**ЛЕКЦИЯ 6**

**ДВУМЕМБРАННЫЕ ОРГАНОИДЫ**

*Размеры, форма и функции митохондрий и пластид. Гипотезы их происхождения.*

Двумембранный органоид – это полая структура, стенки которой образованы двойной мембраной. Известно 2 вида двумембранных органоидов: митохондрии и пластиды. Митохондрии – двумембранный органоид клетки, который является универсальным для всех эукариотных клеток, хотя у некоторых организмов, живущих в анаэробных условиях, могут отсутствовать, например, дезентерийная амеба, паразитирующий червь. Форма, размеры и количество митохондрий в клетках разнообразны, в сперматозоиде локализовано 4, 5 митохондрий, в яйцеклетках около 100000.



**Рисунок 6.1 – Структура митохондрии**

Происхождение митохондрий в настоящее время объясняется эндосимбиотической теорией. Эндосимбиотическая теория предполагает, что митохондрии образуются за счет эндоцитоза древней крупной анаэробной прокариоты, которая поглотила более мелкую аэробную прокариоту. Отношение таких клеток сначала были симбиотические, а затем крупная клетка стала контролировать процессы, происходящие в митохондрии.

Доказательства: разница в строении внутренней и наружной мембраны митохондрий; наличие в митохондриях собственной кольцевой ДНК (как у бактерий), которая содержит гены для определенных митохондриальных белков; наличие в мембране собственного белок-синтезирующего аппарата, причем рибосомы в нем прокариотного типа; деление митохондрий происходит простым бинарным путем, либо почкованием и не зависит от деления клетки.

Несмотря на определенную независимость митохондрии находятся под контролем эукариотной клетки. Например, в гиалоплазме синтезируются некоторые белки, необходимые для нормального функционирования митохродний, и некоторых белковых факторов, которые регулируют деление митохондрий.

Наружная мембрана гладкая, в основном состоит из липидов, белки представлены белками поринами. Они формируют нерегулируемые поры, через которые в межмембранное пространство из гиалоплазмы в митохондрии поступают различные вещества. Внутренняя мембрана содержит различные вещества. Внутренняя мембрана содержит до 70% белков (липопротеиновый коврик), площадь поверхности внутренней мембраны сильно увеличена за счет образования внутренних впячиваний или крист. На внутренней мембране локализованы переносчики для ПВК, неорганического фосфата, АТФ и АДФ. В большинстве случаев это сопряженные переносчики, которые представляют собой антипорты определенного вещества и протонов. На внутренней мембране локализована цепь переноса электронов, которая играет большую роль в энергообмене. За счет энергии электронов, передающихся по данной цепи, в межмембранное пространство выводятся протоны и на внутренней мембране создается электрохимический градиент относительно протонов. На внутренней мембране локализованы ферменты АТФ-синтетазы, причем в основном они находятся в районе крист. Фермент представлен ножкой и головкой, причем головка повернута в сторону матрикса, поэтому АТФ-синтетазу часто называют грибовидным телом. В некоторых местах наружная и внутренняя мембраны объединяется в контактном сайте с образованием транслокационных комплексов. Через эти комплексы в митохондрии транспортируются белки, которые синтезируются в гиалоплазме и для которых характерна определенная пептидная последовательность.

Функции митохондрий.

Участвуют в энергообмене клетки;

Способны расщеплять короткорадикальные жирные кислоты до АцСоА

В митохондриях способны синтезироваться холестерол и предшественники стероидных гормонов. Эта функция особенно характерна для клеток коры надпочечников и для половых желез.

В митохондриях может запасаться Са, и в этом смысле митохондрии дублируют функции гладкой ЭПС. Са в митохондриях связывается с Са-связывающими белками. Эта функция особенно характерна для нейронов и для кардиомиоцитов.

Митохондрии участвуют в метаболизме аммиака и в его переводе в мочевину. Первые две реакции синтеза мочевины протекают в митохондриях клеток печени, последние этапы – в цитоплазме гепатоцитов. Если патологичны ферменты всех 5-ти этапов синтеза мочевины, то наблюдается ярко выраженная аммиачная интоксикация (тошнота, рвота, головокружение). Если существуют наследственные дефекты ферментов, локализованных в митохондриях, то наблюдается гибель плода, либо гибель новорожденного. Дефекты цитоплазматических ферментов выражены в более мягкой форме.

В митохондриях могут запасаться некоторые питательные вещества, например, фосфопротеин в яйцеклетках (желток).

Энергообмен. С точки зрения использования кислорода весь энергообмен можно разделить на две крупных стадии: анаэробный обмен или бескислородный; аэробный или кислородный обмен.

В любом случае энергообмен – это совокупность реакций катаболизма, которые приводят к получению энергии. Часть энергии выделяется в виде тепловой, часть энергии запасается в виде макроэргических связей и в дальнейшей может быть использована на различные реакции метаболизма, например, на реакции синтеза. Для большинства организмов, живущих в анаэробных условиях, характерны обе стадии энергообмена. Для организмов, живущих в анаэробных условиях, характерен только анаэробный этап (некоторые бактерии, дезентирийная амеба, паразитирующий червь).

Анаэробный этап включает в себя две стадии:

* подготовительный этап;
* бескислородное расщепление глюкозы и гликолиз.

Аэробный этап проходит в митохондриях и включает в себя:

* прмежуточный этап;
* цикл Кребса (цикл трикарбоновых кислот, цикл лимонной кислоты);
* окислительное фосфорилирование.

Подготовительный этап заключается в расщеплении сложных веществ до простых. Образование макроэргов на этом этапе не идет. Этот этап проходит в кишечнике в процессах пристеночного пищеварения, либо в ходе фагических циклов в клетке.

Гликолиз заключается в расщеплении глюкозы до ПВК. На одну молекулу глюкозы затрачивается 2 молекулы АТФ и образуется 4 молекулы АТФ и 2 молекулы восстановленного переносчика, поэтому чистый выход на одну молекулу глюкозы = 2 молекулы АТФ и 2 молекулы НАДН Н+. Гликолиз проходит в гиалоплазме клетки. У некоторых бактерий вместо МК могут образовываться другие органические кислоты или этанол. Таким образом, у бактерий результатом гликолиза будет являться брожение, например, молочнокислое, спиртовое, лимоннокислое, уксуснокислое.

Промежуточный этап протекает в матриксе митохондрий. ПВК через поры в наружной мембране поступают в межмембранное пространство, а затем через пассивные переносчики на внутренней мембране поступает в матрикс. В матриксе ПВК расщепляется до остатков уксусной кислоты, которые соединяются с СоА. В ходе реакции расщепления выделяется СО2 и образуется восстановленный переносчик. Но на 1 молекулу глюкозы образуется 2 молекулы АцСоА и образуется 2 молекулы восстановленного переносчика.

Цикл Кребса протекает в матриксе митохондрий. Суть цикла заключается в сжигании уксусной кислоты и в получении энергии. Для этого АцСоА фиксируется на щавелеуксусной кислоте или ЩУКе.

По ходу встречается 4 фермента дегидрогеназы. За счет дегидрогеназ восстанавливаются переносчики и образуются 3 НАДН Н+ и 1 молекула ФАДН2. по ходу цикла располагаются ферменты декарбоксилазы, за счет которых образуются 2 молекулы СО2. в цикле необходима фиксация воды. По ходу цикла от трикарбоновых кислот отщепляется СоА, который затем присоединяется к другим трикарбоновым кислотам. За счет энергии отщепления образуется одна молекула ГТФ, в которой потом заменяется азотистое основание и образуется 1 молекула АТФ. Суть цикла заключается в получении восстановленных переносчиков, которые затем используются в процессах окислительного-фосфорилирования. На 1 молекулу глюкозы цикл прокручивается 2 раза (т.к. 2 АцСоА) и образуется 6 НАДН Н+, 2 молекулы ФАДН2 и 2 АТФ.

Окислительное фосфолилирование протекает на внутренней мембране митохондрий и делится на 2 процесса:

* окисление;
* фосфорилирование.

Окисление проходит за счет электронно-транспортной цепи, локализованной на внутренней мембране. Переносчики этой цепи – это, как правило, белковые комплексы, содержащие железо.

Флавопротеин способен отщеплять от восстановленного НАДН Н+ водород и расщеплять его на протоны и электроны. Он принимает на себя 2е- и за счет энергии этих электронов прокачивает два электрона в межмембранное пространство.

Убихинон ¬ небелковый железосодержащий фермент, способен отщеплять Н от ФАДН2, а также передавать е- следующему переносчику.

Цитохромредуктазный комплекс включает в себя 2 цитохрома (цитохром С и цитохром В) и способен прокачивать в межмембранное пространство 2 протона.

Метаболическая вода может использоваться в ходе цикла Кребса. Т.о. главный смысл процесса окисления заключается в создании градиента концентрации относительно протонов на внутренней мембране митохондрий (протонного резервуара в межмембранном пространстве не создается т.к. протоны способны диффундировать через поры в наружной мембраны в гиалоплазму). Донорами электронов в данном случае являются восстановленные переносчики, которые образуются в ходе гликолиза, промежуточного этапа и цикла Кребса, причем на одну молекулу НАДН Н+ в межмембранное пространство выкачивается 6 Н+, на одну молекулу ФАДН2 – 4 Н+. Акцептором электронов в окислении является О2.

Фосфорилирование осуществляется за счет фермента АТФ-синтетазы, которая локализована в основном на кристах внутренней мембраны. Каждый фермент включает в себя канальную часть и каталитическую. Канальная часть встроена во внутреннюю мембрану и является транспортером для протонов. Каталитическая часть повернута в сторону матрикса митохондрий и способна катализировать синтез АТФ. Поскольку за счет процесса окисления на внутренней мембране создается градиент относительно протонов, то протоны способны пассивным путем транспортироваться через канальную часть АТФ-синтетазы и, проходя через канальную часть, менять ее конформацию. Фермент активируется и осуществляется синтез АТФ из АДФ и Фн, а затем АТФ выводится в гиалоплазму клетки.

На одну молекулу НАДН Н+ образуется 6 Н+ -- 3 АТФ, на ФАДН2 образуется 4 Н+ --2 АТФ.

В энергообмене помимо глюкозы можно использовать β-окисление жирных кислот, причем в митохондриальном матриксе локализованы ферменты β-окисления короткорадикальных жирных кислот. На одну молекулу капроновой кислоты в энергообмене образуется 51 АТФ, что значительно больше, чем при использовании глюкозы, однако расщепление жирных кислот связано с определенными трудностями (смотри жиры). При использовании аминокислот возникают сложности связанные с реакциями дезаминирования.

Патологии митохондрий, связанные с нарушением энергообмена. Существует целый ряд наследственных заболеваний, которые связаны с патологиями митохондрий, это так называемые митохондриальные болезни, которые вызваны дефектами белков электротранспортной цепи или АТФ-синтетазы. Поскольку для развития нового организма принципиальное значение имеют митохондрии и яйцеклетки, то митохондриальные болезни наследуются только по материнской линии. При сильных дефектах всех белков цепи переноса клетки, как правило, погибают из-за ядовитых свойств О2. Если патологичны отдельные белки электро-транспортной цепи, то гибель не наблюдается, однако энергообмен смещен в сторону цикла Кребса и к гликолизу. Если патологичны АТФ-синтетазы, то энергообмен смещен к гликолизу и наблюдается явление лактоацидоза. Существуют химические вещества, которые могут полностью или частично блокировать ЭТЦ. К ним относятся цианиды, СО, сероводород. Существуют химические вещества, способные блокировать деятельность АТФ-синтетаз, например, избыток тириоидных гормонов. При этом развивается базедова болезнь. Энергообмен сдвинут к гликолизу. Температура тела повышена, сильное похудание. Существуют определенные вещества, например, многие антибиотики, которые вызывают возникновение ионофоров на внутренней мембране. Ионофоры препятствуют возникновению градиента протонов, следовательно, нормальной работе АТФ-синтетаз.

Пластиды – это органоиды эукариотной клетки, которые характерны только для растительных организмов. Это типичный двумембранный органоид. Теория происхождения сходна с теорией происхождения митохондрий. С точки зрения содержания пигмента пластиды можно разделить на три группы:

1. Хлоропласты – это пластиды, основным пигментом которых является хлорофилл. Основной функцией пластид являются фотосинтетические процессы.

2. Хромопласты – это пластиды, содержащие в основном каратиноид (относится к липоидам), который окрашивает пластиды в желтый и оранжевый цвет. В небольшом количестве встречается хлорофилл. Встречается в зрелых плодах.

3. Лейкопласты не содержат пигментов, в них запасаются различные вещества, например, крахмал. Встречается в запасных частях растений.

Между всеми видами пластид существует генетическая связь, и один вид может переходить в другой. Например, эвглена зеленая в отсутствии света переходит к гетеротрофному питанию и ее хлоропласты превращаются в лейкопласты. При созревании плодов хлоропласты превращаются в хромопласты.

Строение всех трех типов пластид достаточно универсально. Наружная и внутренняя мембраны гладкие не имеют выростов, между мембранами находится межмембранное пространство. Наружная мембрана в основном представлена липидами и образует нерегулируемые поры за счет белков поринов. На внутренней мембране располагается большое количество переносчиков и ферментов. В клетке, по сравнению с митохондриями появляется дополнительный функциональный компартмент, который получил название тилакоид. Тиллакоиды представляют собой мембранные цистерны, причем стопка тиллакоидов получила название грана. В настоящее время считается, что тиллакоиды образовались из крист за счет замыкания внутренней мембраны.

В пластидах существует собственная кольцевая ДНК которая прикреплена к мезосоме, находящейся на внутренней мембране. Внутреннее содержимое пластид называется стромой. В строме пластид находится белок-синтезирующий аппарат, представленный рибосомами прокариотного типа. Между внутренней и наружной мембраной существуют контактные сайты, в которых располагаются транслокационные комплексы. Часть белков пластид синтезируется в цитоплазме клетки, они имеют специальные пептидные последовательности, которые опознаются транслокационными комплексами. На мембране тиллакоидов располагаются светочувствительные пигменты хлорофилл и каротиноид. Кроме того в мембрану тиллакоидов встроены белковые магний-содержащии комплексы, которые образуют ЭТЦ. На мембране тиллакоидовраспологается фермент АТФ-синтетаза, за счет которой происходит синтез АТФ.

Преобразование энергии солнца на мембранах тилокоидов осуществляется в первую очередь за счет комплексов молекул хлорофиллов. Молекулы хлорофилла построены из пиррольных колец, которые связаны между собой через магний. Такая система имеет достаточно длинный углеводный радикал, с помощью которого она локализована в мембране тилокоидов. Комплексы молекул хлорофилла получили название фотосистемы. Существуют два вида фотосистем: фотосистема 1 и фотосистема 2, которые сходны по своему строению. В каждой фотосистеме выделяют антенный центр и реакционный центр. Антенный центр состоит из нескольких сотен молекул хлорофила и необходим для улавливания света. Энергия кванта света, попадая на молекулы в антенный центр, возбуждает их, причем энергия передается от молекулы к молекуле без передачи электронов. Энергия возбуждения достигает реакционного центра. Он состоит из 2 молекул хлорофилла, причем из каждой молекулы хлорофилла выбивается по два электрона, которые затем передаются по цепи переносчиков. Световые реакции можно разделить на два процесса:

1. Нециклическое фосфолилирование, в нем участвует обе фотосистемы

2. Циклическое фосфолилирование, в нем участвует только фотосистема 1.

Из реакционного центра фотосистемы 2 4е- передаются по цепи электронов на пластохинон. Электронные дыры в реакционном центре восстанавливаются за счет электронов, которые образуются при расщеплении Н2О. Эта реакция походит только на свету под действием фермента, который возбуждается при попадании на него кванта света, поэтому данная реакция получила название фотолиза. С пластохинона электроны передаются на комплекс в6-f, который является интегральным белковым комплексом и способен прокачивать протоны в тилокоидное пространство. Электроны передаются на пластоциан, а затем на фотосистему 1 и закрывают в ней электронные дыры. От реакционного центра фотосистемы 1 электроны передаются на феррадоксин, а затем на НАДФ-редуктазу. Она катализирует восстановление НАДФ в строме пластид. Т.о. в нециклическомфосфолилирование донором электроном является Н2О, а конечным акцептором НАДФ.

Если в растительной клетке наблюдается дефицит АТФ 9 связанный с недостатком нециклического фосфолилирования или недостатком синтеза в митохондриях АТФ, то на мембране тилокоидов проходит процесс циклического фосфолилирования. В этом случае НАДФ не восстанавливается, а электроны возвращаются на цепь переносчиков, причем фотосистема 2 выключается из процесса.

Биологический смысл процессов, происходящих на ЭТЦ, заключается в создании в тиллакоидном пространстве резервуара протонов и в появлении на тиллакоидной мембране потенциала относительно протонов. Это необходимо для того, чтобы активировать АТФ-синтетазу. Полученная АТФ, а также полученные восстановленные переносчики НАДФН2, используются в темновых реакциях фотосинтеза.

Центральным моментом темновых реакций является фиксация СО2 на пятиуглеродном сахаре рибулоза-1,5-дифосфат, эта реакция проходит с использованием Н2О. Катализирует эту реакцию фермент, который находится в строме хлоропластов и который называется рибулоза-дифосфат-карбоксилаза. В строме пластид количество данного белка составляет примерно 50% от всех белков. Темновые реакции реализуются в ходе цикла Кальвина-Бенсона. В каждом цикле фиксируется 3 молекулы СО2 и при этом затрачивается 6 молекул НАДФН2 и 9 молекул АТФ, используется 1 молекула воды. На основе ГА-3Ф выведенного из цикла синтезируются все органические вещества. ГА-3Ф является ключевым продуктом гликолиза он поступает в геалоплазму и превращается во фруктозу-6-фосфат и глюкозу-6-фосфат, на основе которых синтезируется сахароза. Из оставшегося в строме ГА-3Ф в темноте образуется крахмал. Ночью он используется для поддержания метаболизма в клетке растений. На основе ГА-3Ф синтезируются аминокислоты, причем азот и серу, необходимые для этого синтеза растения получают из почвы. На основе ГА-3Ф синтезируются глицерин и жирные кислоты, за счет которых можно получить липиды.

Основными факторами, которые воздействуют на процесс фотосинтеза являются освещенность, влажность и температура, причем эти факторы связаны между собой, поэтому можно говорить о их комплексном воздействии. Влажность и освещенность по-разному воздействуют на растения в условиях умеренного пояса и тропиков. В умеренном поясе интенсивность фотосинтеза максимальна в 12 часов дня, т.к. освещенность максимальна, а влажность в норме, в тропиках при максимальной освещенности в 12 дня наблюдается дефицит воды. Вода является органическим фактором для световой фазы, т.к. необходим фотолиз воды. Величина освещенности или инсоляция крайне важна, т.к. при слишком сильной освещенности пластиды разрушаются, поэтому они поворачиваются в клетках параллельно пучку проходящего света. Таким образом, для пластид характерно явление фототаксиса. Температура влияет на интенсивность фотосинтеза, как и на любой синтетический процесс. С повышением температуры интенсивность фотосинтеза растет. При повышении температуры в целом возрастает уровень метаболизма и энергообмена. Существуют определенные температуры, при которых количество синтезируемых веществ равно количеству расщепляемых веществ, следовательно, интенсивность фотосинтеза резко понижается. Концентрация СО2 не является ограничивающим фактором для фотосинтеза, однако в целом при увеличении количества СО2 фотосинтез интенсифицируется.

**Вопросы для самоконтроля**

1. Объясните какое строение и функции имеют метохондрии и пластиды? 2. Каково их происхождение? 3. В чем суть цикла Кребса? 4. Какое строение имеют все три типа пластид? 5. Как называется в клетке дополнительный функциональный компартмент? 6. Как называется стопка тиллакоидов? 7. За счет чего осуществляется преобразование энергии солнца на мембранах тилокоидов? 8. На какие два процесса можно разделить световые реакции? 9. В чем биологический смысл процессов, происходящих на ЭТЦ? 10. Какие основные факторы, которые воздествуют на процесс фотосинтеза? 11. Как температура влияет на интенсивность фотосинтеза?