

Физиология растений. Часть первая: физиология

БЭС: Физиология (от греч. *physis* – природа и ...*логия*), наука о жизнедеятельности целого организма и его отд. частей – клеток, органов, функциональных систем. Ф. изучает механизмы разл. функций живого организма (рост, размножение, дыхание и др.), их связь между собой, регуляцию и приспособление к внешней среде, происхождение и становление в процессе эволюции и индивид. развития особи.

Словарь русского языка Ожегова: Физиология:

1. Наука о функциях, отправлениях организма.
2. Совокупность жизненных процессов, происходящих в организме и его органах.
3. *перен.* Грубая чувственность (разг.)

Учебник ФР (Либберт): Физиология – учение о протекающих в живой материи процессах. Предмет физиологии – функции живых существ, их органов.

Учебник ФР (Полевой): Ф. - наука о функциональной активности организмов

Китайский язык: 生理学 - жизнь, логика, познание.

Иерархия познавательных (естественно-научных) исследований

Что происходит – *классическая ботаника, зоология, фитохимия*

Как происходит – *теория эволюции, генетика, биохимия*

И зачем все это – *физиология*

«Только физиолог может позволить себе роскошь задать вопрос – а зачем?»

Б.А.Кудряшов

«Знание без рассуждения бесполезно, рассуждение без знаний губительно»

Конфуций

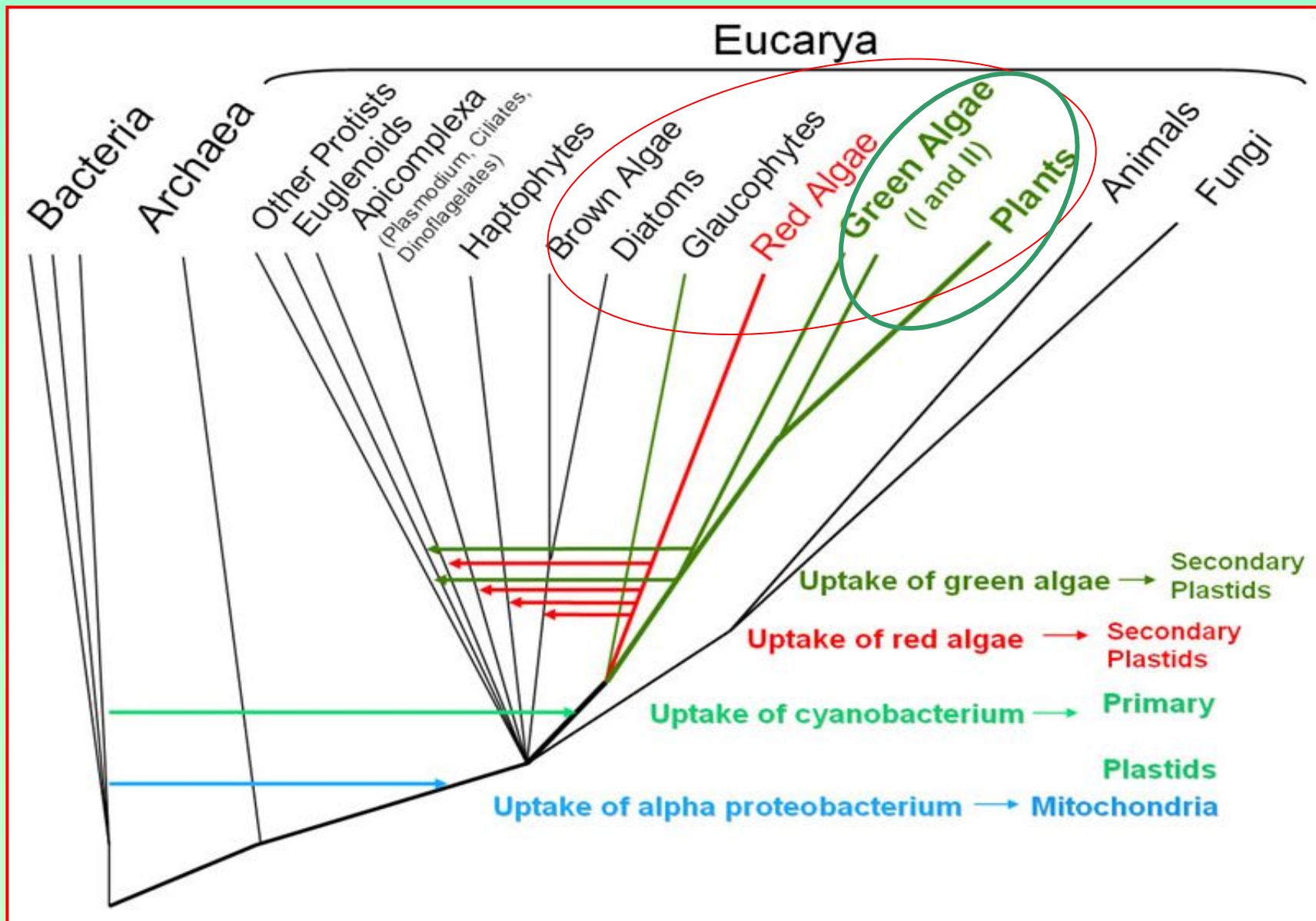
Методы и подходы. NB – оставить объект живым.

- **спектральные** (*в том числе с использованием витальных красителей*)
- **генетические** (*исследование мутантов, дефектных по определенному признаку; весьма эффективны генно-инженерные подходы – например, «нокаут» гена*)
- **модели** (*культура клеток, математическое моделирование*)
- **использование достижений наук «низлежащих уровней иерархии»**

Жизнь принципиально непознаваема, поскольку необходимость оставить объект живым позволяет ему скрыть от исследователя самые сокровенные тайны...

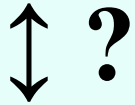
Нильс Бор

Физиология растений. Часть вторая: растения



Физиология растений. Часть вторая: растения

Автотрофность



Прикрепленное существование

Клетка:

- Три генома; их взаимодействие
- Клеточная стенка: другая стратегия водного обмена, обмена информацией
- Пластиды: фабрики «горячих производств»
- Вакуоли: многоцелевые органеллы

• Фотосинтез

• Минеральное питание. Бережное отношение к азоту

• Метамерное строение, другой тип симметрии

• Стадийность развития, зависимое от внешних условий (например, закладка репродуктивных органов)

• Постоянный рост

• Особенности эмбрионального развития

• Расселение зачатками. Семя – особая структура – растение в миниатюре и упаковке

• Специфичная стратегия устойчивости (дублирование функций, мультифункциональность)

• Механизмы устойчивости – на морфологическом или биохимическом уровне (вторичный метаболизм)

Стратегия существования:

«жить согласно с окружающей средой».

Физиология растений. Часть третья. Дополнительная...

Экологические аспекты.

«Космическая роль» зеленого растения».

Леса - 10% поверхности земли, 1/3 от площади континентов. Но при этом они составляют 80 – 90% биомассы земли (биомасса животных – 1,5 – 2% от биомассы растений).

В год связывается 300 – 400 млрд. тонн CO_2 , на долю океана приходится 30-35%, континентов – 65-70%.

Полный оборот CO_2 – всего 300 лет.

Политические аспекты

Рамочная Конвенция ООН, Киотский протокол – контроль за соотношением $\text{CO}_2 \downarrow / \text{CO}_2 \uparrow$ на территории разных стран. При соотношении меньше единицы – надо платить, если больше единицы - можно заработать

По мнению ряда ученых, Россию лишили потенциальных доходов от использования ее «поглотительного ресурса». При расчетах по методологии Киотского протокола «недоучтенная» разница поглотительного ресурса лесов России - 41 млн. т. углерода в год. По ценам Европейского «углеродного рынка» это около 1.23 млрд. US\$ в год в период 2008-2012гг.

К этому можно добавить неучет 14 млрд. т сокращений выбросов CO_2 за период 1990-2010 гг. Плюс неучет поглотительного баланса территорий России - 0,868 млрд. тонн углерода в год, -

Итого, по оценкам ряда экспертов, начиная с 1995г. (начало переговоров по Киотскому протоколу) Россия ежегодно теряет около 36.4 млрд. US\$

Экономические, этические и другие аспекты.

Научные основы современного растениеводства. Растительная биотехнология. Получение и физиологические характеристика трансгенных растений. Опасность их выращивания и использования. Сохранение генофонда. Etc.и etc...

Биоэнергетика: правила игры (законы термодинамики).

Мало не покажется...

Первый закон. Энергия вселенной не может ни создаваться, ни исчезать. Энергия вселенной постоянна

Второй закон. Энтропия Вселенной всегда возрастает. Существует общая тенденция к увеличению хаоса и беспорядка

Третий закон. Энтропия равна нулю лишь для совершенного кристалла при температуре абсолютного нуля

Первый закон. **Вы не можете выиграть**

Второй закон. **Вы не можете остаться «при своих»**

Третий закон. **Вы не можете не участвовать в игре**



Биоэнергетика. Что же делать?

Самая вредная формула: $\Delta E = \Delta H = \Delta G + T\Delta S$

(второй закон термодинамики), E- полная энергия системы,
H – свободная энтальпия, G – свободная энергия Гиббса,
T – абсолютная температура, S – энтропия

Для самопроизвольных реакций $\rightarrow \Delta G < 0$

Для синтеза упорядоченных структур $\rightarrow \Delta G > 0$

Живые системы – весьма упорядоченные образования!

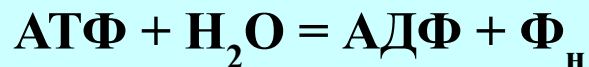
Решение проблемы - сопряжение реакций (за все надо платить!) :

Реакция 1: $A + B \rightarrow C \quad \Delta G > 0$ («реакция интереса»)

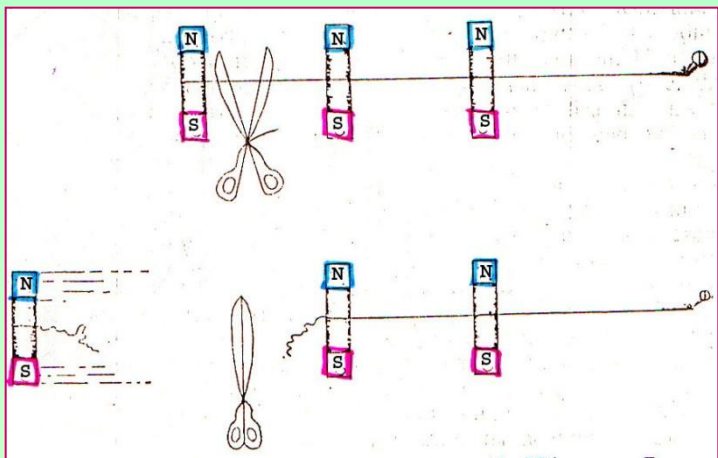
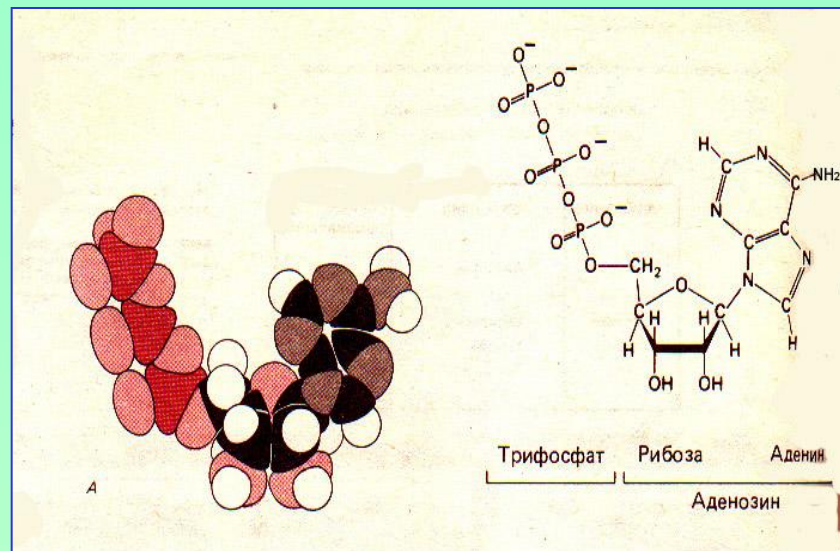
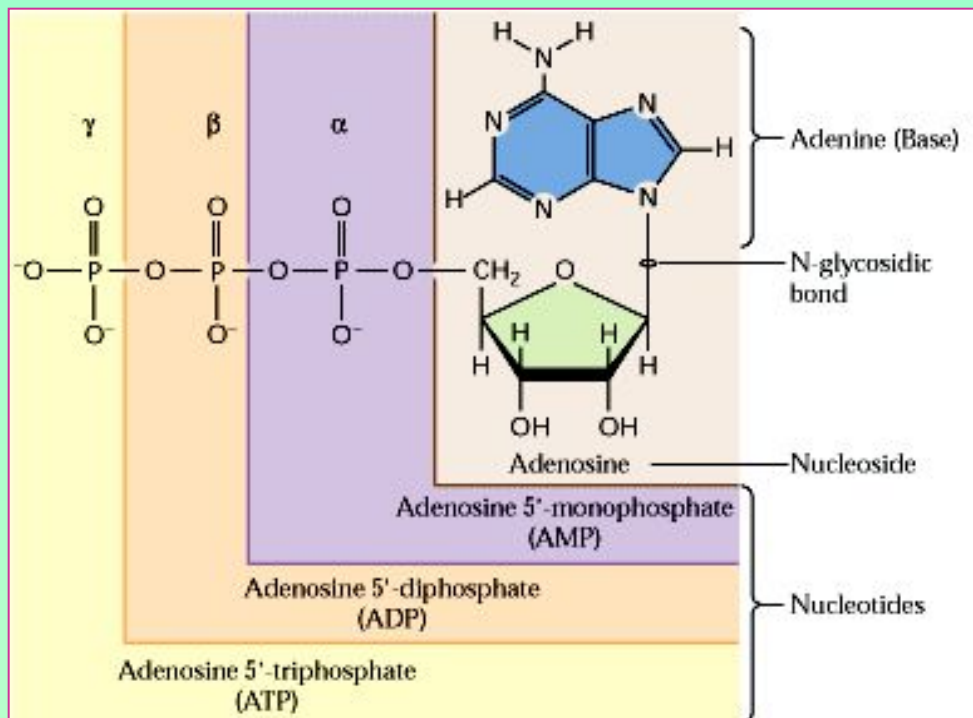
Реакция 2: $X + Y \rightarrow Z \quad \Delta G < 0$ («оплата»)

$$\Sigma \Delta G < 0$$

Реакцию 2 («оплату») полезно унифицировать – это **гидролиз АТФ:**



АТФ (АТР) - основная «энергетическая денежка» клетки



$$\Delta G^{0'} = 29,4 \text{ кДж / моль}$$

или $7,0 \text{ ккал / моль}$

**Изменением концентрации АТФ можно регулировать
«выход» энергии ее гидролиза**

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[АДФ][\Phi_H]}{[АТФ]}$$

	АТФ/АДФ	[АТФ]	ΔG (ккал/моль)	ΔG (кДж/моль)	
pH=0	1/1	1M	- 5,6	- 23,5	ΔG⁰
pH=7	1/1	1M	- 7,0	- 29,4	ΔG⁰
pH=7	10/1	0,01M	- 9,0	- 37,8	
pH=7	100/1	0,001M	- 14,0	- 58,8	

1 ккал = 4.2 кДж.

Откуда взять АТФ?

(или - где ключ от квартиры где деньги лежат?)

“Элементарно, Ватсон !”:

Реакция 1: $\text{АДФ} + \text{Ф}_\text{Н} \longrightarrow \text{АТФ} \quad \Delta G > 0$ «реакция интереса»

Реакция 2: $\text{А} \longrightarrow \text{В} + \text{С} \quad \Delta G < 0$ «оплата»

$$\Sigma \Delta G < 0$$

Реакция 2 – это **окисление восстановленных молекул.**

$\Delta G^0 = - nF\Delta E^0$ где n – число молей e^- ($N_A = 6.02 \times 10^{23}$)
 F – число Фарадея, 96 487 кл/моль.

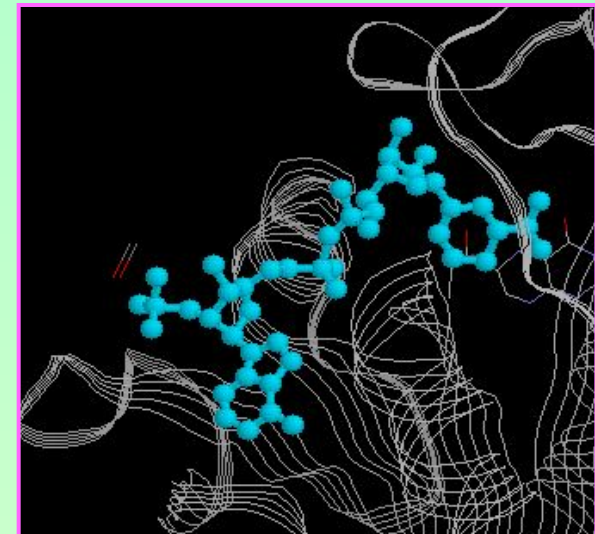
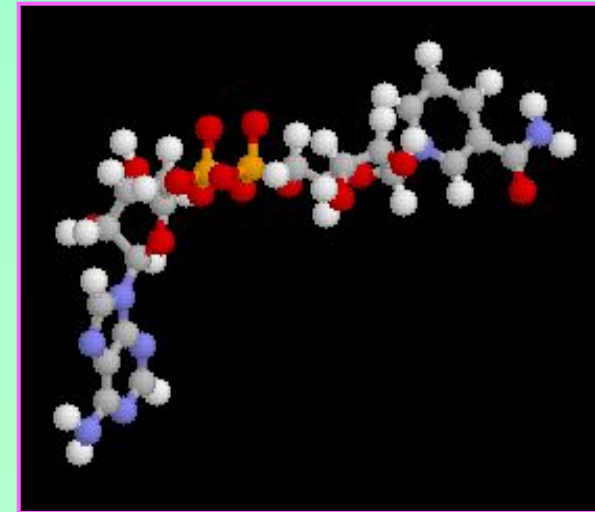
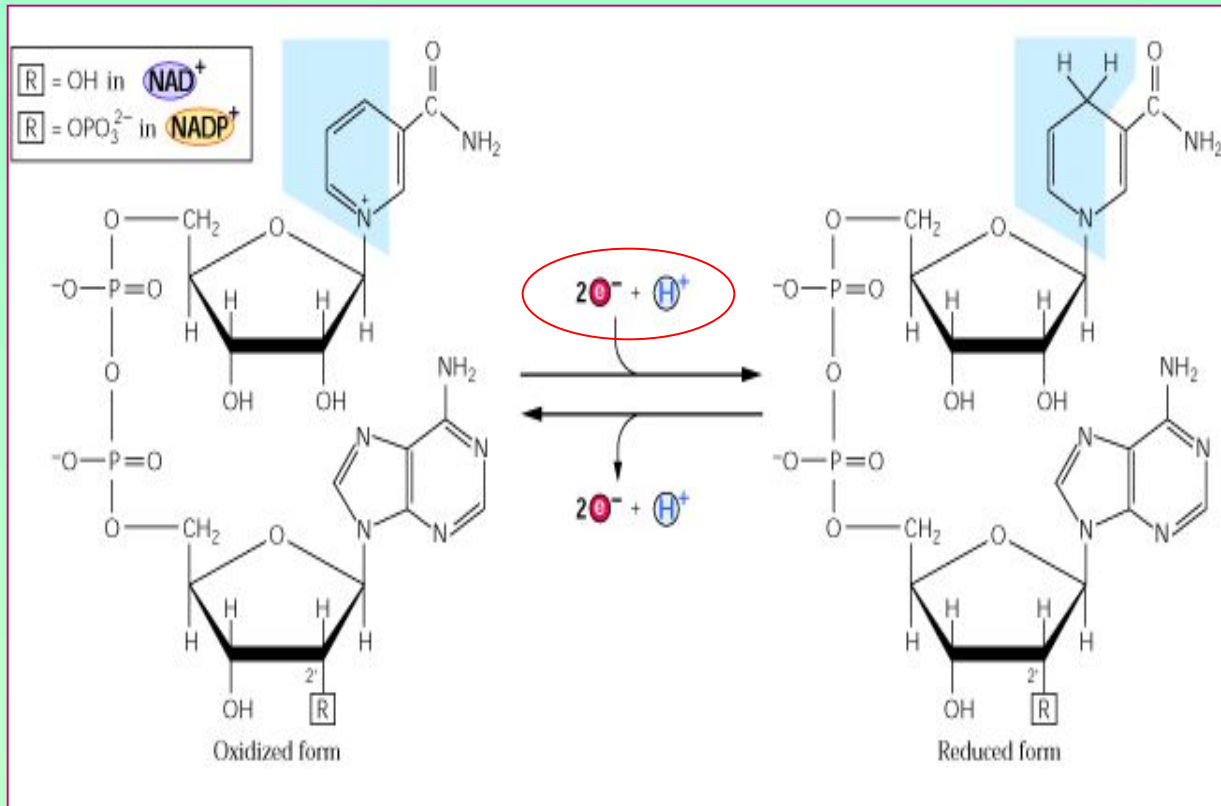
$$\Delta E = 1.0v \approx 100 \text{ кДж/моль}$$

Реакцию 2 тоже полезно унифицировать – **это окисление НАДН:**



ΔE окисления НАДН также можно регулировать ее концентрацией - уравнение Нернста

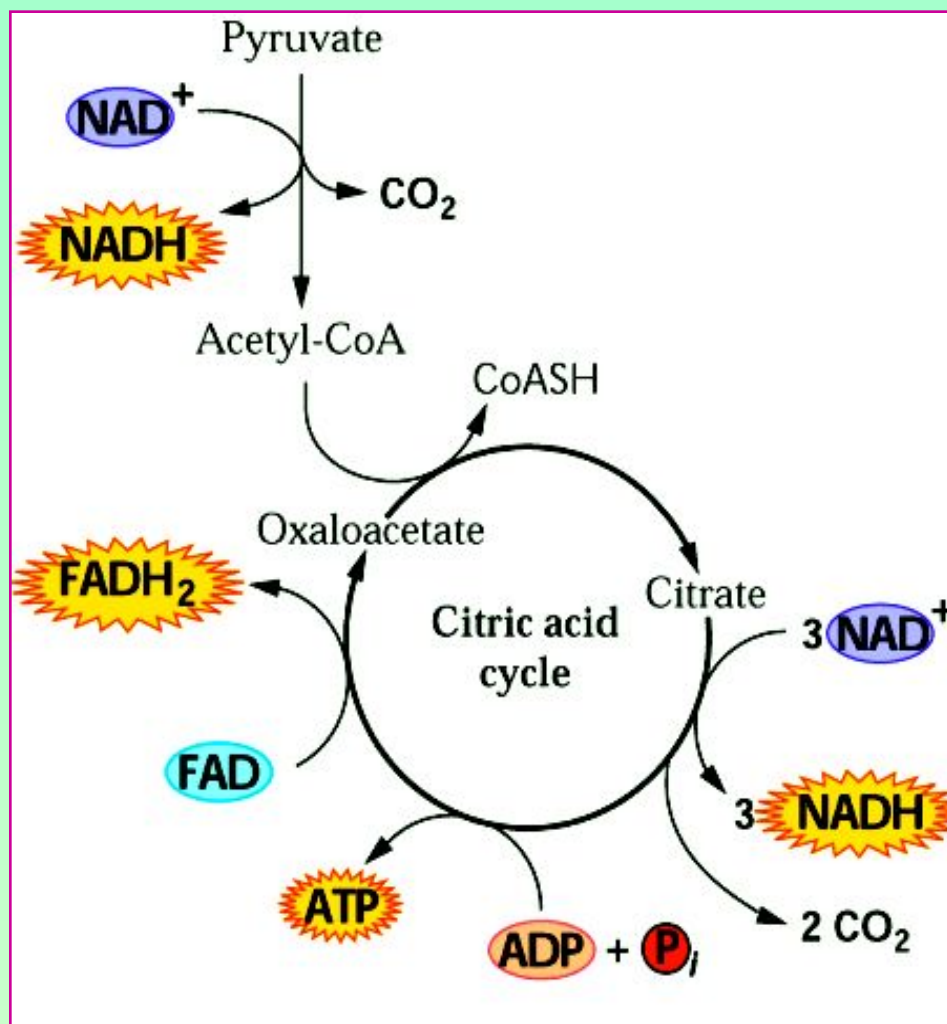
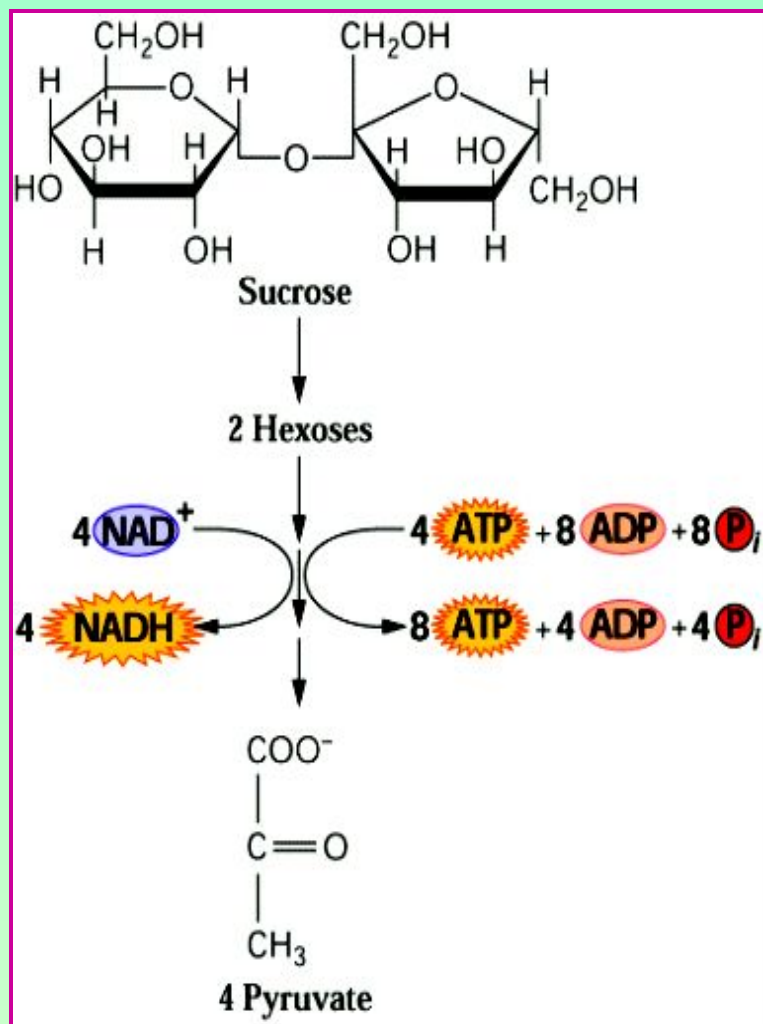
**НАД⁺ (NAD⁺) и НАДФ⁺ (NADP⁺) – «золотой запас»
и универсальные «рабочие лошадки» Red-Ox реакций в клетке.**



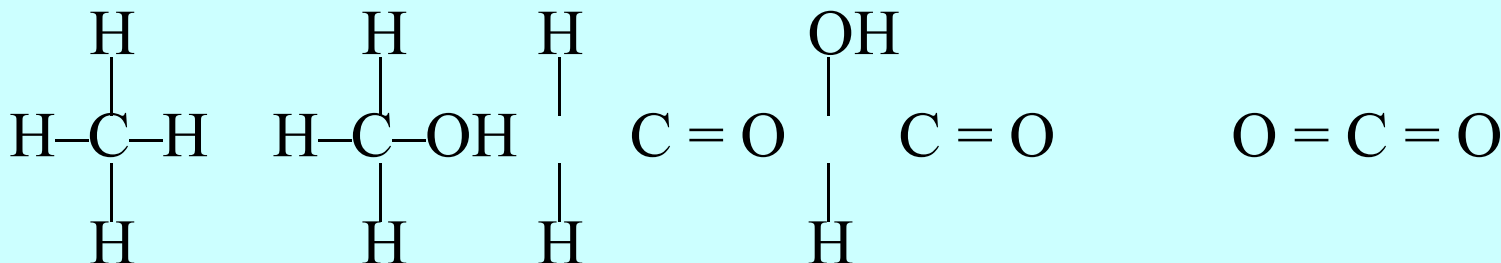
$E^{\circ'} = -0,32 \text{ v}$

Откуда взять восстановленный НАДН? (или – как пополнить «золотой запас»?)

НАДН получается за счет окисления восстановленных соединений - например:
сахарозы – в цитозоле (гликолиз): пирувата и ацетил-СоА – в митохондриях:



Чем сильнее окислена молекула, тем меньше энергии она содержит



Метан Метанол Форм- Муравьиная Углекислый газ
(спирт) альдегид кислота (диоксид)



Увеличение степени окисленности



Увеличение запаса энергии в молекуле

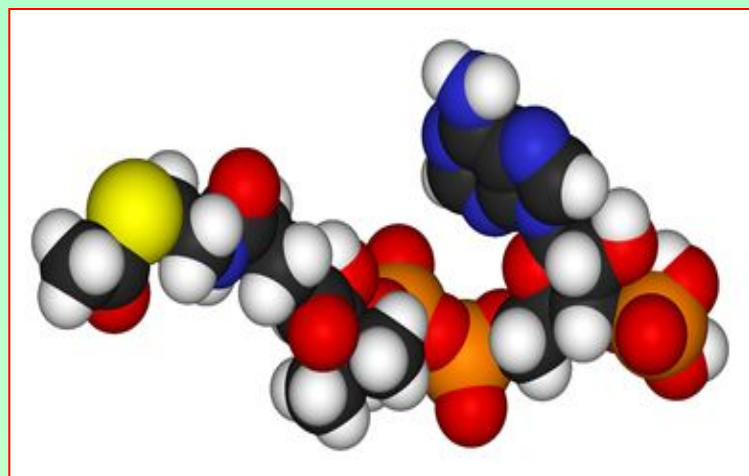
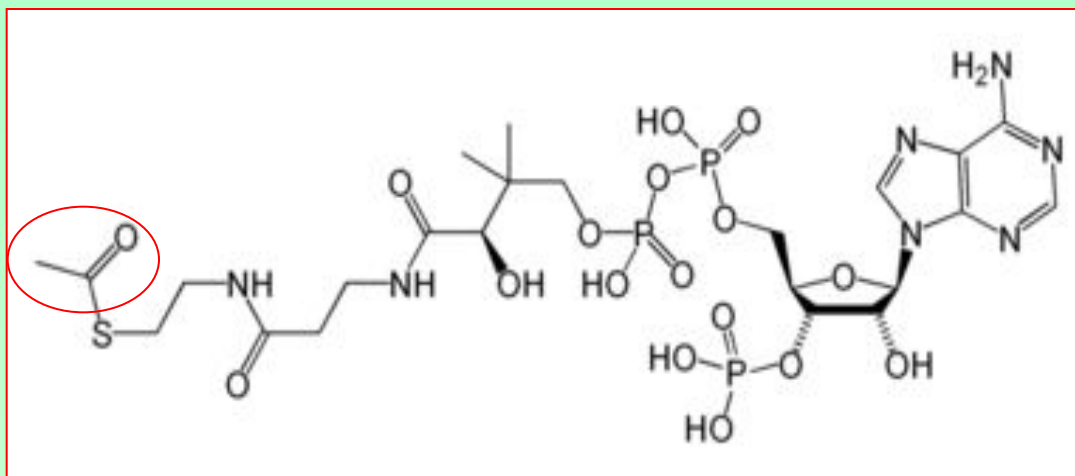
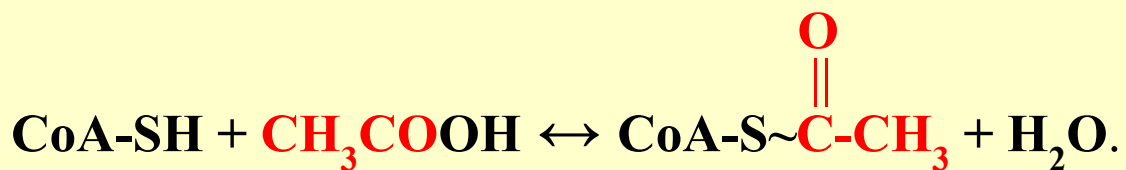
По окислительно-восстановительному потенциалу можно определить уровень энергии молекулы и вероятность реакции

Red-Ох-пара	E°, v
Пируват/ацетат + CO_2	- 0,70
α -кетоглутарат/сукцинат + CO_2	- 0,67
$H^+ / 1/2H_2$	- 0,42
НАДФ ⁺ / НАДФН + H^+	- 0,32
НАД ⁺ / НАДН + H^+	- 0,32
Пируват/ лактат	- 0,19
Оксалоацетат/ малат	- 0,17
Фумарат/ сукцинат	+ 0,03
Дегидроаскорбат/ аскорбат	+ 0,08
$1/2 O_2 / H_2O$	+ 0,82

Окисляемый углеводный компонент тоже полезно унифицировать...

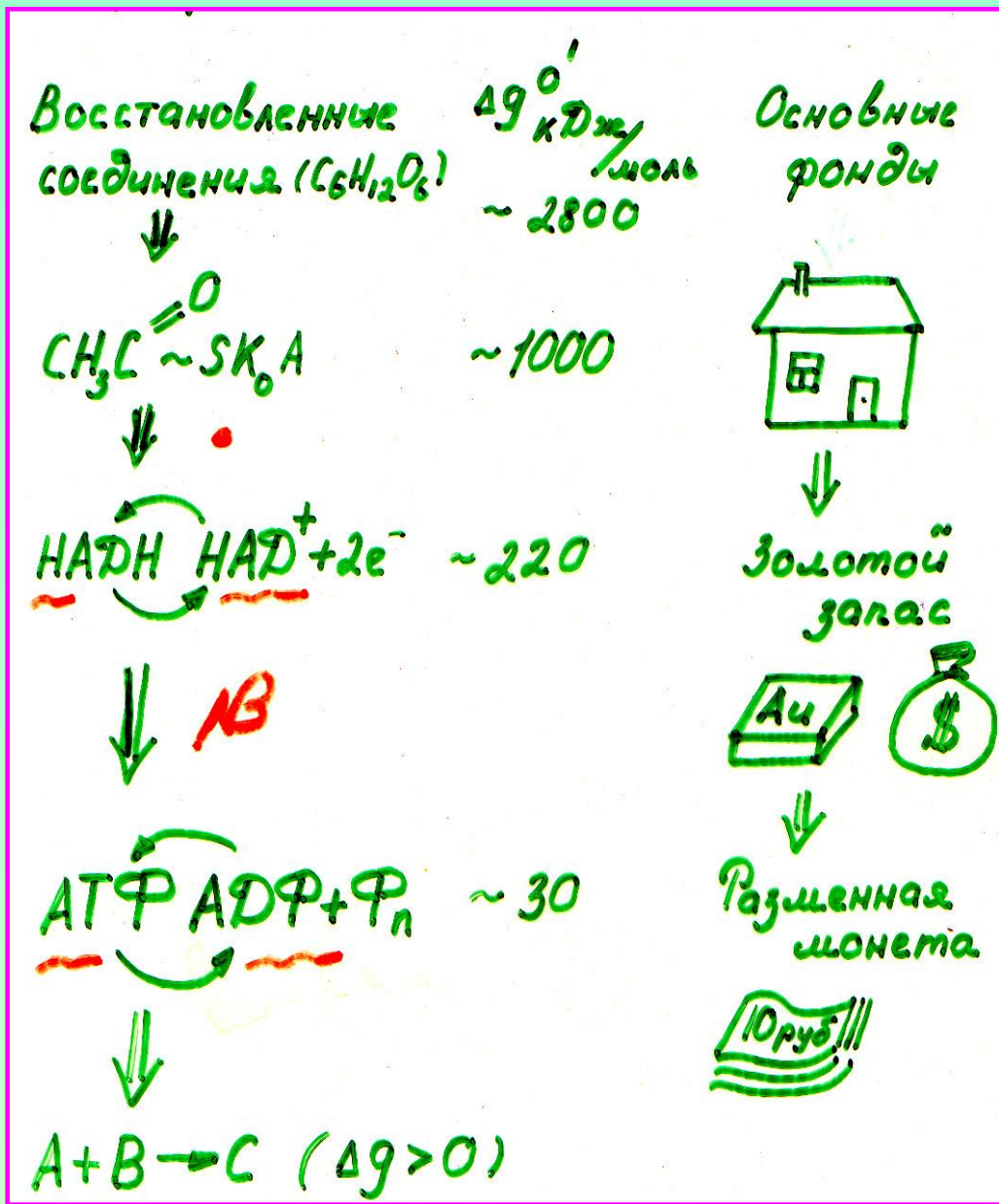
Ацетил-кофермент А (Acet-CoA) – восстановленный углеводный фрагмент, который окисляется в митохондриях для восстановления НАДН

Кофермент А - универсальный переносчик и “активатор” ацильных групп



Пантетеин (пантотевая к-та + β-аланин + цистеамин) + АДФ-3Ф

Биоэнергетика: иерархия



Для валютных операций нужны обменные пункты..

Для сопряжения окисления НАДН с синтезом АТФ необходима особая форма запасания энергии – на мембране.

Что-то вроде конденсатора, но гораздо лучше...

Градиент электрохимического потенциала протонов на мембране

$$\Delta\mu_{\text{H}} = F\Delta\varphi + RT \ln \frac{[\text{H}^+]_{\text{p}}}{[\text{H}^+]_{\text{n}}}$$

+++++

$$\Delta\mu_{\text{H}} = F\Delta\varphi - RT\Delta p_{\text{H}}$$

$\Delta\varphi$

$$\Delta p = \Delta\varphi - 0.06\Delta p_{\text{H}}$$

протон-движущая сила

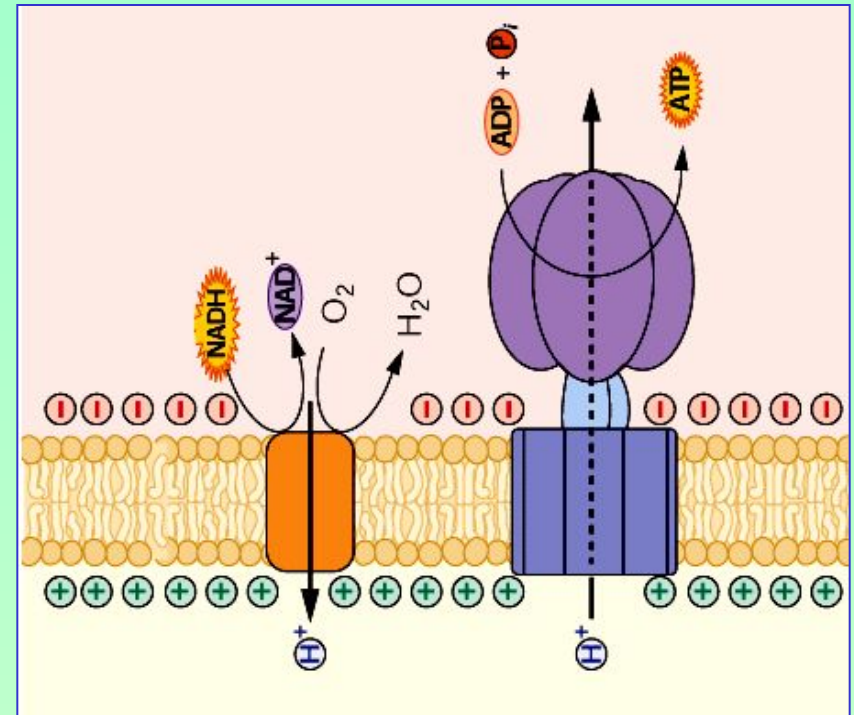
Н⁺Н⁺Н⁺Н⁺Н⁺

$\Delta\varphi$ - электрическая составляющая

Δp_{H}

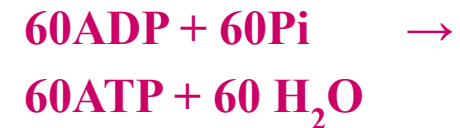
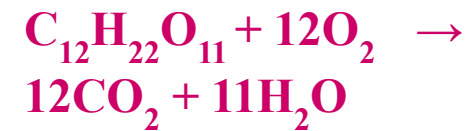
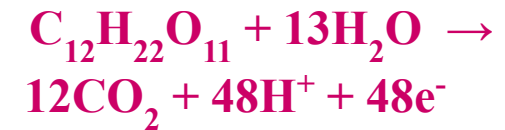
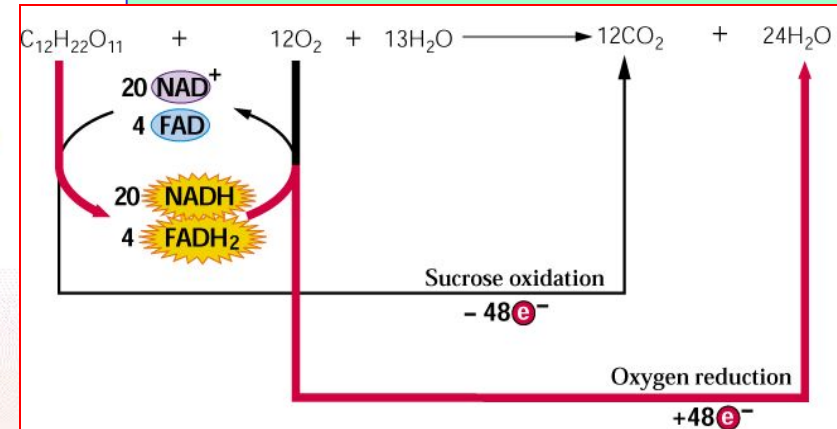
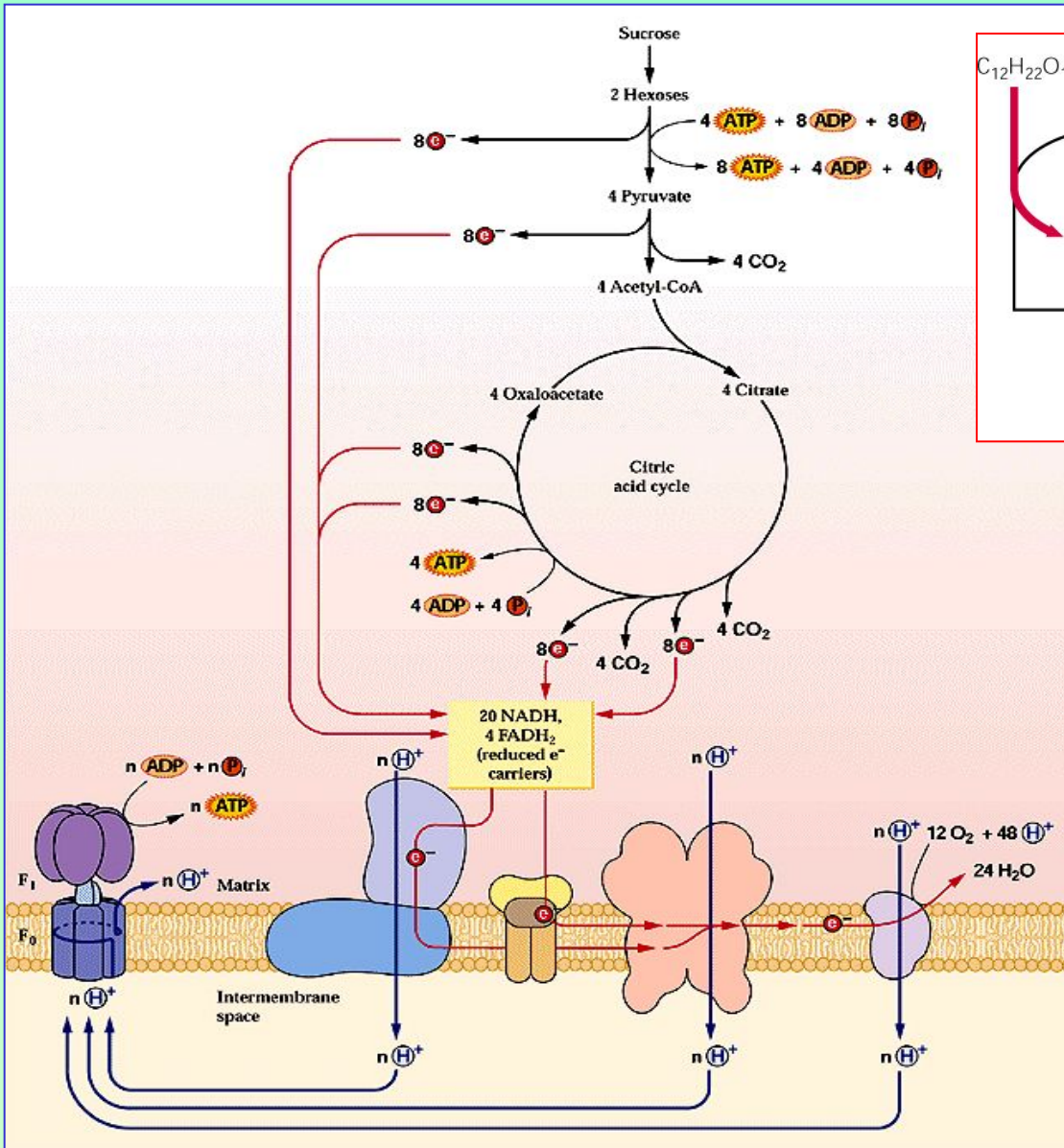
Δp_{H} - химическая составляющая

Н⁺ Н⁺

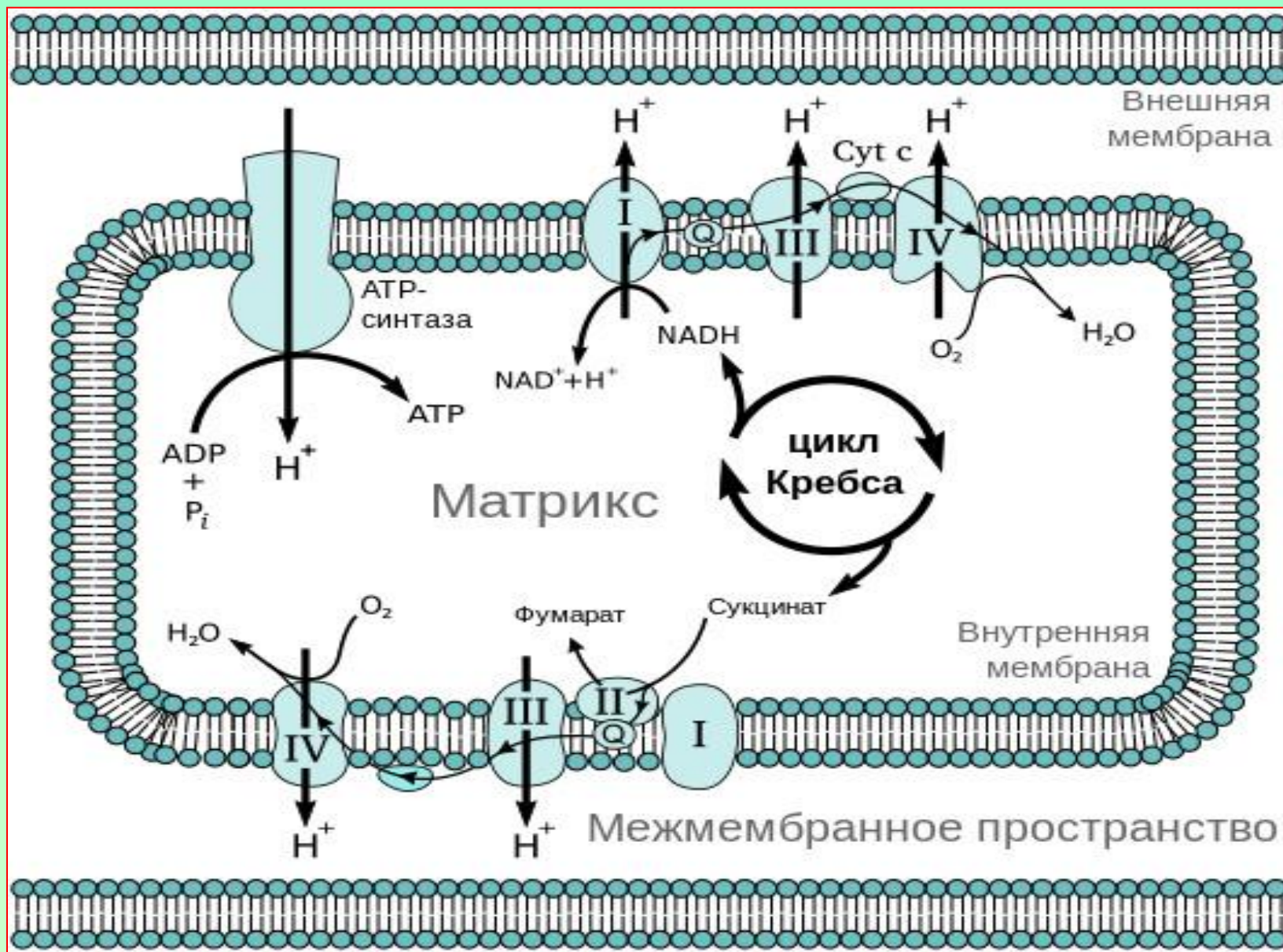


1ед. $\Delta p_{\text{H}} = 60\text{mV} = 5,7 \text{ кДж/моль} = 1,4 \text{ ккал/моль}$

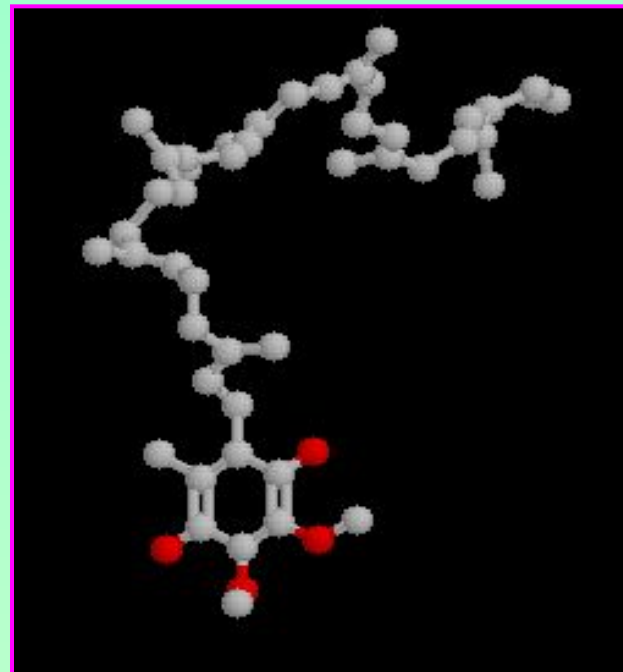
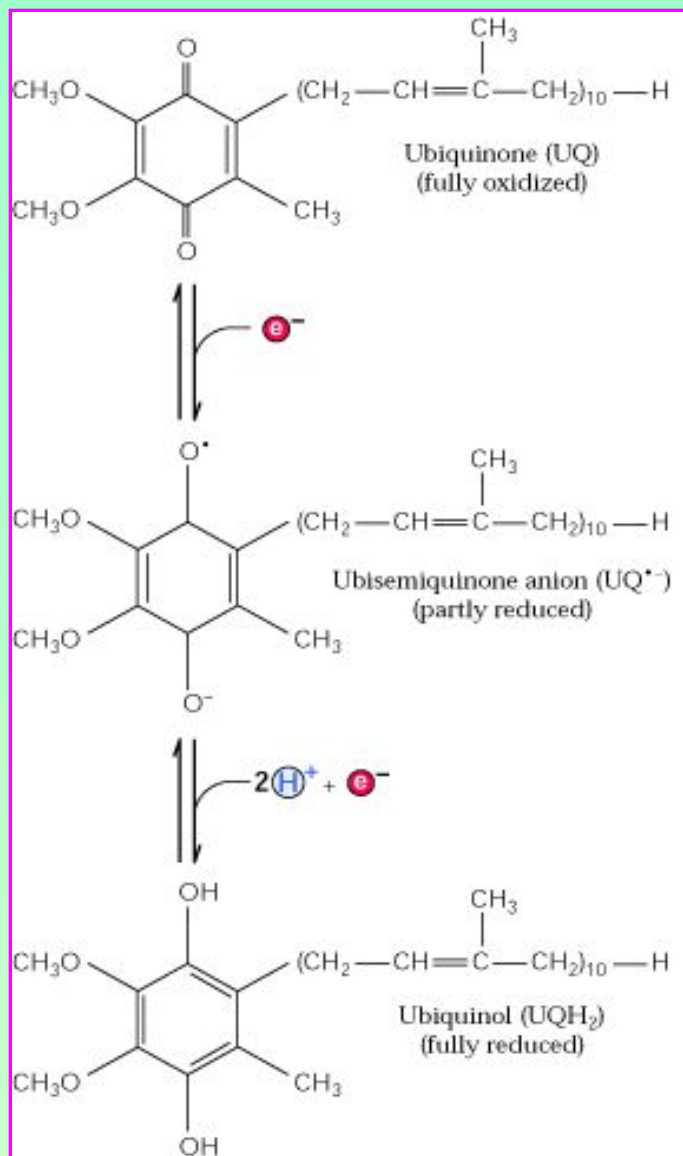
Результат: энергетическая система клетки - дыхание



Что происходит в митохондриях...

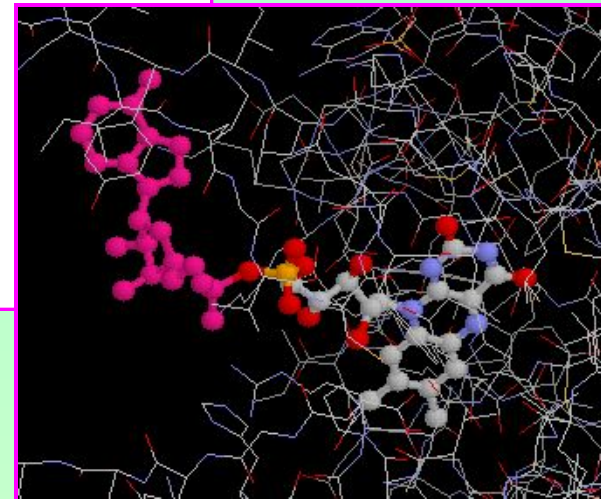
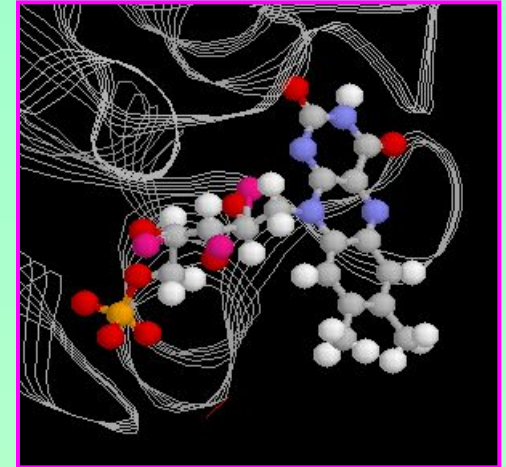
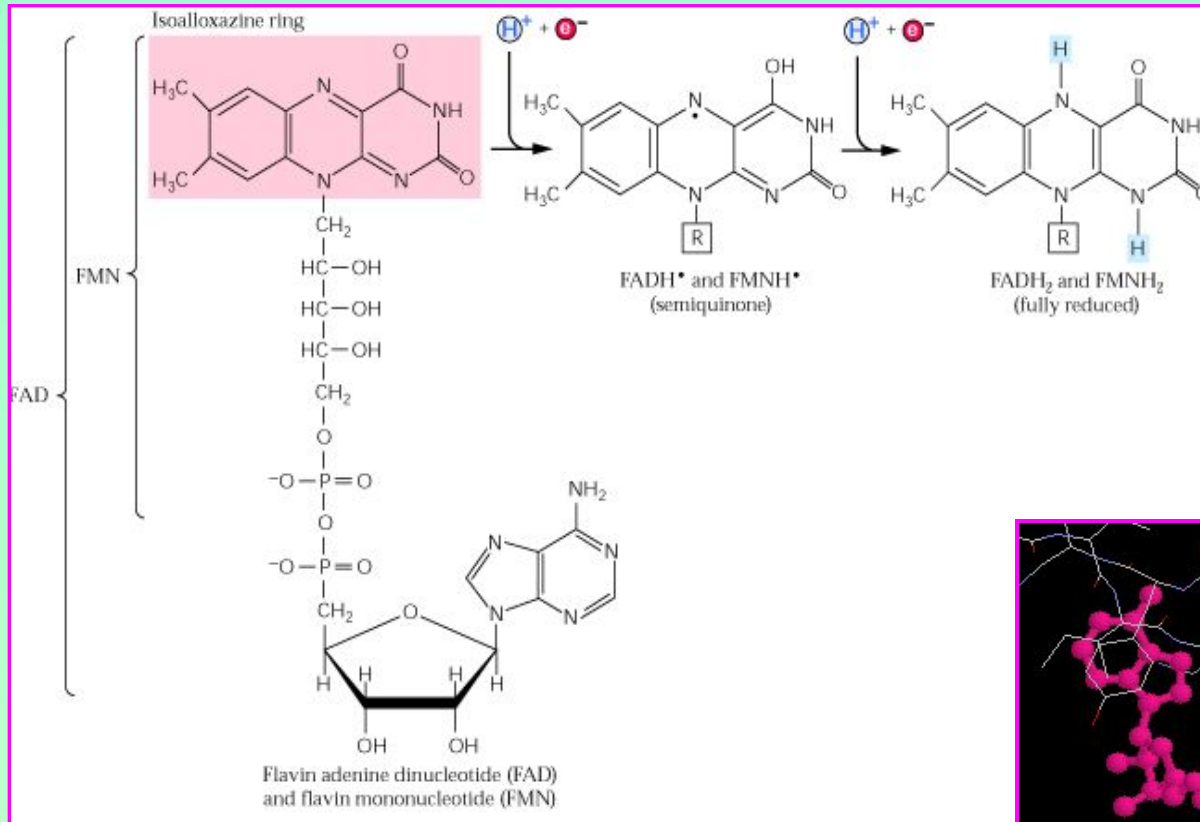


**Хиноны (убихиноны и пластохиноны) –
липофильные молекулы с Red-Ox свойствами: перенос $2e^- + 2H^+$**



**E° : от 0,0 до +0,10 v
(в связанном виде – до -0,3 V)
в среднем – около 0 v**

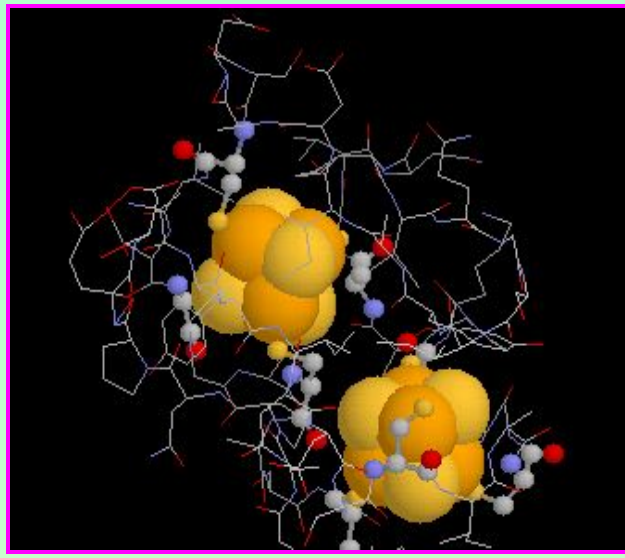
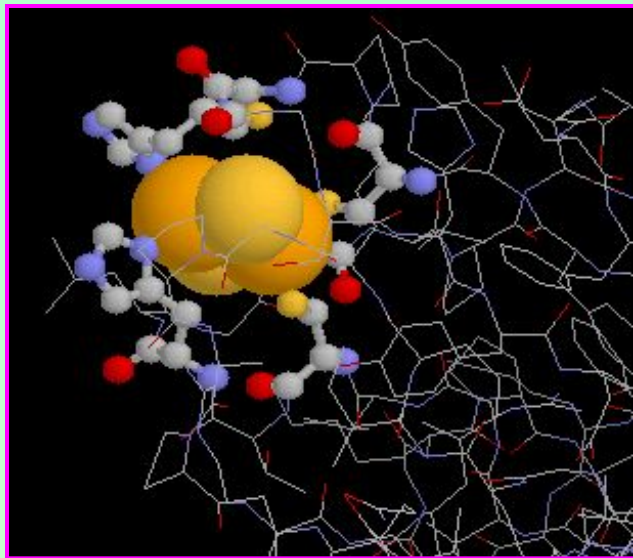
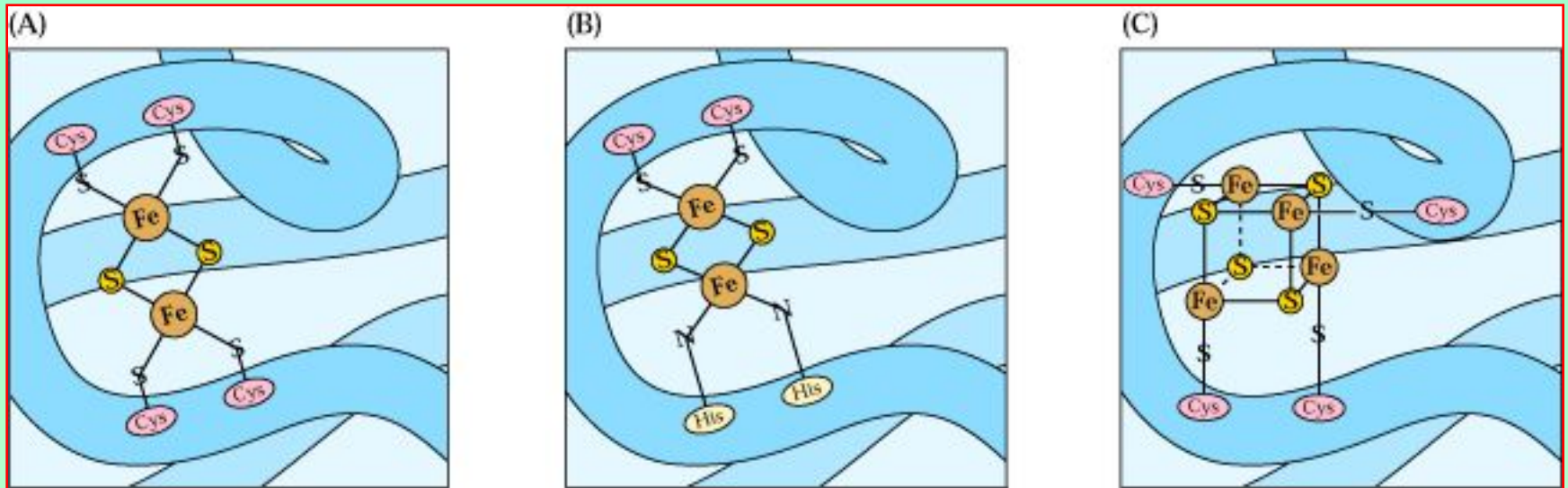
Флавинадениндинуклеотид (ФАД, FAD) и флавинмоноклеотид (ФМН, FMN) - компоненты многих Red-Ox ферментов: перенос $2e^- + 2H^+$



E^0 : от -0,5 до +0,2 v

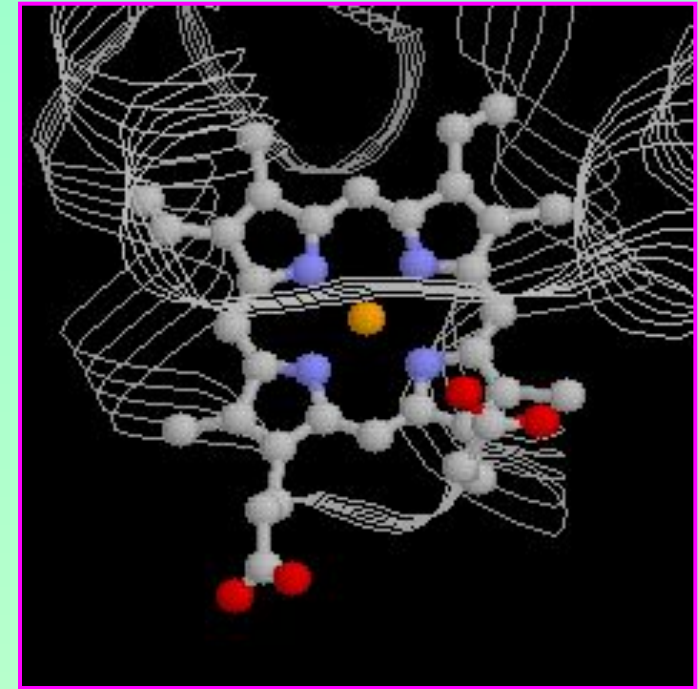
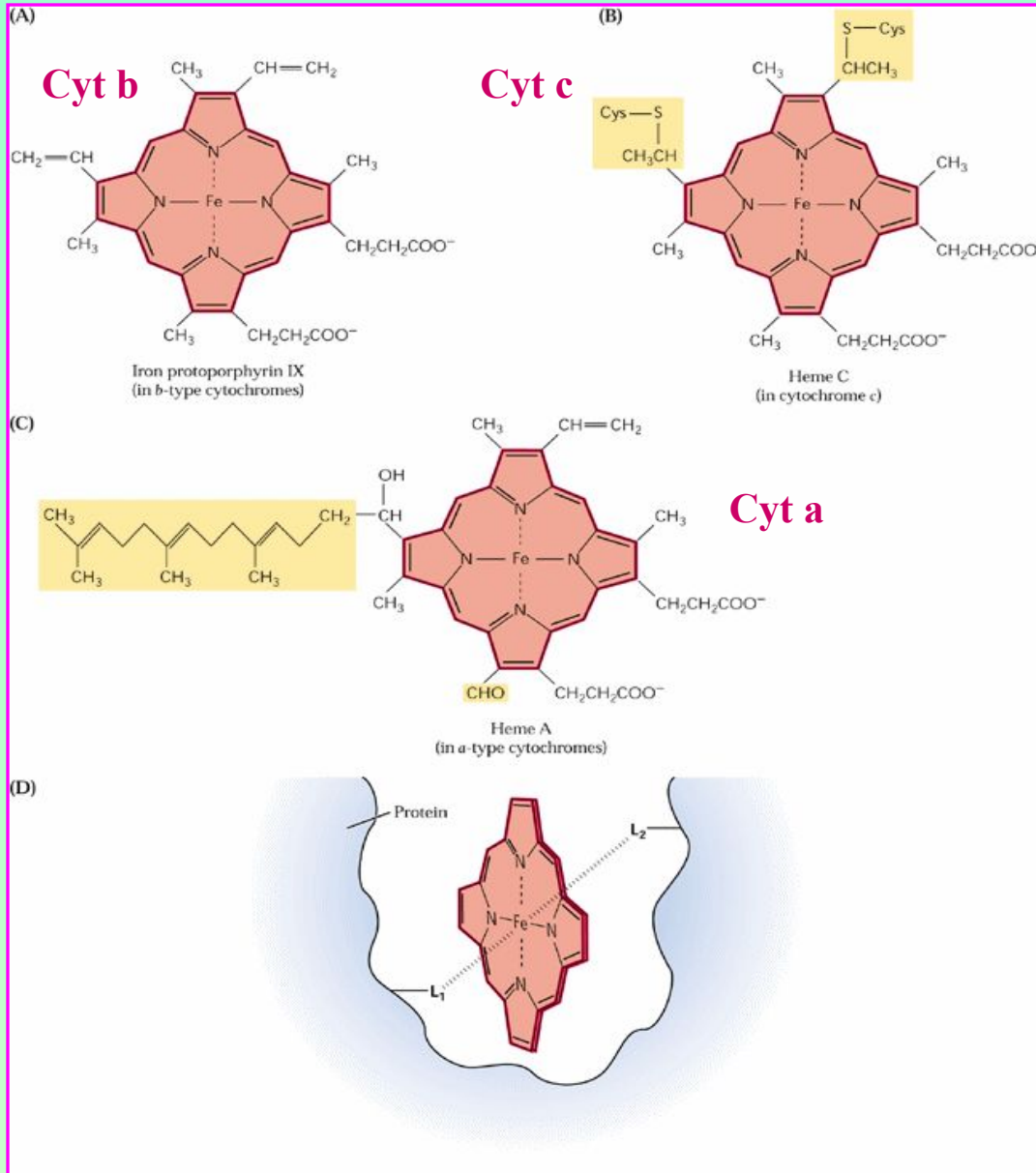
в зависимости от белка,
стабилизации кольца, резонанса

Железо-серные белки - 2Fe-2S и 4Fe-4S: перенос только e^-



$E^{\circ'}$:
от $-0,42V$ (Fd)
до $+0,35V$
(Fe-S бел. Риске)

Гемы - коферменты цитохромов: перенос только e^-



$E^{\circ'}$:
от $-0,18$ V (cyt b_6)
до $+0,55$ V (cyt a_3)

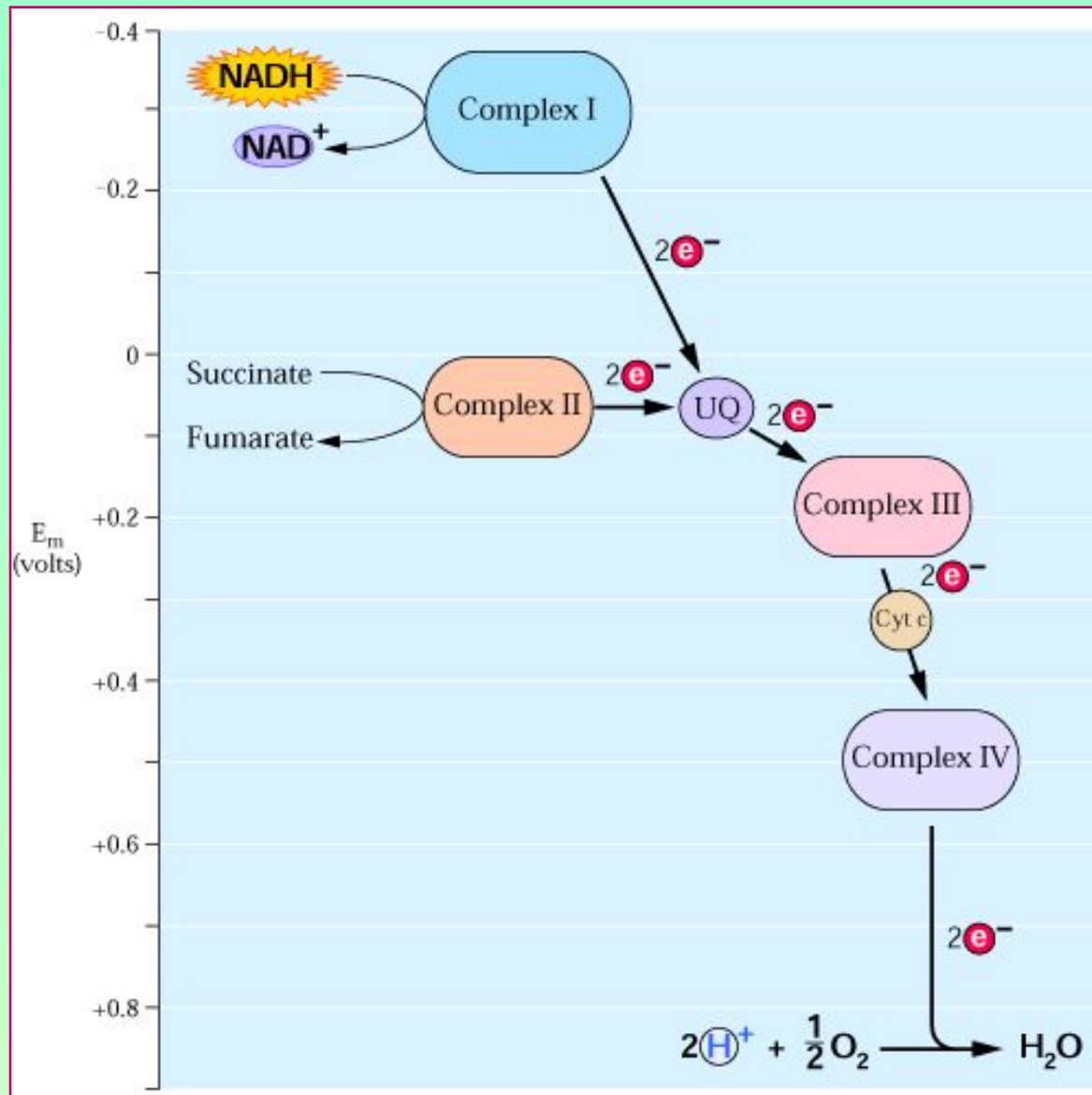
Переносчики e^- в ЭТЦ выстаиваются согласно своим E° – «под горку».. **Причем, как правило, это «Американские» горки...**

НАДН → **ФП (ФМН)** → **FeS (min 5шт)** → **UQ(пул)** →
-0,32v -(0,3 – 0,1)v -(0,37-0,02)v 0v

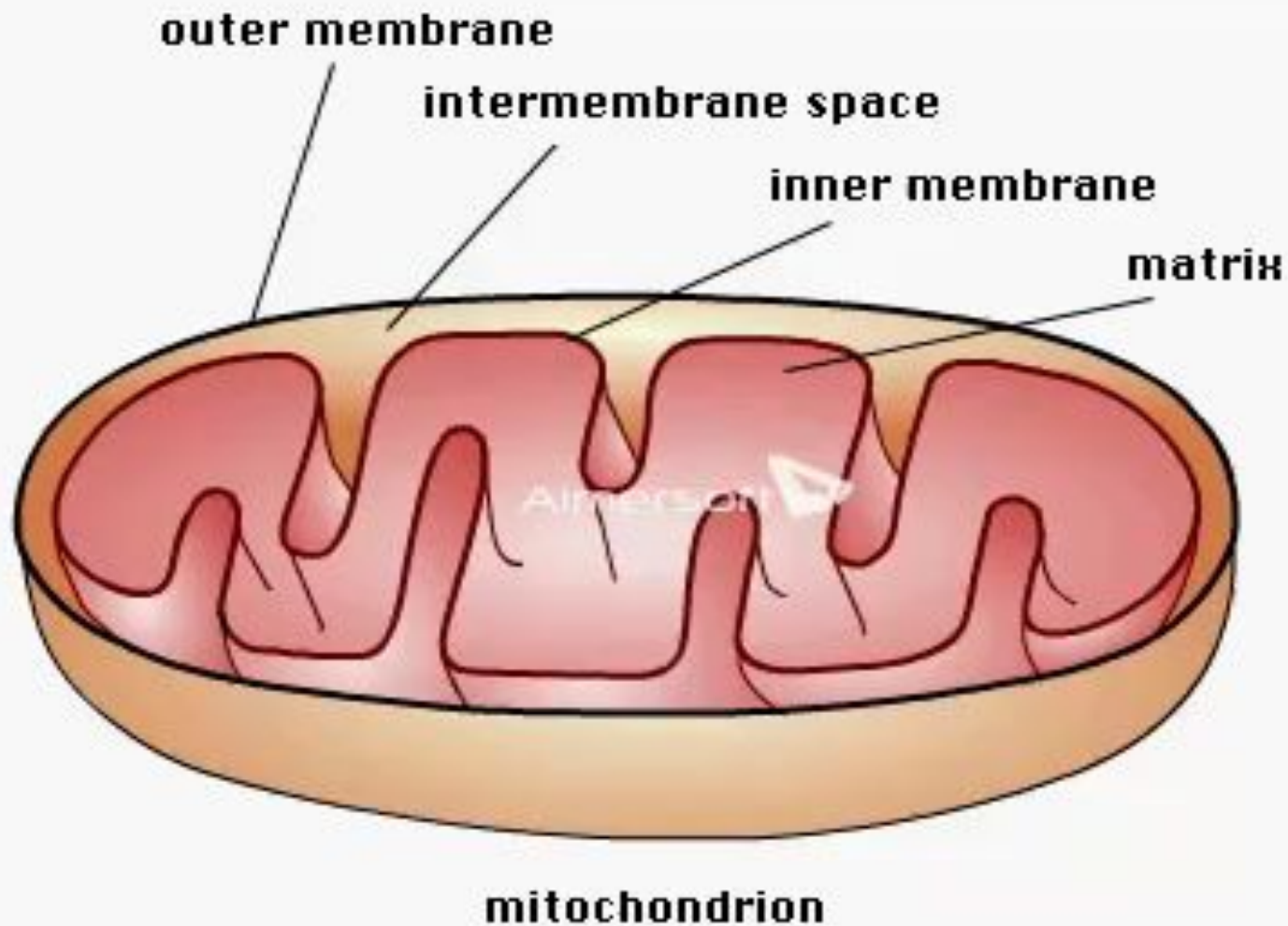
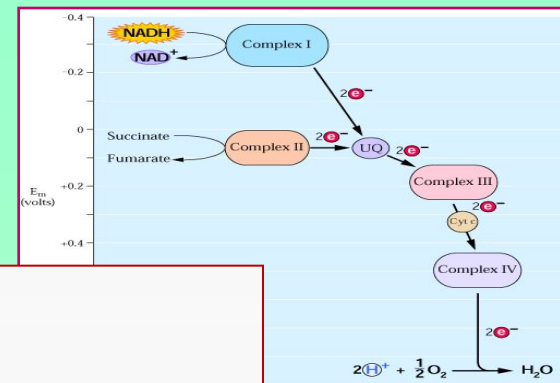
→ **цит b** → **FeS** → **цит c₁** → **цит c** → **цит a-a₃** → **O₂**
0,1v 0,28v 0,22v 0,25v 0,29-0,55v 0,82v



Общая схема дыхательной ЭТЦ: четыре белковых комплекса, объединяемые подвижными переносчиками e^-



**Общая схема дыхательной ЭТЦ:
четыре белковых комплекса, объединяемые
подвижными переносчиками e⁻**



Комплекс I: НАДН-дегидрогеназа. «Старый башмак»...

Эволюционно комплекс возник скорее всего в результате объединения двух комплексов из разных, неродственных белковых семейств:

НАДН-дегидрогеназный и убихинон-связывающий модули («голень») произошли из растворимой NiFe-гидрогеназы, которая окисляла НАДН и восстанавливала водород, а гидрофобная мембранная «подошва» комплекса, перекачивающая протоны, возникла из Na^+/H^+ -антипортов Mrp

М.в. 600-900kDa До 40 белков (min – 14)

I субкомплекс «голень»:

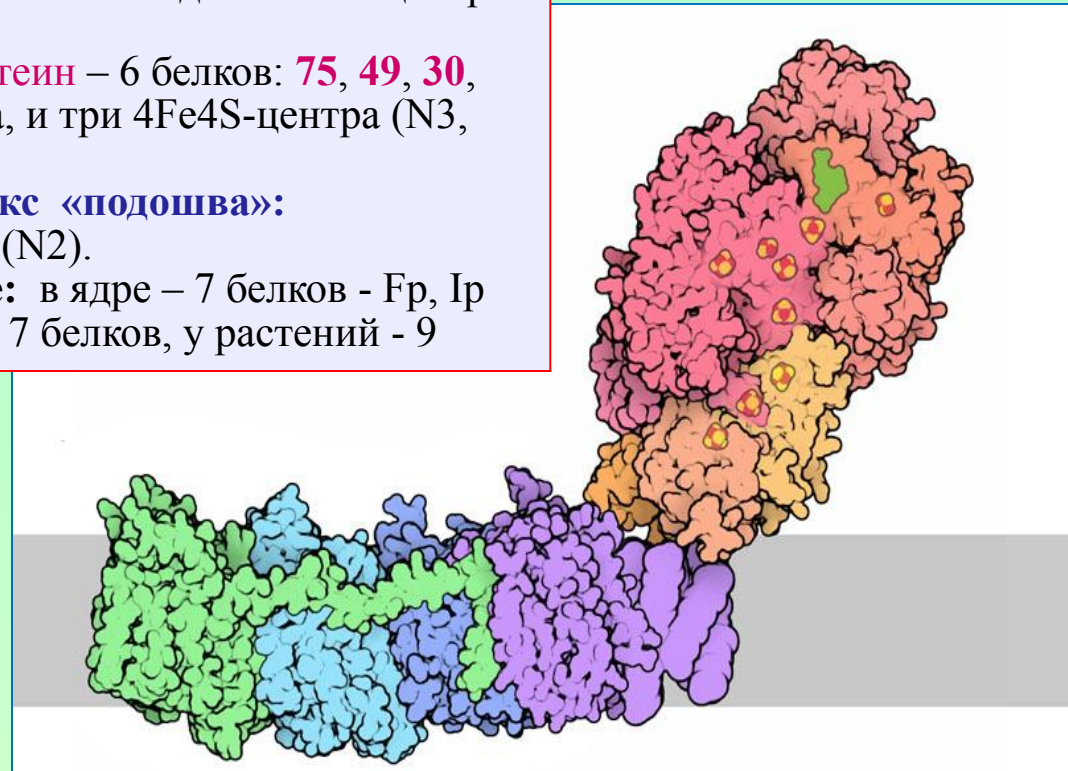
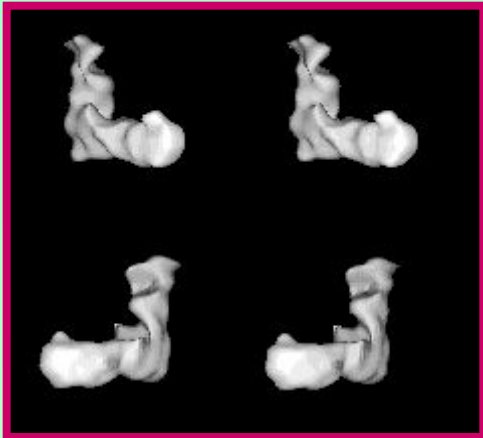
Флавопротеин - 3 белка: 51, 24 и 10 kDa, содержат ФМН и два $2\text{Fe}2\text{S}$ -центра (N1)

Железопропротеин – 6 белков: **75, 49, 30, 18, 15, 13** kDa, и три $4\text{Fe}4\text{S}$ -центра (N3, N4)

II субкомплекс «подошва»:

$4\text{Fe}4\text{S}$ -центр (N2).

Кодирование: в ядре – 7 белков - Fr, Ir
в м-геноме – 7 белков, у растений - 9



НАДН-дегидрогеназа: принцип работы

НАДН-дегидрогеназный комплекс имеет уникальный механизм транспорта протонов за счет конформационных изменений самого фермента.

До сих пор неясно, каким образом транспорт электронов сопряжён с переносом протонов...

Субъединицы ND2, ND4 и ND5 гомологичны бактериальным Mgp Na⁺/H⁺ антипортам и образуют три основных протонных канала + четвертый E-канал (субъединицы Nqo8, ND6, ND4L и ND3)

Старая, логичная, но – увы – скорее всего ошибочная схема работы...

Периферическая рука

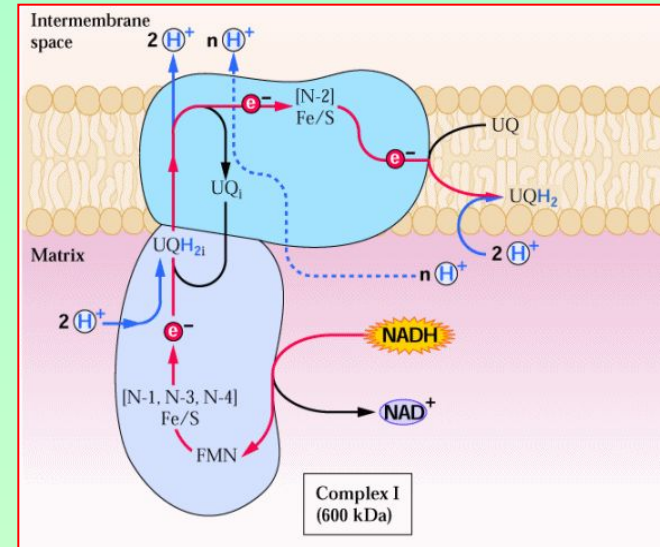
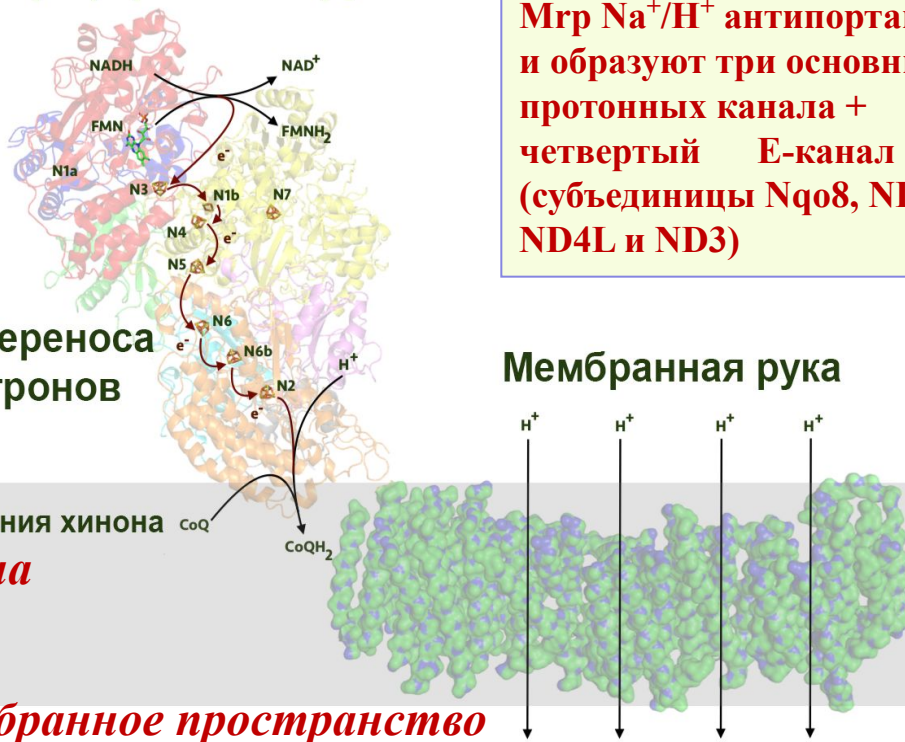
матрикс

Цепь переноса электронов

Сайт связывания хинона

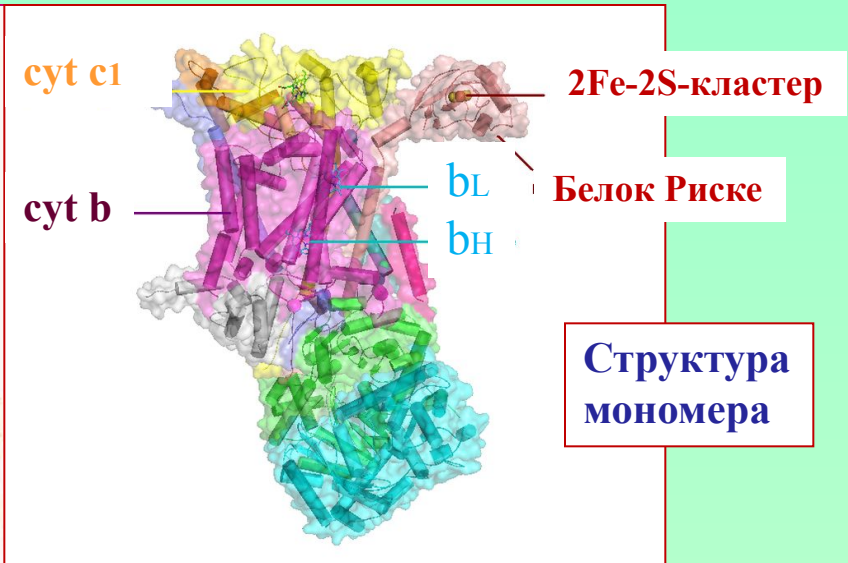
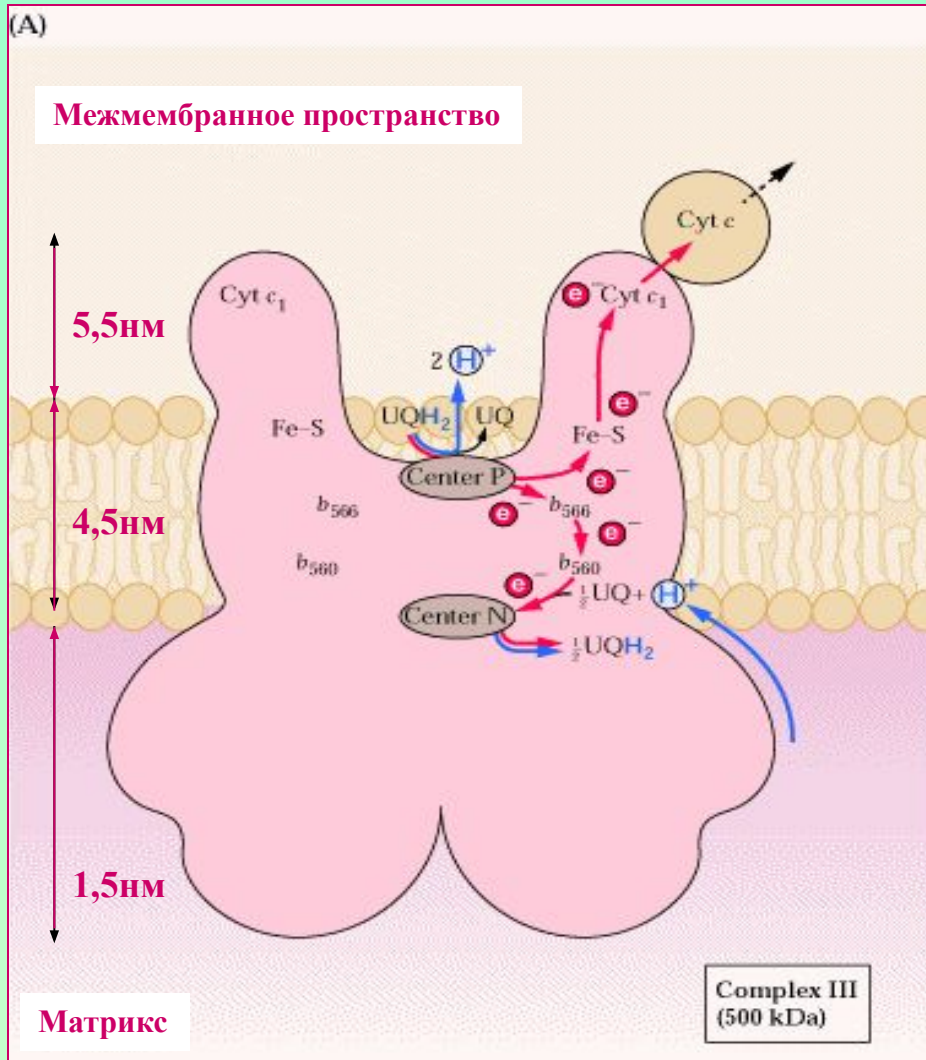
мембрана

межмембранное пространство



$$\Delta E = -0,32v - 0v \approx 0,3v$$

Комплекс III: КоQН₂:цитС-редуктаза; цитохром В₆С-комплекс



В мембране – димер. Мономер - до 11 белков, минимум 3 белка:

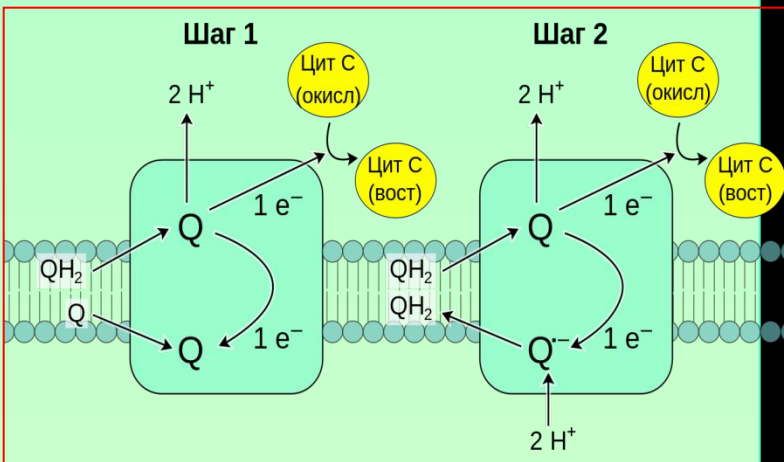
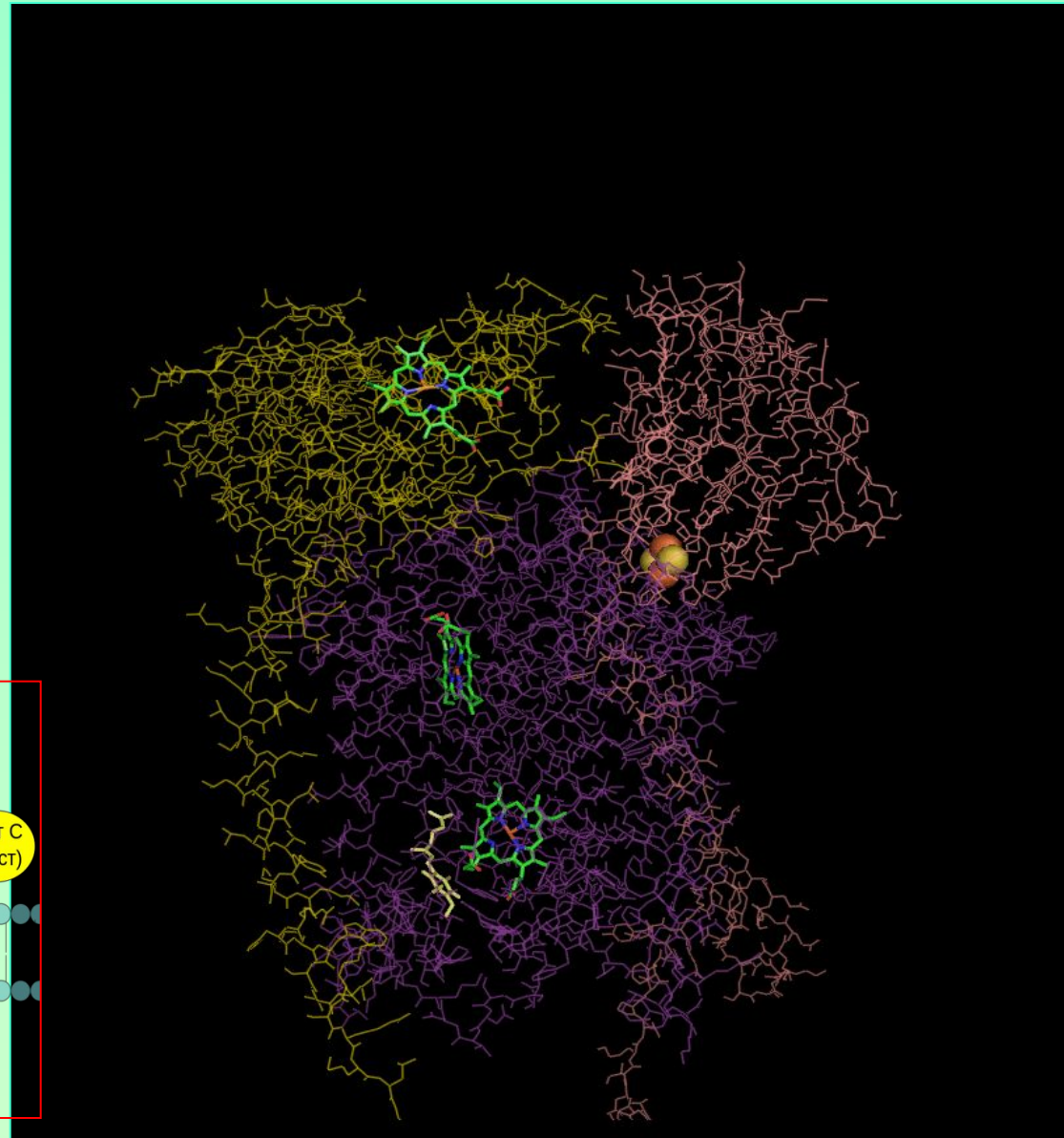
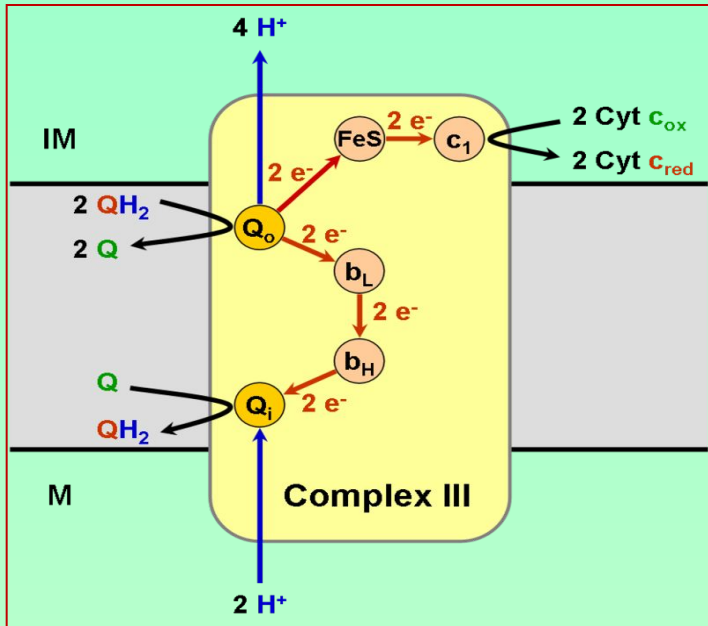
Cyt b (2 гема b_L и b_H), 45kDa

FeS-белок (2Fe2S), 21,5kDa

Cyt c₁, 27kDa, 240а-к.

E_0' : b_L -0,04v, b_H +0,04v, FeS-белок +0,28v, Cyt c₁ +0,22v, Cyt c +0,25v

Работа Q-цикла. Или как за счет окисления всего одного хинола «перекачать» аж 4 протона...



У растений В₆С-комплекс участвует в транспорте белков в митохондрию..

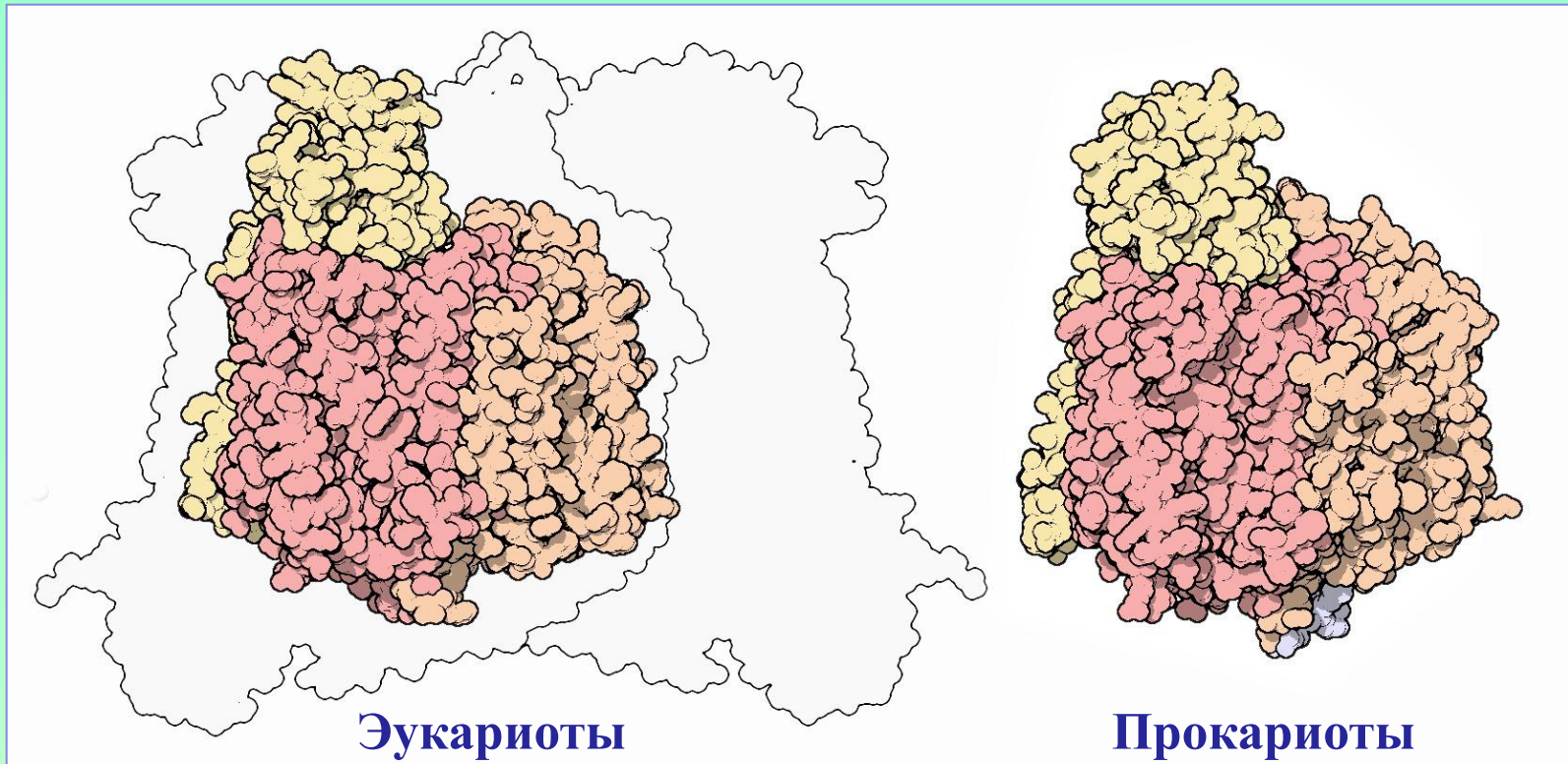
У растений Комплекс III бифункционален. Недавние исследования митохондрий пшеницы (*Triticum aestivum*), картофеля (*Solanum tuberosum*) и шпината (*Spinacia oleracea*) показали, что две коровые субъединицы комплекса, обращенные в матрикс, обладают MPP (*Mitochondrial Processing Peptidase*)-пептидазной активностью и принимает участие в транспорте белков в митохондрии.

MPP-пептидаза - гетеродимер, состоит из α -MPP и β -MPP субъединиц, каждая по 50 кДа. Она отрезает у поступающих в митохондрию белков N-концевую *сигнальную* или *транзитную* последовательность («пресиквенс») из 40-80 аминокислот.

В растениях MPP-пептидаза входит в состав цитохром-*bc*₁-комплекса, что считается архаичным признаком (на самом деле, спорное утверждение..)

У животных произошла дупликация генов коровых субъединиц, так что MPP-пептидаза у них присутствует как независимый водорастворимый белок матрикса.

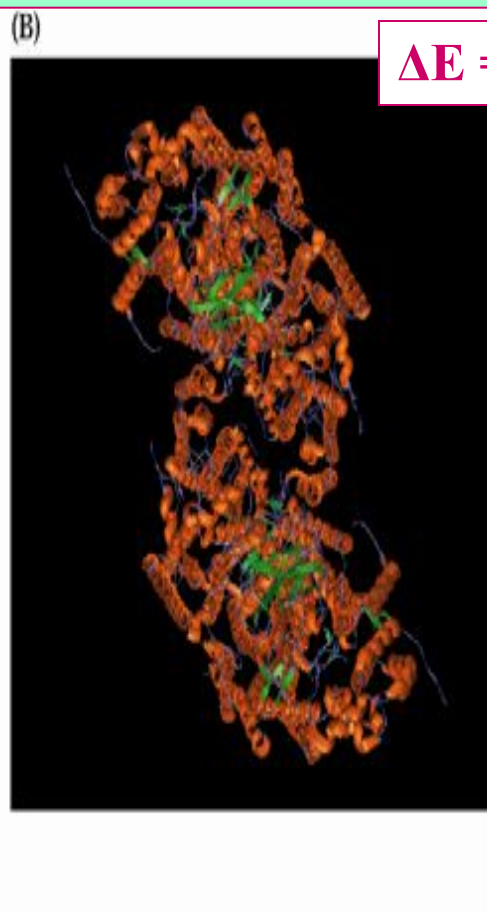
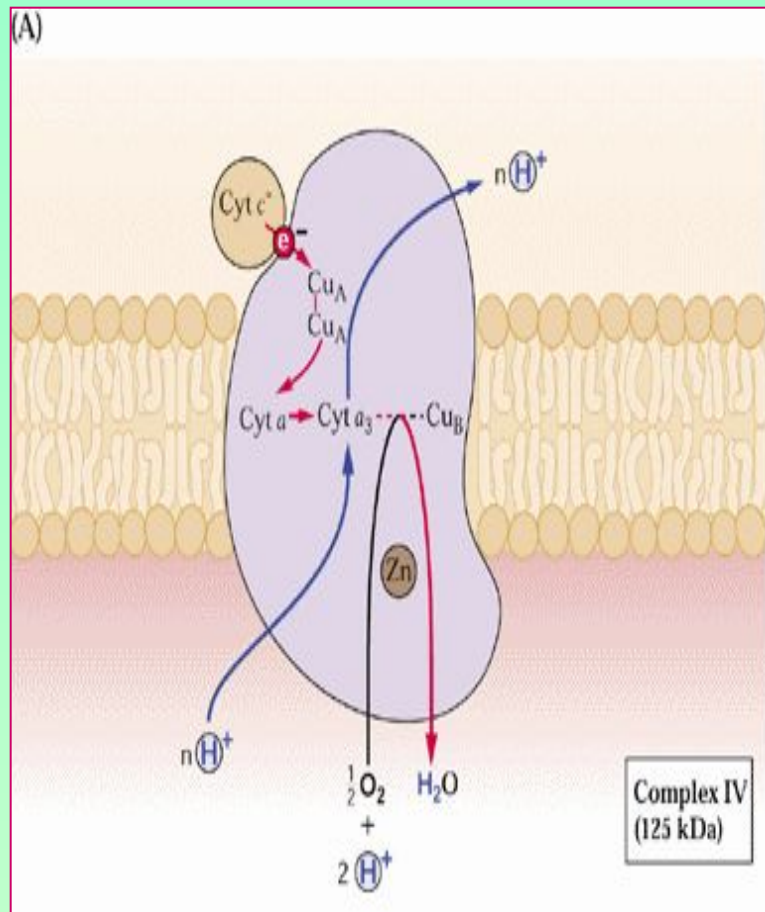
Комплекс IV: цитохром a-a₃, цитохромоксидаза



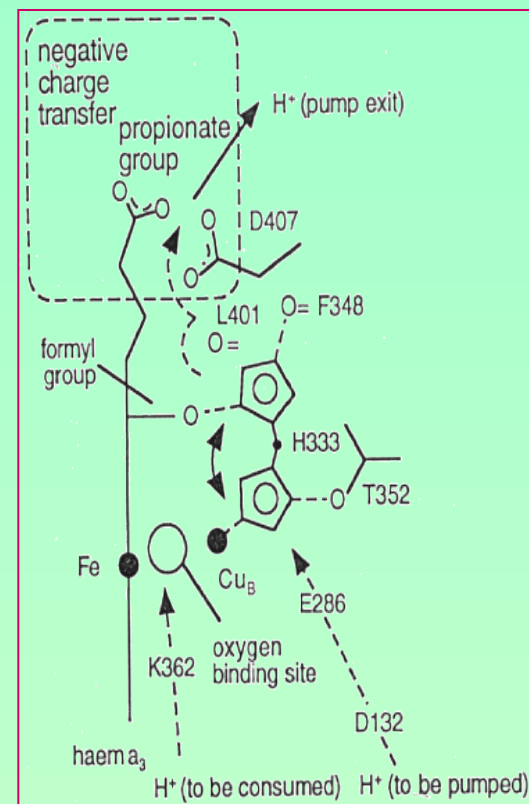
В мембране - димер. Мономер у эукариот - от 10 (дрожжи) до 13 - 14 (млекопитающие, птицы) полипептида. Из них 3 больших полипептида с каталитической активностью, кодируются в m-геноме, и 9 -10 небольших регуляторных белков ядерного кодирования с множеством изоформ

Для митохондрий растений - самый неизученный комплекс. По-видимому, у растений он состоит из восьми субъединиц, схожих с субъединицами комплекса IV других эукариот, и шести дополнительных субъединиц, специфичных для растений.

Комплекс IV: схема работы



$$\Delta E = 0,25v - 0,82v \approx 0,55v$$

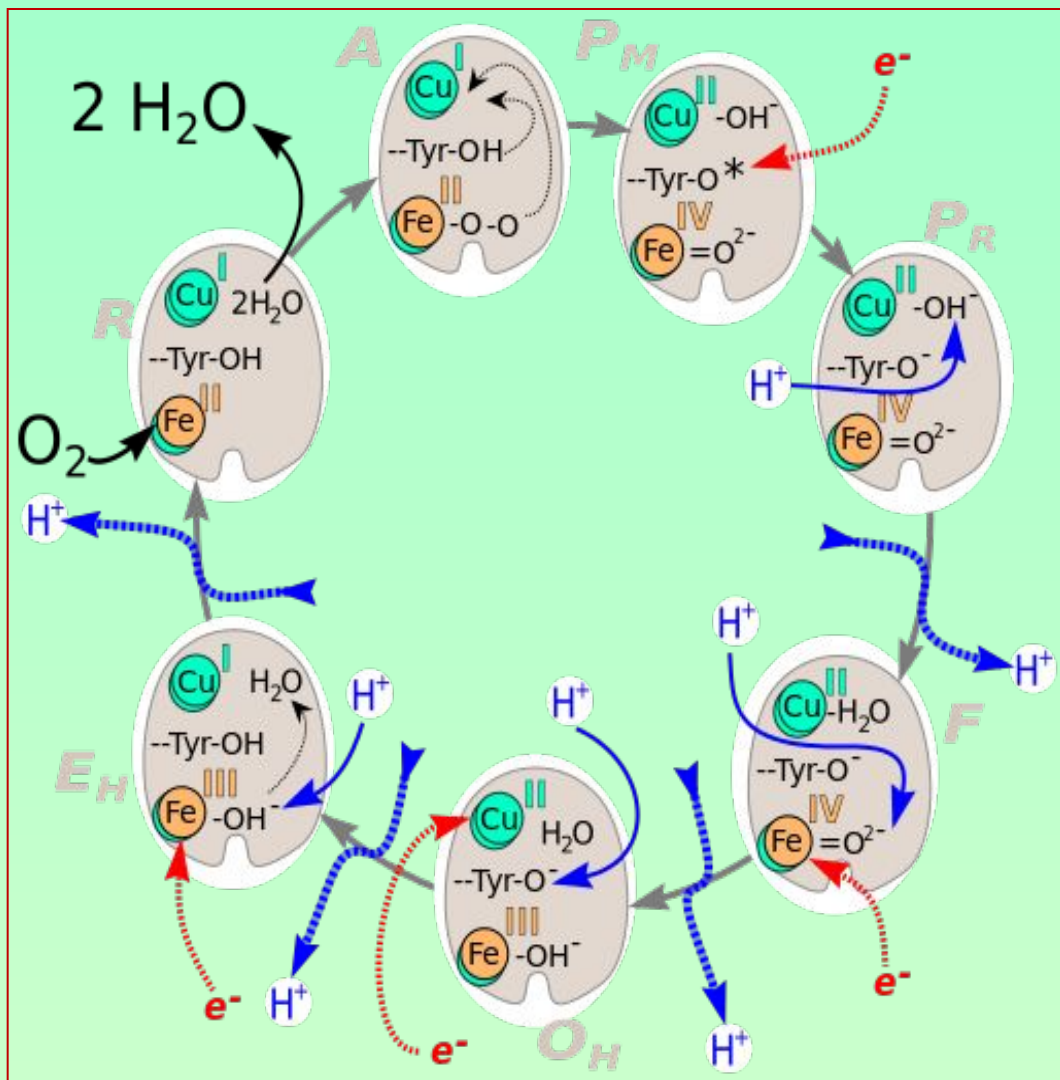


Основные каталитические полипептиды, кодируемые в м-геноме
I - 57 kDa., II - 26 kDa. И III - 30kDa.

4 Red-Ox центра: два гема а (а и а₃) и два Cu-центра: Cu_A (2атома) и Cu_B.
Гемы и Cu_B – на I белке, Cu_A – на II.

Предполагаемый механизм восстановления кислорода цитохромом а-а₃

Восстановление идет за счет попарного переноса e^- , что исключает образование активных форм кислорода.



A Полностью восстановленный биядерный центр связывает O_2

P_M Перенос четырёх электронов на кислород: два от железа гема a_3 ($Fe^{II} \rightarrow Fe^{IV}$), один от Cu_B ($Cu^I \rightarrow Cu^{II}$), четвёртый - от Tyr-244.

Tyr-244 отдаёт протон для разрыва двойной связи O_2 и Tyr-244-радикал восстанавливается до аниона цит-м с

P_R Протонирование $Cu(II)-OH^-$ с образованием H_2O .

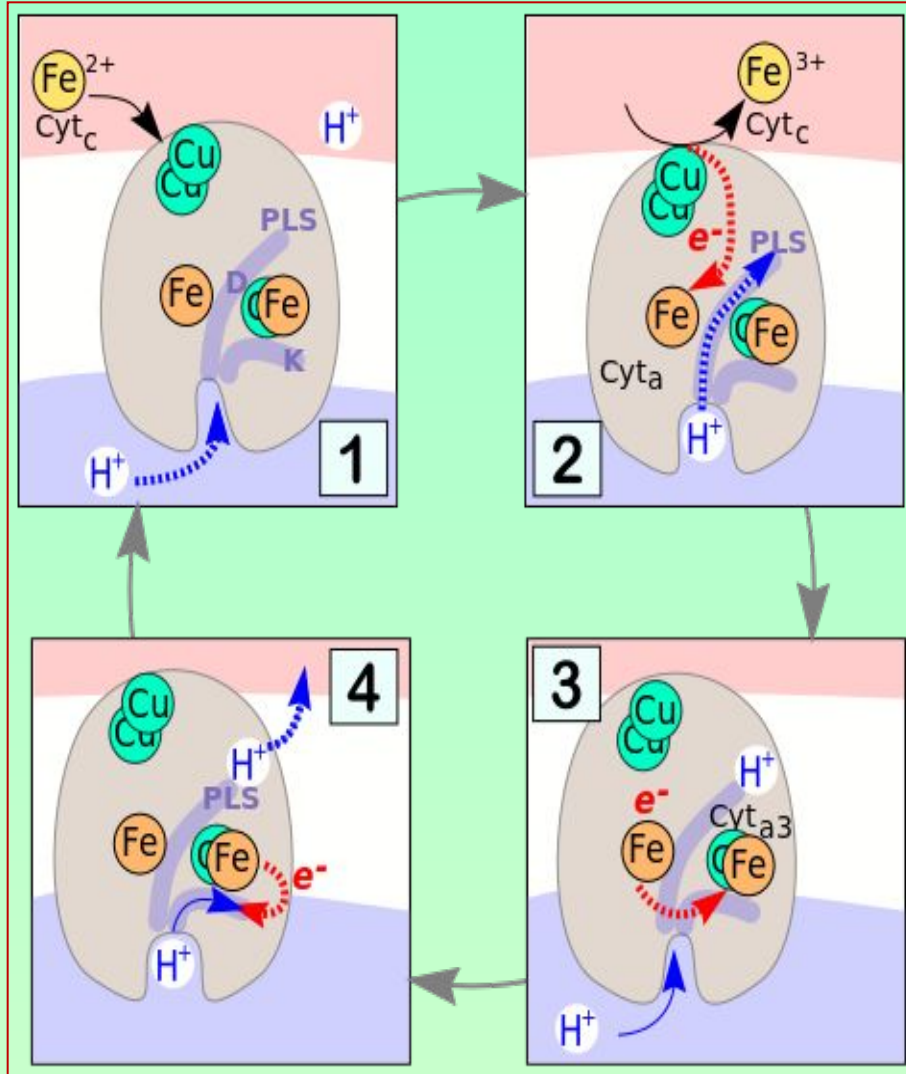
F Образовавшаяся H_2O связывается с Cu_B . Железо $Fe(IV)=O^{2-}$ восстанавливается до Fe^{III} , а связанный с ним кислород протонируется. Высвобождается первая молекула воды.

O_H Tyr-244-анион протонируется, Cu_B восстанавливается до Cu^I за счёт электрона от цит с.

E_H Fe^{III} восстанавливается до Fe^{II} , связанная с ним OH^- группа протонируется с образованием второй молекулы H_2O .

R Биядерный центр полностью восстановлен.

Предполагаемый механизм транспорта протонов через цитохромом а-а₃



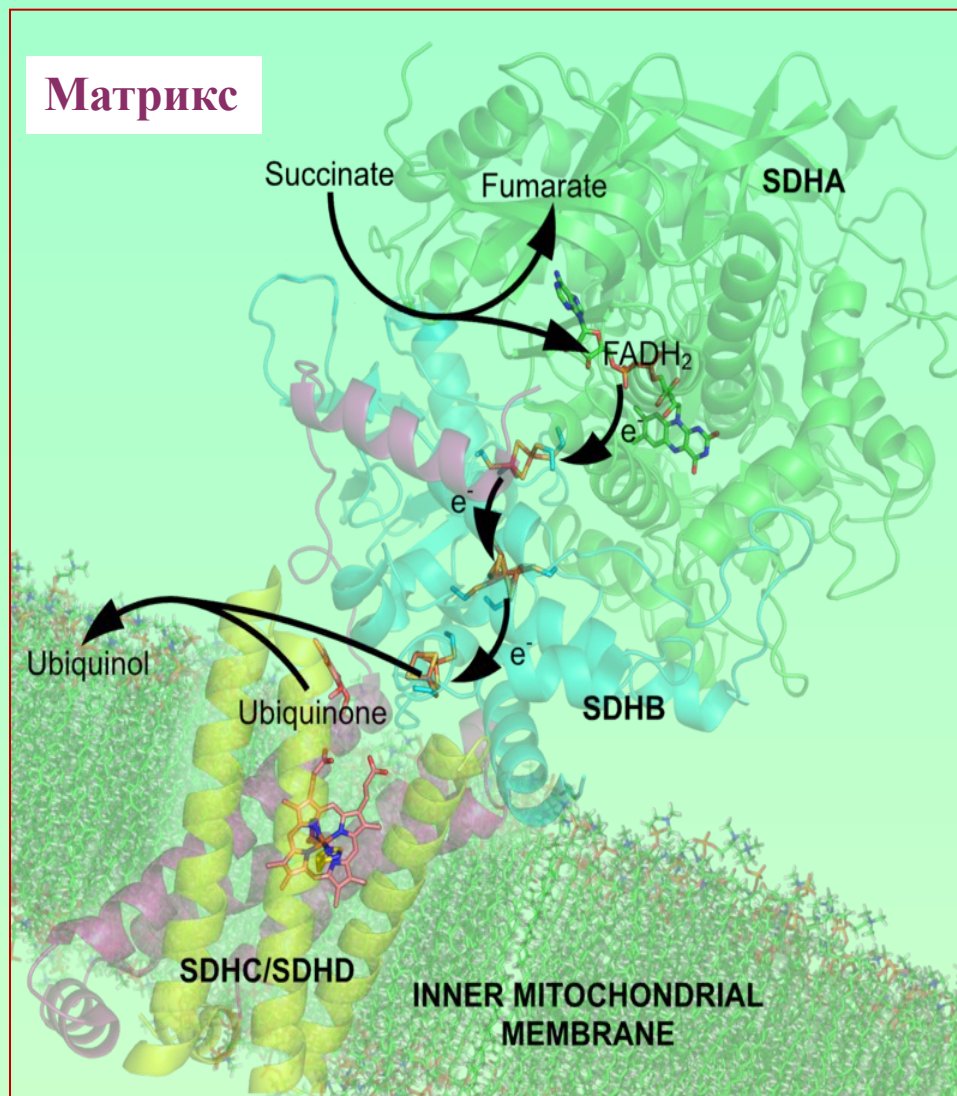
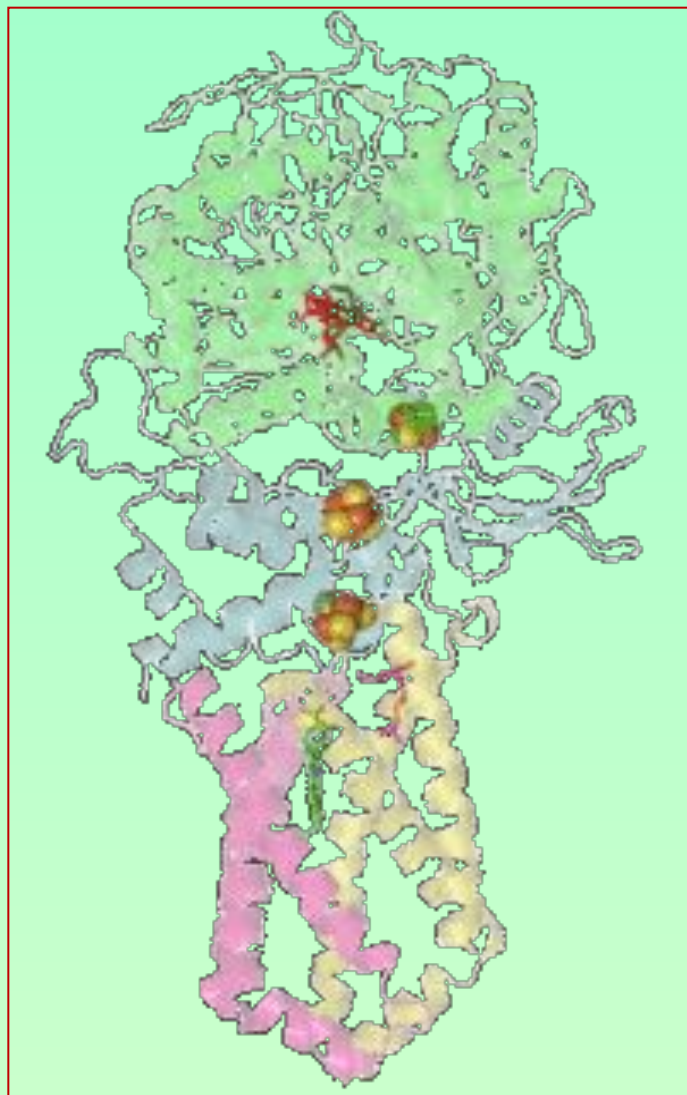
Для транспорта протонов имеются D-, K- и H-каналы, «выстланные» полярными остатками аминокислот. Считается, что K-канал связывает матрикс с биядерным центром и служит для доставки «субстратных» протонов, а D- и H-каналы являются «сквозными». На каждый электрон от цит.с цитохромоксидаза закачивает через канал K один «субстратный» (используемый для образования воды) протон и переносит по каналу D один дополнительный протон.

- 1.** Каналы комплекса закрыты, цитохром с передаёт электрон на Cu_A -центр.
- 2.** Электрон перемещается с Cu_A -центра на гем a, что приводит к открытию канала D перемещению протона из матрикса в PLS (*сайт загрузки протона - proton loading site*).
- 3.** Электрон переходит на биядерный центр к гему a_3 , и через канал K из матрикса входит один субстратный протон.
- 4.** Предзагруженный в PLS протон выталкивается в межмембранное пространство, как полагают, за счет электростатического отталкивания от субстратного протона.

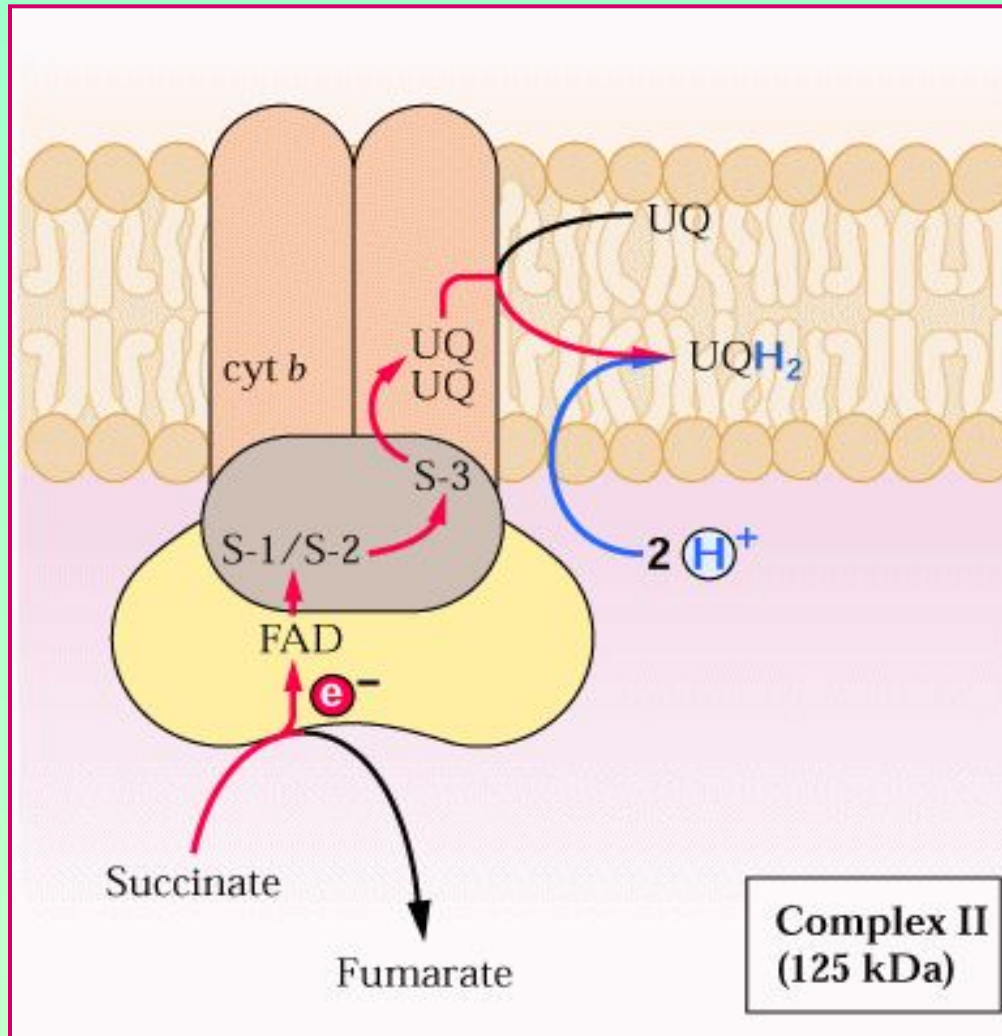
Комплекс II: Сукцинатдегидрогеназа.

Четыре полипептида: SDH A, B, C и D (SDH 1 – 4).

Единственный фермент цикла Кребса, встроенный в мембрану митохондрий...



**Комплекс II: Сукцинатдегидрогеназа. Схема, кофакторы -
- и зачем фермент цикла Кребса встраивать в мембрану?**



Состав: 4 субъединицы SDH1, 67kDa, FAD, SDH2, 28kDa, 3FeS центра SDH3, 20kDa, гем cyt b₅₆₀ SDH4, 16.5kDa

Почему комплекс II встроен в мембрану ?

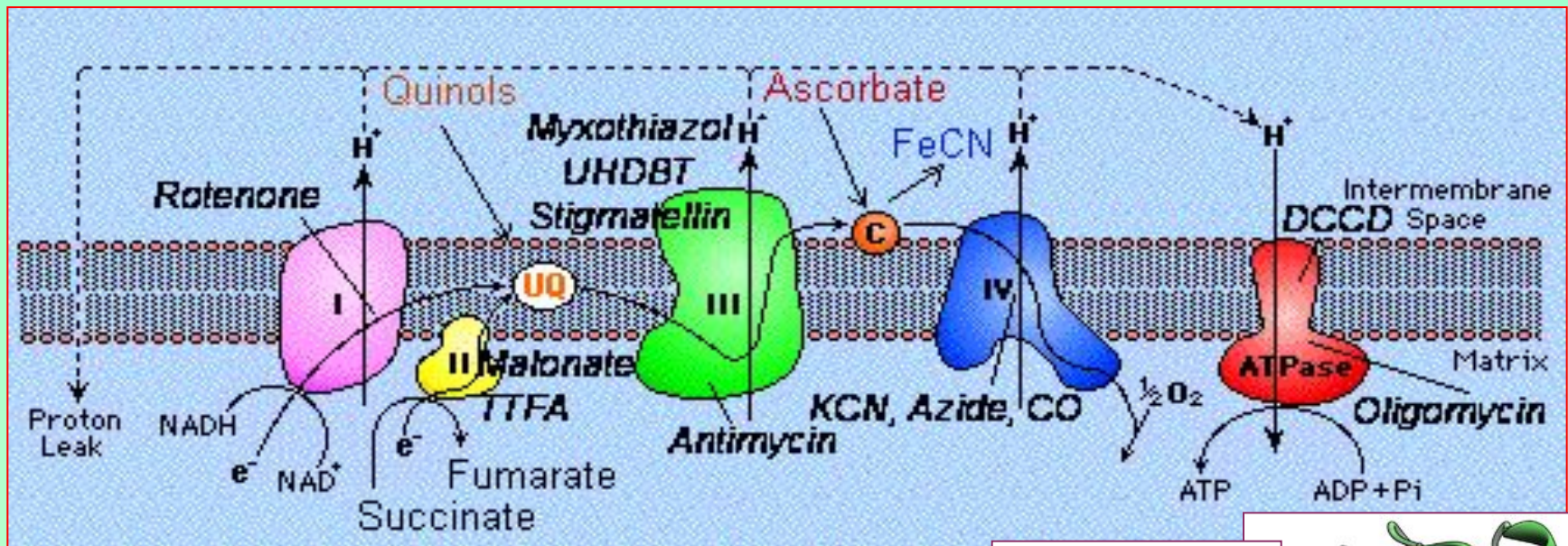
Вход e⁻ в ЭТЦ от соединений с разным уровнем запаса энергии:

E_0° фумарат/сукцикат +0,03v - для работы комплекса I не хватает...

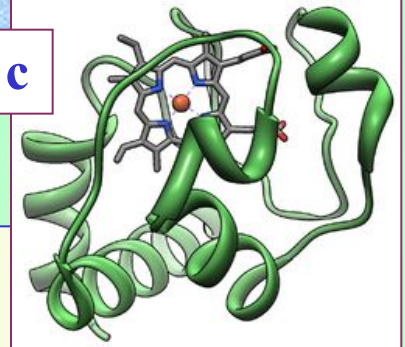
Но передать электроны на убихинон – вполне..

У ряда водорослей и печеночников 3 субъединицы кодируются в геноме митохондрий.

Итак, общая схема дыхательной ЭТЦ: **четыре белковых комплекса, объединяемые подвижными переносчиками e^-**



Цитохром с

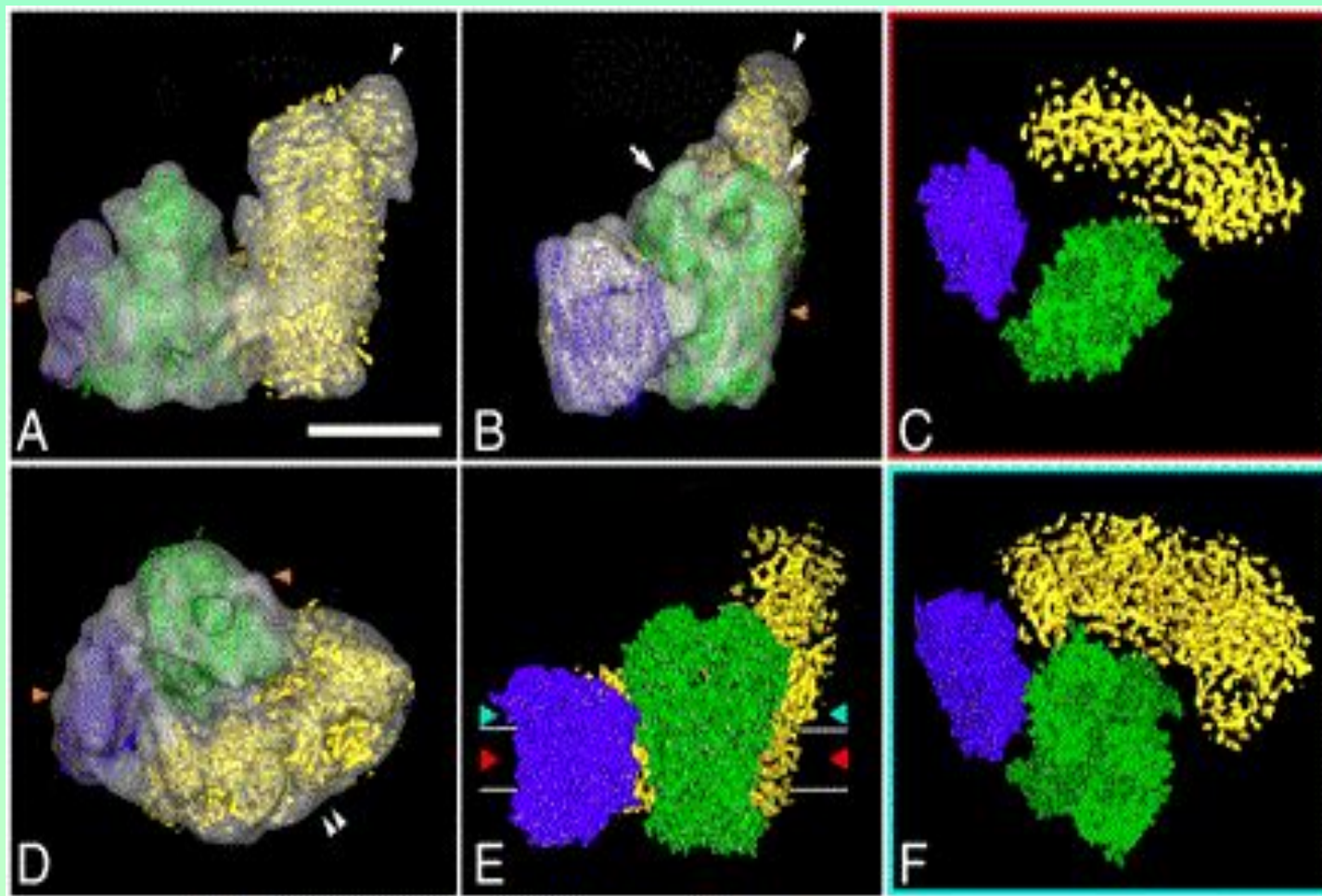


Подвижные переносчики:

1. **Убихиноны** – их много («пул убихинонов»)
2. **Цитохром с** – 104 ак. Локализован с наружной стороны внутренней мембраны. Гем ковалентно связан с белком (через cys14 и cys17)

Примерная стехиометрия: 1 комплекс I : 3 bc_1 : 7 aa_3 : 9 cyt c : 50 UQ

Или «Респирасома»? Суперкомплексы I / III / IV



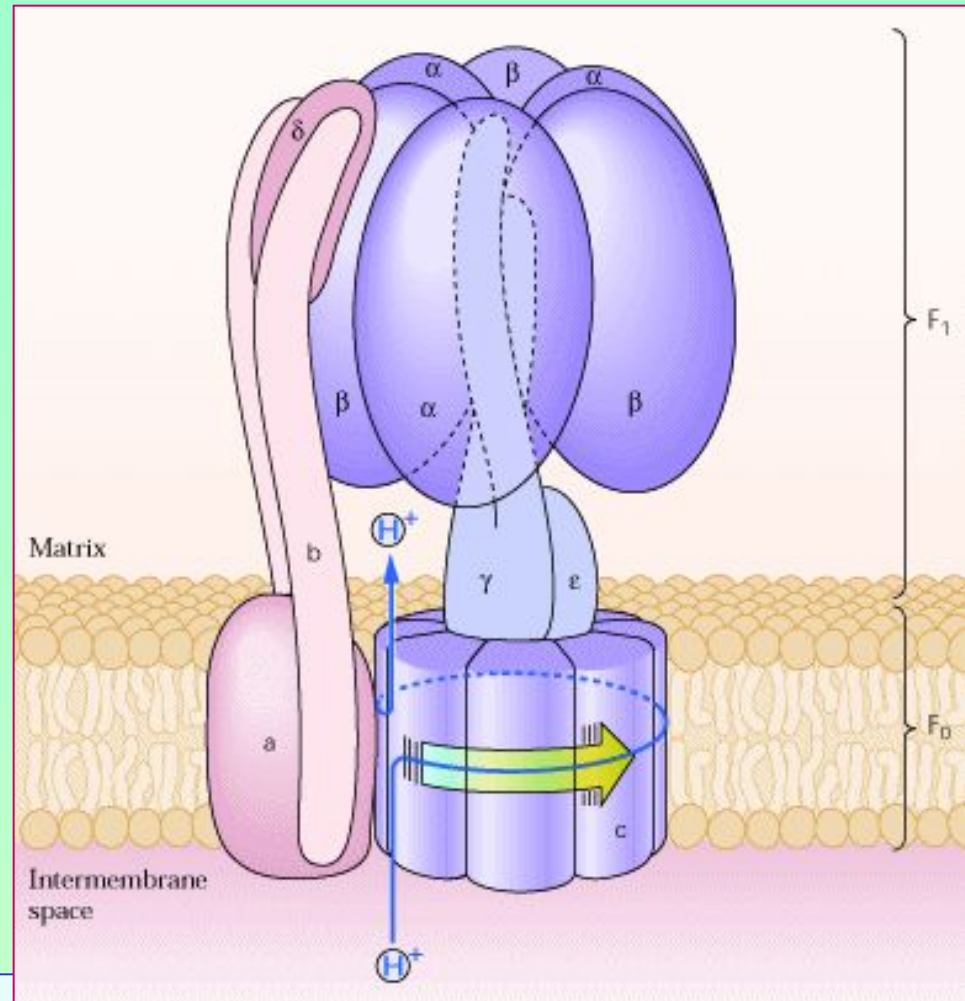
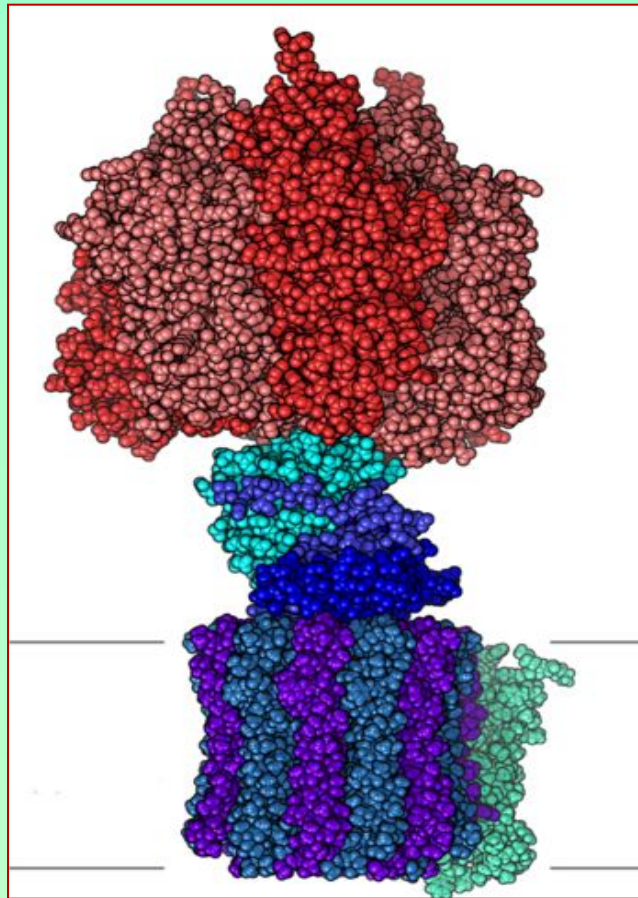
Комплекс I показан жёлтым, комплекс III - зелёным, комплекс IV - фиолетовым.

А, В, и Е - боковой вид комплексов, расположенных в мембране.

Горизонтальная линия на рисунке Е показывает расположение мембраны.

Д - вид из межмембранного пространства, С и F - вид из матрикса

АТФ-синтаза: «вальсирующий» комплекс



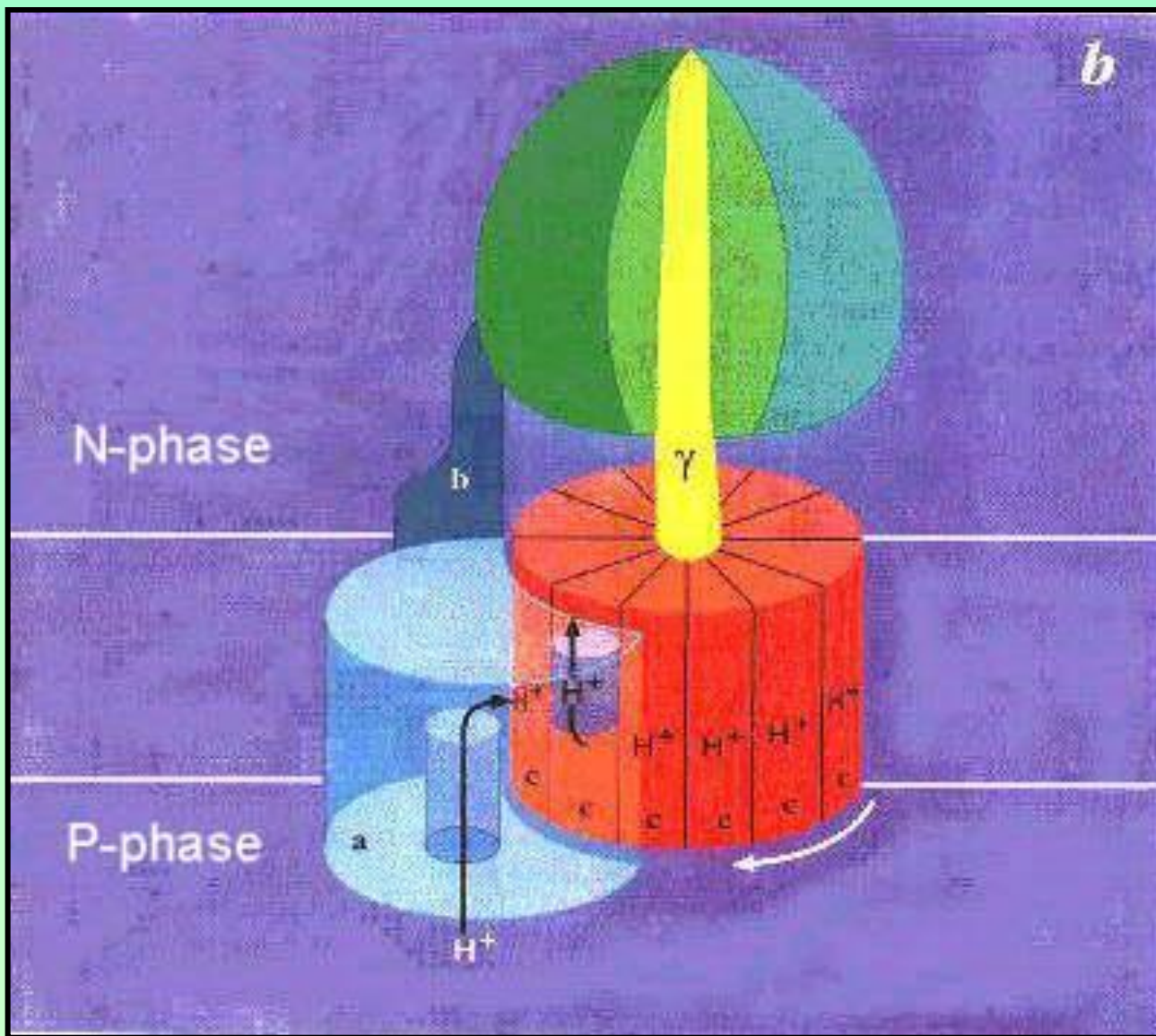
Структура: две субъединицы: F₀ и F₁

F₁: $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ α - 59 kDa, β - 56 kDa, γ - 36 kDa δ - 17.5 kDa, ϵ - 13,5kDa

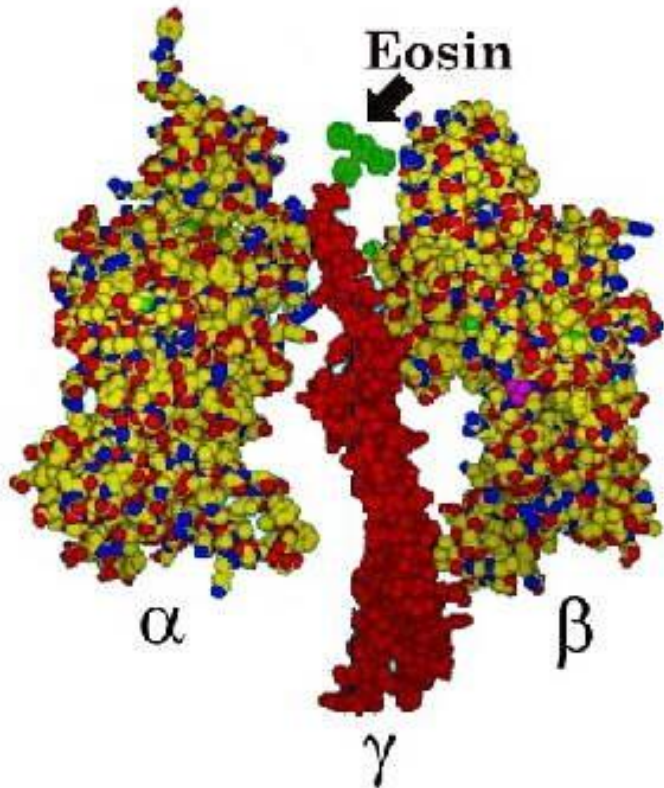
F₀: a (I) -15kDa, b (II) - 12.5kDa, c (III) - 8kDa **a:b:c – 1:2: (6-15)**

α , β , ϵ субъединицы F₁ и субъединица a (I) F₀ кодируются в m-геноме.

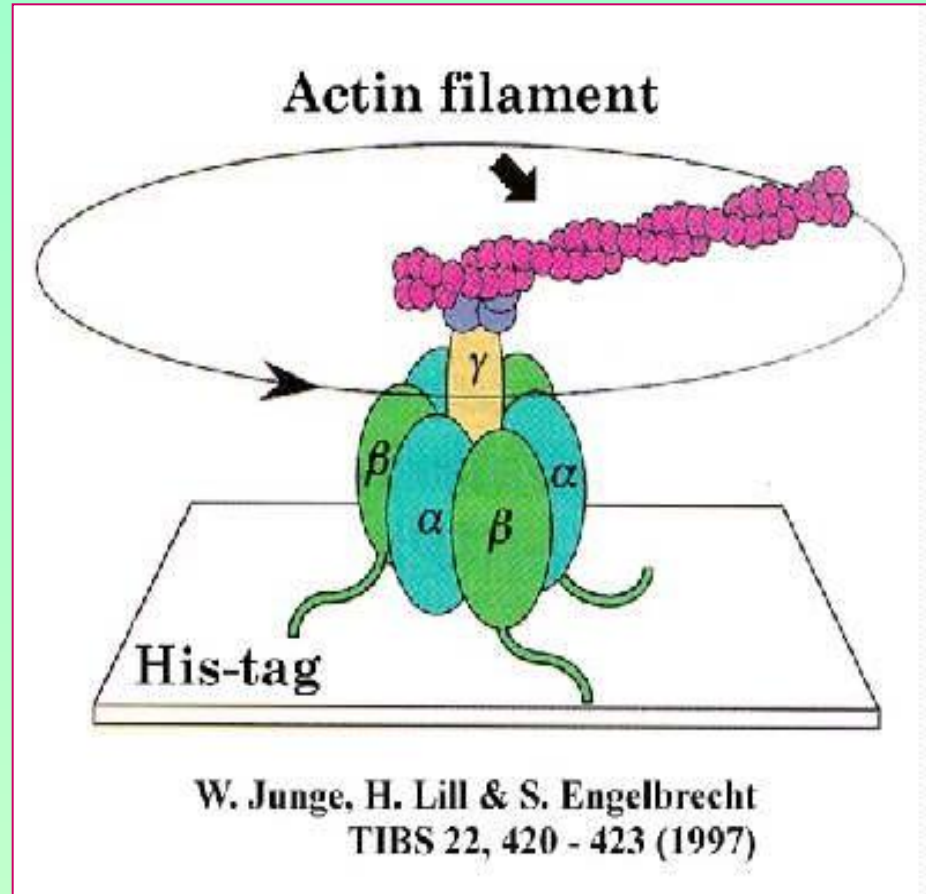
Работа АТФ-синтазы чем-то напоминает работу электродрели...



Красивое доказательство вращательной работы АТФ-синтазы



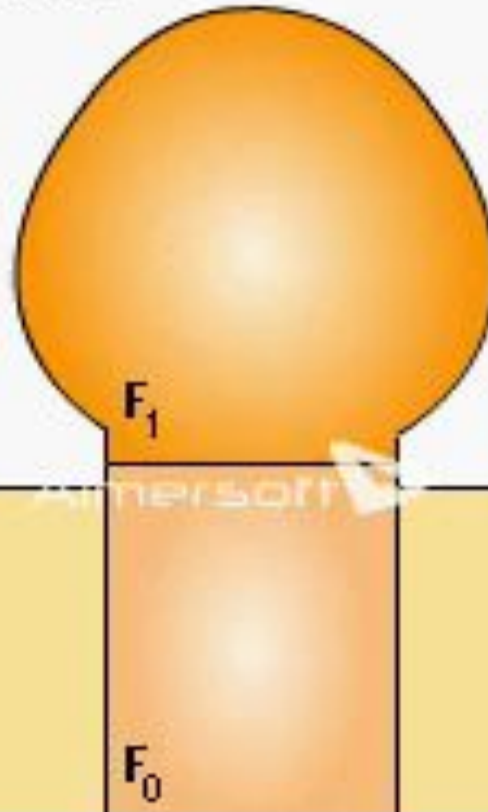
W. Junge, H. Lill & S. Engelbrecht
TIBS 22, 420 - 423 (1997)



W. Junge, H. Lill & S. Engelbrecht
TIBS 22, 420 - 423 (1997)

Работа АТФ-синтазы: упрощенно..

mitochondrial $F_0 F_1$ complex
(ATP synthase)



inner
membrane

Работа АТФ-синтазы: анимация..



Работа АТФ-синтазы: в представлении китайских студентов...



Транспорт интермедатов дыхания через мембрану митохондрий.

