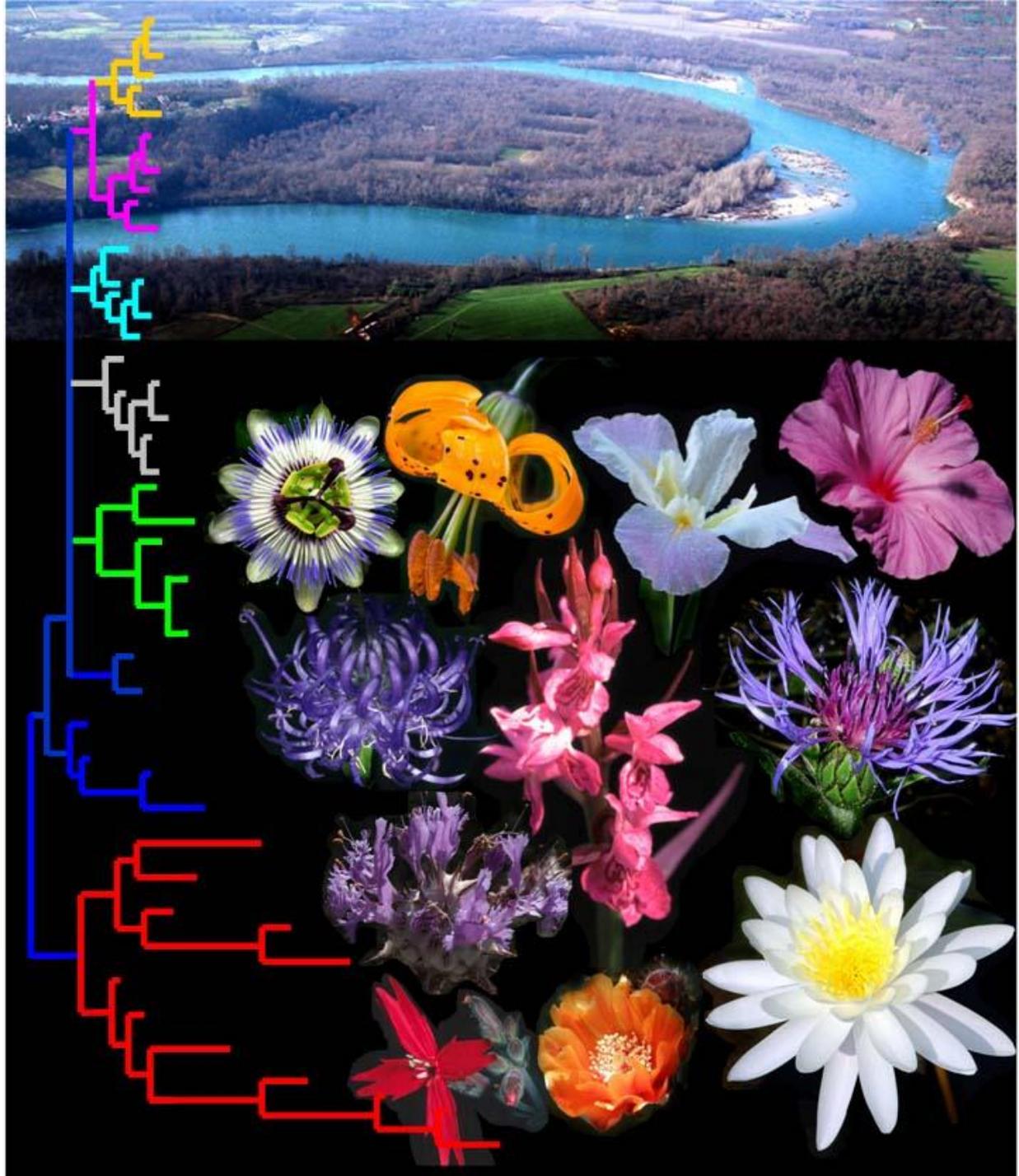


Физиология Растений

Демидчик
Вадим
Викторович

ЭТЦ дыхания
лекции 14-15



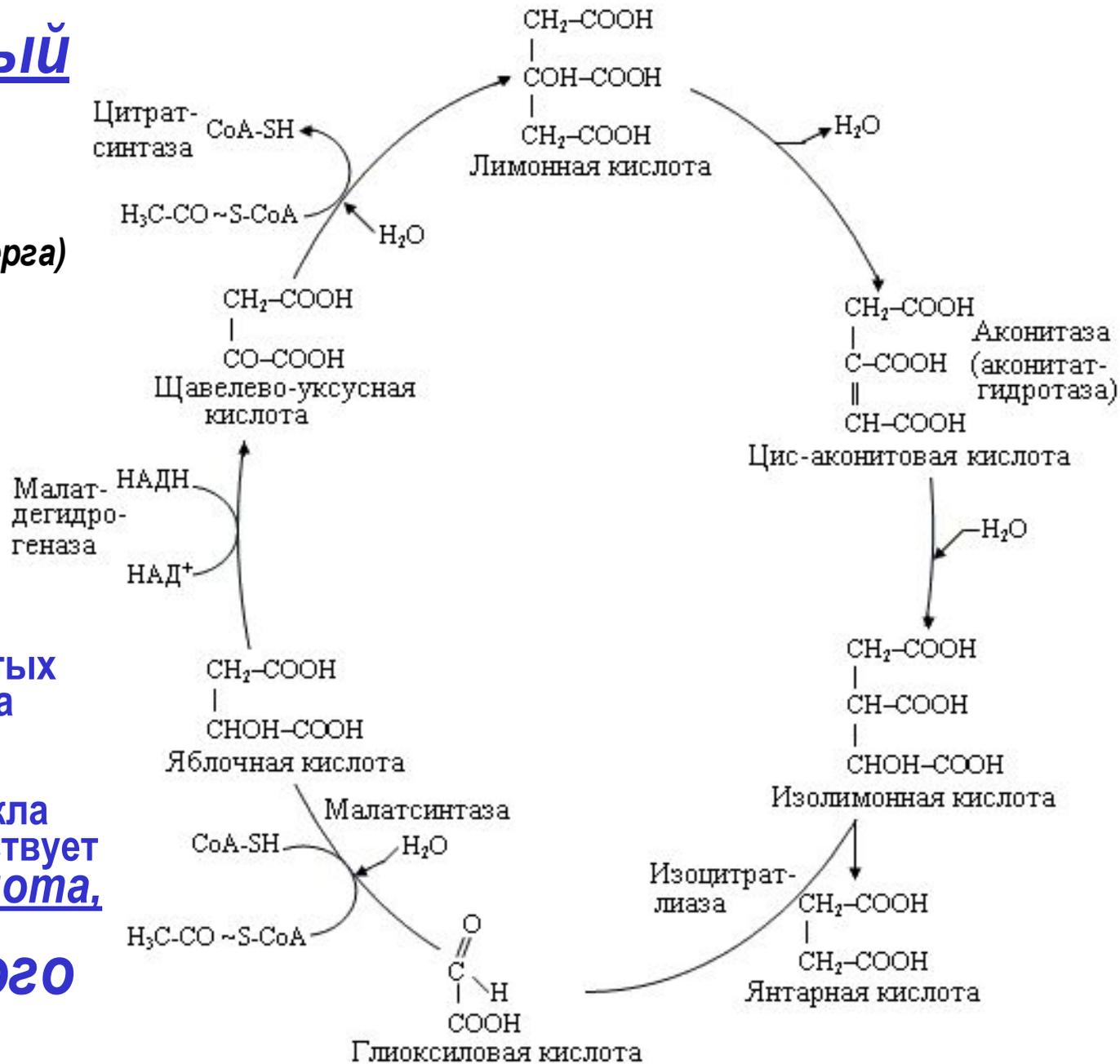
Глиоксилатный путь (цикл)

Он же Цикл Корнберга
(в лит-ре Кребса-Корнберга)

Правильнее было бы
Назвать цикл Кребса
циклом
Кребса-Корнберга

При прорастании богатых
жиром семян ход цикла
Кребса изменяется.

Эта разновидность цикла
Кребса, в которой участвует
глиоксиловая кислота,
получила название
**глиоксилатного
цикла**



Значение глиоксилатного цикла

- НАДН может окисляться с образованием трех молекул АТФ.
- сукцинат (янтарная кислота) выходит из глиоксисомы и поступает в митохондрию, где включается в цикл Кребса. Тут он преобразуется в ЩУК, затем в пируват, фосфоенолпируват и дальше в сахар.

Таким образом, с помощью глиоксилатного цикла жиры могут преобразовываться в углеводы.

Это очень важно особенно при прорастании семян, так как сахара могут транспортироваться из одной части растения в другую, а жиры лишены такой возможности.

Глиоксилат может служить материалом для синтеза порфиринов, а это значит и хлорофилла.

ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНАЯ ЦЕПЬ ДЫХАНИЯ

Энергия, которая освобождается при разрушении дыхательного субстрата, запасается частично в виде АТФ, а частично в виде восстановленных коферментов (**НАДН, НАДФН и ФАДН₂**).

В результате гликолиза в анаэробных условиях образуются **2 молекулы АТФ и 2 молекулы НАДН**; при последовательном осуществлении гликолиза и цикла Кребса в аэробных условиях – **4 молекулы АТФ, 10 молекул НАДН и 2 молекулы ФАДН₂**.

Во время глиоксилатного цикла образуется **1 молекула НАДН**.

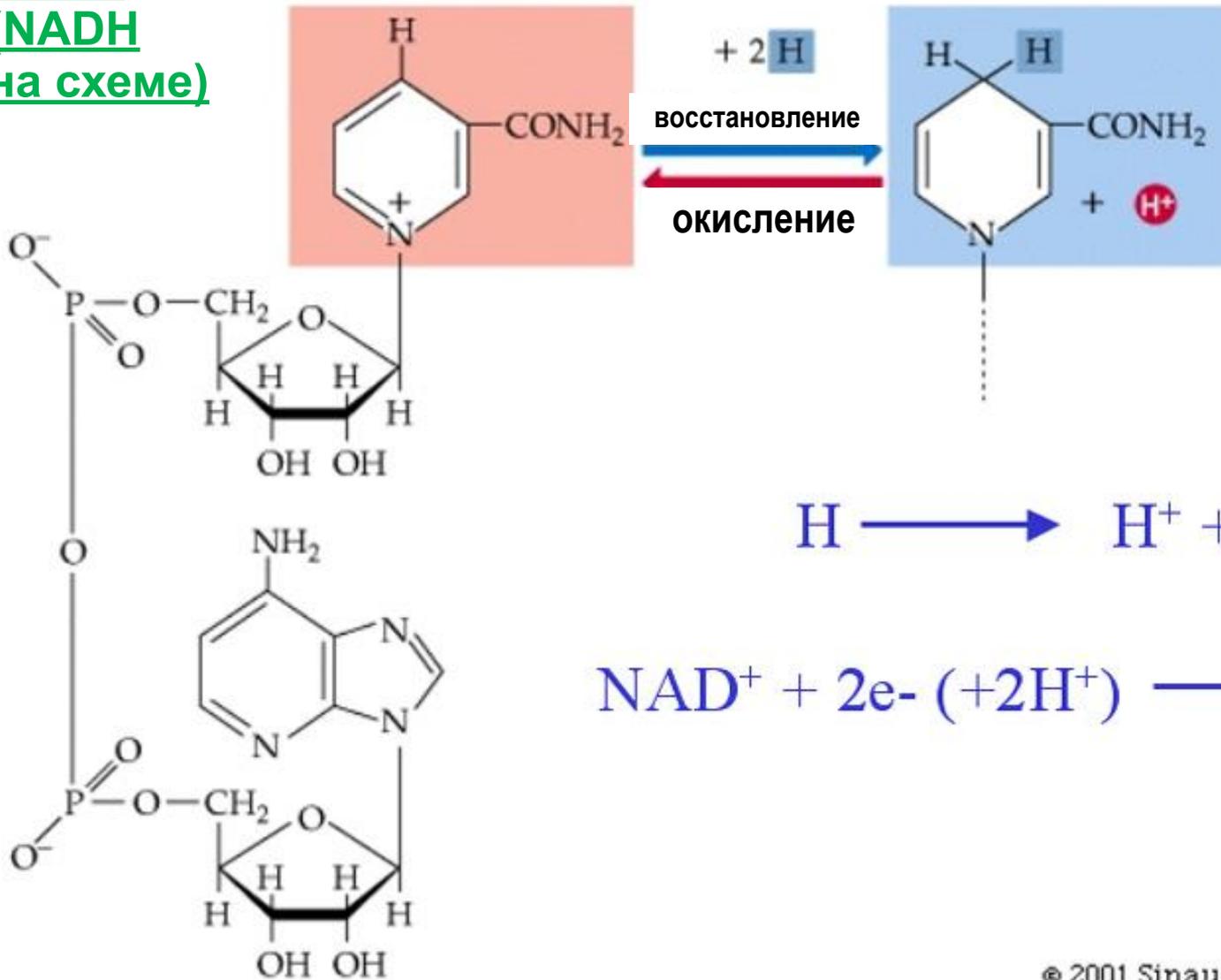
При разрушении глюкозо-6-фосфата в пентозофосфатном окислительном цикле образуется **12 молекул НАДФН**.

ЭЛЕКТРОН-ТРАНСПОРТНАЯ ЦЕПЬ ДЫХАНИЯ

НАДН
(NADH
на схеме)

Окисленная форма (NAD^+)

Окисленная форма ($\text{NADH} + \text{H}^+$)

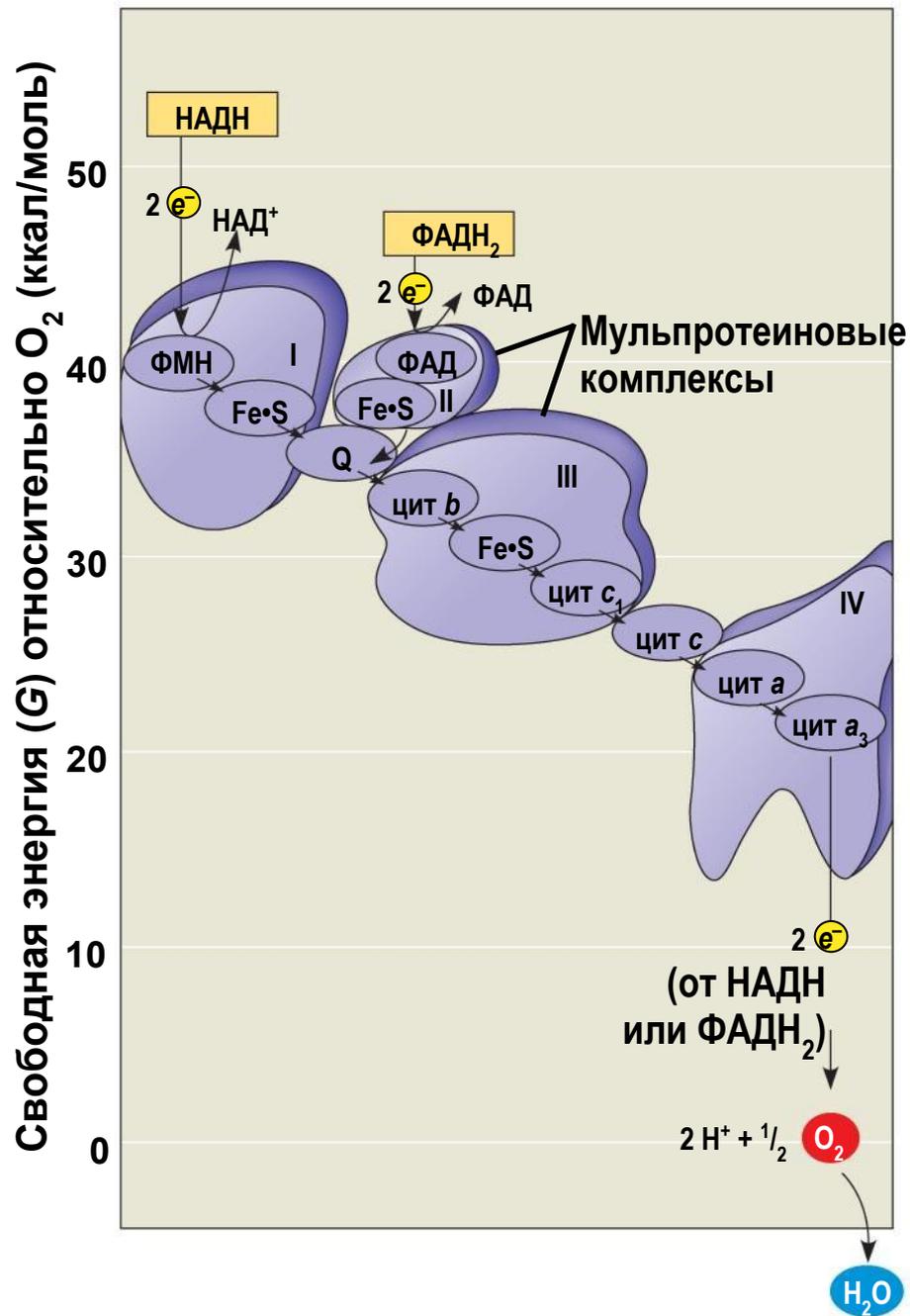


Электрон-транспортная цепь (ЭТЦ) расположена к кристах митохондрий.

Большинство её компонентов белки, которые объединены в сложные белковые комплексы, переносящие электроны.

Эти белковые переносчики электронов изменяют свое окисленное и восстановленное состояние – выступают в роли доноров и акцепторов электронов.

Свободная энергия электронов уменьшается на их пути по ЭТЦ. Цепь заканчивается восстановлением O_2 , что приводит к формированию H_2O .



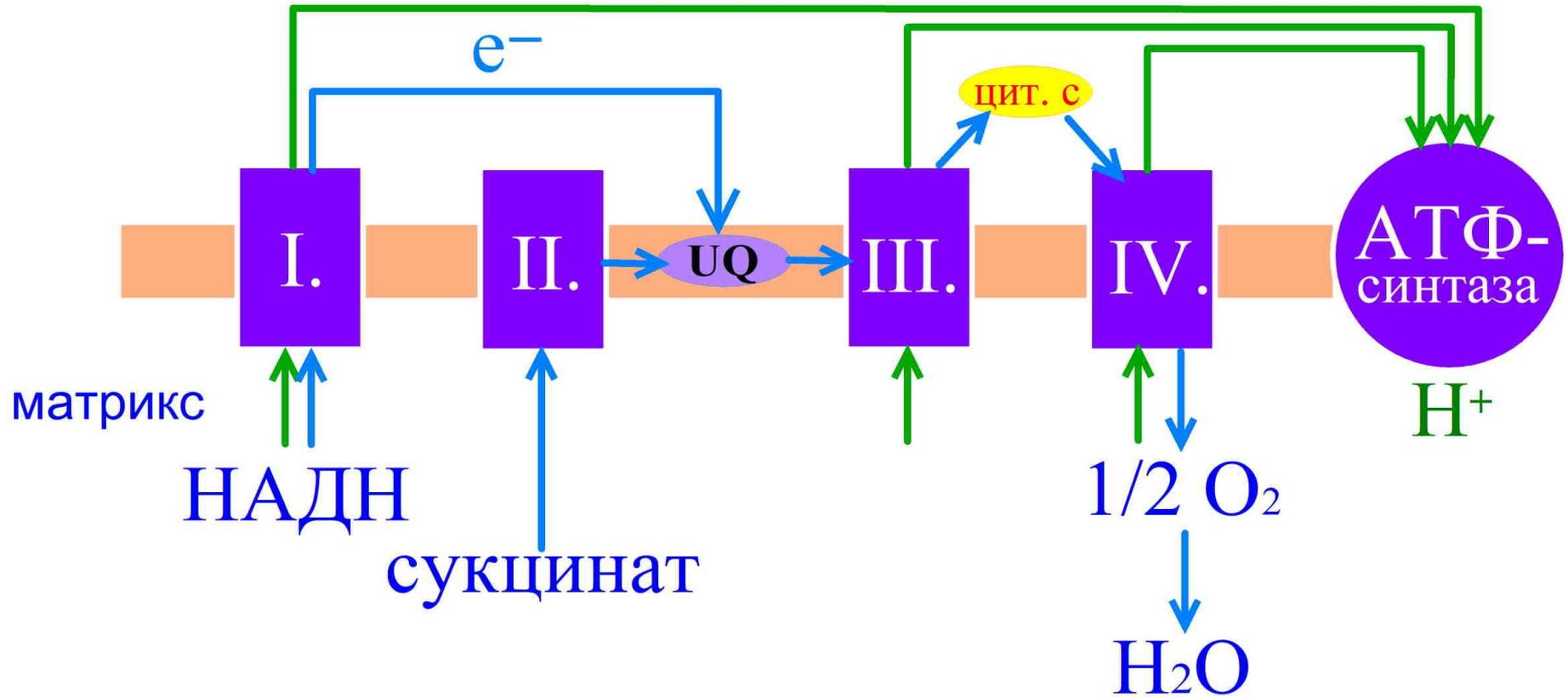
Во время дыхания большая часть энергии течет в следующем направлении:

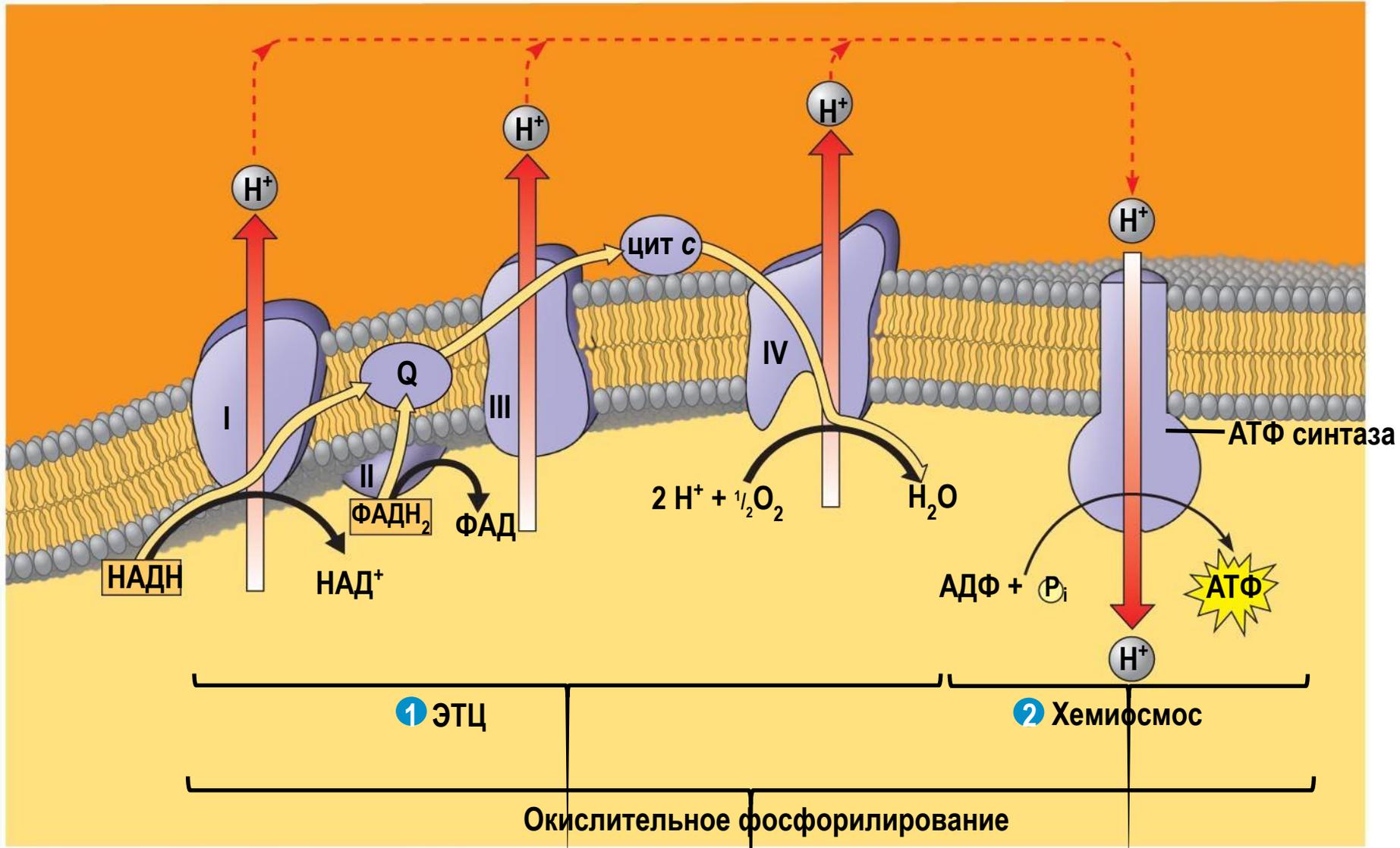
Глюкоза - НАДН – ЭТЦ – протон-движущая сила – АТФ

Около 40% энергии молекулы глюкозы переносится на АТФ в ходе клеточного дыхания, производя суммарно 38 АТФ.

Упрощенная схема ЭТЦ

внутримембранное пространство





Комплексы ЭТЦ

Компоненты	Характеристика	E, В
Комплекс I (НАД(Ф)Н – убихинон-оксидоредуктаза)		
НАД(Ф)Н	Никотинамидадениндинуклеотид восстановленный	– 0,320
ФМН	Флавинмоноклоеотид – кофермент дегидрогеназы, окисляющей эндогенный НАДН	– 0,070 – 0,300
	Железосерные центры (белки):	
FeS_{N1}		– 0,305
FeS_{N2}	$N_1 - 2Fe_2S; N_2, N_3 - 4Fe_4S$	– 0,245
FeS_{N3}		– 0,020

Комплексы ЭТЦ

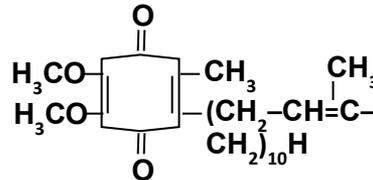
Комплекс II (сукцинат – убихинон-оксидоредуктаза)

ФАД	Флавинадениндинуклеотид – кофермент сукцинатдегидрогеназы	– 0,045
	Железосерные белки:	– 0,007
FeS _{S1}		
FeS _{S2}	S ₁ , S ₂ – 2FeS-типа	(0,230)
FeS _{S3}	S ₃ – 4Fe4S-типа	+ 0,080
UQ (Q)	Убихинон – липидорастворимый одно- и двухэлектронный переносчик	+ 0,070

Комплексы ЭТЦ

Комплекс II (сукцинат – убихинон-оксидоредуктаза)

ФАД	Флавинадениндинуклеотид – кофермент сукцинатдегидрогеназы	- 0,045
	Железосерные белки:	- 0,007
FeS _{S1}	S ₁ , S ₂ – 2FeS-типа S ₃ – 4Fe4S-типа	(0,230)
FeS _{S2}		
FeS _{S3}		+ 0,080
UQ (Q)	Убихинон – липидорастворимый одно- и двухэлектронный переносчик	+ 0,070



Комплексы ЭТЦ

Комплекс III (убихинол – цитохром с-оксидоредуктаза)

Цитохромы	Гемопротеины, в которых гем связан с белком нековалентно	
b_{556}		+ 0,075
b_{560}		+ 0,080
Цит. c_1	Цитохром c_{552} – гемопротеин; гем ковалентно связан с белком	+ 0,235
FeS_R	Железосерный белок Риске (2Fe2S)	+ 0,280
Цит. c	Цитохром c_{550} – гемопротеин; гем ковалентно связан с белком; водорастворим	+ 0,235

Комплексы ЭТЦ

Комплекс IV (цитохром с – кислород-оксидоредуктаза; (цитохромоксидаза)

Цит. а	Цитохром а – гемопротейн, гем которого нековалентно связан с белком	+ 0,190 + 0,210
Cu _A	Атом меди, функционирующий с цит. а как редокс-компонент комплекса	
Цит. а ₃	Цитохром а ₃ – гемопротейн; способен взаимодействовать с кислородом	+ 0,385
Cu _B	Атом меди, функционирующий с цит. а ₃ при образовании комплекса с кислородом	
O ₂ , H ₂ O	$1/2O_2 + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow H_2O$	+ 0,816

Комплексы ЭТЦ

Комплекс I переносит электроны от НАД(Ф)Н к убихинону Q.

Его субстратом служит молекула внутримитохондриального НАДН, который восстанавливается в цикле Кребса.

В состав комплекса входит флавиновая ФМН-зависимая НАД(Ф)Н – убихинон-оксидоредуктаза, содержащая три железосерных центра ($\text{FeS}_{\text{N1-3}}$).

При встраивании в искусственную фосфолипидную мембрану этот комплекс функционирует как протонная помпа.

Комплексы ЭТЦ

Комплекс II катализирует окисление сукцината убихиноном.

Эту функцию выполняет флавиновая (ФАД-зависимая) сукцинат – убихинон-оксидоредуктаза, в состав которой входят три железосерных центра (FeS_{1-3}).

Комплексы ЭТЦ

Комплекс III переносит электроны восстановленного убихинона к цитохрому c_1 , т. е. функционирует как убихинон – цитохром c -оксидоредуктаза.

В своем составе он содержит цитохромы b_{556} , b_{560} , c_1 и железосерный белок Риске.

По структуре и функции он подобен цитохромному комплексу $b_6 - f$ тилакоидов хлоропластов.

В присутствии убихинона комплекс III осуществляет активный трансмембранный перенос протонов.

В комплексе IV электроны переносятся от цитохрома *c* к кислороду, т. е. этот комплекс является цитохром *c* – кислород-оксидоредуктазой (цитохромоксидаза).

В его состав входят четыре редокс-компонента: цитохром *a* a_3 и два атома меди.

Цитохром a_3 и Cu_B способны взаимодействовать с O_2 , на который передают электроны от цитохрома *a* – Cu_A .

Транспорт электронов через комплекс IV связан с активным переносом H^+ .

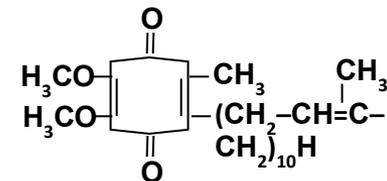
Взаимодействие цитохрома a_3 – Cu_B с O_2 подавляется цианидом, азидом и CO.

В последнее время показано, что комплексы I, III и IV пересекают внутреннюю мембрану митохондрий.

Все компоненты цепи, за исключением убихинона представляют собой белки с характерными простетическими группами. В состав цепи входят белки трех типов:

- **флавопротеины**, содержащие в качестве простетической группы флавинмоноклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД);
- **цитохромы**, содержащие в качестве простетической группы геммы;
- **железосеропротеины**, в которых простетическая группа состоит из негемового железа, связанного комплексно с неорганической серой или серой цистеина.

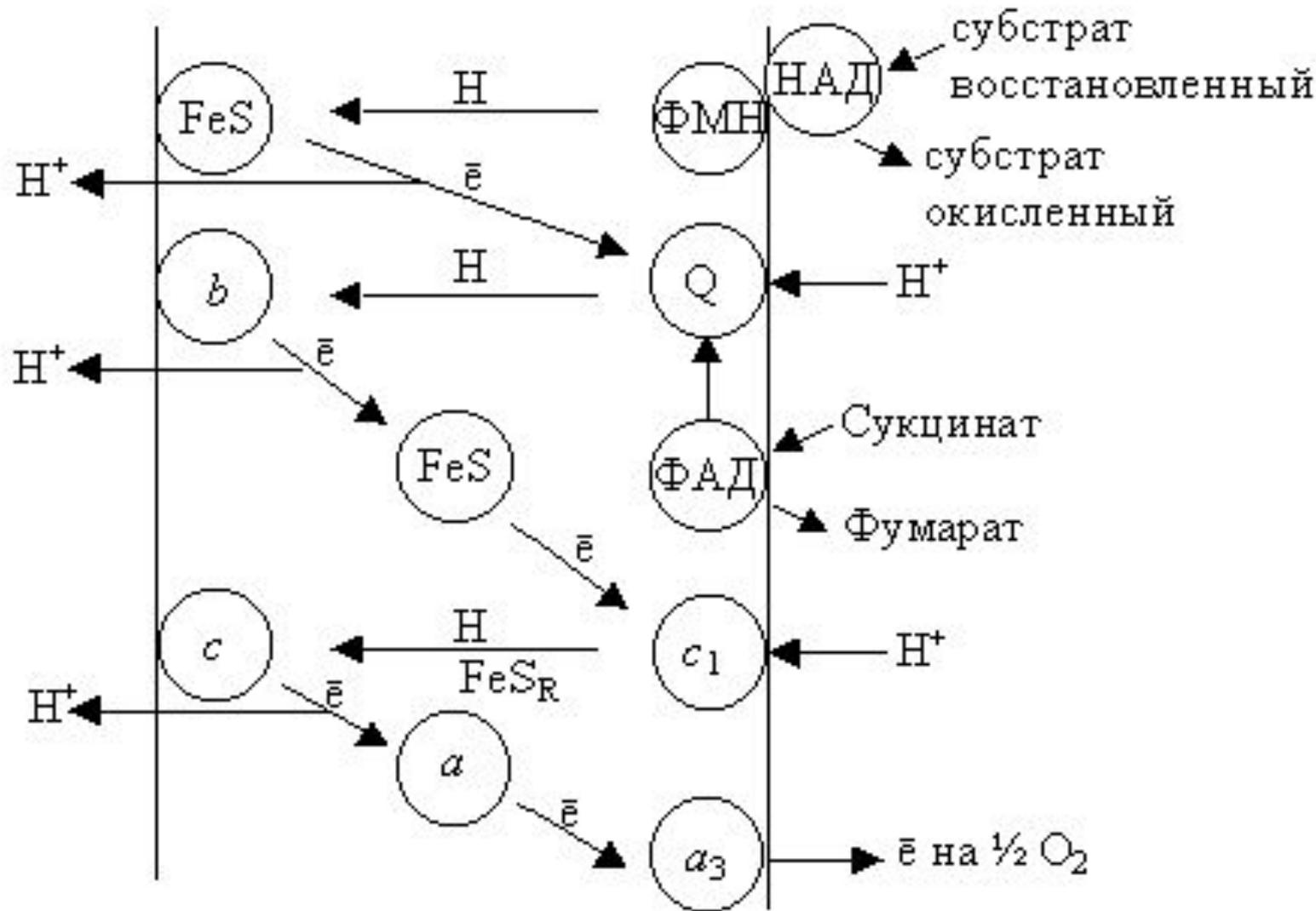
Убихинон – липид, который состоит из бензохинона и длинной гидрофобной изопреноидной боковой.



Межмембранное пространство

Мембрана

Матрикс



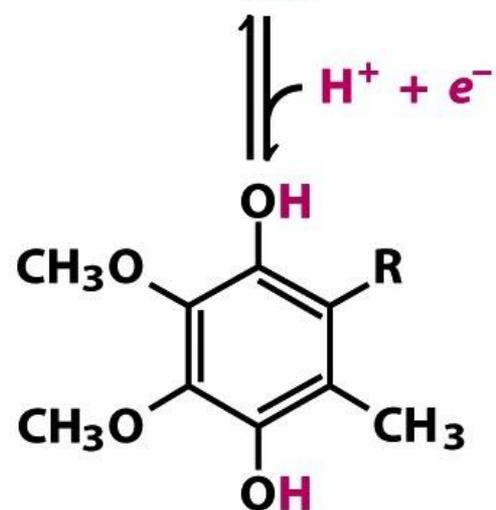
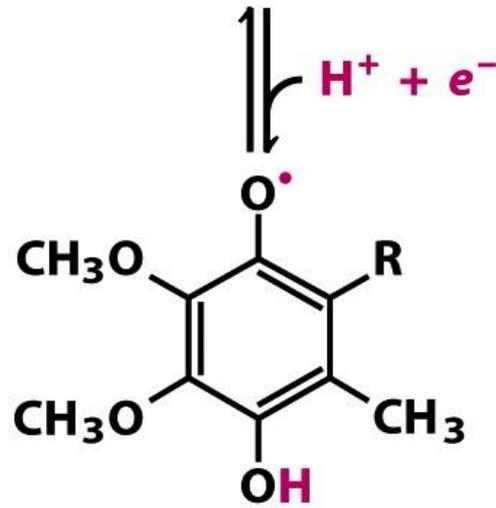
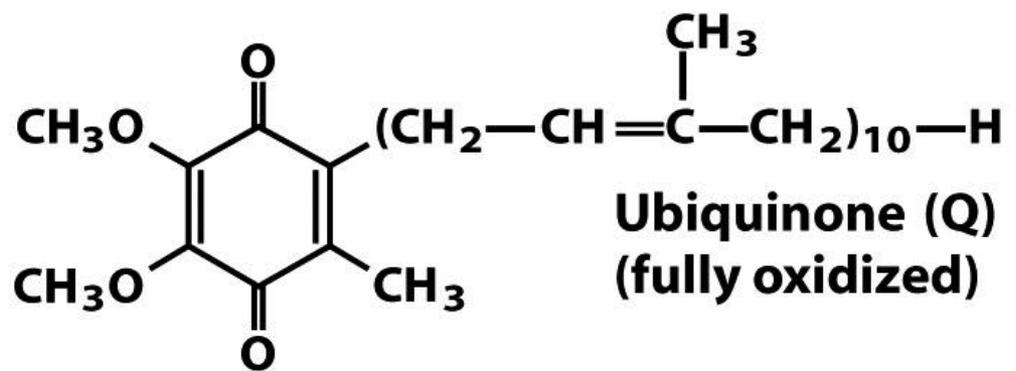
ВНЕШН.

ВНУТРЕН.

Убихинон –
липидорастворимый
конъюгированный
дикарбонильный
компонент, который легко
принимает и отдает
электроны.

После присоединения 2
электронов убихинон
превращается сначала в
интермедиат
(промежуточный продукт)
– семихиноновый
радикал и затем в
стабильный спирт
убихинол.

Убихинол может
свободно
диффундировать в
мембране и переносить
электроны и протоны.



Комплексы ЭТЦ

Комплекс I переносит электроны от НАД(Ф)Н к убихинону Q.

Его субстратом служит молекула внутримитохондриального НАДН, который восстанавливается в цикле Кребса.

В состав комплекса входит флавиновая ФМН-зависимая «НАД(Ф)Н: убихинон-оксидоредуктаза», содержащая три железосерных центра ($\text{FeS}_{\text{N1-3}}$).

При встраивании в искусственную фосфолипидную мембрану этот комплекс функционирует как протонная помпа.

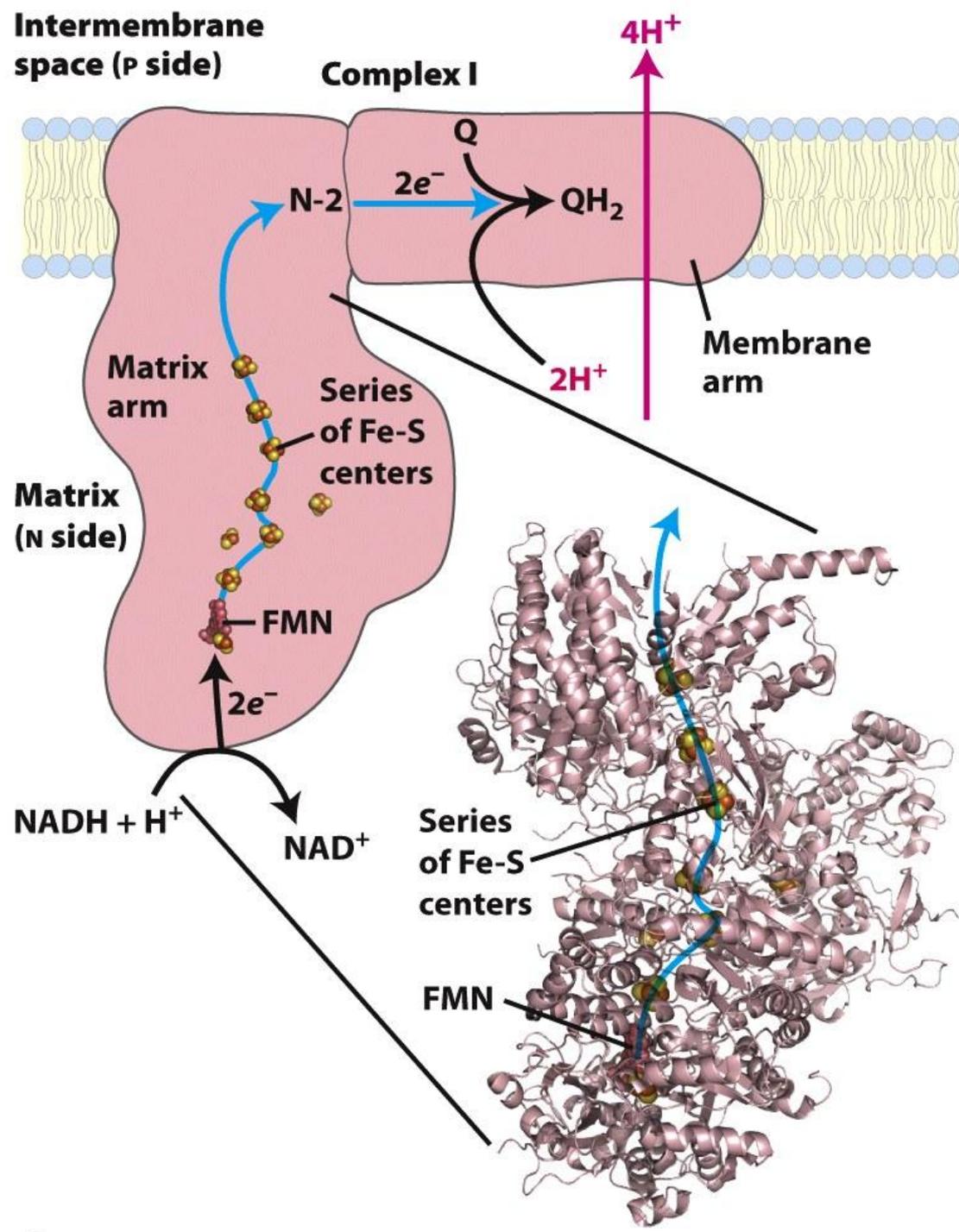
К(I) – один из наиболее крупных макромолекулярных комплексов в клетке эукариот.

Содержит более 40 различных полипептидов, кодируемых как митохондриальным, так и ядерным генами.

НАДН-связывающий участок находится на стороне митохондриального матрикса.

Флавин-моноклеотид (ФМН) связан в комплексе нековалентно. Он принимает 2 электрона от НАДН.

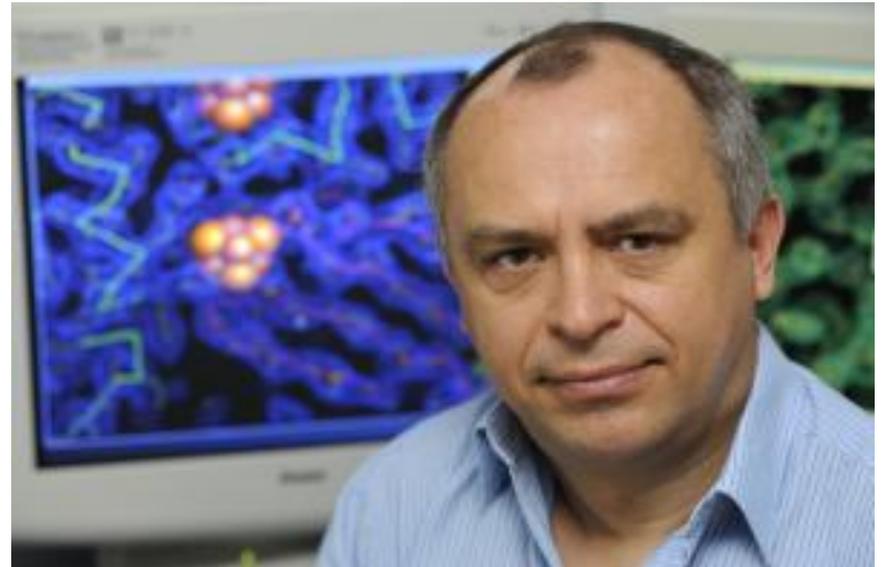
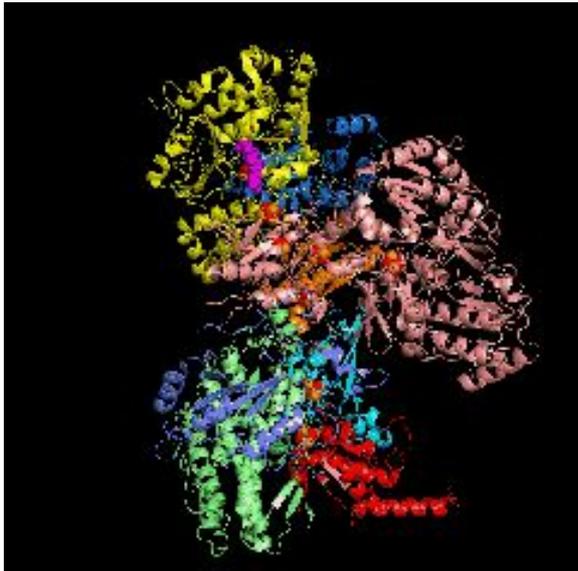
Несколько железосерных комплексов переносят по одному электрону к центру связывания убихинона.



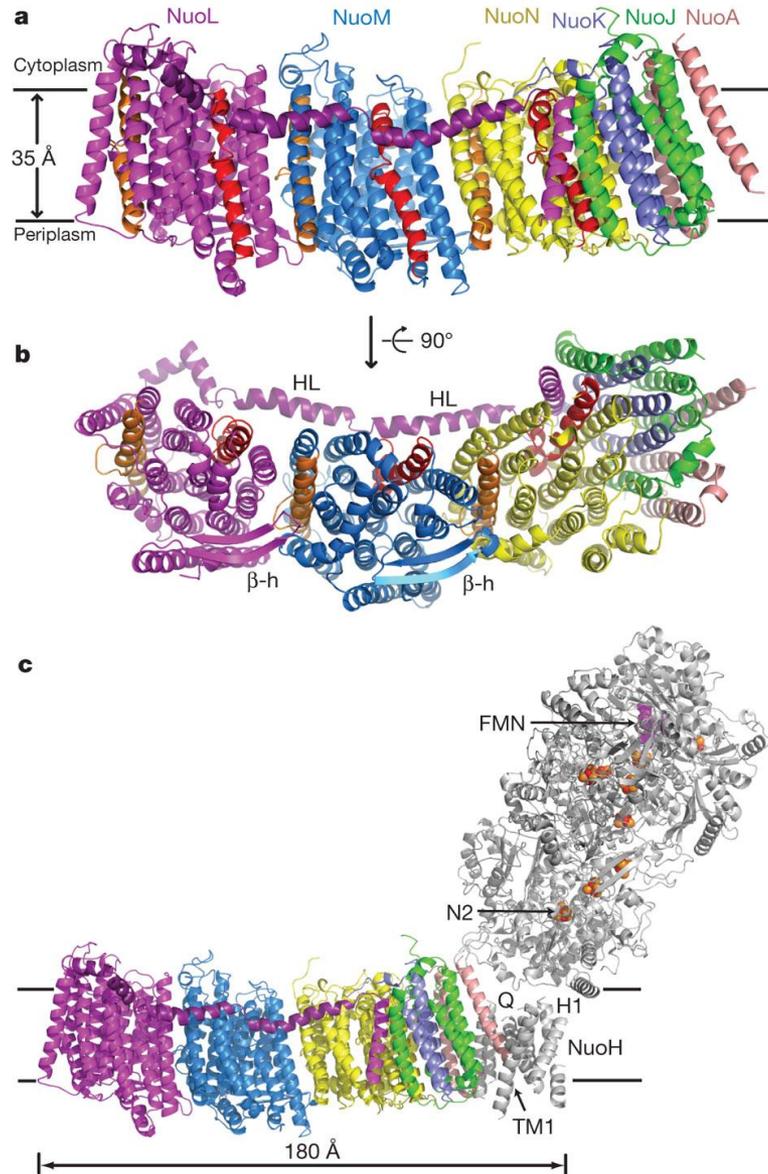
Часть бактериального комплекса I была давно кристаллизована, но полная структура оставалась неизвестной очень долго.

Полный структурный анализ выполнен в последние 5-10 лет в Кембридже группой профессора Леонида Сазанова (выпускник БГУ!).

<http://www.mrc-mbu.cam.ac.uk/news/sazanov-groups-research-front-cover-nature>



Architecture of the membrane domain of *E. coli* complex I.



nature

НАД(Ф)Н: убихинон-оксидоредуктаза функционирует как протонная помпа

перенос 2 электронов от НАДН на убихинон сопровождается транспортом 2 протонов из матрикса (N) во внутримембранное пространство (P).

Экспериментально показано, что около 4 протонов транспортируется на одну молекулу НАДН:



Восстановленный коэнзим Q (другое название убихинона) переносит до 2 протонов.

Не смотря на 50 лет во времени открытия, все еще неизвестно как 4 другие протона переносятся через мембрану.

Комплексы ЭТЦ

Комплекс II катализирует окисление сукцината убихиноном.

Эту функцию выполняет флавиновая (ФАД-зависимая) сукцинат – убихинон-оксидоредуктаза, в состав которой входят три железосерных центра (FeS_{1-3}).

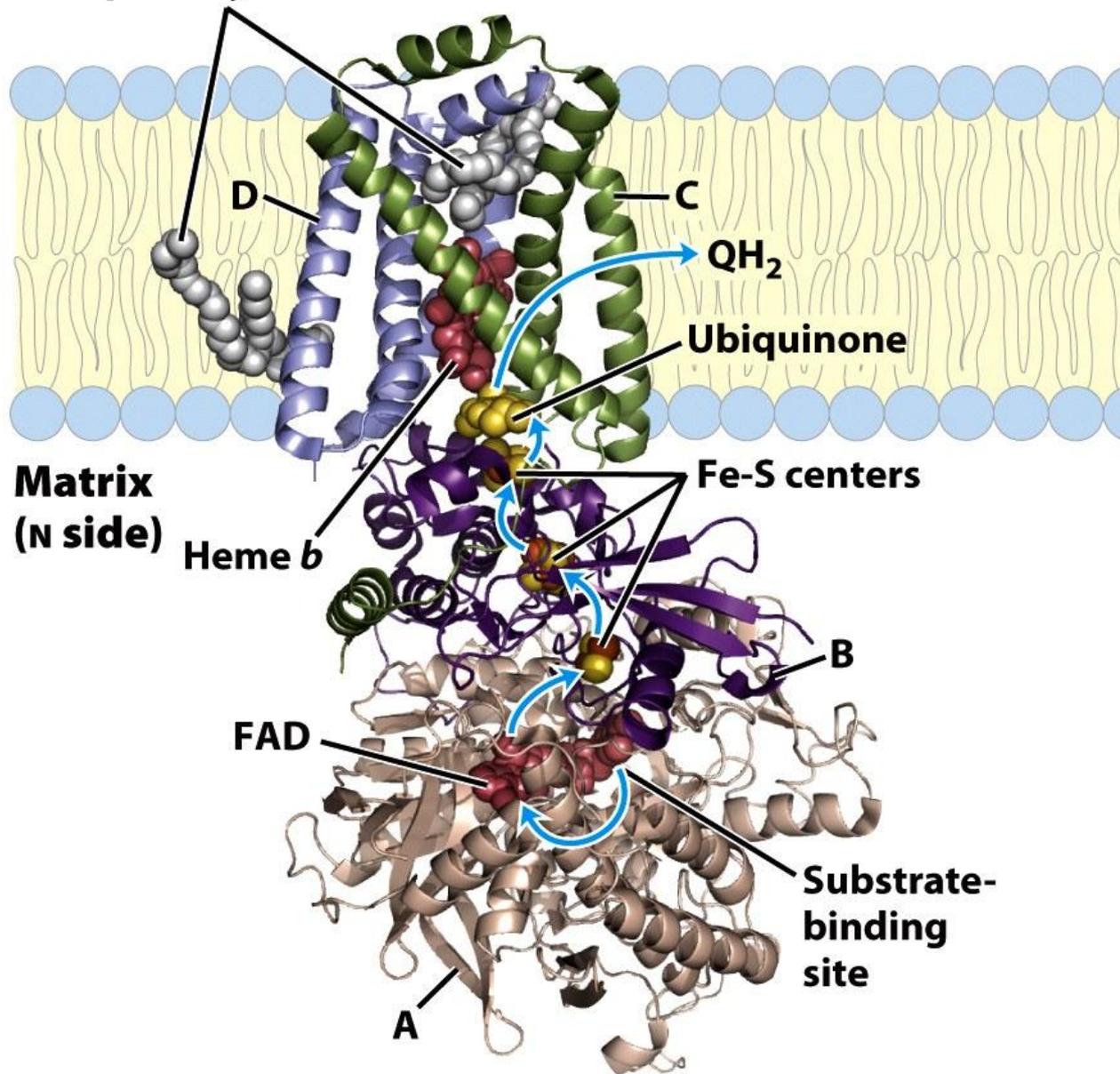
**Другое
название
комплекса II, К(1),
– сукцинат
дегидрогеназа**

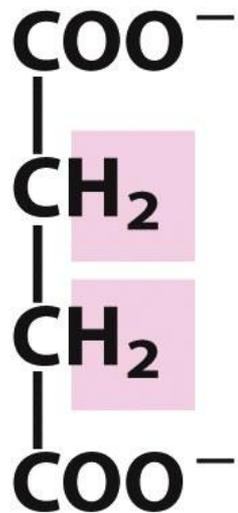
**ФАД принимает 2
электрона от
сукцината.**

**Электроны
переносятся по
одному через
железо-серные
центры на убинон,
который как и в К(1),
восстанавливается
до убинола QH₂.**

**Intermembrane
space (P side)**

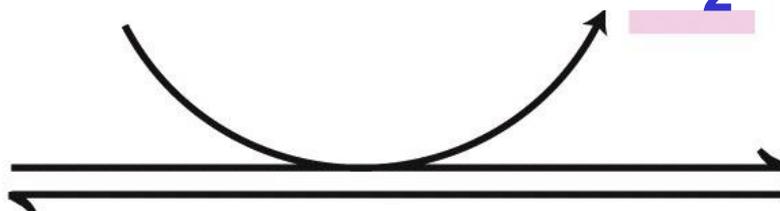
Phosphatidylethanolamine



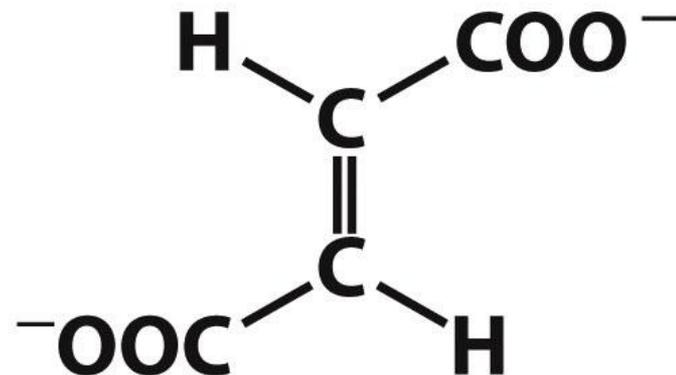


ФАД

ФАДН₂



сукцинат
дегидрогеназа



Фумарат

$$\Delta G'^{\circ} = 0 \text{ kJ/mol}$$

Сукцинат

Комплексы ЭТЦ

Комплекс III переносит электроны восстановленного убихинона к цитохрому c_1 , т. е. функционирует как убихинон – цитохром c -оксидоредуктаза.

В своем составе он содержит цитохромы b_{556} , b_{560} , c_1 и железосерный белок Риске.

По структуре и функции он подобен цитохромному комплексу $b_6 - f$ тилакоидов хлоропластов.

В присутствии убихинона комплекс III осуществляет активный трансмембранный перенос протонов.

Комплекс III или цитохром *bc*₁

использует два электрона от QH_2 для того, чтобы восстановить 2 молекулы цитохрома

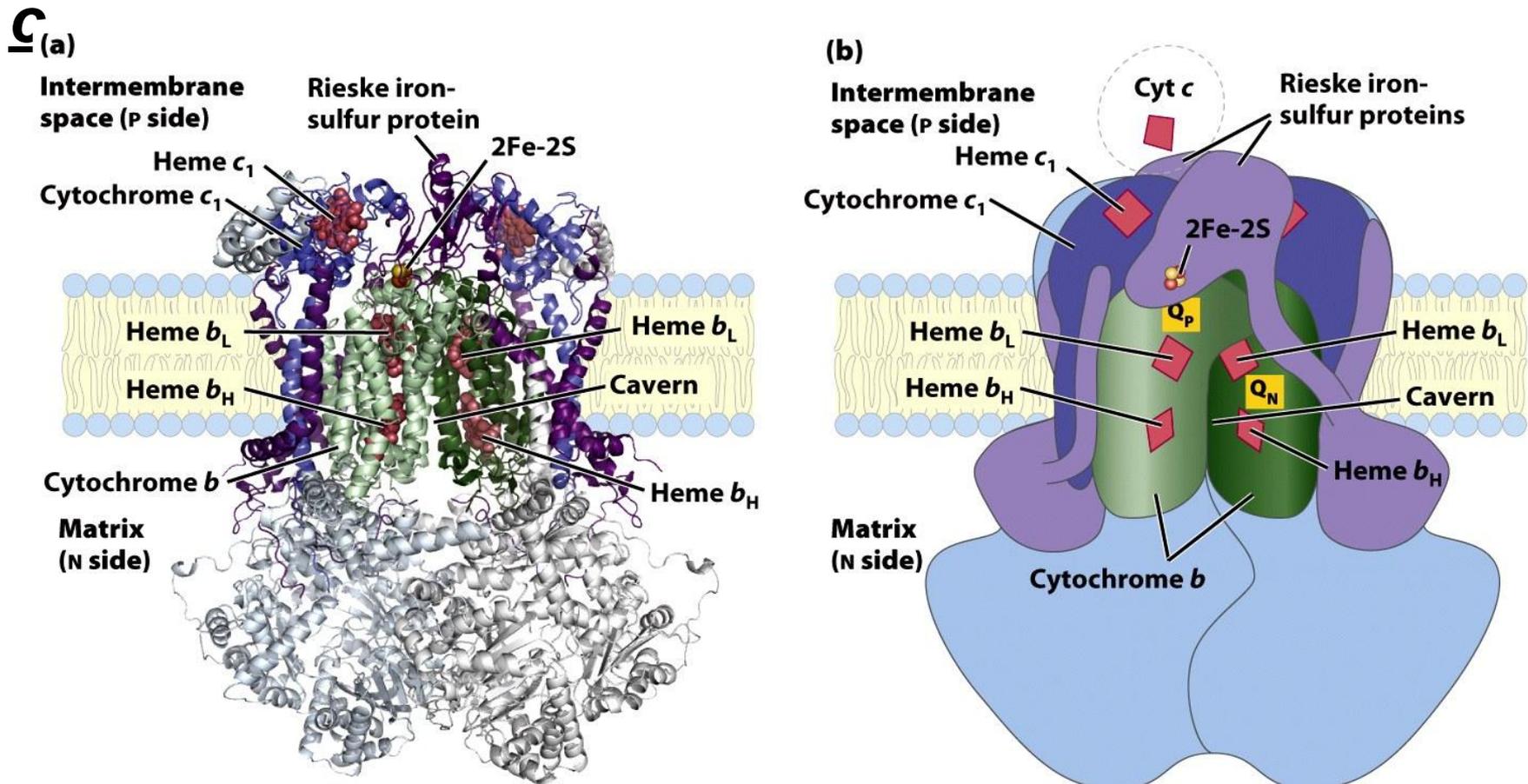


Figure 19-11
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

**Комплекс III – димер
идентичных мономеров.
Каждый мономер
состоит из 11
различных субъединиц.**

**Мономеры: цитохромы
b (зеленые) с их двумя
гемами (*b_H* и *b_L*);
центры Риске (железо-
серные белки)
(пурпурные) с 2Fe-2S
структурой (см. Лекции
по фотосинтезу);
цитохромы *c₁* (голубые)
с их гемом.**

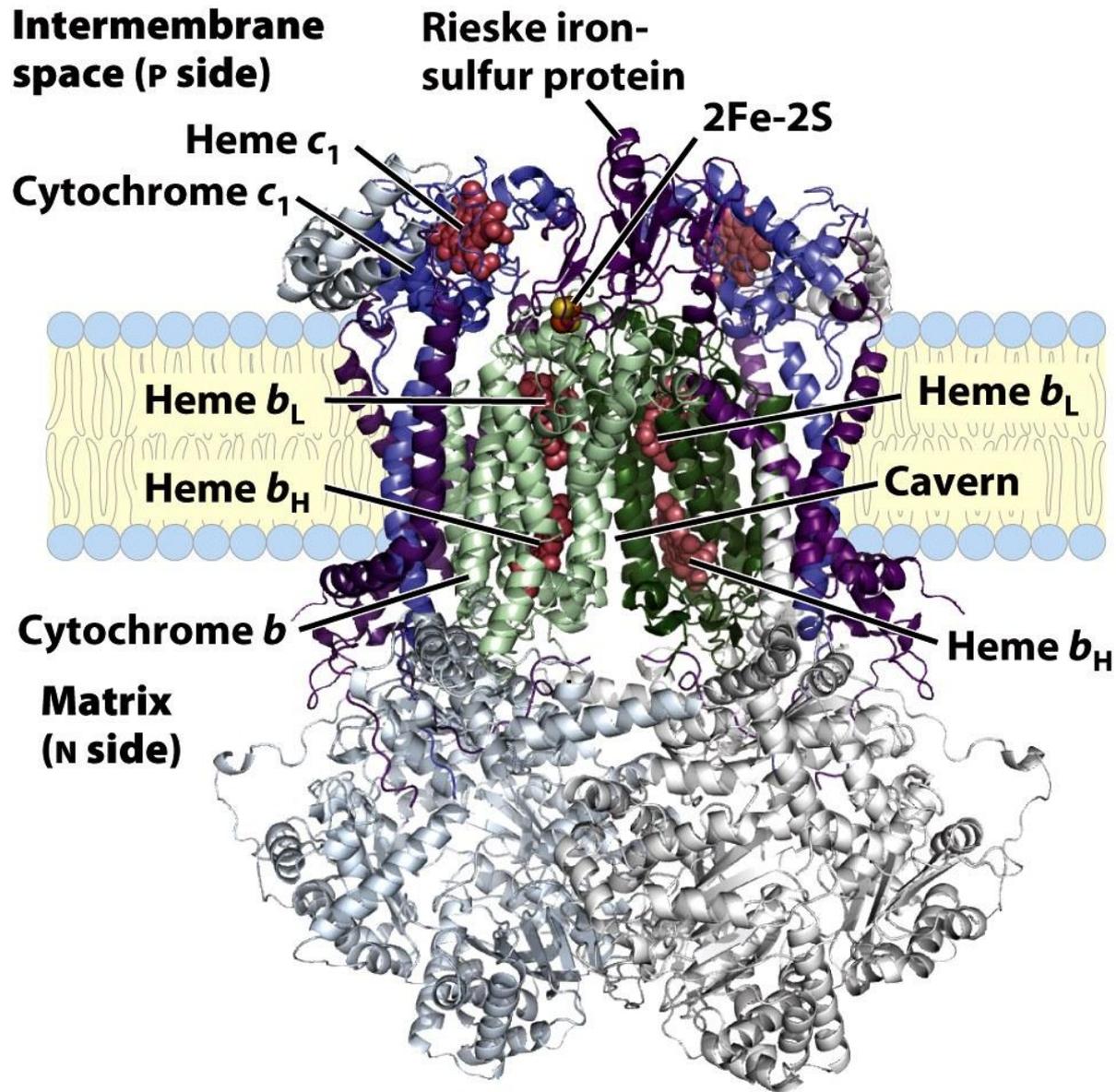


Figure 19-11a

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Комплекс III.

Цитохром c_1 и центры Риска выступают во внутримембранное пространство (Р-сторона) и могут взаимодействовать с цитохромом c (который не является частью функционального комплекса).

Имеются два сайта связывания убинона (Q_N и Q_P), которые соответствуют двум сайтам ингибирования дыхания – ингибиторами антимицином А (блокирует поток электронов от гема b_H на Q , связываясь с Q_N близко от гема b_H на N-стороне (матриксной), и миксотиазолом, который прерывает поток электронов от QH_2 на центр Риска, связываясь с Q_P около $2Fe-2S$ центра, близко от гема b_L на Р-стороне).

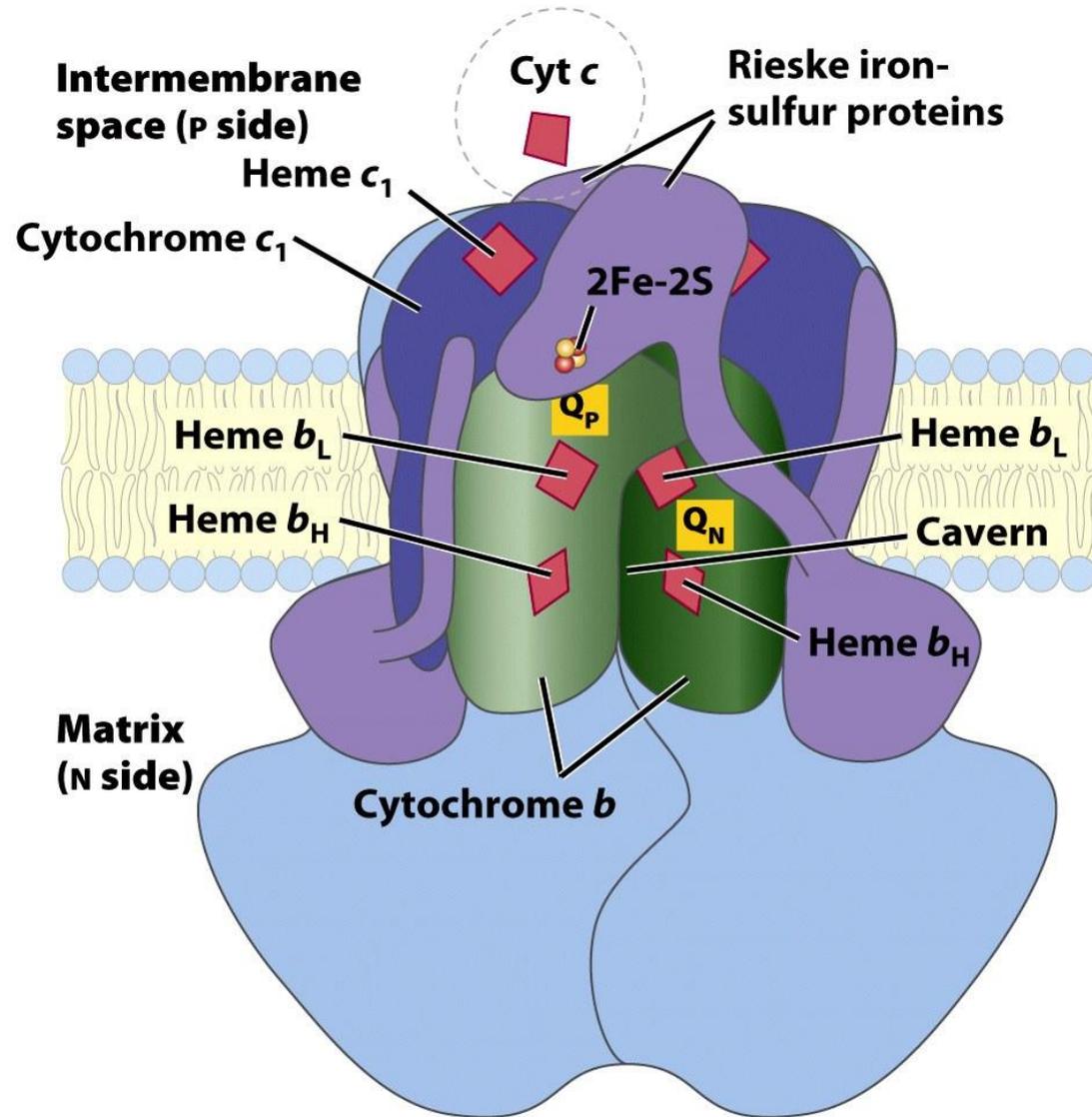


Figure 19-11b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Димерная структура важна для функциональности комплекса III. На границе между мономерами формируется каверна (ёмкость), содержащая Q_P участок от одного мономера и Q_N -участок от другого. Хиновый интермедиат (радикал) передвигается внутри этой изолированной каверны.

Комплекс III кристаллизован в двух формах. Главное отличие в расположении центров Риске – похоже, что они осциллируют между несколькими расположениями и передвигаются внутри комплекса.

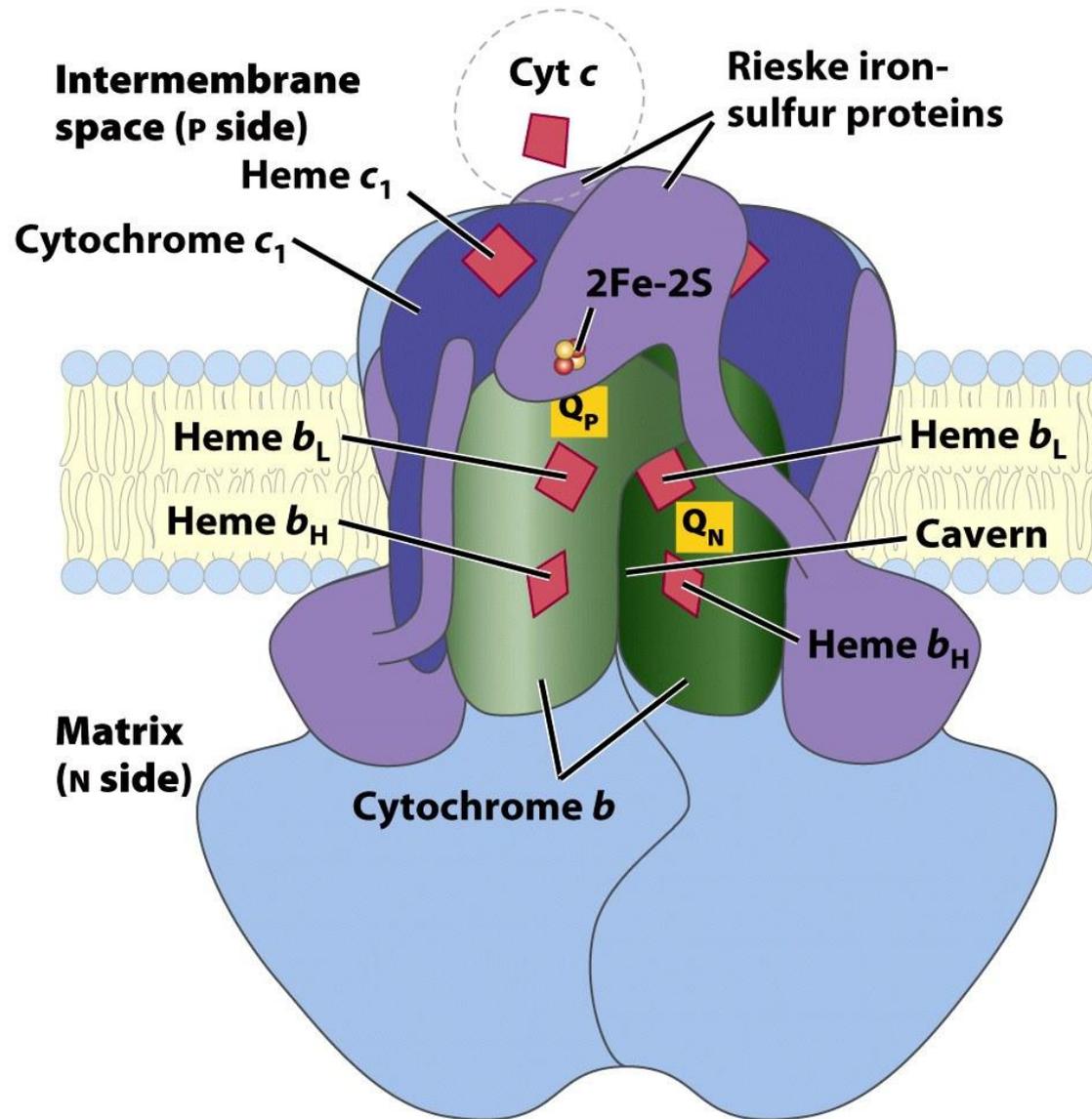


Figure 19-11b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

В комплексе IV электроны переносятся от цитохрома с к кислороду, т. е. этот комплекс является цитохром с – кислород-оксидоредуктазой (**ЦИТОХРОМ-ОКСИДАЗА**).

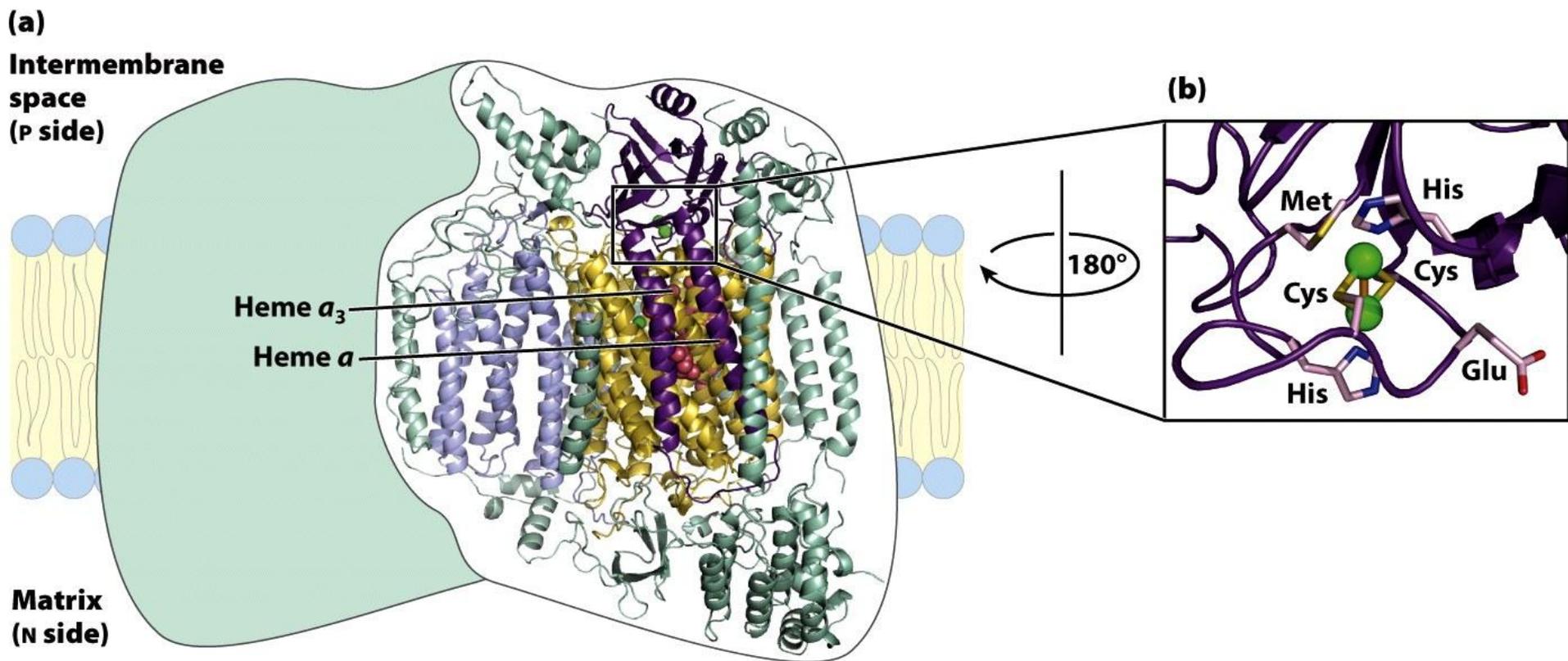
В его состав входят четыре редокс-компонента: цитохром a , a_3 и два атома меди.

Цитохром a_3 и Cu_B способны взаимодействовать с O_2 , на который передают электроны от цитохрома $a - Cu_A$.

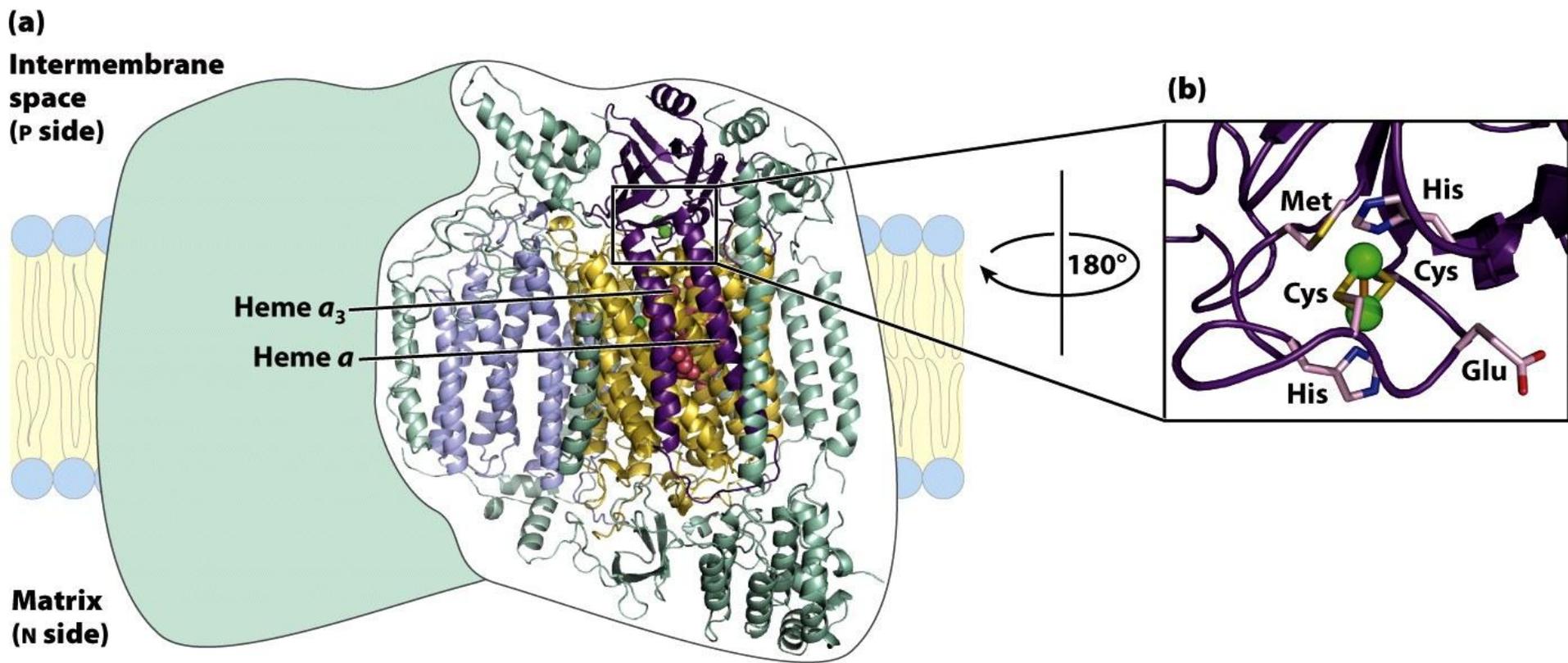
Транспорт электронов через комплекс IV связан с активным переносом H^+ .

Взаимодействие цитохрома $a_3 - Cu_B$ с O_2 подавляется цианидом, азидом и CO.

В последнее время показано, что комплексы I, III и IV пересекают внутреннюю мембрану митохондрий.



4 субъединицы – каждая из идентичных димеров. Субъединица I (желтая) имеет 2 гемовые группы, a и a_3 , рядом с ней расположен одиночный ион меди Cu_B (зеленая сфера). + Гем a_3 и Cu_B из бинулеарного Fe-Cu-центра. Субъединица II (пурпурная) содержит 2 иона Cu^{+2+} , связанных в комплекс с SH-группами двух цистеиновых остатков в бинуклеарном Cu_A , который похож на 2Fe-2S-центры железо-серных белков. Это бинуклеарный центр и цитохром c -связывающий сайт расположены в домене субъединицы II, который выступает из P-стороны во внутримембранное пространство. Субъединица III (светло-голубая) важна для быстрого движения протонов через субъединицу II. Роль субъединицы IV (зеленая) не ясна.



(b) – строение бинуклеарного центра Cu_A .

Ионы Cu отдают равно свои электроны. Когда центр восстановлен ионы меди формируют заряды $Cu^{1+}Cu^{1+}$; когда окислен $Cu^{1.5+}Cu^{1.5+}$.

6 аминокислотных остатков и лигандов окружают и хелатируют медь: 2 гистидина, два цистеина, глутаминат, и метионин.

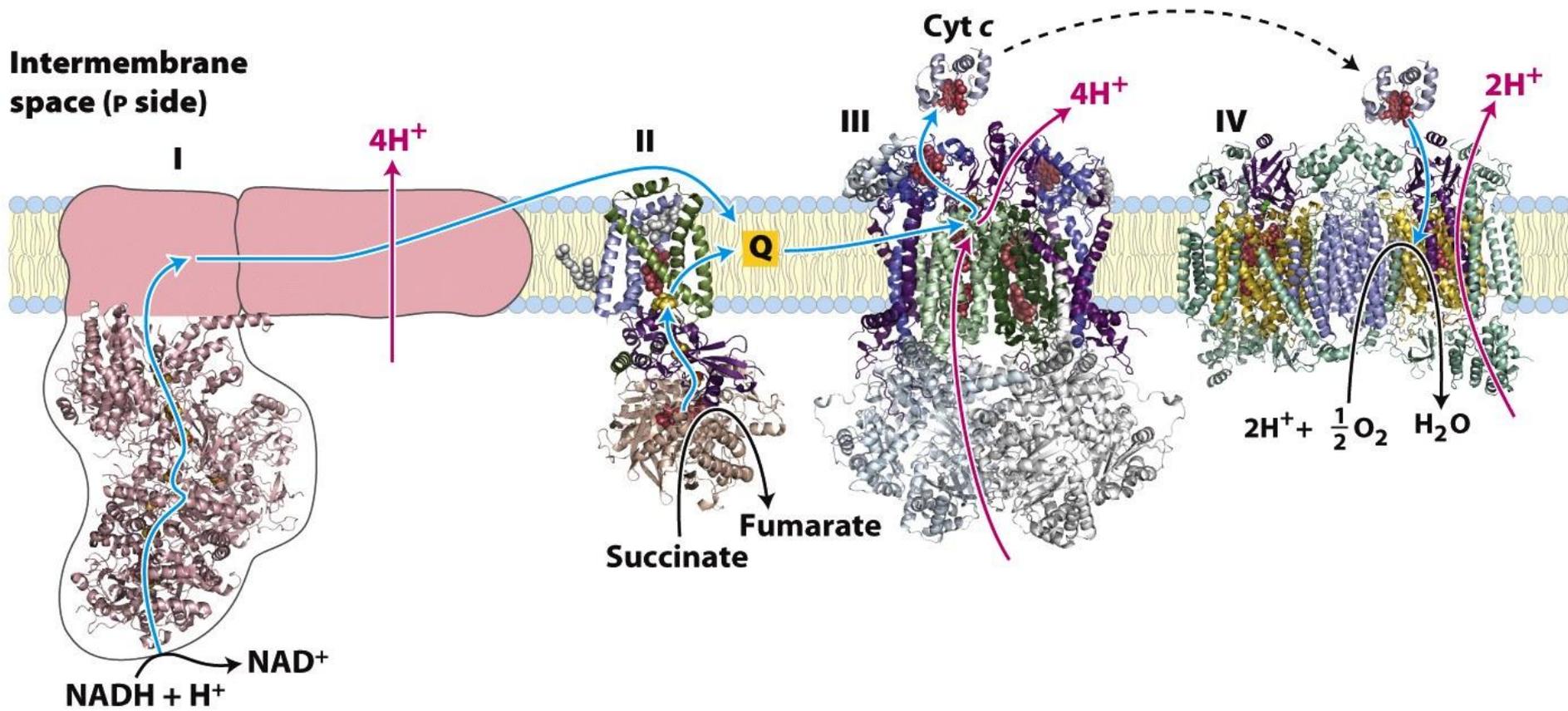
Формула работы комплекса IV – «4 + 4 + 4»

Четыре электрона используются для восстановления молекулы кислорода до двух молекул воды.

Четыре протона захватываются их матрикса в ходе этого процесса.

Четыре дополнительных протона переносятся их матрикса во внутримембранное пространство в ходе неизвестного науке механизма.

Intermembrane space (P side)



Суммарная схема ЭТЦ. Электроны достигают Q через комплексы I и II. Восстановленный Q (QH_2) служит мобильным переносчиком электронов и протонов. Он передает электроны на комплекс III, который передает их далее другому связующему мобильному переносчику – цитохрому c. Комплекс IV затем переносит электроны от восстановленного цитохрома c на O_2 . Электронный поток через комплексы I, III, и IV сопровождается потоком протонов из матрикса во внутримембранное пространство. Электроны могут обираться от различных субстратов, например, жирных кислот.

Все компоненты цепи, за исключением убихинона представляют собой белки с характерными простетическими группами. В состав цепи входят белки трех типов:

- **флавопротеины**, содержащие в качестве простетической группы флавинмоноклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД);
- **цитохромы**, содержащие в качестве простетической группы геммы;
- **железосеропротеины**, в которых простетическая группа состоит из негемового железа, связанного комплексно с неорганической серой или серой цистеина.

Убихинон – липид, который состоит из бензохинона и длинной гидрофобной изопреноидной боковой.

