавшегося для совершения клеткой различных типов полезной работы.



Под действием движения слоёв жидкости в океане клетки постоянно циркулировали между тонкой верхней плёнкой воды, доступной для УФ света, и более глубокими слоями, которых он не достигал. При этом вблизи поверхности происходил синтез АТФ, использовавшегося для образования резервных соединений, которые затем расщеплялись на глубине, поддерживая ресинтез АТФ.

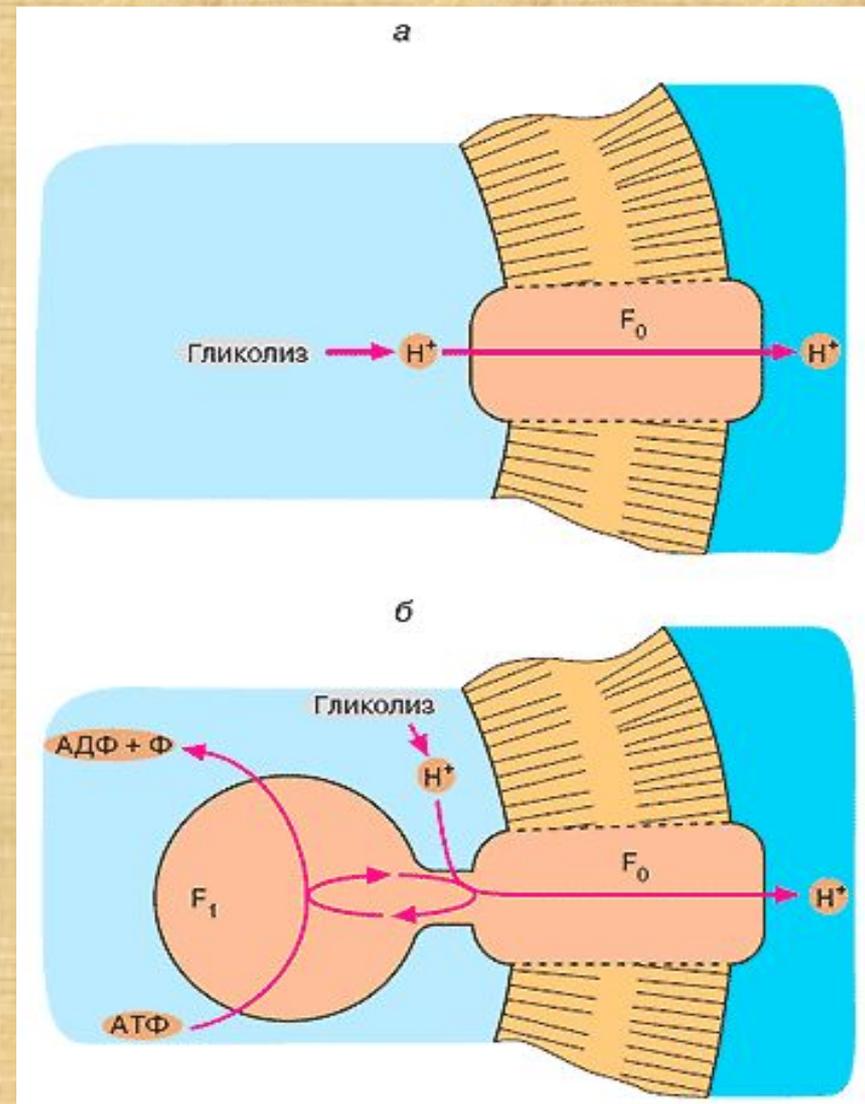
Известны два основных типа гликолиза. В одном случае (спиртовое брожение) конечными продуктами расщепления углеводов оказываются этиловый спирт и CO_2 — вещества, легко проникающие через мембрану клетки, что решает проблему переполнения клетки конечными продуктами гликолиза. Однако при этом трудно вернуться назад, к углеводу, если конечные продукты уже вышли из клетки и разбавились в океане внешней среды.

Указанный недостаток отсутствует во втором типе гликолиза, когда конечным продуктом оказывается молочная кислота, которая не проникает через мембрану, не покидает пределы клетки и потому может быть использована клеткой для ресинтеза углеводов, когда возникает такая возможность. Неудачно лишь то, что молекулы молочной кислоты, образуясь, диссоциируют с образованием ионов лактата и водорода. Последние также не могут пройти через мембрану, остаются в клетке и закисляют её содержимое.

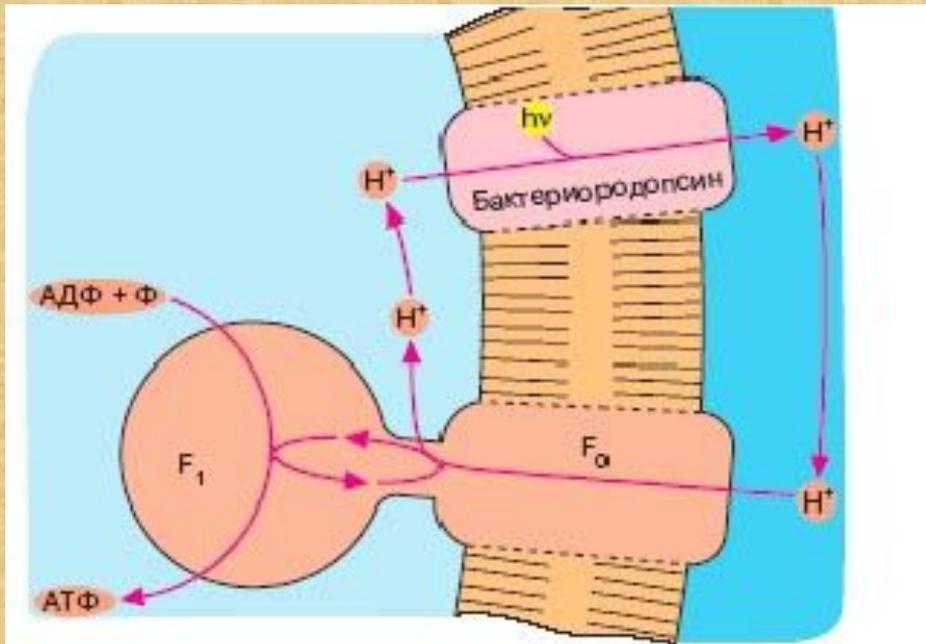
Закисление, если его не предотвратить, должно привести к гибели клетки из-за кислотной денатурации белков.

Но протонные каналы и H^+ -АТФаза предотвращают закисление клетки при гликолизе

Как первичная клетка могла избавиться от ионов H^+ , образующих гликолизом: а — облегчённая диффузия ионов H^+ посредством белка (фактора F_0), образующего H^+ -проводящий путь сквозь клеточную мембрану; б — комплекс факторов F_0 и F_1 (H^+ -АТФаза) активно откачивает из клетки ионы H^+ за счёт гидролиза АТФ.



Со временем всё меньше УФ квантов достигало поверхности Земли, поэтому древние клетки переключились на более доступный источник энергии — видимый свет. Так возник фотосинтез.



В клетках солелюбивых галобактерий в процессе фотосинтеза белок бактериородопсин откачивает ионы H^+ из клетки наружу. Ионы H^+ возвращаются в клетку через АТФ-синтазный комплекс, обеспечивая его энергией для синтеза АТФ.

(рисунок из статьи В.П.Скулачева,
Соросовский образовательный журнал)

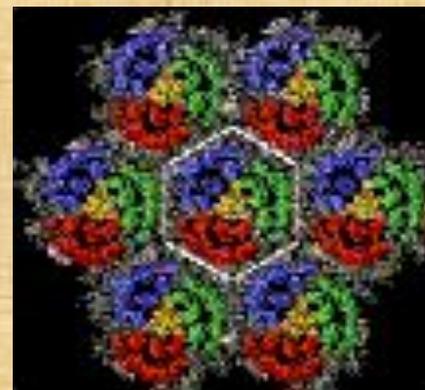
В 1973 г. У. Стокениус и Д. Остерхельт из США открыли необычный светочувствительный белок в мембранах фиолетовых бактерий, обитающих в соленых озерах Калифорнийских пустынь. Этот белок, подобно зрительному пигменту глаза животных — родопсину, — содержал производное витамина А — ретиналь, за что и был назван бактериородопсином. Американские ученые Рэкер и Стокениус изящно продемонстрировали участие бактериородопсина в энергетическом сопряжении. Объединив в модельной фосфолипидной мембране только что открытый светочувствительный белок фиолетовых бактерий с АТФ-синтазой, они получили молекулярный ансамбль, способный синтезировать АТФ при включении света.

С появлением бактериородопсина клетка научилась создавать $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ за счёт видимого света, а эта $\Delta\mu_{\text{H}^+}$, образовавшись, просто развернула вспять H^+ -АТФазную реакцию, существовавшую ранее в качестве механизма откачки из клетки гликолитических ионов H^+ . Так комплекс F_0F_1 мог превратиться из АТФазы в АТФ-синтетазу.

Бактериородопсин чрезвычайно устойчив: без потери активности его можно кипятить в автоклаве при $+130^\circ\text{C}$, изменять содержание NaCl в омывающем мембрану растворе от нуля до насыщения, в широких пределах менять рН этого раствора. Более того, можно удалить выступающие из мембраны концевые участки полипептидной цепи и даже расщепить эту цепь в одном месте по середине без ущерба для активности насоса.

В то же время эффективность бактериородопсина как преобразователя энергии сравнительно низка: всего 20% энергии светового кванта превращается в $\Delta\mu_{\text{H}^+}$.

При этом на один поглощённый квант через мембрану переносится один ион H^+ .



Участок пурпурной мембраны (вид сверху).



Вкратце система взглядов В. П. Окулачёва суммирована им в виде следующей схемой эволюции жизни.

1. **Образование азотистых оснований** (пуринов и пиримидинов), а затем и нуклеотидов из H_2O , NH_3 , CO_2 , HCN и некоторых других простейших соединений под действием ультрафиолетового излучения Солнца.

2. Использование остатков аденина, а затем также других пуринов и пиримидинов в нуклеотидах для поглощения УФ света. При этом энергия ультрафиолетовых квантов оказывается движущей силой для синтеза АТФ из АДФ и фосфата или для осуществления других энергоёмких реакций коферментами-нуклеотидами (**адениновый фотосинтез**).

3. Образование резервных веществ за счёт энергии АТФ (**гликогенез**) с тем, чтобы их последующее расщепление могло поддержать ресинтез АТФ при отсутствии ультрафиолетового света (**гликолиз**).



4. Изменение спектральных свойств атмосферы, ставшей плохо проницаемой для ультрафиолета, и замена „аденинового“ фотосинтеза на фотосинтез, использующий видимый свет. В качестве пигментов используется ретиналь, а затем хлорофилл. В результате АТФ, бывший до того как преобразователем световой энергии, так „конвертируемой энергетической валютой“, утрачивает первую из этих двух функций, сохранив только вторую.



5. Увеличение концентрации O_2 в атмосфере в результате деятельности фотосинтезирующих организмов и появление ферментов, поглощающих кислород с целью его детоксикации.



6. Создание современных дыхательных систем, преобразующих в АТФ энергию окисления субстратов кислородом.



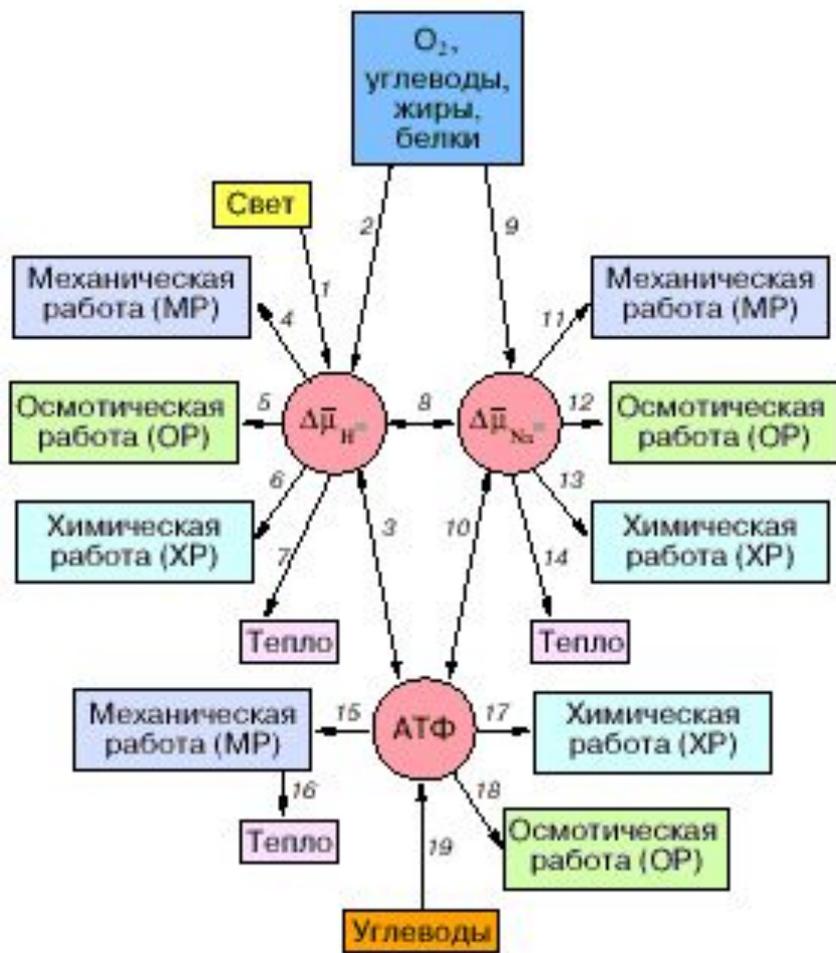
Митохондрии взрослого человека среднего роста и веса перекачивают через свои мембраны около **500 г ионов водорода** в день, образуя мембранный потенциал. За это же время H^+ -АТФ-синтаза производит около **40 кг АТФ** из АДФ и фосфата, а использующие АТФ процессы гидролизуют всю массу АТФ назад в АДФ и фосфат.



3 КОНВЕРТИРУЕМЫЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ВАЛЮТЫ КЛЕТКИ:

- 1) АТФ;
- 2) $\Delta \mu_{H^+}$;
- 3) $\Delta \mu_{Na^+}$.

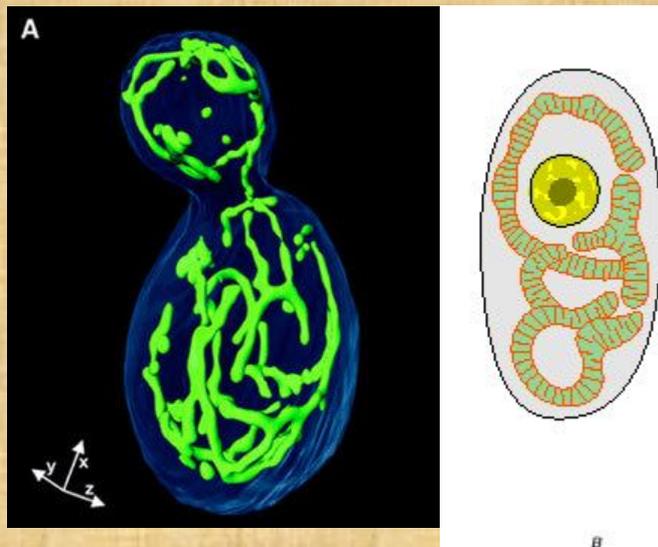
При хемиосмотическом сопряжении энергии и работы не требуется прямого контакта между специфическим белком, создающим разность потенциалов через мембрану, и белком, совершающим какой-то вид работы: поток ионов или метаболитов обеспечит сопряжение двух векторных реакций на расстоянии при условии, что они соответствующим образом ориентированы в одной и той же мембране. Данное свойство успешно используется живыми клетками в митохондриальных сетях, работающих как электрические кабели.



ЗАКОНЫ БИОЭНЕРГЕТИКИ

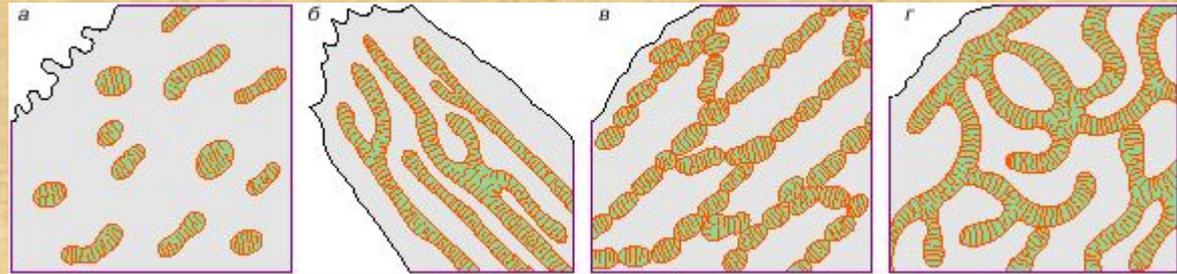
- 1) Живая клетка избегает прямого использования энергии внешних ресурсов для совершения полезной работы. Она сначала превращает их в одну **из трех конвертируемых форм энергии ("энергетических валют")**, которые затем расходуются для осуществления различных энергоемких процессов. Иными словами, клетка предпочитает "денежное" обращение, а не бартер.
- 2) Любая живая клетка всегда располагает как минимум **двумя** "энергетическими валютами": водорастворимой (АТФ) и связанной с мембраной (**$\Delta \mu_{H^+}$** , либо **$\Delta \mu_{Na^+}$**).
- 3) Энергетические валюты" клетки могут превращаться одна в другую. Поэтому получения хотя бы **одной** из них за счет внешних ресурсов достаточно для поддержания жизнедеятельности.

Митохондриальная сеть (хондриом)



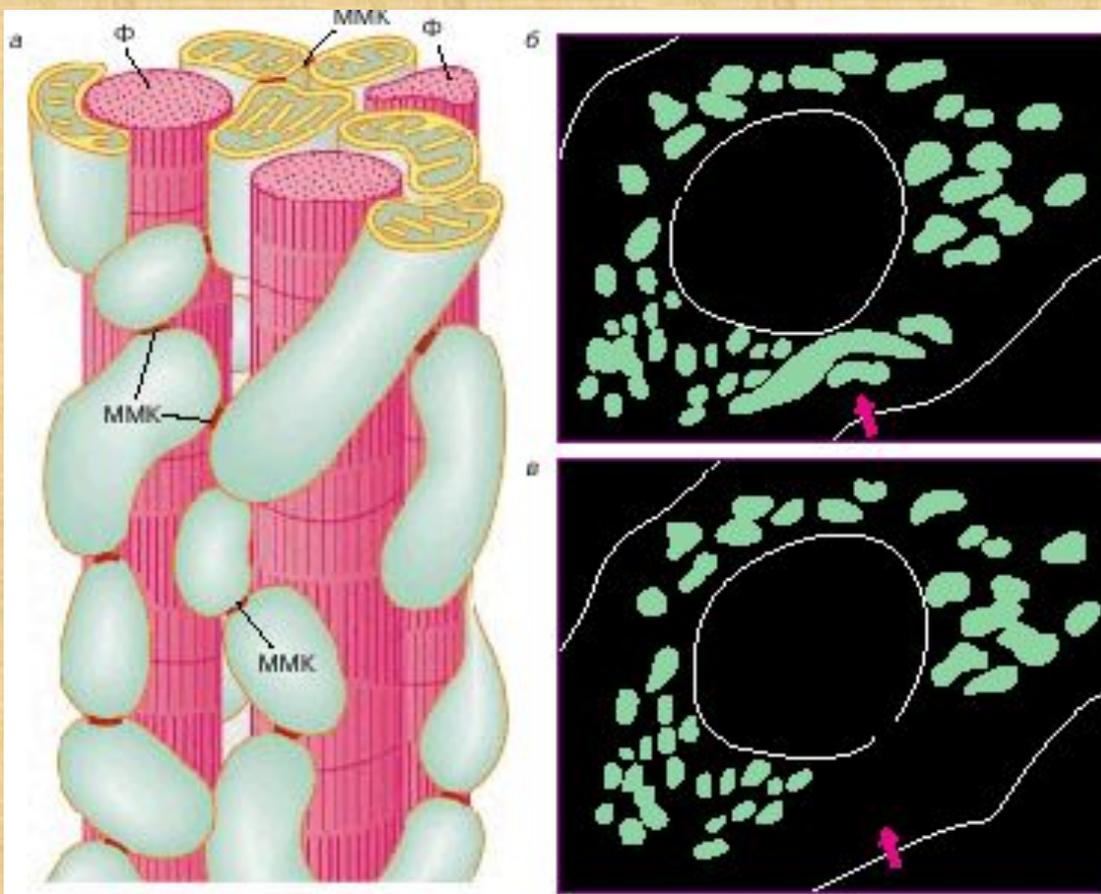
Хондриом дрожжей и хлореллы.

http://www.nature.com/scitable/content/ne0000/ne0000/ne0000/ne0000/14643424/hales_fig1_3_0_ksm_1_2.jpg



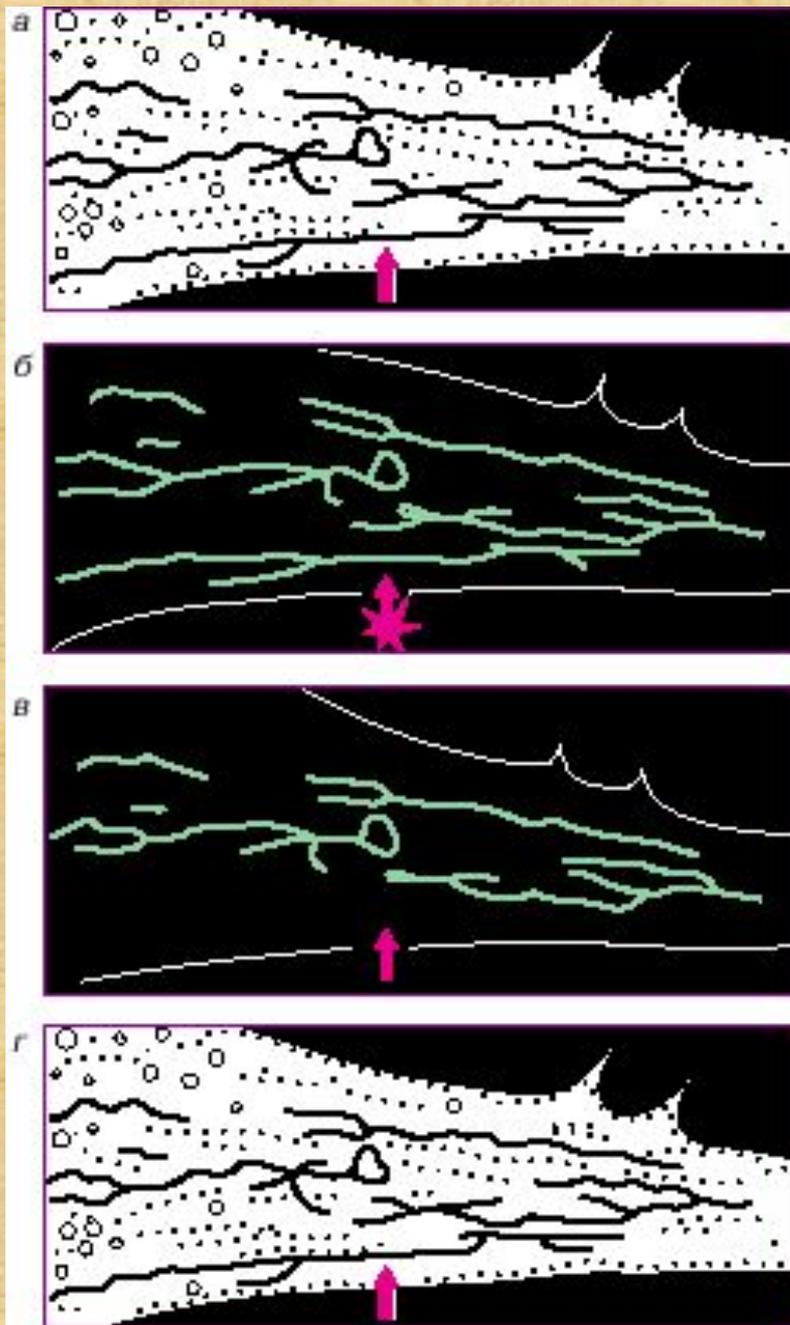
Различные типы организации хондриома: а - разрозненные митохондрии, б - нитчатые митохондрии, в - цепочки соединенных митохондрий кардиомиоцитов, г - митохондриальный ретикулум скелетных мышц

<http://images.nature.web.ru/nature/2000/12/13/0001157643/6.gif>



Митохондриальная система кардиомиоцитов: а - схема расположения митохондрии и миофибрилл (Ф); ММК - межмитохондриальные контакты; б - флуоресцирующие митохондрии в изолированном кардиомиоците, стрелкой указана одна из митохондрий перед облучением, в - та же клетка после облучения: погасла группа митохондрий, связанных друг с другом с помощью ММК

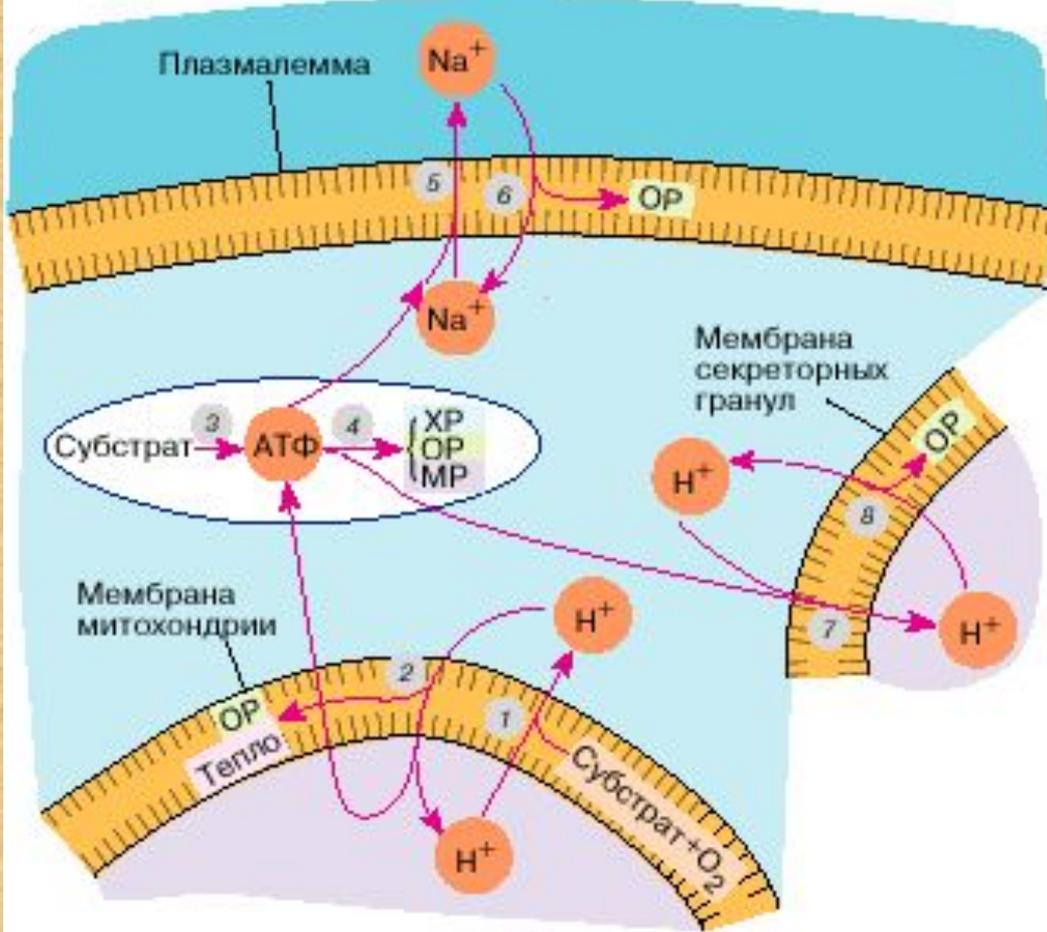
<http://images.nature.web.ru/nature/2000/12/13/0001157643/5.gif>



Локальное повреждение нитчатой митохондрии фибробласта микролучом приводит к деэнергизации всей митохондрии: а - вид митохондрий в фазовом контрасте до эксперимента, б - флуоресценция родамина в митохондриях этого же участка клетки (стрелка указывает на место лазерного укола), в - тот же участок клетки после локального облучения митохондрии: поврежденная митохондрия потеряла флуоресценцию по всей своей длине, г - этот же участок в фазовом контрасте.

<http://images.nature.web.ru/nature/2000/12/13/0001157643/3.gif>

Энергетика животной клетки



Ионы H^+ откачиваются из митохондрий за счет дыхания (1) и возвращаются назад сопряженно с синтезом АТФ или совершением митохондриями осмотической работы (2). АТФ может также получаться при гликолизе (3) и использоваться для производства работы (4), а также создания на плазмалемме (5). Затем расходуется для концентрирования веществ в клетке, то есть для осмотической работы (6). Кроме того, АТФ поддерживает генерацию на мембранах секреторных гранул (7), лизосом и эндосом, также способных совершать определенные виды осмотической работы (8)

Свободнорадикальная теория старения

Согласно этой теории в качестве главной причины старения рассматривается повреждение свободными радикалами кислорода основных молекулярных структур клетки: липидов, белков и нуклеиновых кислот.

Предположение о том, что возрастные изменения – результат накопления повреждений, вызываемых свободными радикалами, исходно базировалась на сходстве проявлений лучевого поражения и естественного старения.



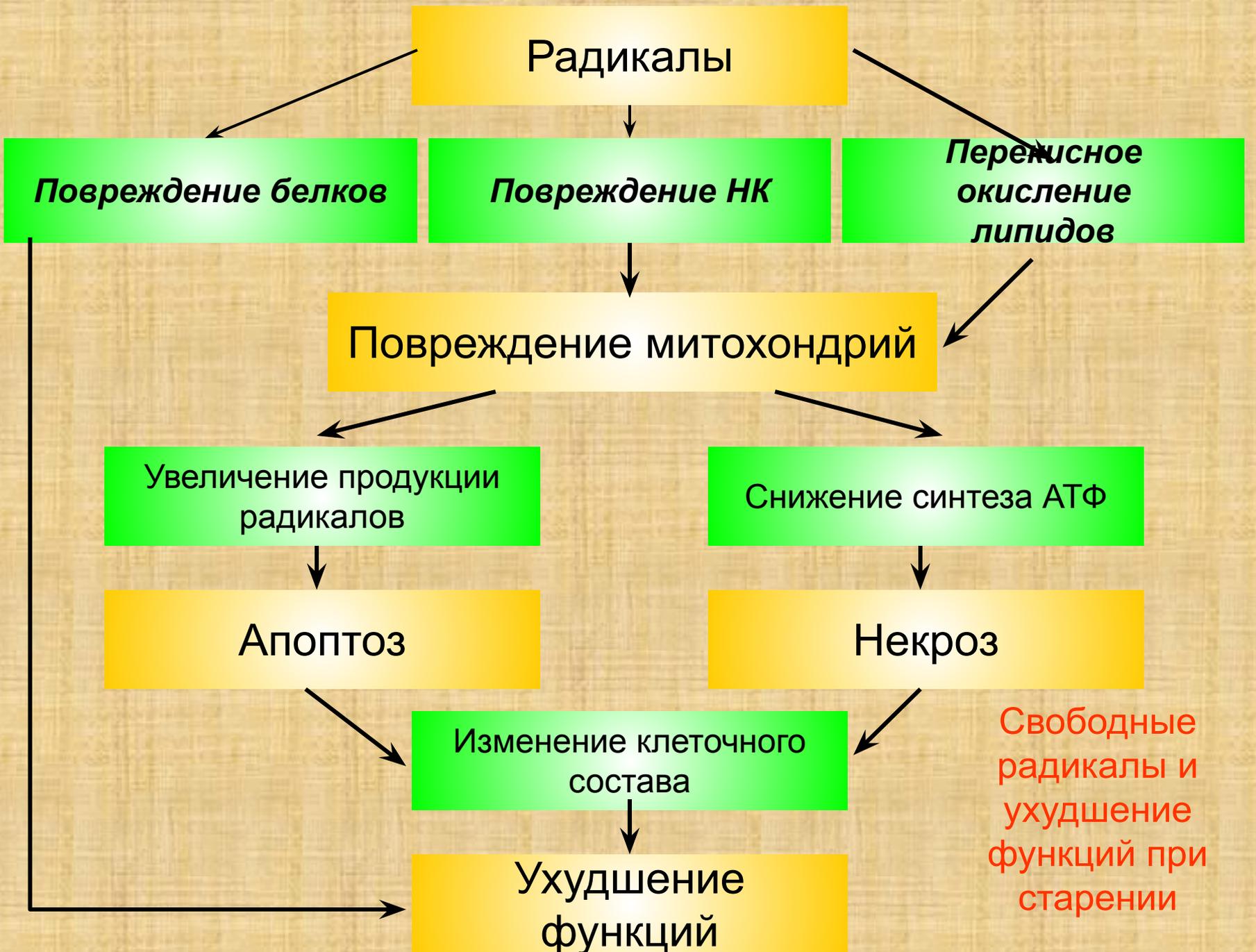
Denham Harman, M.D., Ph.D.
The father of the free-radical theory of aging.

*[Harman, D.](#) (1956) "Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry" *J Gerontol* 11: 298-300.*

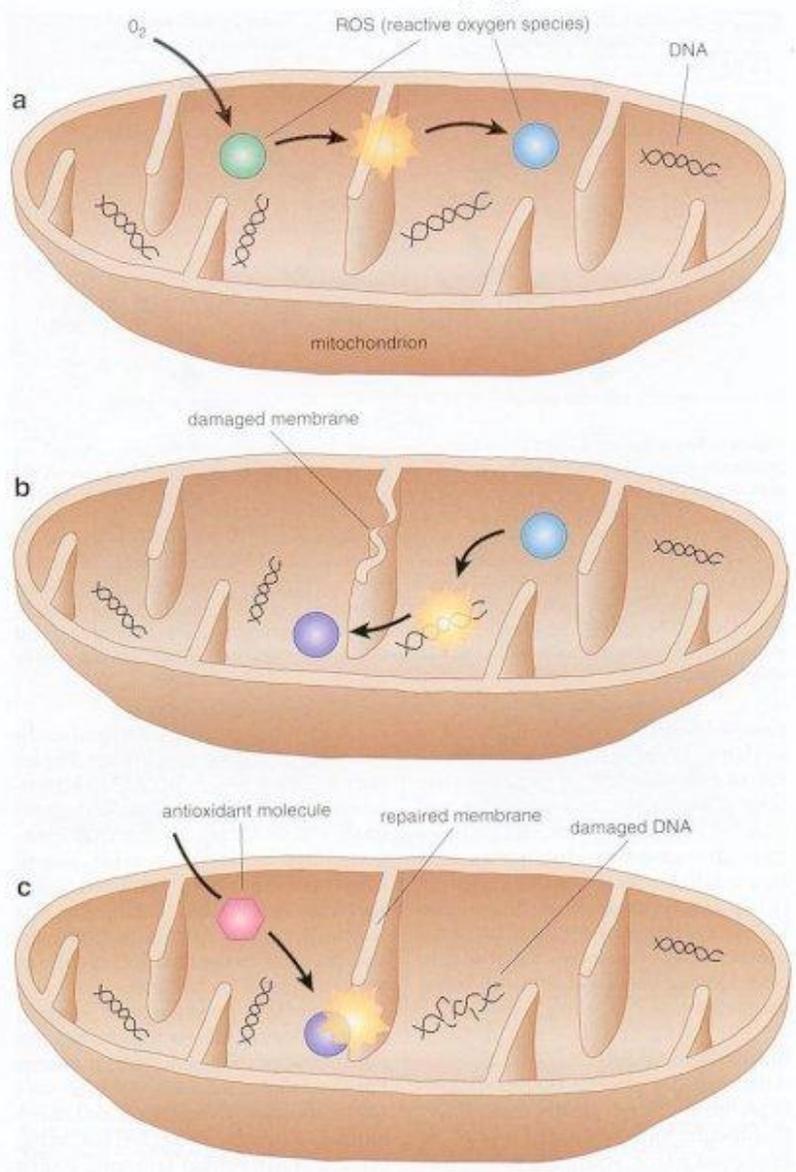
Предшественники: Gershman, R., Gilbert, D.L., Nye, S.W. and Dwyer, P. (1954) Oxygen poisoning and X-irradiation: a mechanism in common. *Science* **119**, 623-626.

Основные вехи в развитии свободнорадикальной теории старения :

- ❖ *обнаружение в клетках всех аэробных организмов источников супероксидных анион-радикалов кислорода и ферментов, защищающих субклеточные структуры от этих радикалов ;*
- ❖ *выяснение роли митохондрий в генерации анион-радикалов кислорода ;*
- ❖ *изучение механизмов и последствий ПОЛ , свободнорадикального повреждения белков и нуклеиновых кислот;*
- ❖ *доказательство участия свободных радикалов в мутагенезе и патогенезе болезней, характерных для людей пожилого и старческого возраста;*
- ❖ *применение геропротекторов, созданных на основе естественных и синтетических антиоксидантов*



ROS and Aging



Центральное место в свободно-радикальной теории старения занимает повреждение митохондрий, основными мишенями повреждения в которых являются мембраны и митохондриальная ДНК. Их повреждение приводит к снижению функциональной активности митохондрий т. е. энергообеспечению организма.

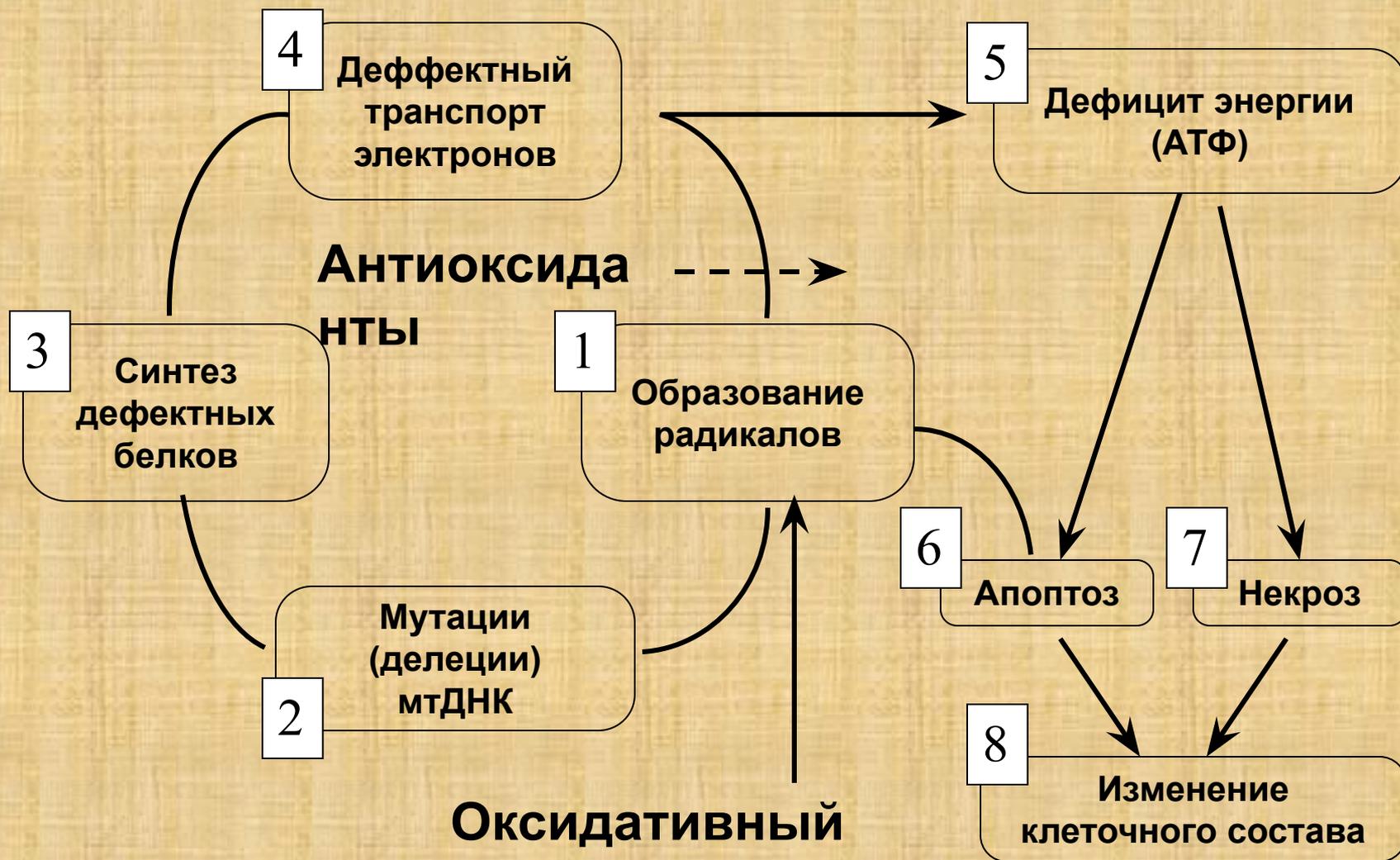
Снижение энергообеспечения ведёт к функциональной недостаточности тканей и органов, снижению их репарационного потенциала.



Недавно две группы ученых убедительно доказали, что одной из причин старения и болезни Паркинсона являются дефектные митохондрии, быстро размножающиеся в нейронах головного мозга и приводящие к их дегенерации. Дефектными они становятся в результате соматической мутации — удаления участка митохондриальной ДНК.

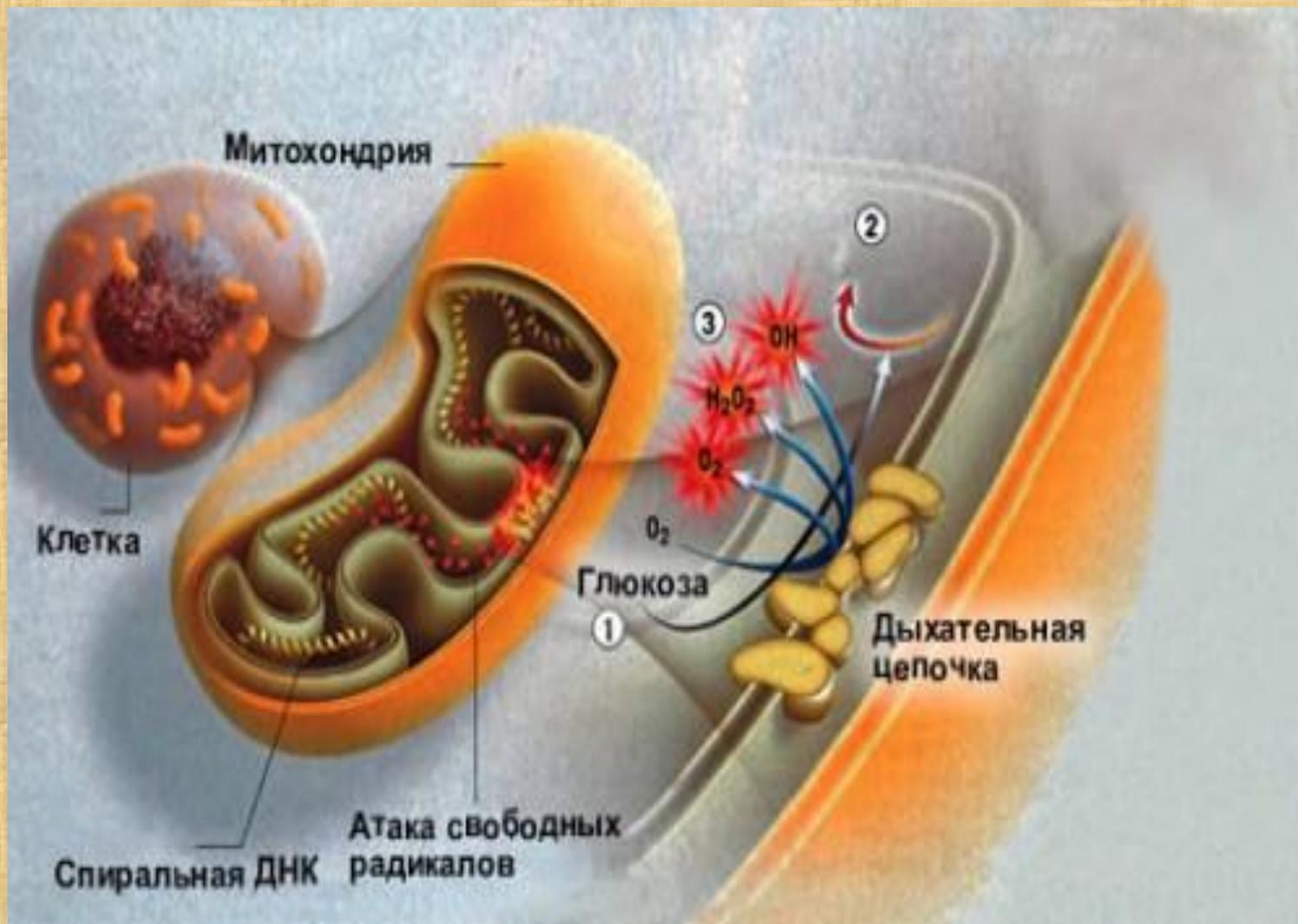
Manfredi 2006. *Nature genetics*.
2006. V.38. P.507-508

Связь окислительного стресса и мутаций мтДНК со смертью клеток и старением тканей (см. обзор: G. Lenaz , 1998, *BBA*, 1366: 53-67)



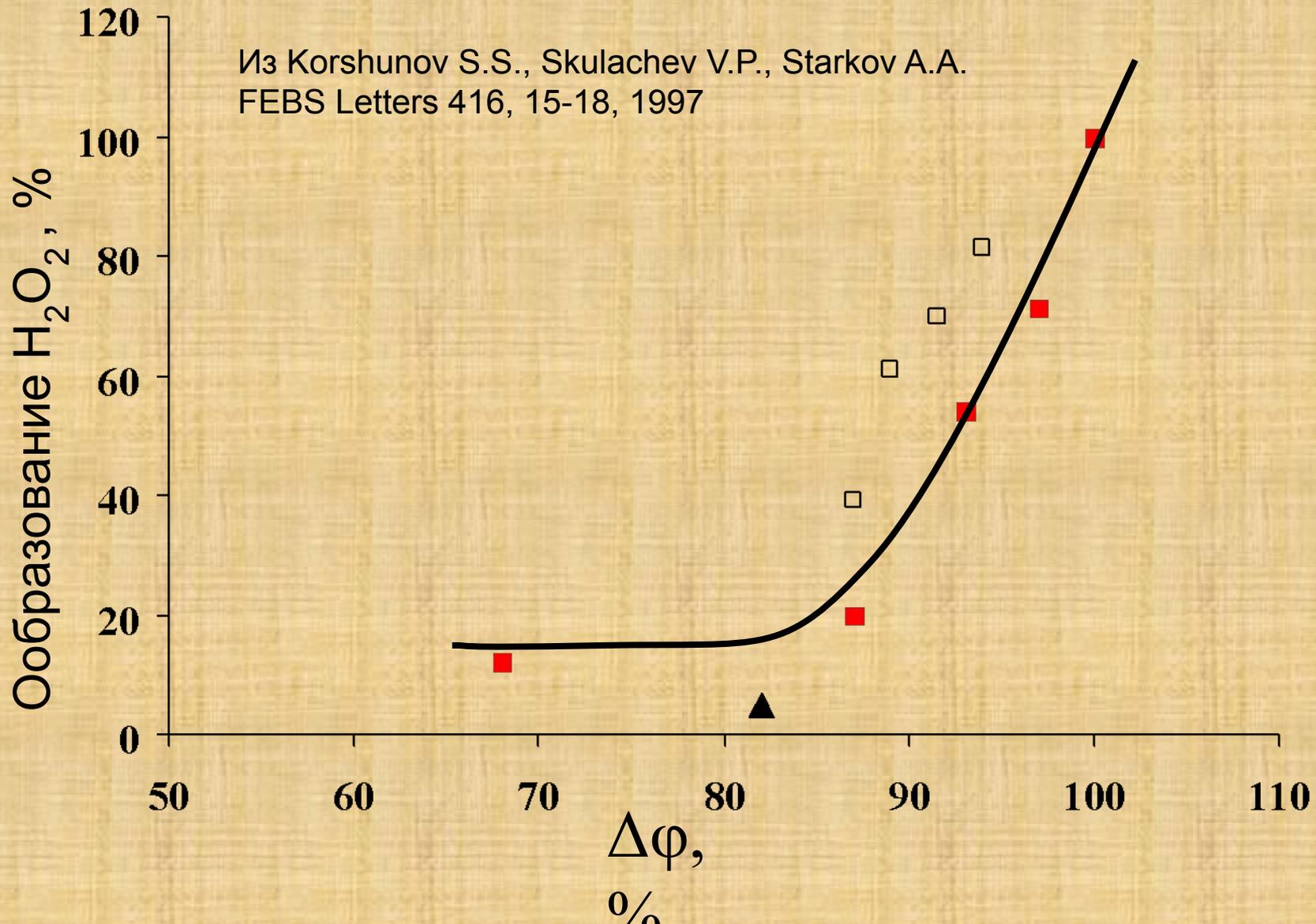
Можно ли защитить митохондрии от повреждения свободными радикалами?

Митохондрии являются главным источником энергии и **активных форм кислорода (АФК)**



Зависимость образования АФК от мембранного потенциала

Из Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A.
FEBS Letters 416, 15-18, 1997



МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ ТЕОРИЯ СТАРЕНИЯ

Приблизительно каждые 9 секунд нить ДНК повреждается в процессе химических реакций, и так до 10 тысяч раз в день. Каждое из повреждений быстро ликвидируется, если клетке, в которой оно произошло, не предназначено погибнуть.

Накопление с возрастом таких "поломок" и вызванных ими мутаций является определяющим фактором развития возрастной патологии и старения человеческого организма.

В митохондриях репарационные системы функционируют недостаточно эффективно (явно из-за «плохой организации» импорта ферментов репарации в эти структуры), то во вновь синтезированной митохондриальной ДНК мутации обнаруживаются в десятки раз чаще, чем в ядерной ДНК.

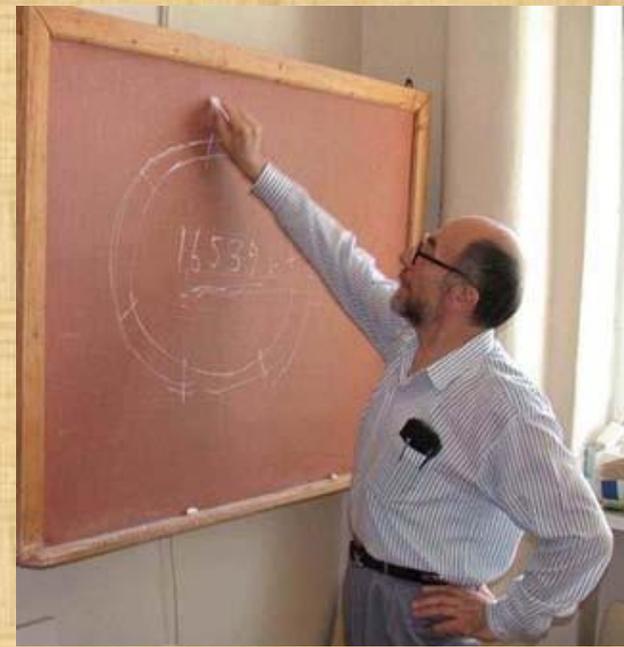


Схема митохондриального генома человека

В лабораториях, в специальных условиях научились культивировать клетки человека и животных, лишённые митохондрий.

Такие клеточные структуры чуть ли ни **в 10 раз более радиоустойчивы**, по сравнению с нормальными клетками, содержащими митохондрии.

Эти данные подтверждают, что продуцируемые в митохондриях АФК оказывают сочетанное повреждение ДНК и других макромолекул нормальных клеток.



*Ажуб Ибрагимович
Газиев,
профессор*

Можно ли защитить митохондриальную ДНК от повреждения?



«Свободнорадикальный чад от митохондрий отравляет клетку».
И это – главная причина старения.

Первое, что приходит на ум – это **антиоксиданты**.

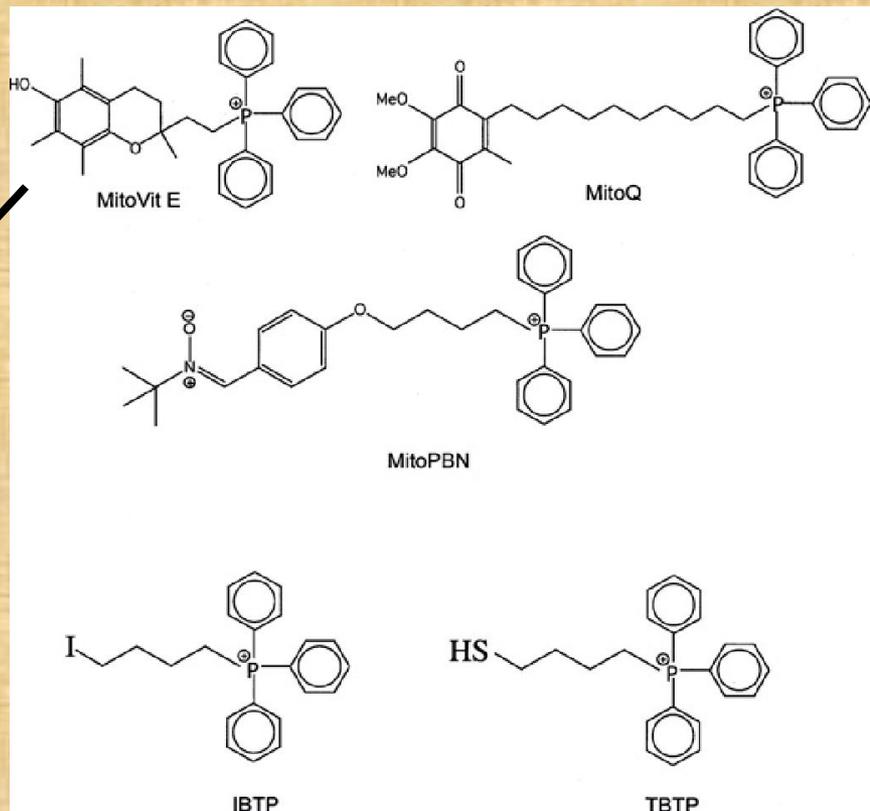
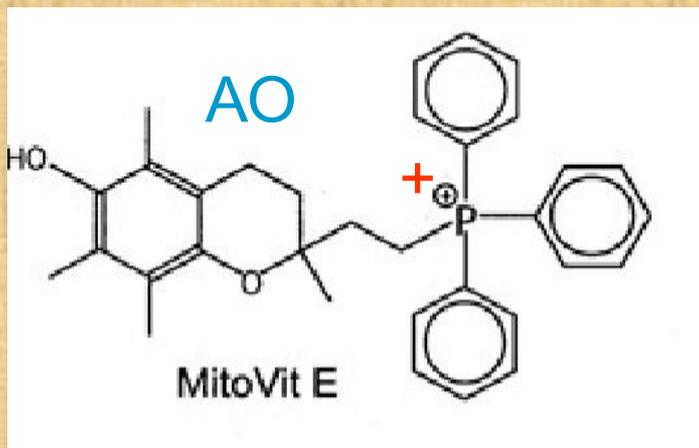




Dr. Mike Murphy
Cambridge

«Самонаводящиеся» митохондриальные антиоксиданты

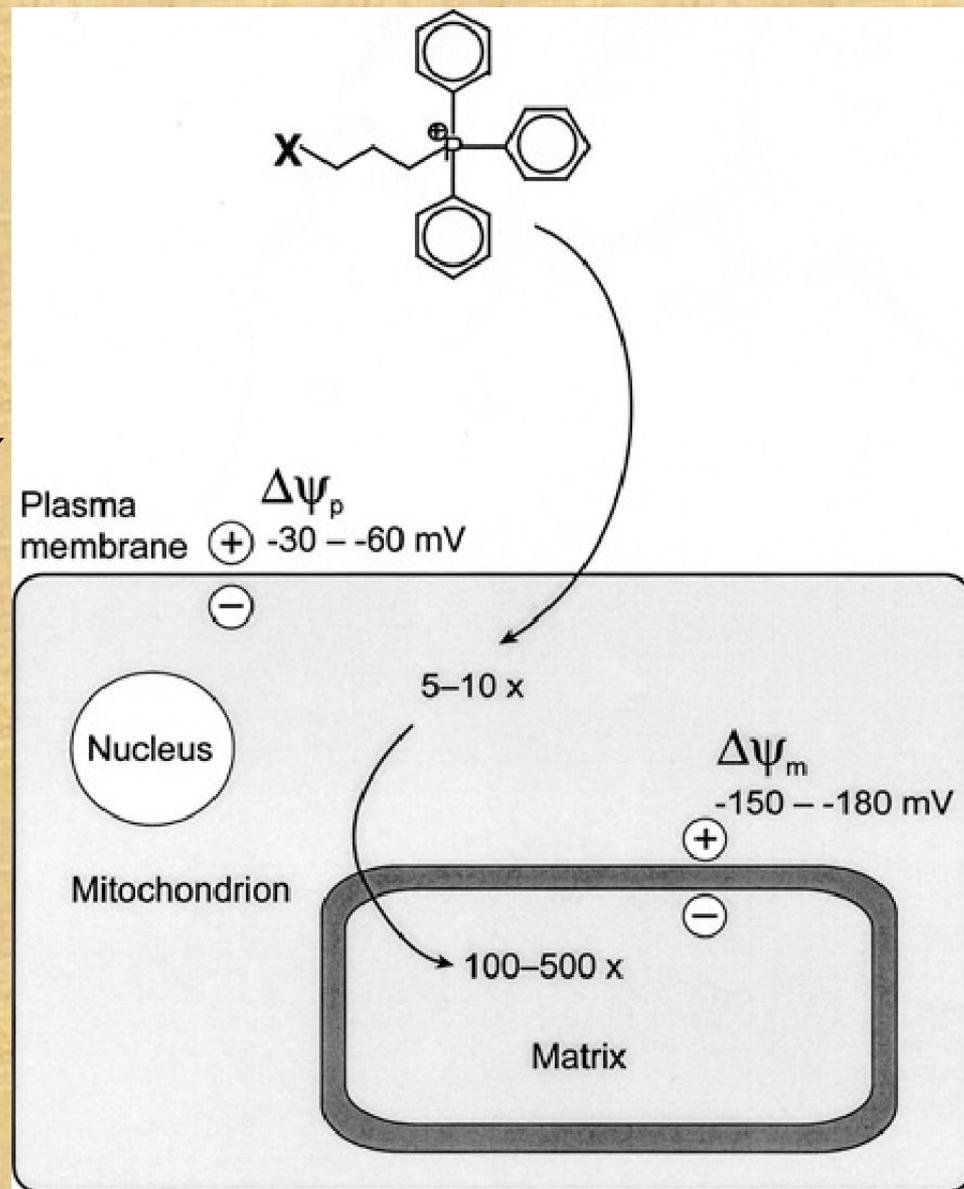
(«*selectively targeting bioactive molecules to mitochondria*»
- избирательно направленные на митохондрии биоактивные молекулы)



Liberman E.A., Topali V.P., Tsofina L.M., Jasaitis A.A. and Skulachev V.P. (1969)
Nature (London) **222**, 1076–1078

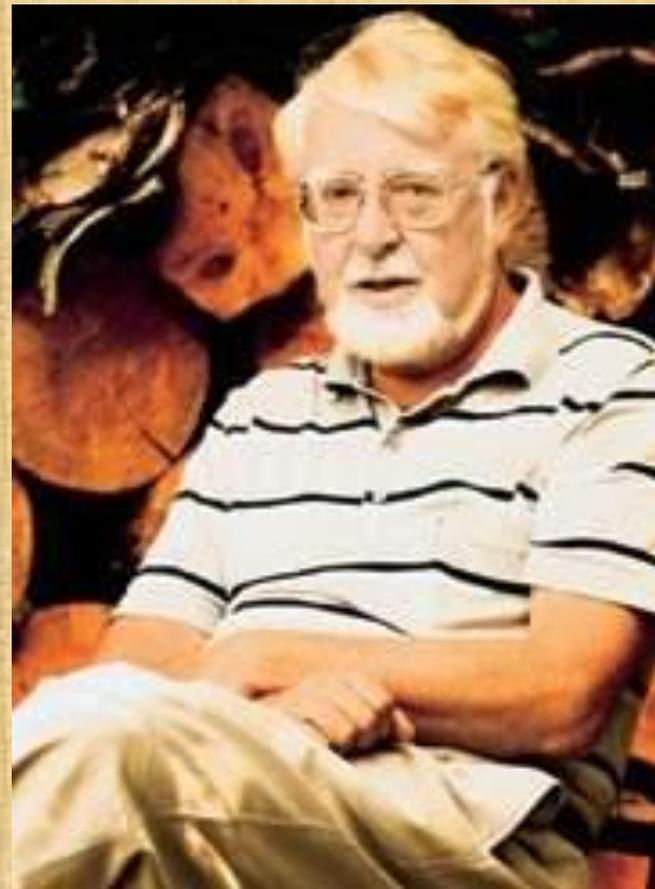
Идея Мэрфи состояла в том, чтобы соединить такие проникающие ионы с антиоксидантами, что позволяло резко увеличить концентрацию антиоксидантов именно в митохондриях, основном генераторе свободных радикалов.

Согласно расчётам при разности потенциале $-150 \div -180$ мВ концентрация антиоксиданта внутри митохондрий возрастает в сотни раз по сравнению с соответствующей концентрацией вещества в среде



Murphy M.P. Investigating mitochondrial radical production using targeted probes. Biochemical Society Transactions (2004), v. 32, part 6, 1011-1014.

В России по заказу исследовательской группы академика РАН В.П.Скулачёва химики из российских академических институтов синтезировали похожие вещества, которые оказались еще лучшим антиоксидантом, чем у Мэрфи. Ведутся испытания этого вещества в отношении продления жизни мышей и лечения катаракты у быстро стареющих крыс.

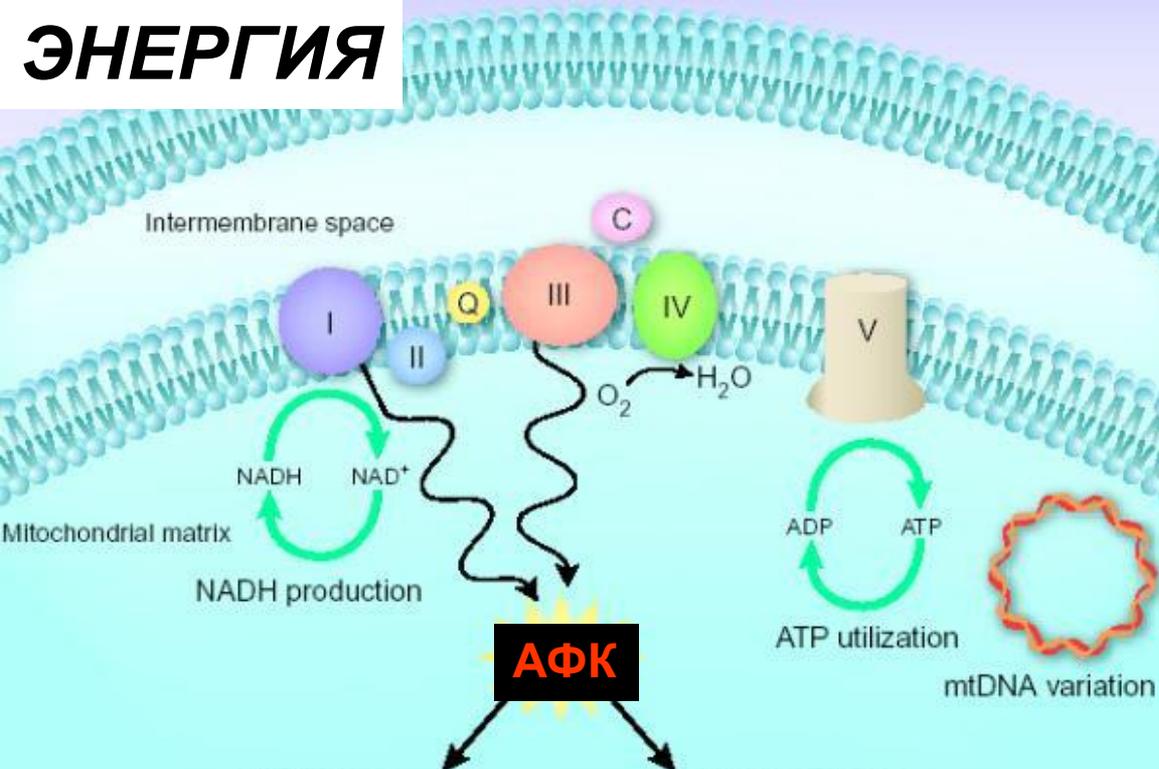


В.П.Скулачёв

«Старение как программа-атавизм, подлежащая отмене».

Название актовой лекции В.П. Скулачёва, прочитанной в день своего семидесятилетия 21 февраля 2005 года в МГУ им. Ломоносова

ЭНЕРГИЯ



Патология:
повреждение
липидов, белков
и ДНК.

Гомеостаз:
передача сигналов роста,
активация разобщающих
белков, активизация
репликации мтДНК.

ОДНАКО

наряду с вредными функциями АФК новые исследования всё больше обнаруживают и их полезные функции — такие как активация разобщающих белков, регулирующих продукцию АТФ, передачу сигналов роста через тирозин-киназы, репликацию мтДНК.

R. Moreno-Loshuertos et al. 2006 [Differences in reactive oxygen species production explain the phenotypes associated with common mouse mitochondrial DNA variants](#) // *Nature genetics* 38, 11, 1261-1268.

Joshua M. Baughman, Vamsi K. Mootha. 2006. [Buffering mitochondrial DNA variation](#). // *Nature genetics* 38, 11, 1232-1233.

Клеточные культуры, несущие различные мутации в митохондриальной ДНК (мтДНК), не проявляют отклонений и характеризуются примерно одинаковым со здоровыми культурами уровнем клеточного дыхания и роста, что ставит под сомнение связь этих мутаций с болезнями на уровне целого организма.

Оказалось, что в больных клетках повышена концентрация активных форм кислорода и их важного источника — перекиси водорода (H_2O_2). Выяснилось, что количество митохондриальной ДНК у них также заметно (на 60–90%) выше.

Авторы предположили, что дыхательная способность на одну молекулу мтДНК в больных клетках ниже, чем в здоровых, однако повышенная концентрация АФК индуцирует репликацию мтДНК, что увеличивает в больных клетках количество молекул мтДНК и отчасти компенсирует проблемы с клеточным дыханием, позволяя поддерживать его на относительно нормальном уровне.

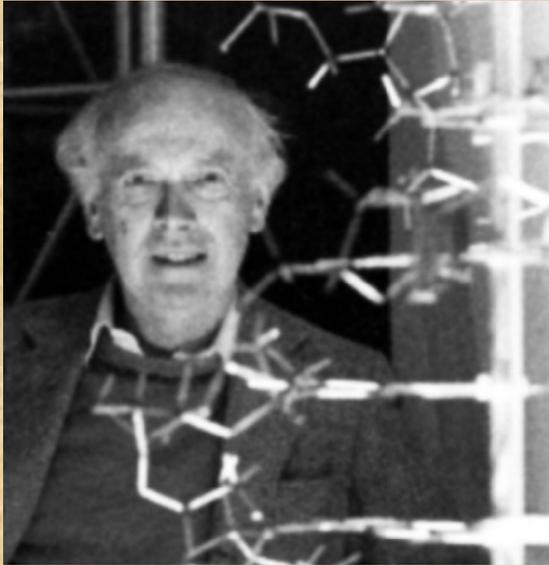
*R. Moreno-Loshuertos et al. 2006 [Differences in reactive oxygen species production explain the phenotypes associated with common mouse mitochondrial DNA variants](#) // *Nature genetics* **38**, 11, 1261-1268.*

Если в линии с мутантными митохондриями добавить антиоксиданты, то число митохондрий не увеличивается. Видимо, антиоксиданты элиминировали в больных линиях избыток АФК, что повлекло за собой снижение числа копий мтДНК и дыхательной способности всей клетки.

Таким образом, АФК играют ключевую роль в внутриклеточных компенсаторных механизмах. Когда выработка АТФ в клетке становится недостаточной из-за мутаций, **увеличивается выработка активных форм кислорода, которые в свою очередь стимулируют увеличение числа копий мтДНК** и, как следствие, число ферментов дыхательной цепи.

Таким образом, обнаружена еще одна роль АФК — компенсаторная регуляция активности клеточной дыхательной цепи через активацию репликации митохондриальной ДНК.

В старости мы болеем из-за нехватки... оксидантов



Джеймс Уотсон

Такую гипотезу высказал один из самых авторитетных биологов XX в., предложивший совместно с Криком модель двойной спирали ДНК, — Джеймс Уотсон. Гипотеза Уотсона, опубликованная в мартовском номере в журнале *Lancet* за 2014 г., предполагает, что такие болезни людей старших возрастных групп, как диабет 2-го типа, деменция, сердечно-сосудистые заболевания и некоторые виды рака связаны с неспособностью генерировать достаточные биологические окислители, в частности, активные формы кислорода (АФК). И именно отсутствие окислителей, а не их избыток является основой большинства старческих патологий, ибо клетки не могут нормально функционировать как без антиоксидантов, так и без оксидантов.

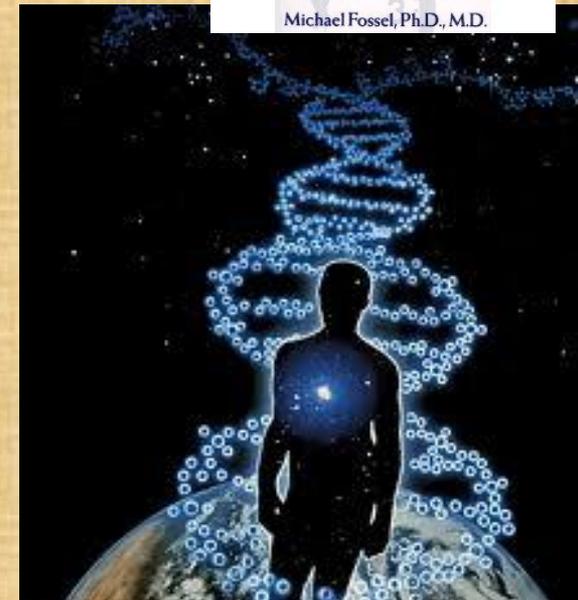
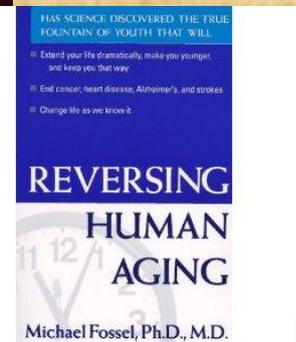
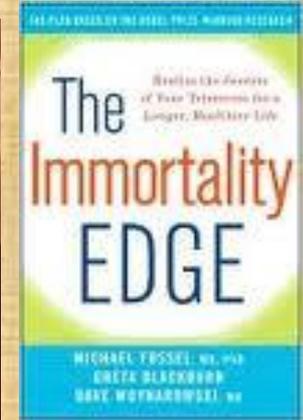
Watson J.D. Type 2 diabetes as a redox disease. Lancet. 2014; 383(9919): 841-3.

«Каждая, из взятых в отдельности ваших клеток делится, в конце концов, и две клетки соединяются, каждая из которых представляет собой клетку одного из ваших родителей (с митохондриями от вашей матери), а эти клетки в свою очередь пришли от их родителей, и так можно спускаться по оси времени назад, пока не дойдём до возникновения жизни. Следуя за вашей клеткой и её митохондриями назад по материнской линии, мы быстро поймем, что мы являемся частью линии клеток, которая имеет возраст 3,5 миллиарда лет. А вы выглядите достаточно хорошо, учитывая, что свободные радикалы повреждали ваши клетки на протяжении нескольких миллиардов лет. Почему же эти клетки не состарились и не умерли?»

Михаэль Фоссель, M.D., Ph.D., исполнительный директор Американской Ассоциации по старению (American Aging Association), главный редактор журнала The Journal of Anti-Aging Medicine



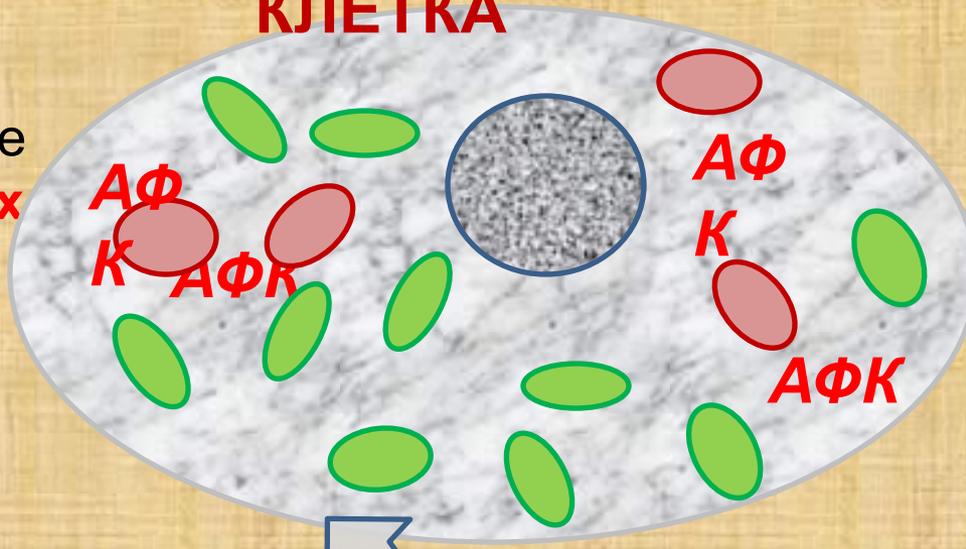
**Michael
Fossel, Ph.D**



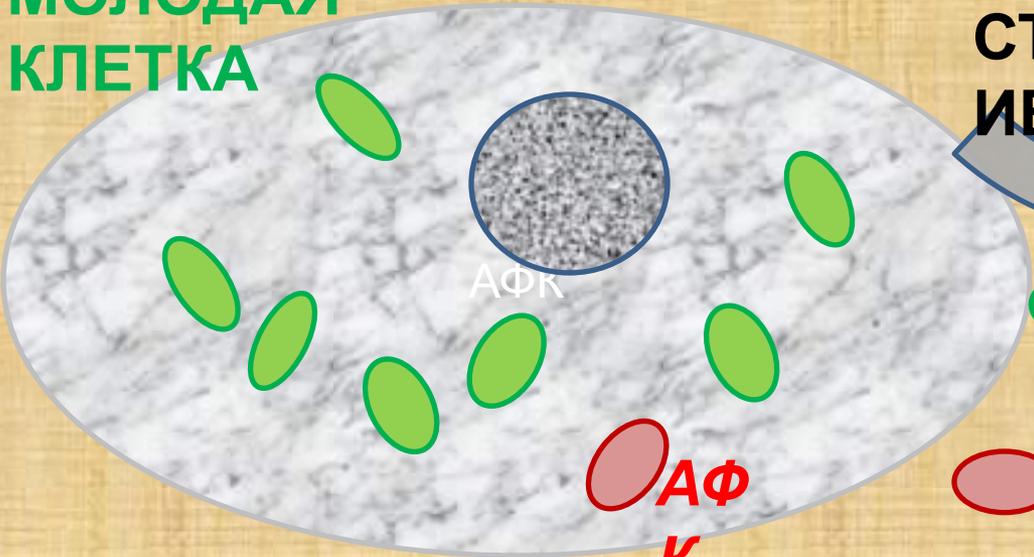
В митохондриях одновременно могут находиться и мутантные, и нормальные копии ДНК (возникает **гетероплазмия**).

В мутантных митохондриях при синтезе АТФ возникает еще больше **активных форм кислорода (АФК)**, которые повреждают клеточные макромолекулы, увеличивая частоту повреждений и мутаций. С возрастом такие поломки накапливаются.

СТАРАЯ КЛЕТКА



МОЛОДАЯ КЛЕТКА



СТАРЕНИЕ

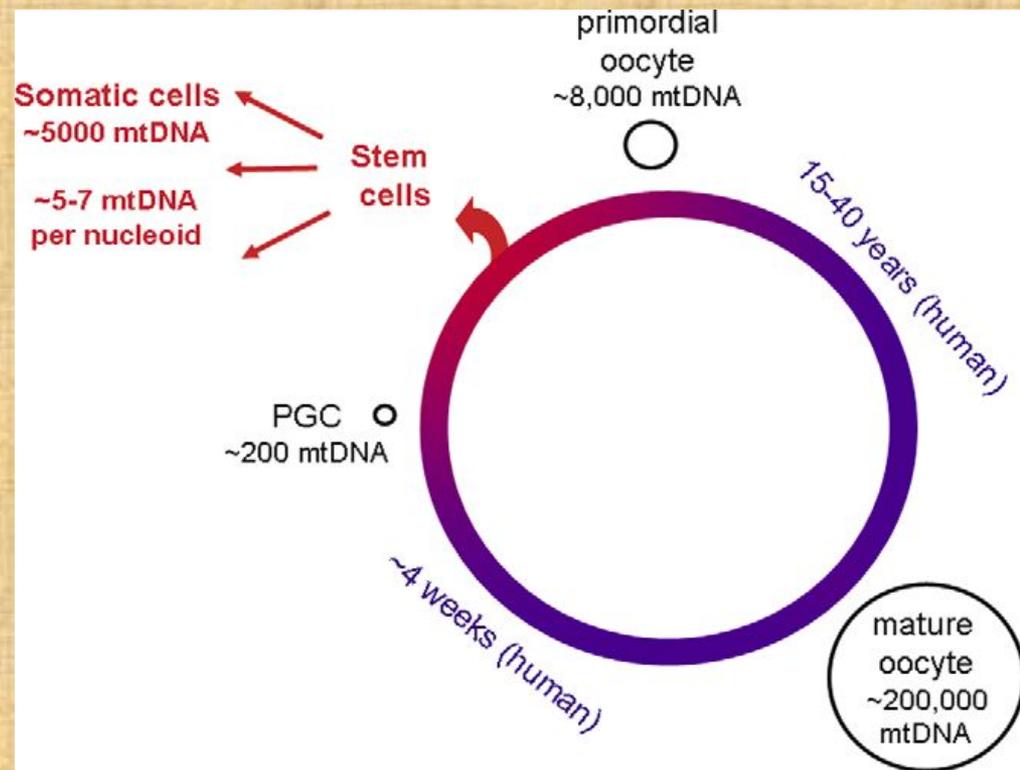
Нормальные митохондрии

Мутантные митохондрии

В природе **избавление от мутантных митохондрий происходит в яйцеклетках**

путем уменьшения числа митохондрий в клетке, детектирования мутантных и гибели клеток, содержащих много мутантных митохондрий.

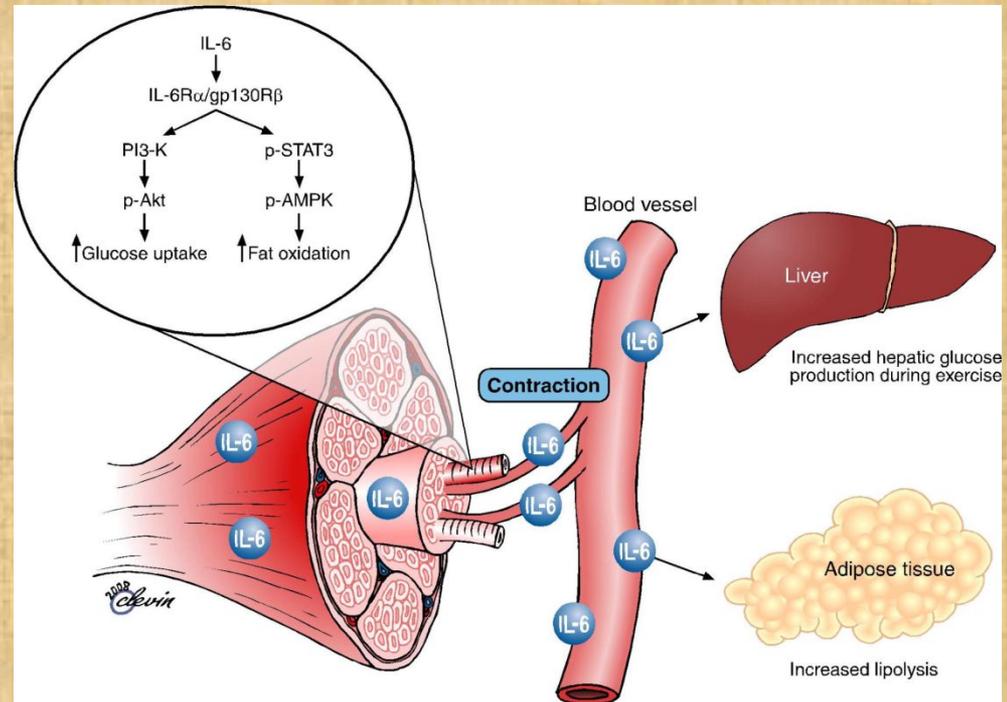
Vogehagen D.F. Does mtDNA nucleoid organization impact aging? Experimental Gerontology 45 (2010) 473–477



Жизненный цикл наследования мтхДНК в линии женских половых клеток.

Возможно ли повысить репаративные функции клетки?

Проф. Газиев А.И. : Да, возможно. Для этого нужно активировать функции репарационной системы путем введения гомологичных (подобных) модифицированных фрагментов ДНК или олигонуклеотидов в клетки. Известно также, что некоторые **ЦИТОКИНЫ**, небольшие, но очень важные пептидные молекулы, регулирующие межклеточные и межсистемные взаимодействия, активируют и репарацию ДНК.



**Pedersen BK, Febbraio MA.
Muscle as an Endocrine Organ:
Focus on Muscle-Derived
Interleukin-6. 2008, Physiol. Rev. 88:
1379–1406.**

С биологической точки зрения не может быть никакого пенсионного возраста и возраста вообще. Есть только рост и распад. И ваш организм ждёт вашего выбора.
Кроули К., Лодж Г.

Молекулами, которые управляют процессами роста и распада, являются **ЦИТОКИНЫ**, важнейшими из которых для понимания интересующих нас процессов являются **интерлейкины 6 (Ил-6) и 10 (Ил-10)**. В настоящее время в физиологии появилась вполне обоснованная точка зрения, что скелетные мышцы являются крупнейшим эндокринным органом нашего тела, которые во время физических нагрузок выделяют различные **ЦИТОКИНЫ**, называемые часто миокинами.

Причём **концентрация Ил-6 при физических упражнениях может возрасти в крови до 100 раз**. В ответ на выработку Ил-6 в организме запускается выработка Ил-10, противовоспалительного цитокина. Благодаря этому механизму в организме функционирует цикл распад-рост: появление Ил-6 запускает синтез Ил-10.

Легендарные женщины аргентинского танго

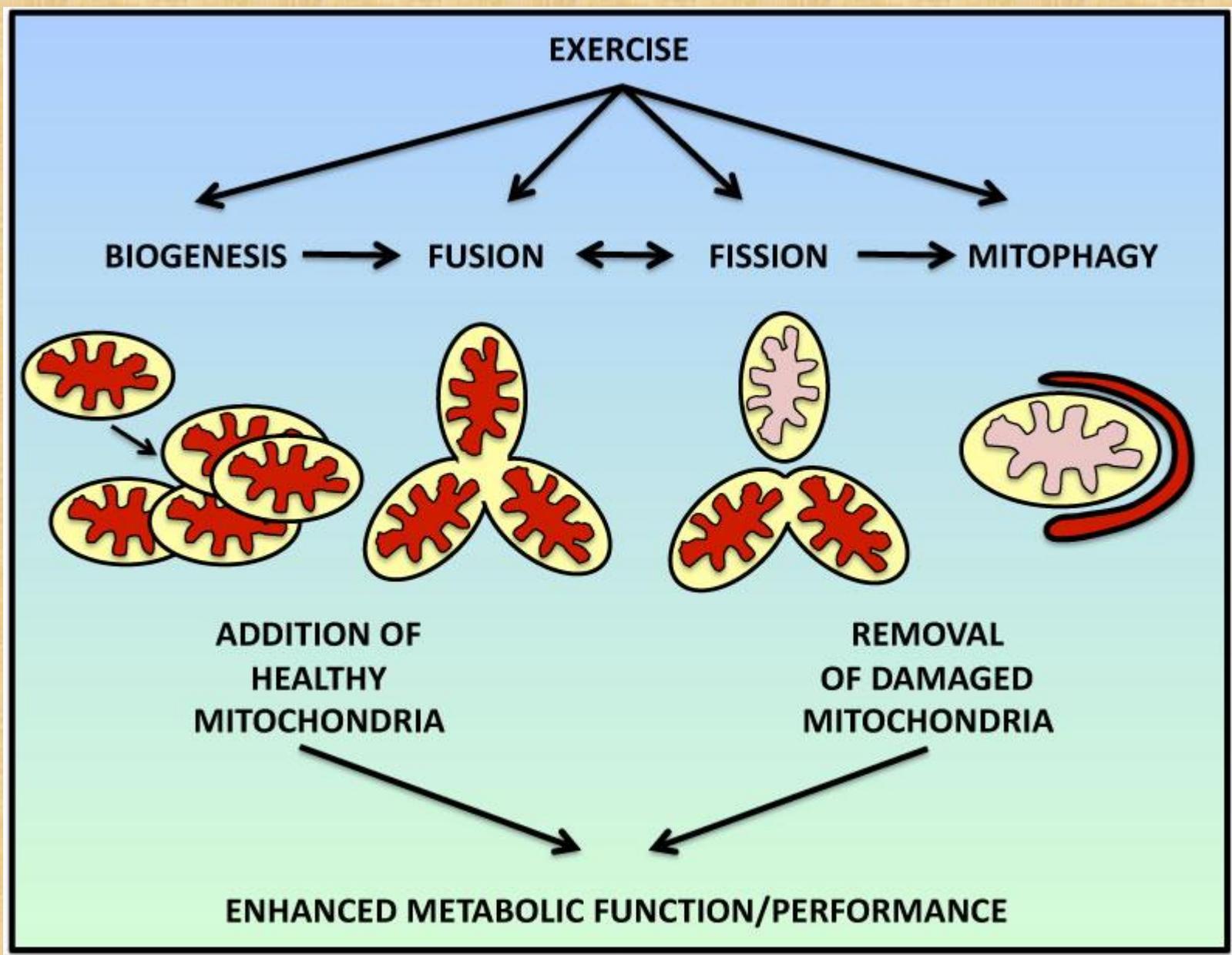


Graciela Caño в день 70-летия

Постоянная выработка **цитокинов** у танцовщиц стимулирует биогенез митохондрий, замедляя тем самым старение.

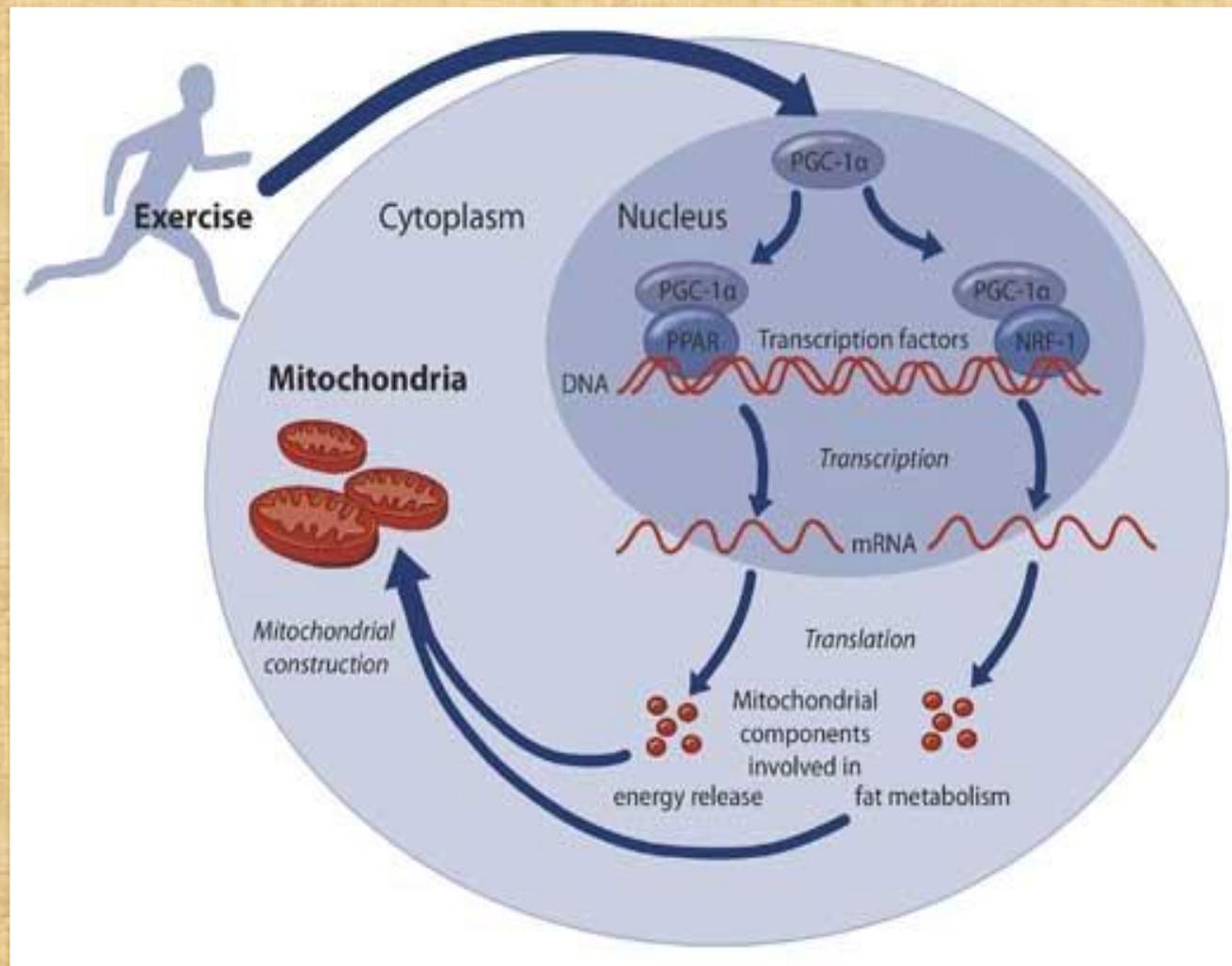


Легендарная танцовщица аргентинского танго Мария Ньевес любит спрашивать учеников в конце занятия: «Как вы думаете, сколько мне лет?» — «45! 40!!» — доносится из зала. «**70!**» — торжествует дива.



Yan Z, Lira VA, Greene NP. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. *Exerc Sport Sci Rev.* 2012 Jul;40(3):159-64.

Активация PGC-1A в миоцитах сердца ведет к индукции генов, кодирующих ферменты системы перекисного окисления липидов (Lehman et al., 2000). Также PGC-1A активирует ряд транскрипционных факторов, таких как NRF-1, которые стимулируют биогенез митохондрий и усиливают экспрессию генов, кодирующих компоненты системы переноса электронов в митохондриях (Huss et al., 2004).

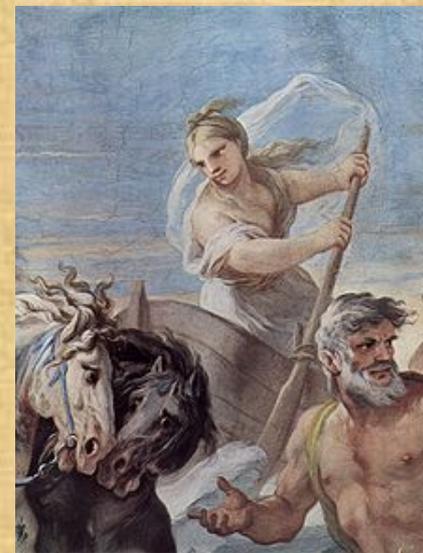


Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1α)

PPARGC1A (коактиватор 1 альфа рецептора активатора пероксисом)

Серийные сокращения мышц приводят к повышению в мышцах экспрессии фактора PGC-1 (ко-активатор рецептора пролиферации пероксисом), кодируемого геном PPARGC1A. PGC-1 α участвует в адаптации мышц к нагрузке, оказывая целый ряд разных эффектов. У мышей он, в том числе, опосредует увеличение продукции с гена FNDC5 и увеличение интенсивности его модификации в **иризин**.

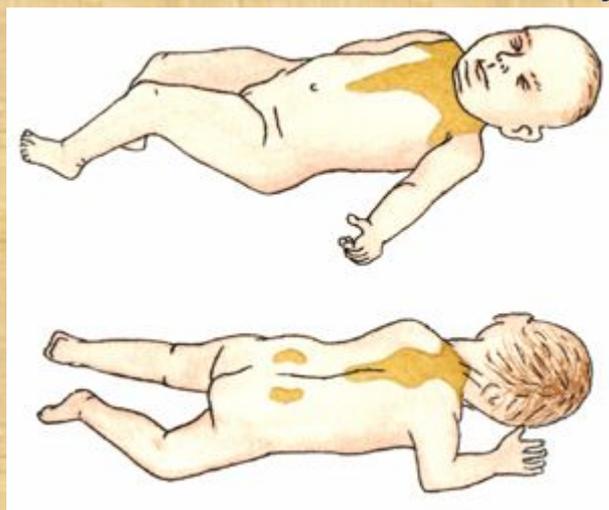
Предполагали, что иризин способствует превращению белого жира в бурый. И, по крайней мере, показано его участие в запуске термогенеза в жировой ткани. С использованием аденовирусов в качестве векторов, показано также, что при сверх-экспрессии FNDC5 в печени, у мышей резко увеличивается доля бурого жира. Впрочем, при тренировке мышц изменяется экспрессия примерно 1000 генов — и по данным других авторов, заметное влияние иризина проявляется далеко не у всех людей.



Регуляторный пептид назвали «иризином» в честь греческой богини Ирис (в русском произношении — Ирида), богини-вестницы, которая разносит поручения богов с быстротой ветра по земле, и в морские глубины.

Международная команда ученых из США, Дании и Италии установила, что при физической нагрузке скелетные мышцы выделяют ранее не известный гормон, названный иризином. Иризин действует на клетки белой жировой ткани, в которых у млекопитающих запасается жир. Воздействие гормона превращает их в клетки бурой жировой ткани, отвечающие за производство тепла. При введении в кровь иризин повышал расход энергии у мышей даже без изменения их подвижности и диеты. Это вызывало снижение массы тела и содержания сахара в крови у мышей, страдающих ожирением. Возможно, иризин найдет применение как лекарство для людей, страдающих ожирением и диабетом.

Pontus Boström, Jun Wu, Mark P. Jedrychowski, Anisha Korde, Li Ye, James C. Lo, Kyle A. Rasbach, Elisabeth Almer Boström, Jang Hyun Choi, Jonathan Z. Long, Shingo Kajimura, Maria Cristina Zingaretti, Birgitte F. Vind, Hua Tu, Saverio Cinti, Kurt Højlund, Steven P. Gygi, Bruce M. Spiegelman. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis // Nature. Published online 11 January 2012.



Распределение бурого жира у новорожденных. Изображение с сайта www.thehealthblog.net

С точки зрения физиологии физическая активность

- улучшает кровоснабжение мозга;
- создаёт двигательные нейронные карты;
- стимулирует производство и выделение нейронального фактора роста;
- стимулируют сенсорную и двигательную кору;
- тренируют систему равновесия.



Werner et al. Exercise Regulates Cardiac Telomere Biology

Journal of the American College of Cardiology Vol. 52,

No. 6, 2008, August 5, 2008: 470–82.

У мышей в клетках с беличьим колесом после 6 месяцев добровольных пробежек

активность теломеразы в сердце возрастала в 1,7 раза,

уровень белка p53 (проонкоген) уменьшался в 2 раза,

уменьшался уровень маркёров старения клеток,

повышалась их устойчивость к апоптозу.



Активация гена, контролирующего окислительный стресс в мышечных клетках, в полтора раза увеличивала продолжительность жизни плодовых мушек

В лаборатории обычные дрозофилы жили около 50 дней; если же синтез p38 MAP-киназы был у них повышен, они дотягивали до 75 дней. Сигнальные пути консервативны у разных организмов; MAP-киназы есть и у нас, и выполняют они примерно те же функции. Только представьте, что человек сможет жить в половину дольше, — и у вас захватит дух. Тем более что для увеличения продолжительности жизни может понадобиться всего лишь перепроизводство этого белка в мышцах... Удивительно другое: то, что ключевыми здесь

оказались даже не нервная ткань, а мышцы!
Vrailas-Mortimer A, Del Rivero T, Mukherjee S, Nag S, Gaitanidis A, Kadas D, Consoulas C, Duttaroy A, Sanyal S.

A Muscle-Specific p38 MAPK/Mef2/MnSOD Pathway Regulates Stress, Motor Function, and Life Span in Drosophila. Dev Cell. 2011 Oct 18;21(4):783-95.

Благодарю
за внимание



АТФ синтаза

<http://fregimus.livejournal.com/204427.html> фильм об АТФ синтазе

<http://www.youtube.com/watch?v=Kf4dda9EPqk> работа АТФ-синтазы

<http://www.youtube.com/watch?v=XI8m6o0gXDY>

Жизнь клетки <http://www.youtube.com/watch?v=yKW4F0Nu-UY>

