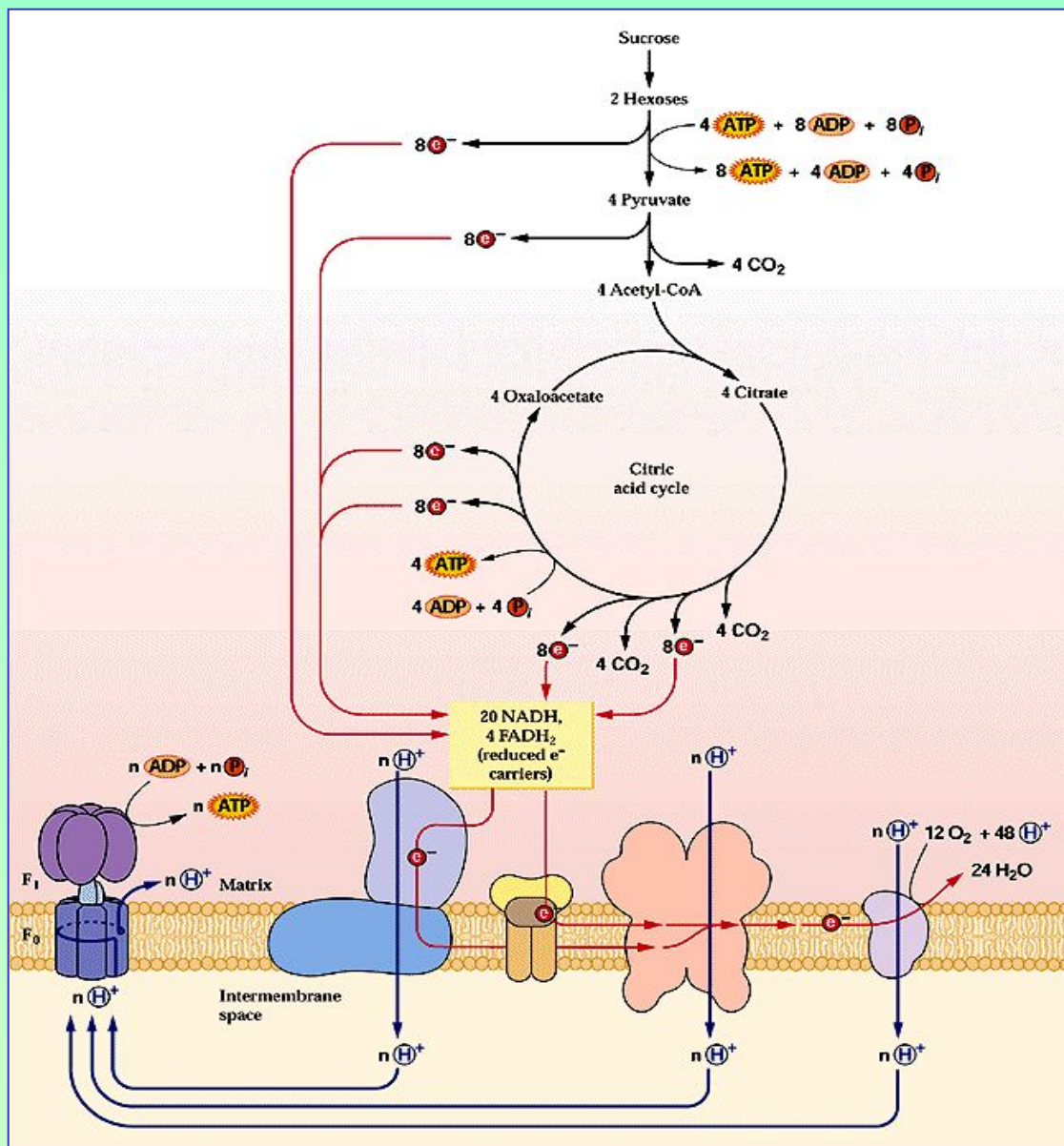


Специфика энергетических систем растительной клетки



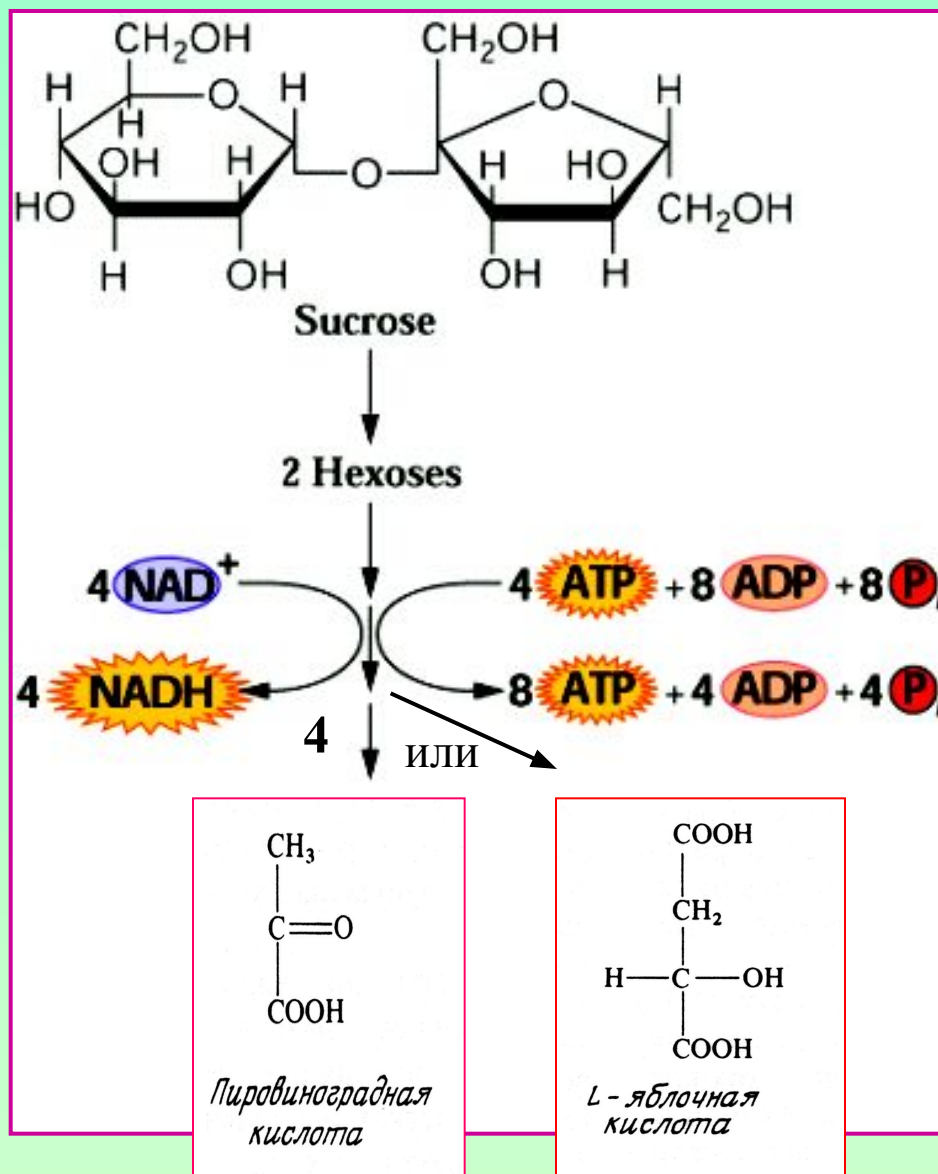
Особенности гликолиза у растений: шунты, регулирование

Самый древний энергетический путь: гликолиз, общая схема

Исходное соединение для гликолиза у растений - **сахароза**, а не глюкоза, как у животных

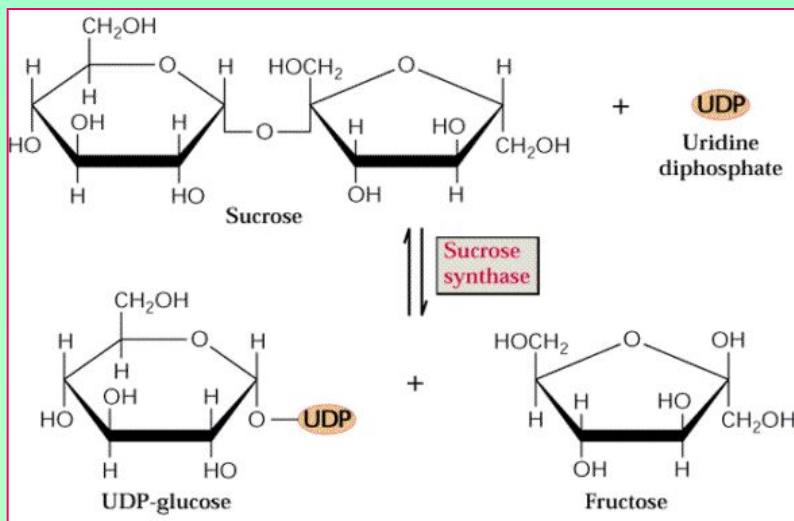
У растений гликолиз идет в двух компартментах – в цитозоле и в пластидах. В пластидах – возможно, с другими задачами, в хлоропластах – как правило в темноте

Конечный продукт гликолиза у растений - не только **пируват**, (пировиноградная кислота) но и **малат** (яблочная кислота)



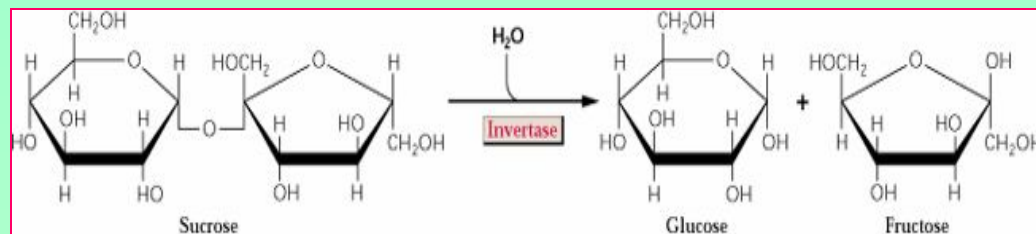
Варианты образования глюкозы и фруктозы из сахарозы...

Сахарозосинтаза: синтез и распад.



Сахарозосинтаза локализована, как правило, в цитозоле.

Инвертаза – только гидролиз...



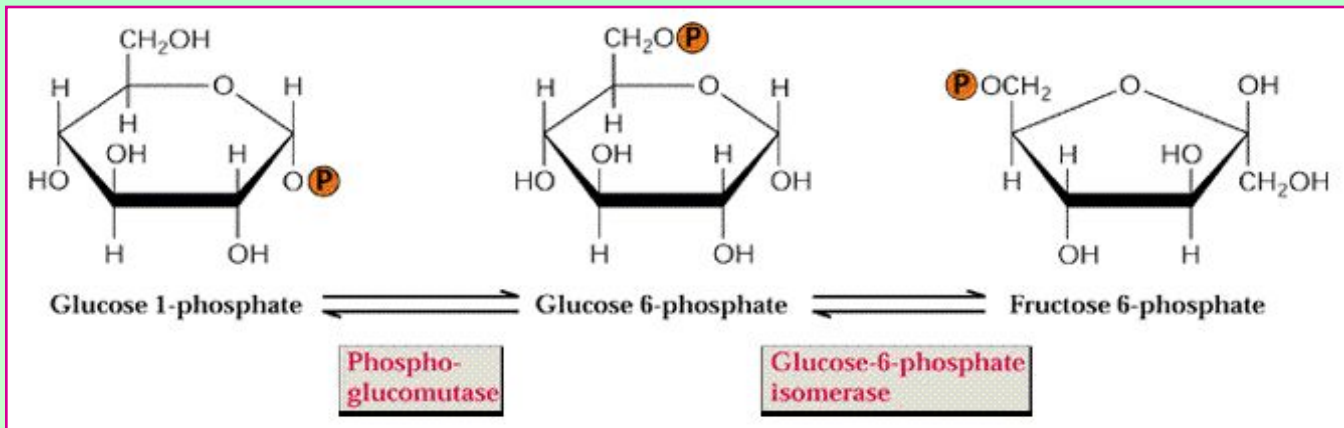
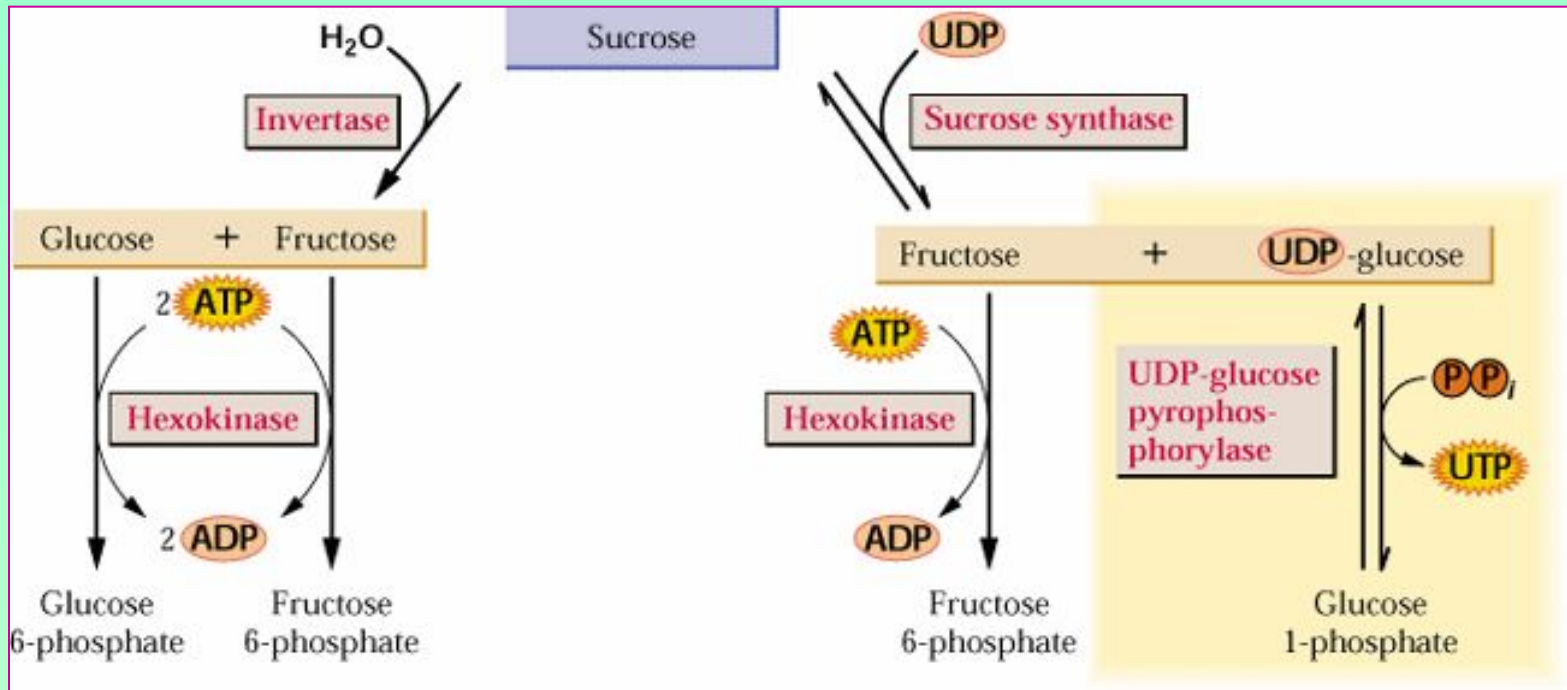
Ивертаза в различных тканях может находиться в цитозоле, клеточной стенке, вакуоле.

Две формы инвертазы:

щелочная – в цитозоле

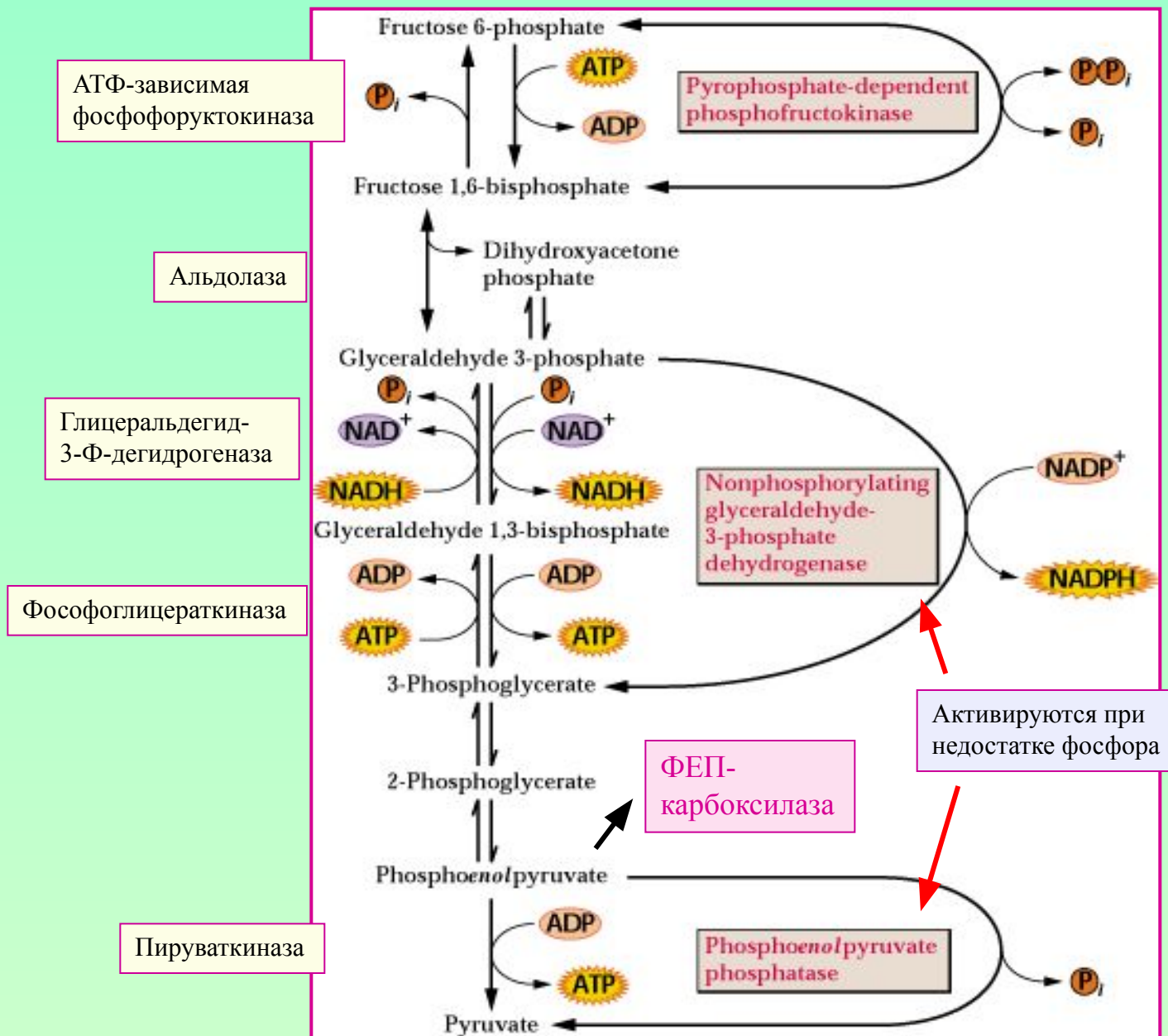
кислая – в вакуоле и клеточной стенке.

Варианты образования фруктозо-6-фосфата – «стартовой» молекулы гликолиза



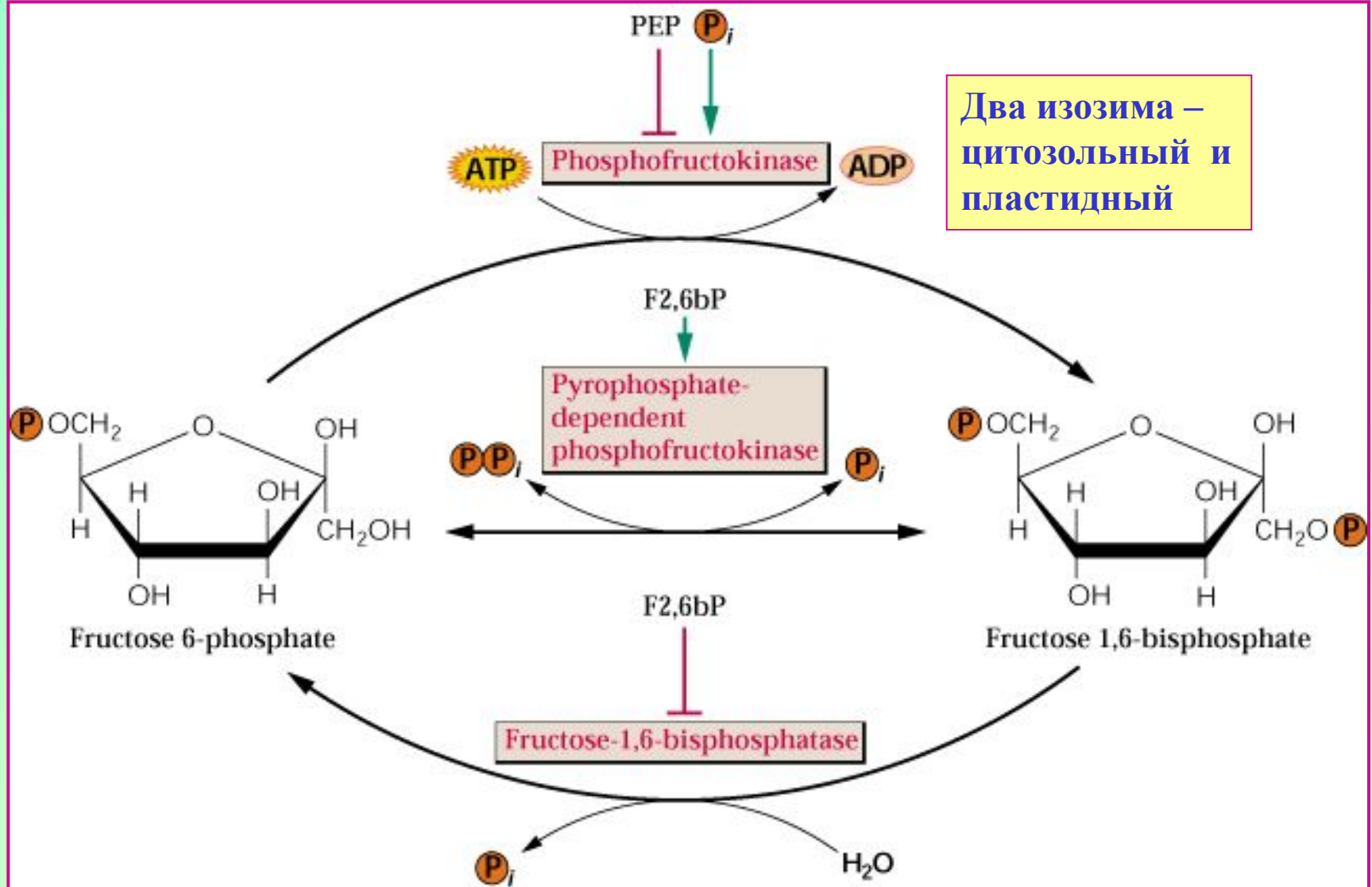
Пул гексоз в растительной клетке

Основные стадии гликолиза и их «шунты» в растительной клетке

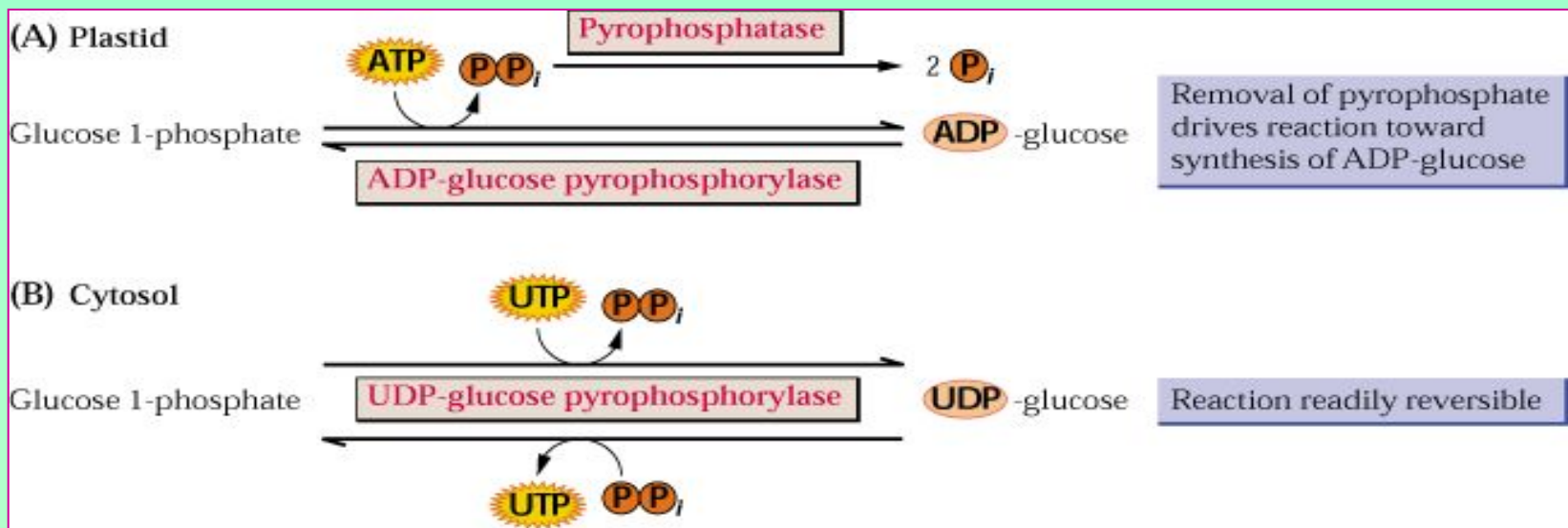


Два пути образования фруктозо-1,6-бисфосфата у растений

Два изозима –
цитозольный и
пластидный



Еще один сюрприз растительной клетки...



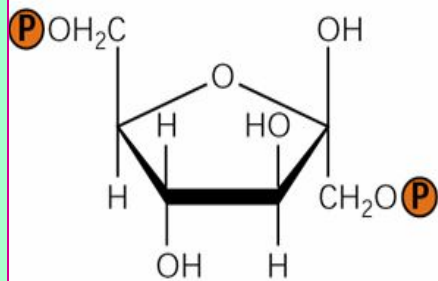
Одна из догм биохимии: дифосфат (пирофосфат) не накапливается в клетке, поскольку он быстро разрушается пирофосфатазами (дифосфатазами)... Это верно, но не для растительной клетки.

В цитозоле растительной клетки нет (или почти нет) пирофосфатаз и там концентрация дифосфата может достигать 0,3мМ...

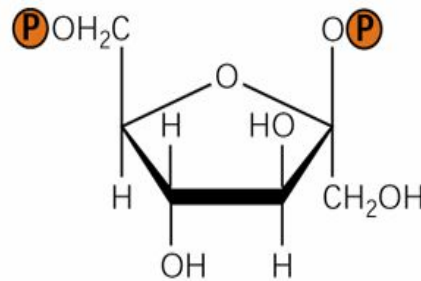
Растительная клетка очень точно поддерживает нужную концентрацию пирофосфата в цитозоле и эффективно его использует для разных целей...

В пластидах пирофосфатазы есть.

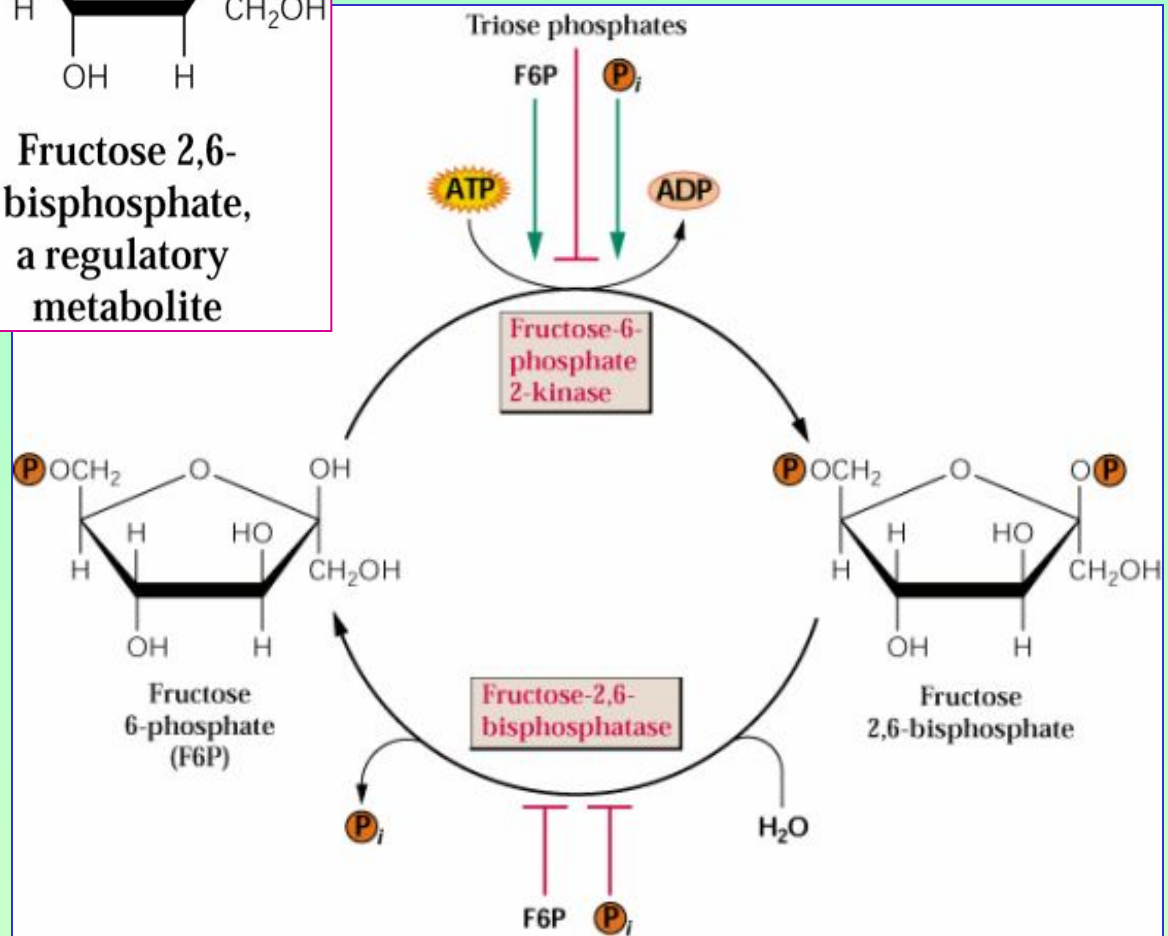
Положение второго фосфата кардинально изменяет функции молекулы



Fructose 1,6-bisphosphate, a metabolic intermediate

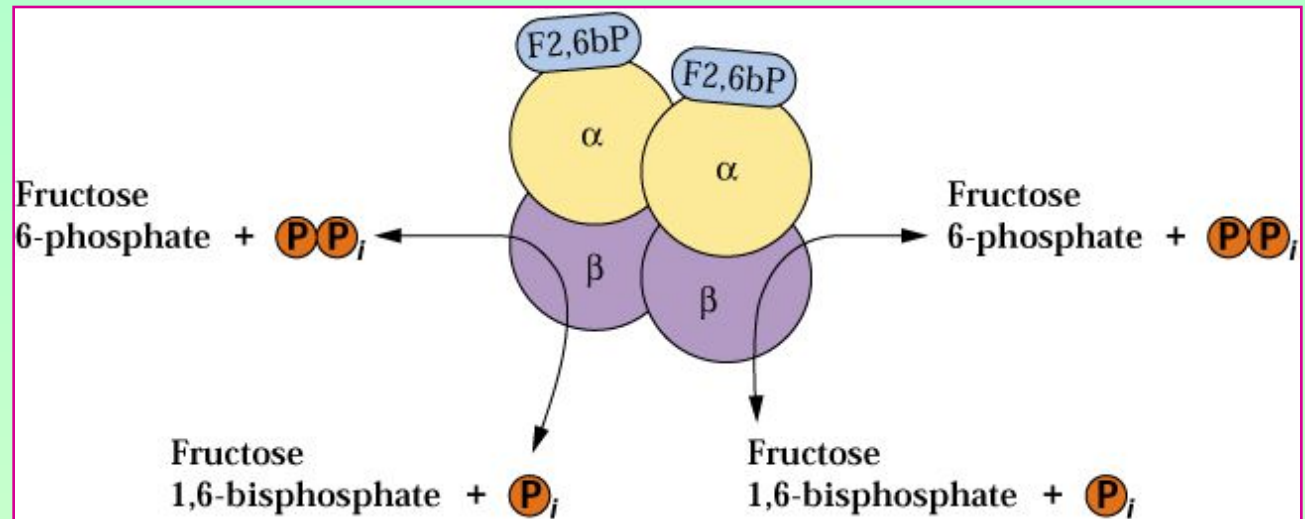
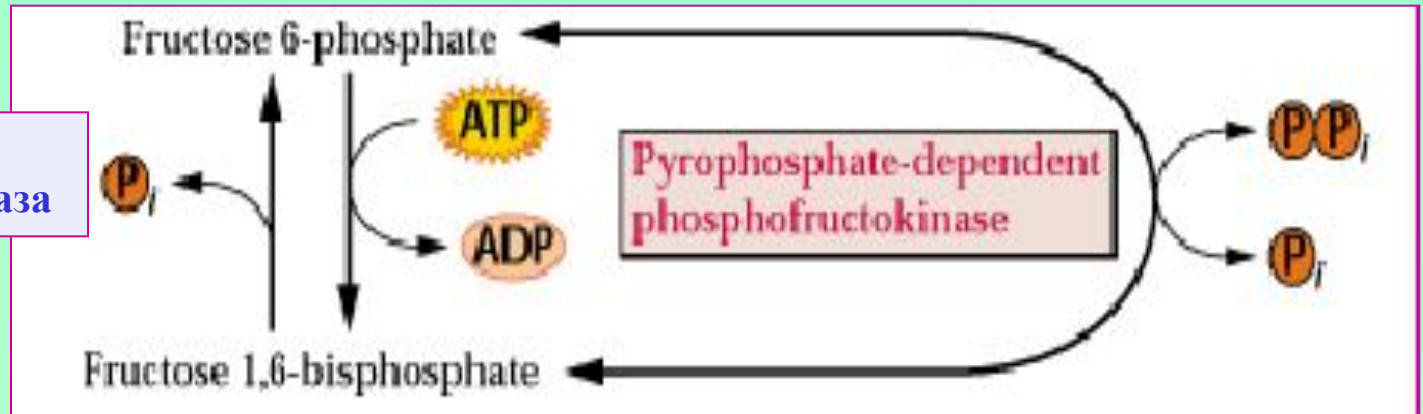


Fructose 2,6-bisphosphate, a regulatory metabolite

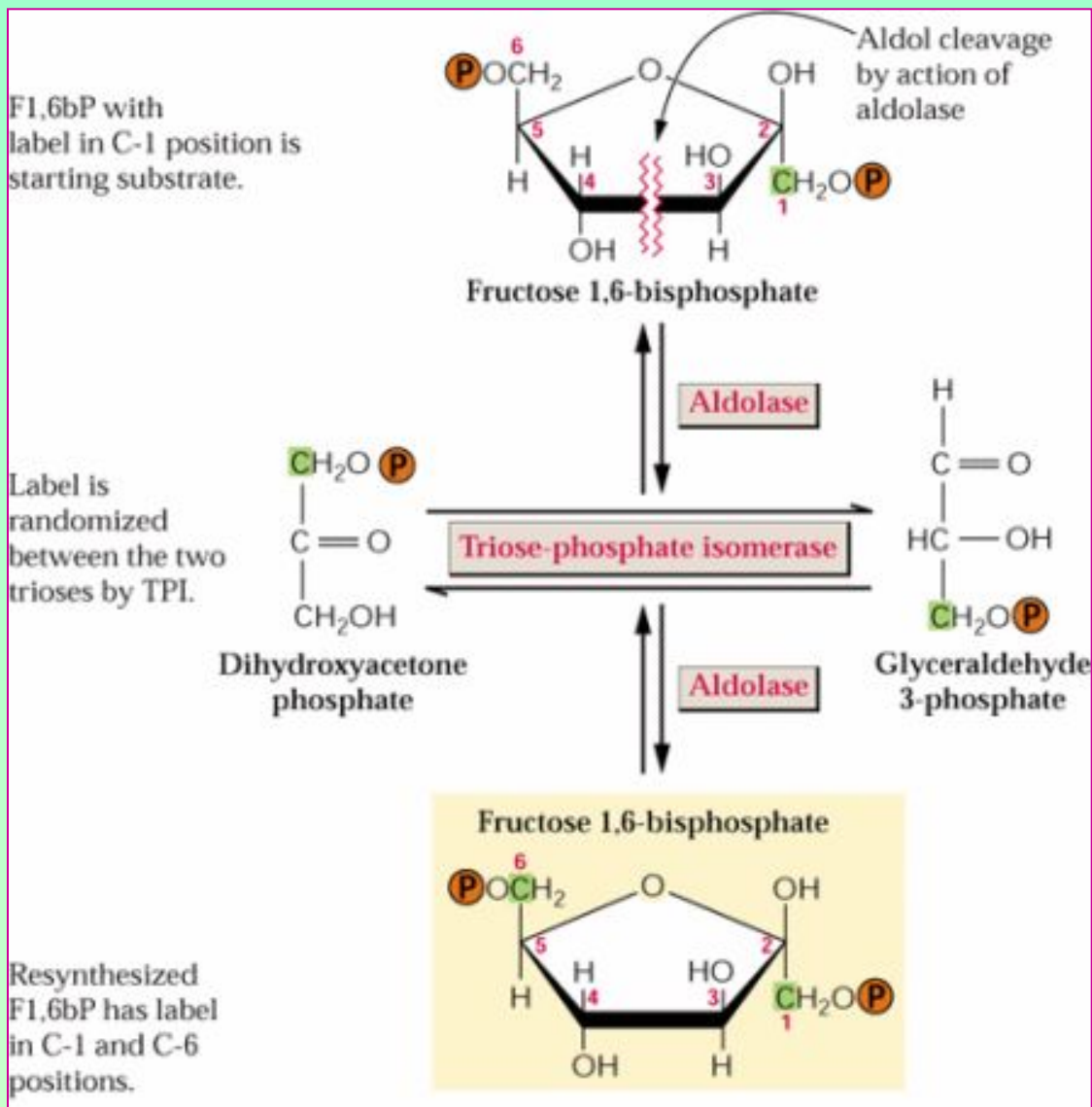


Дифосфат-зависимая фосфофруктокиназа. Только у растений...

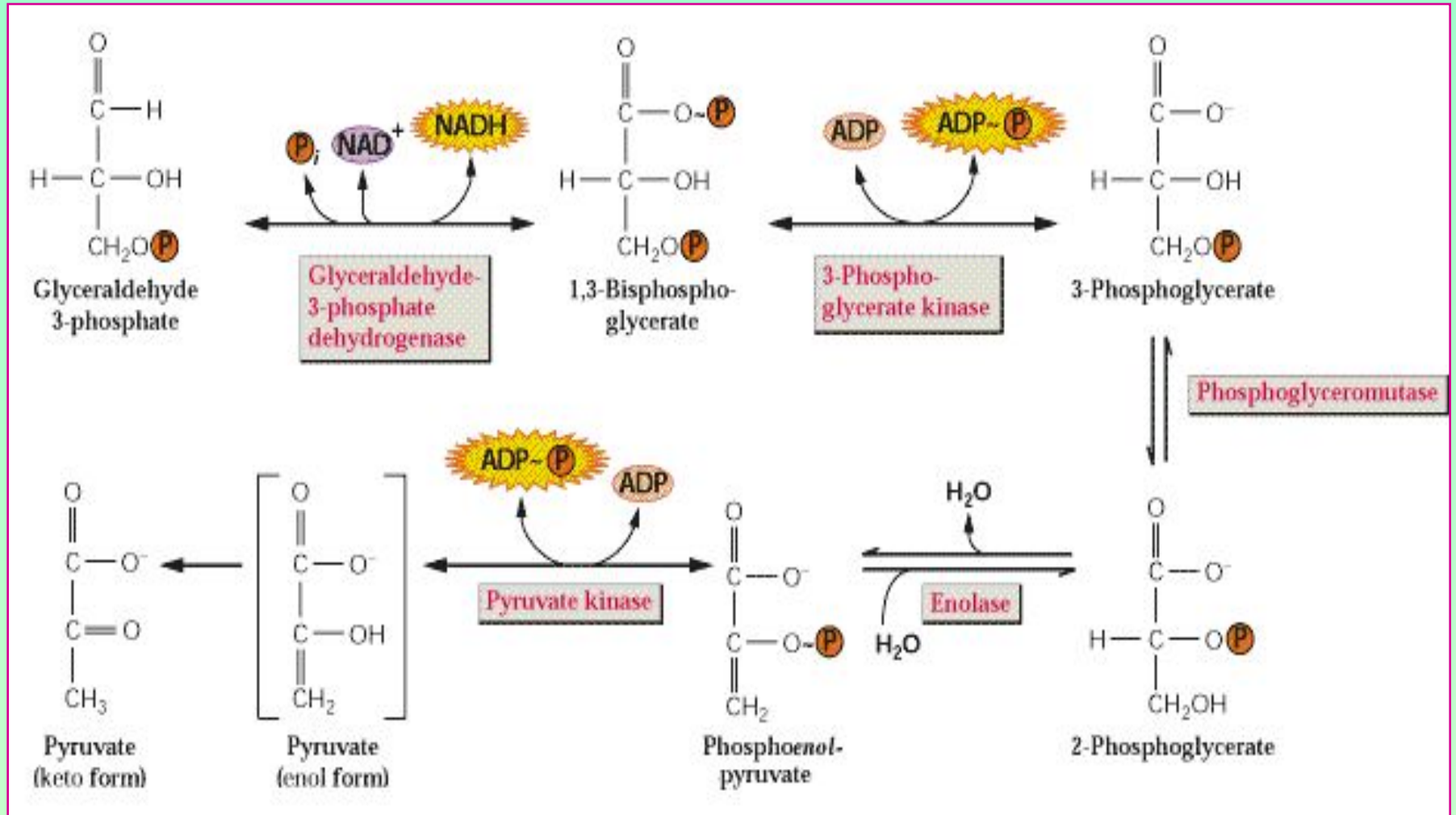
АТФ-зависимая
фосфофруктокиназа



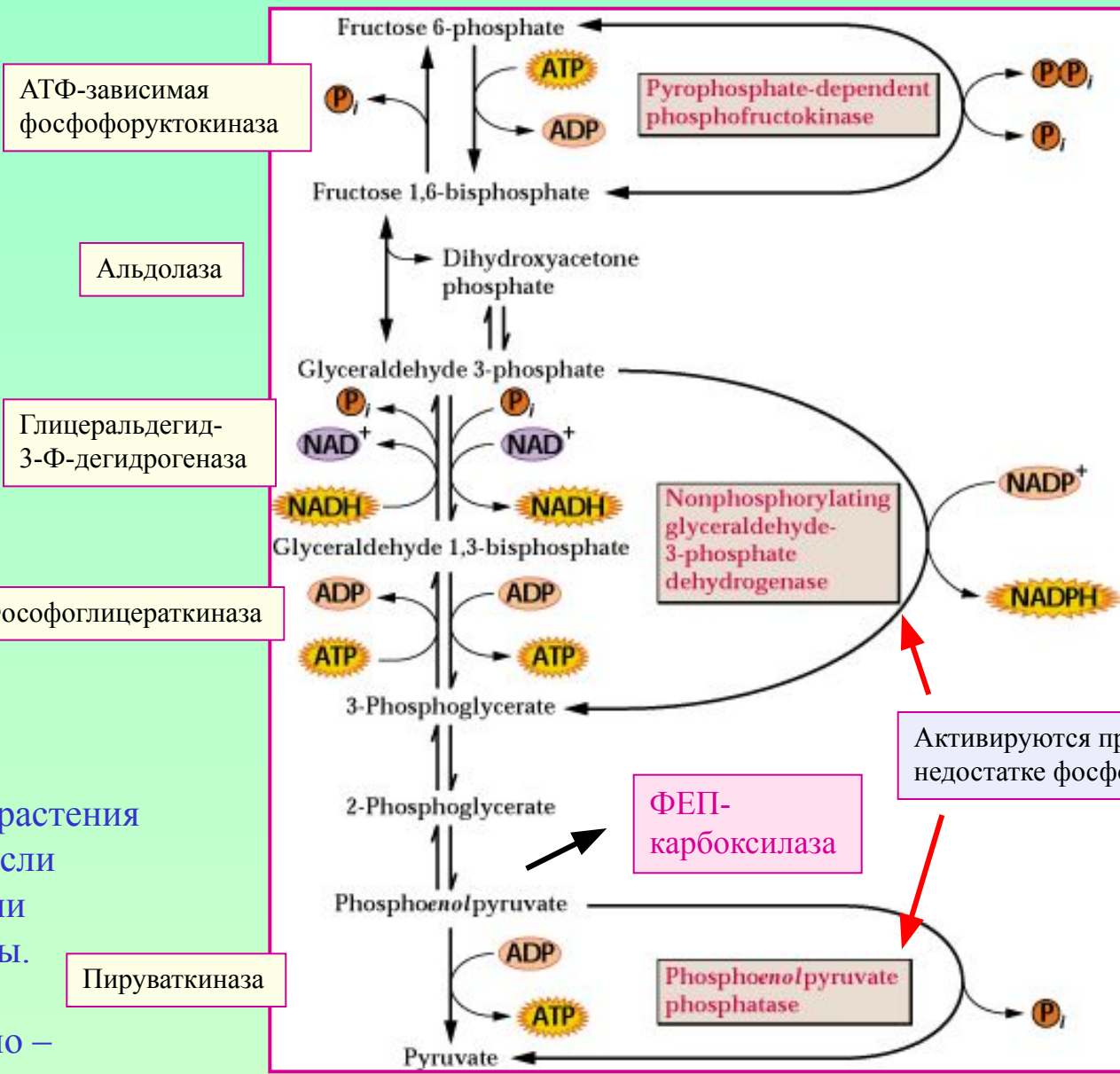
Образование триоз. В целом - типично...



Основные реакции гликолиза – окисление глицеральдегид-фосфата



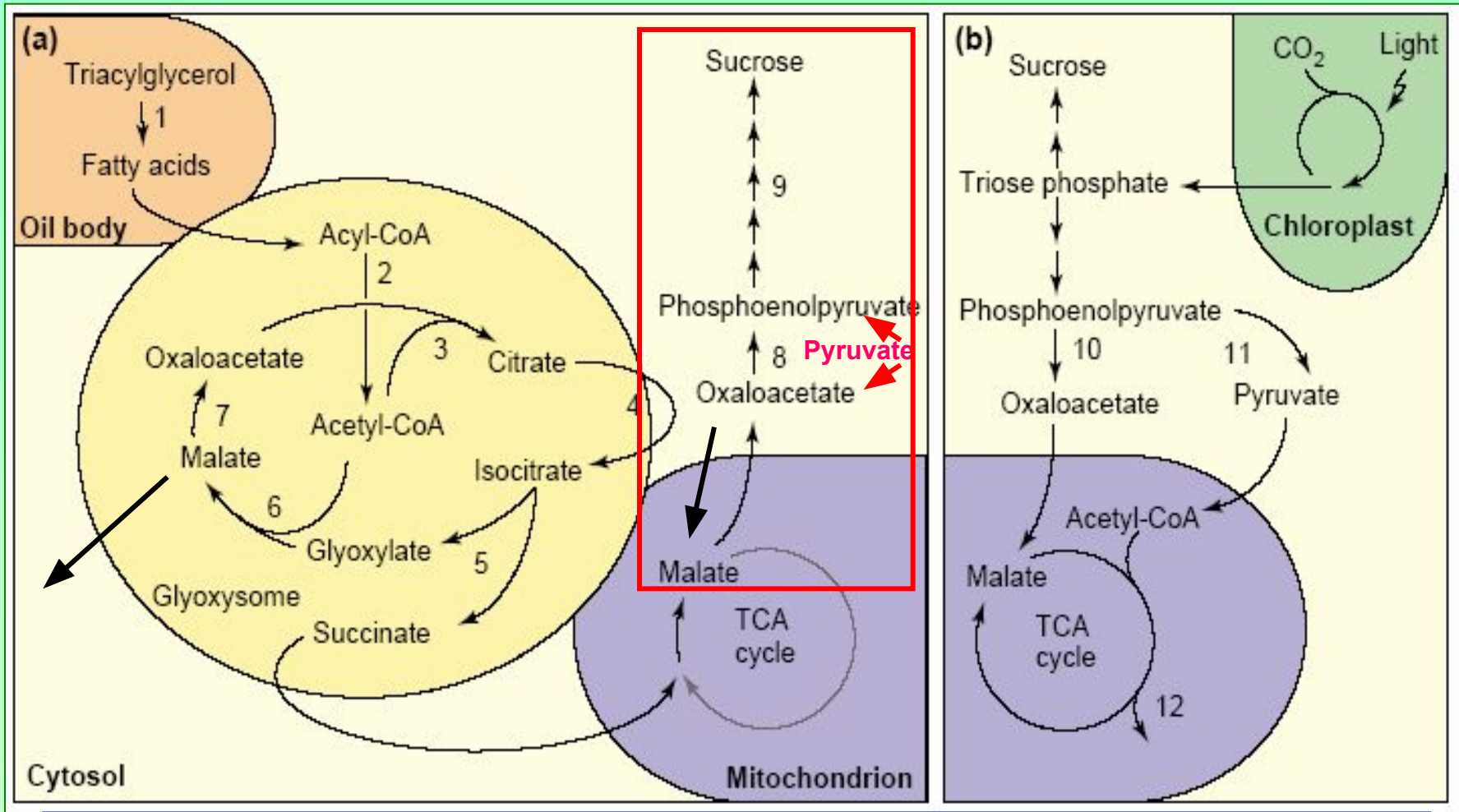
Основные стадии гликолиза и их «шунты» в растительной клетке



Трансгенные растения нормально росли при отсутствии пируваткиназы. Для человека это смертельно – гемолитическая анемия..

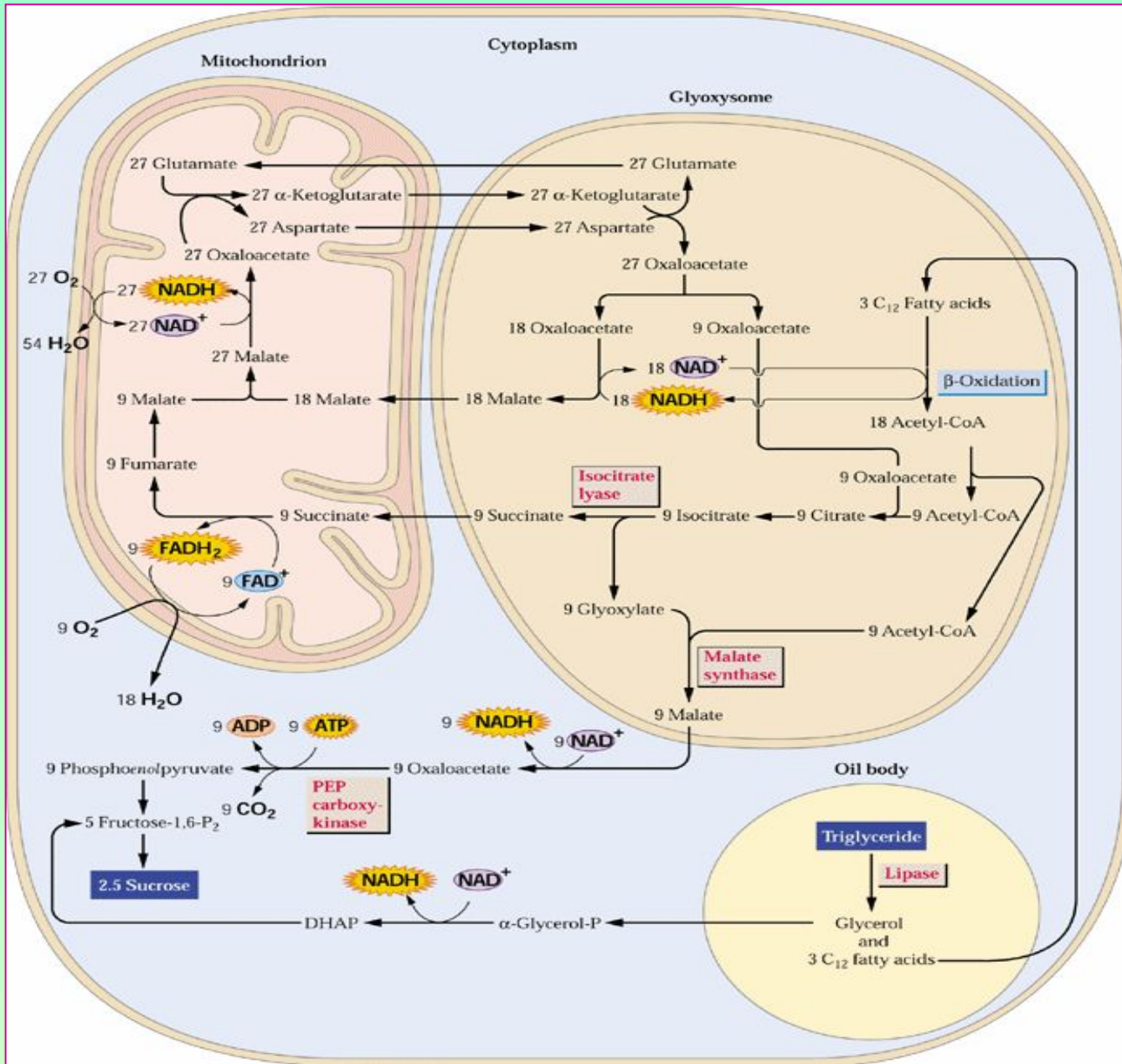
Пируваткиназа

Гликолиз в растительной клетке можно повернуть вспять. Или - как из жира сделать сахар... Глюконеогенез и глиоксилатный цикл

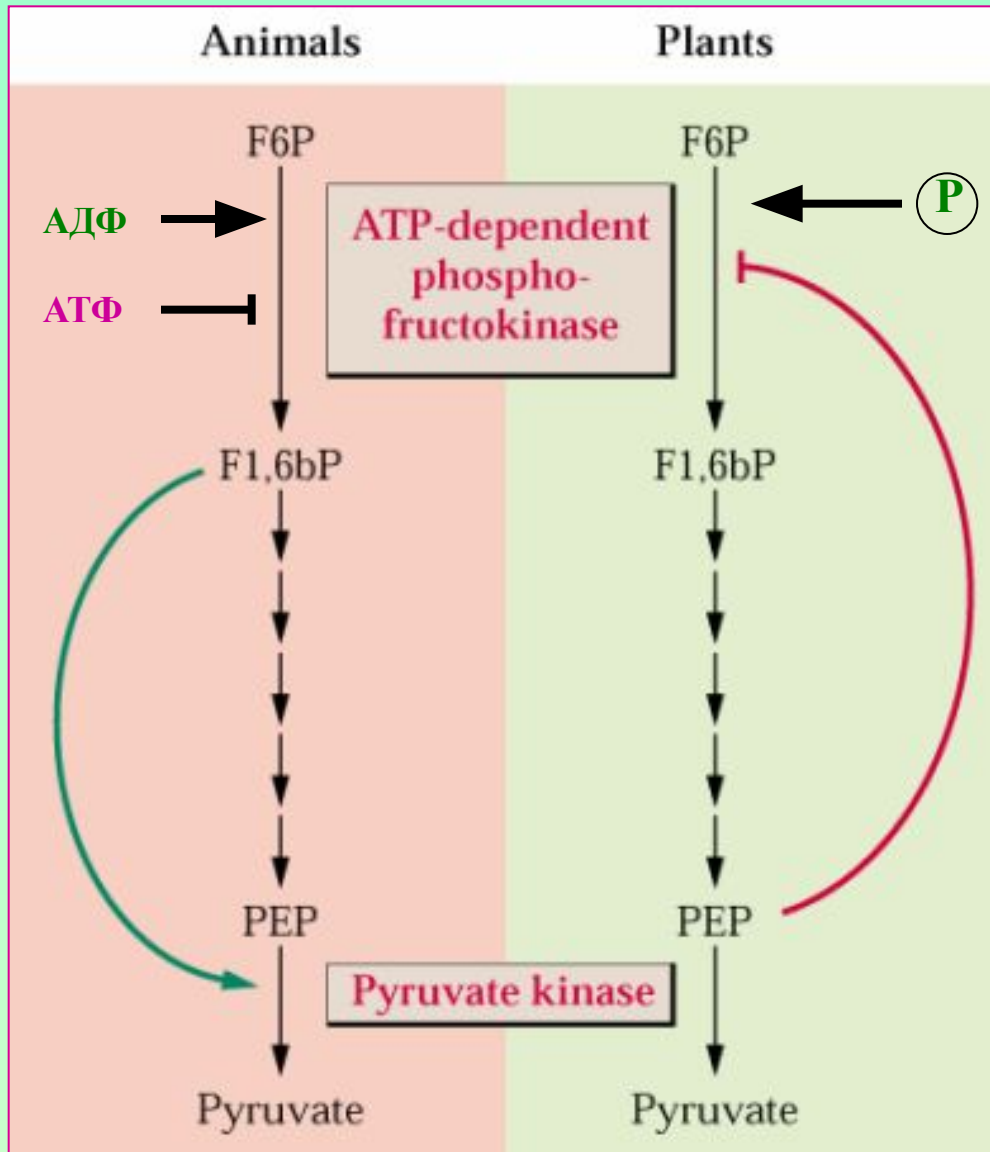


Новый взгляд на гликолиз в растительной клетке – он не только «начало» энергетического обмена, но составная часть многих метаболических путей.

Глиоксилатный цикл чуть подробнее...

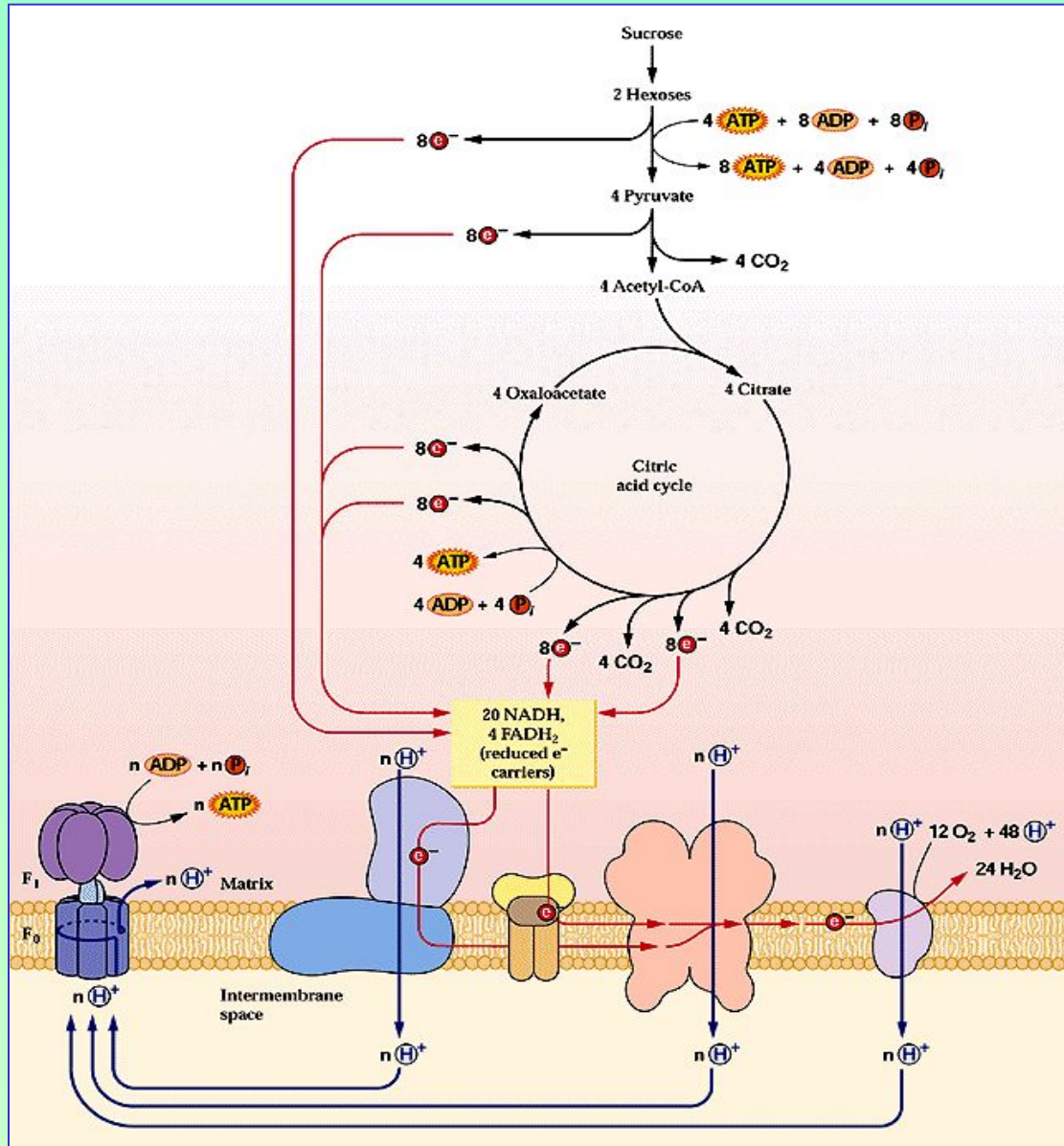


Регулирование гликолиза у животных и растений



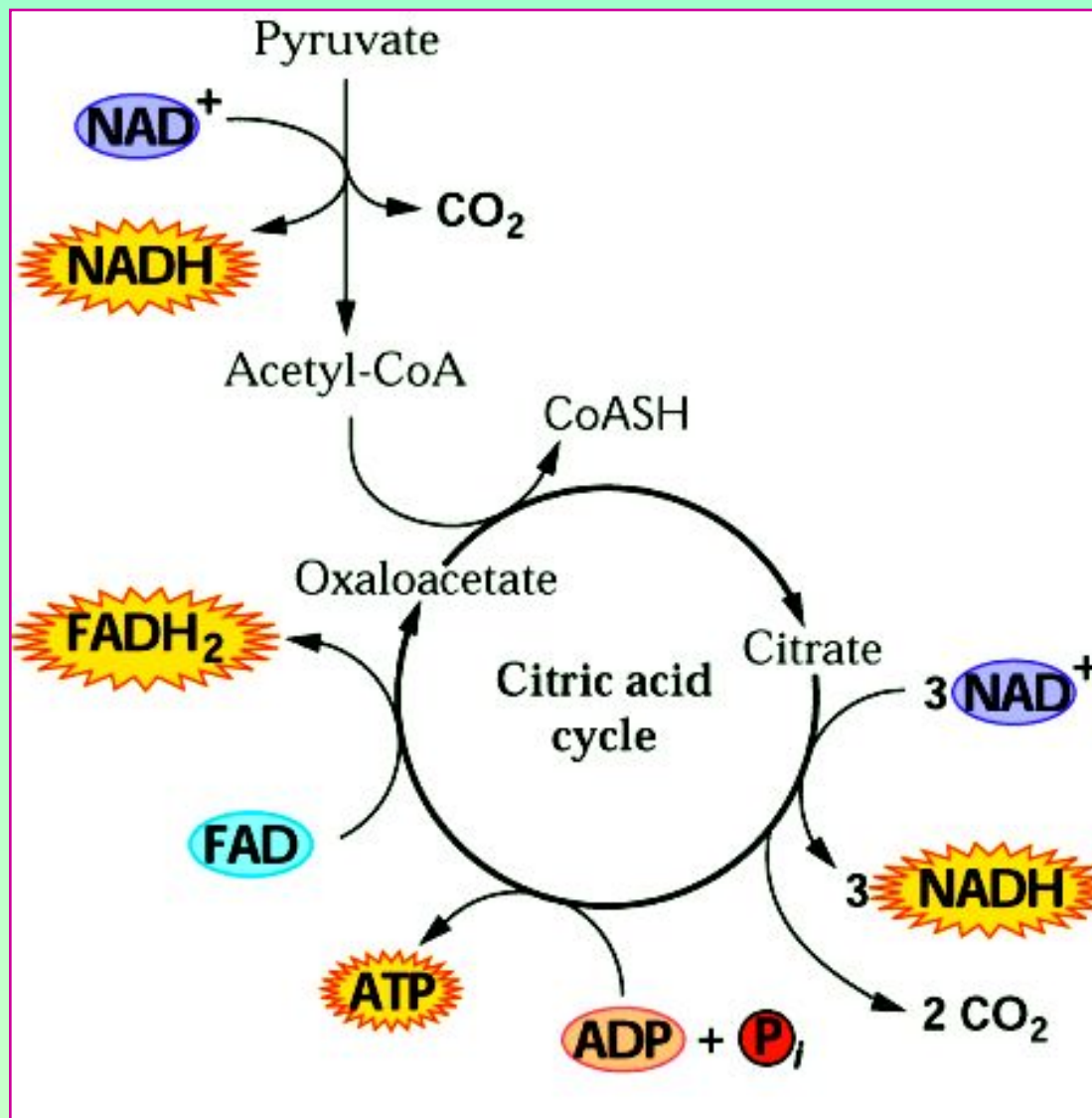
Помним, что у растений, помимо прочего, еще и две изоформы фосфофруктокиназы – цитозольная и пластидная...

Общая схема энергетической системы клетки - дыхание



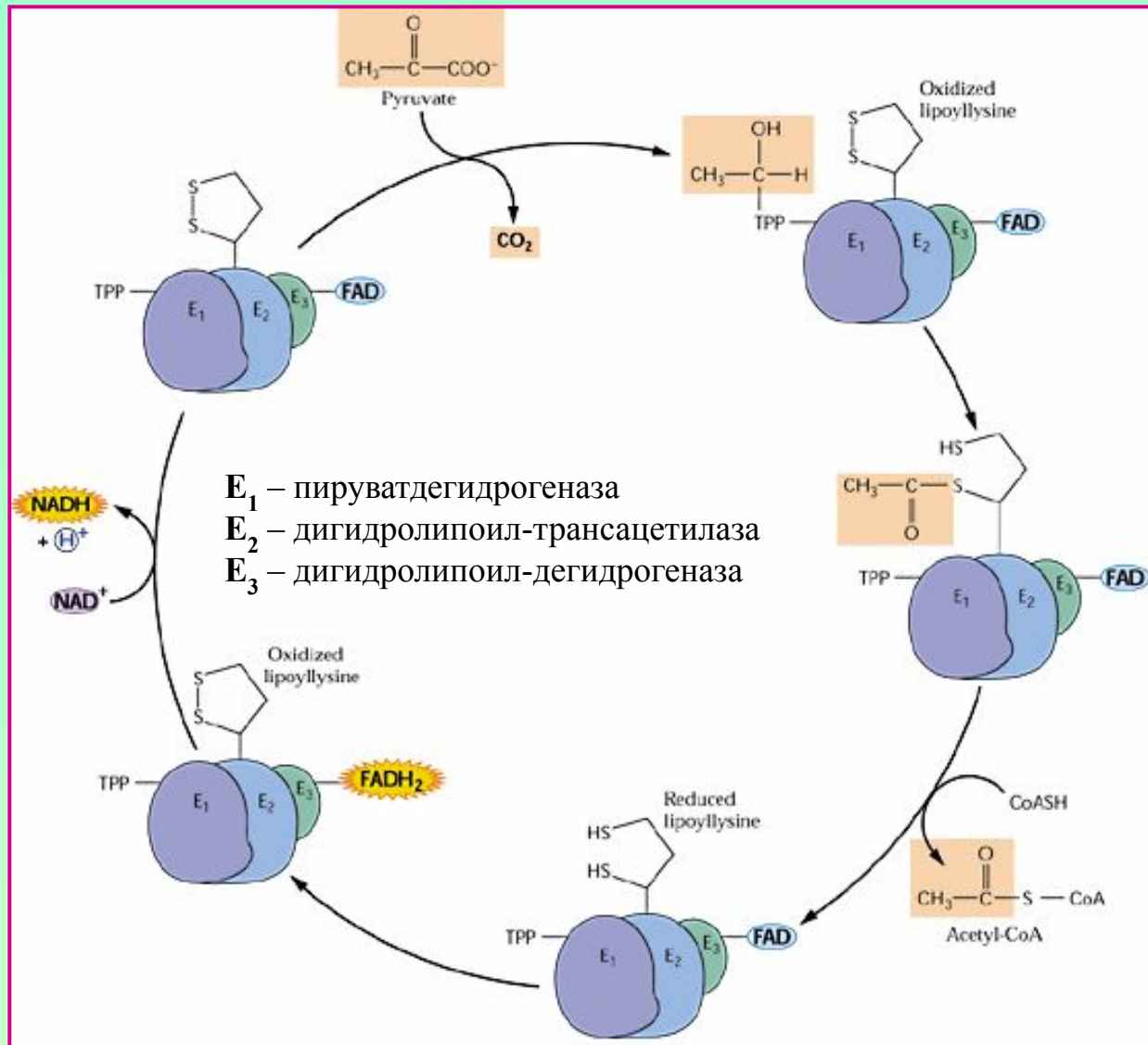
Особенности
ЦТК
у растений

Общая схема ЦТК (цикла Кребса)



Окисление пирувата – пируватдегидрогеназный комплекс

E_0' пируват/ацетат + $CO_2 = -0,70v$. Надо раскулачивать...



$\Delta E \sim 0,3v$
расходуется на присоединение к Коферменту А ацетильной группы от пирувата (реакции ацетилирования), которая затем используется на ее перенос на оксалоацетат – синтез цитрата...

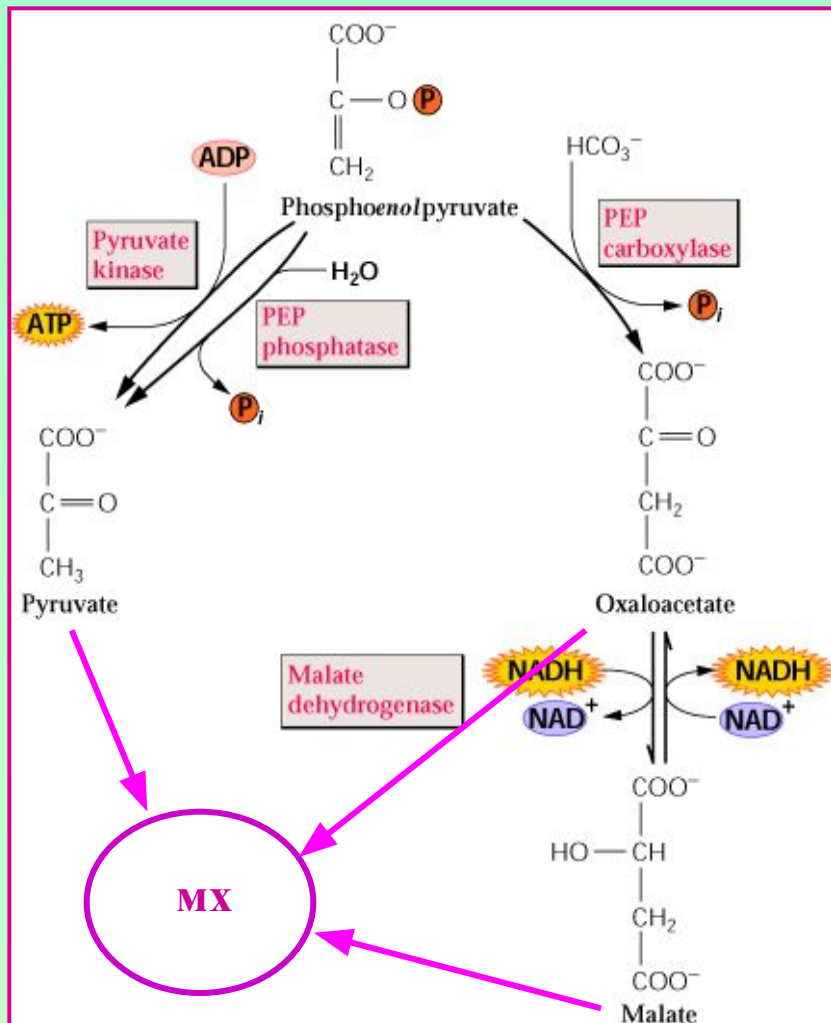
Еще несколько важных метаболических «шунтов» в дыхании растений:

конечный продукт гликолиза не только пируват, но и малат.

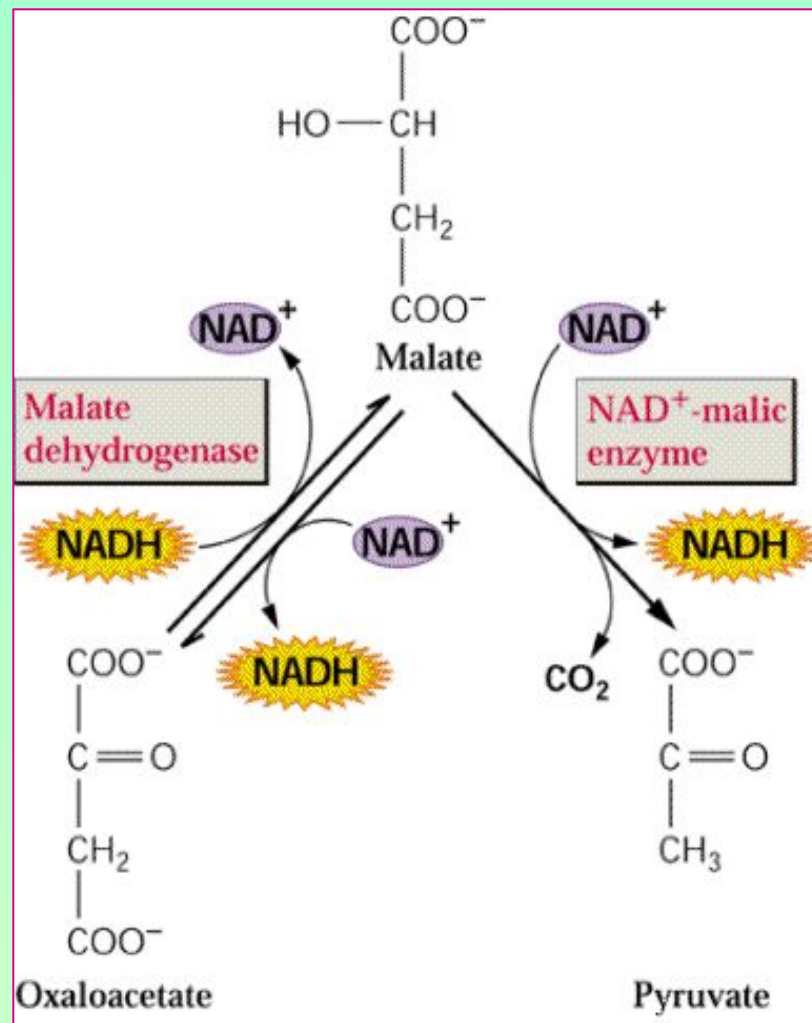
Малик-энзим: НАД⁺-зависимый (цитозоль, митохондрии),

НАДФ⁺-зависимый (митохондрии, пластиды).

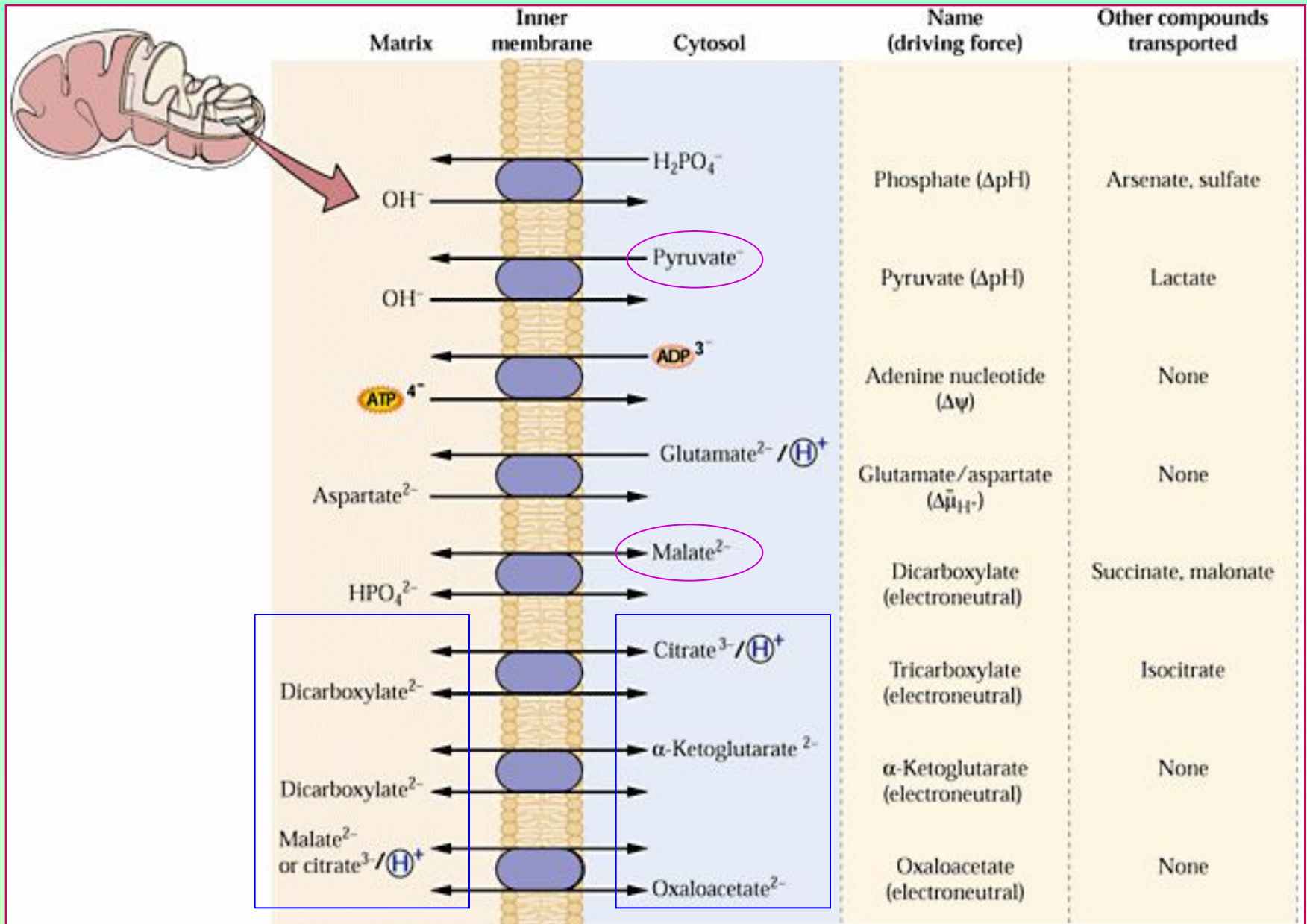
В цитозоле



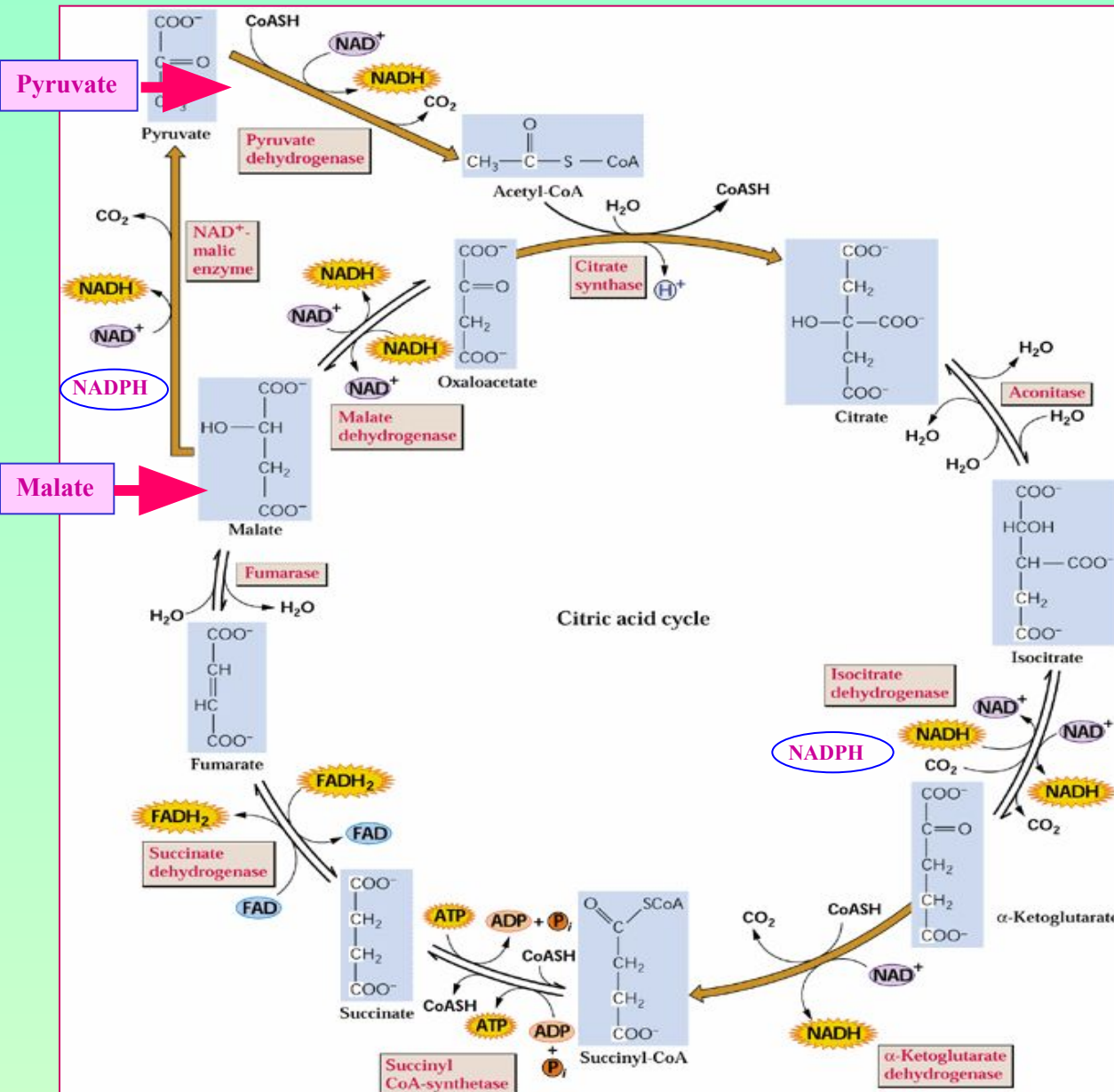
В митохондриях



Транспорт веществ через мембрану митохондрии



Цикл Кребса в растительных митохондриях

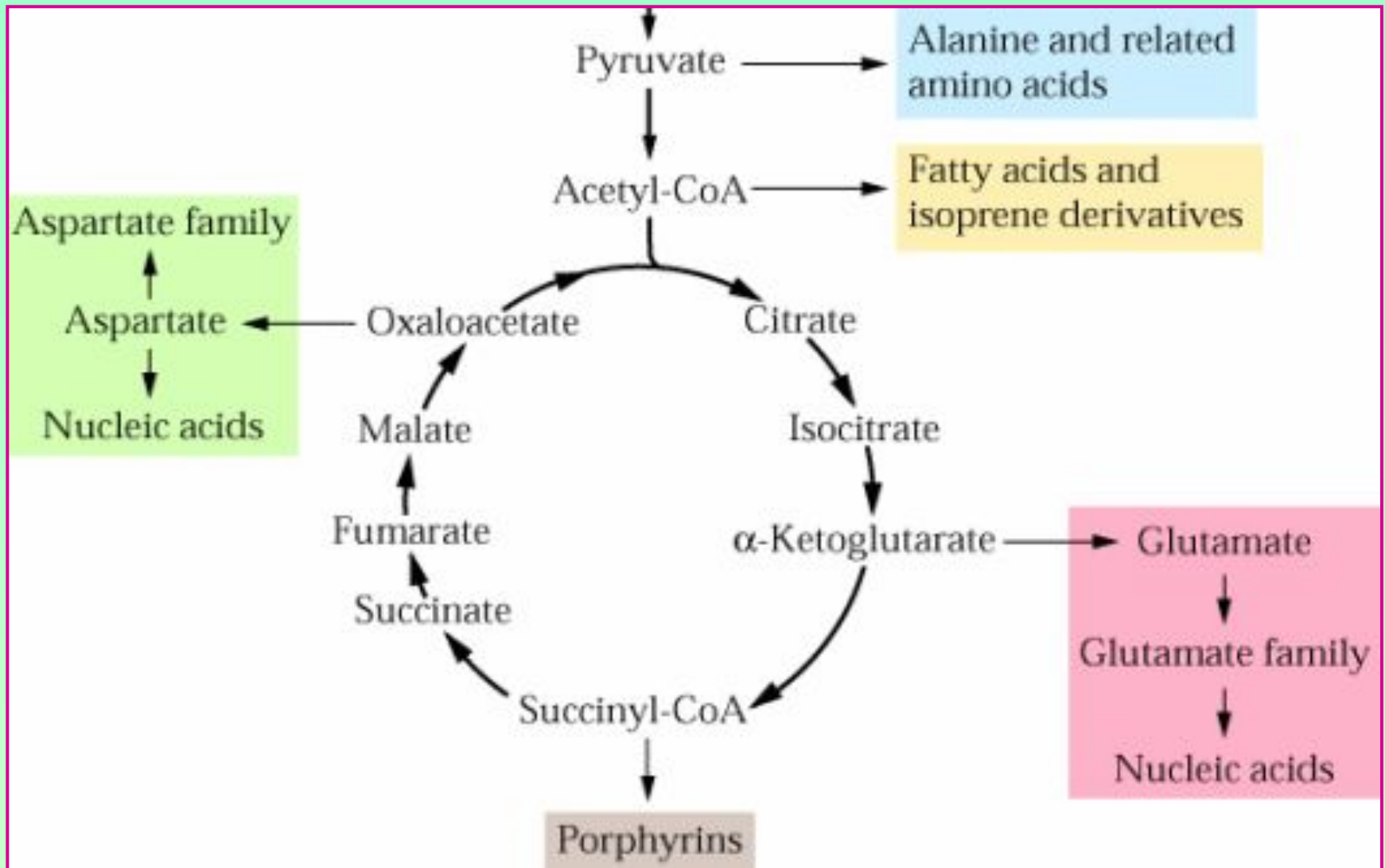


Особенности ЦТК растений

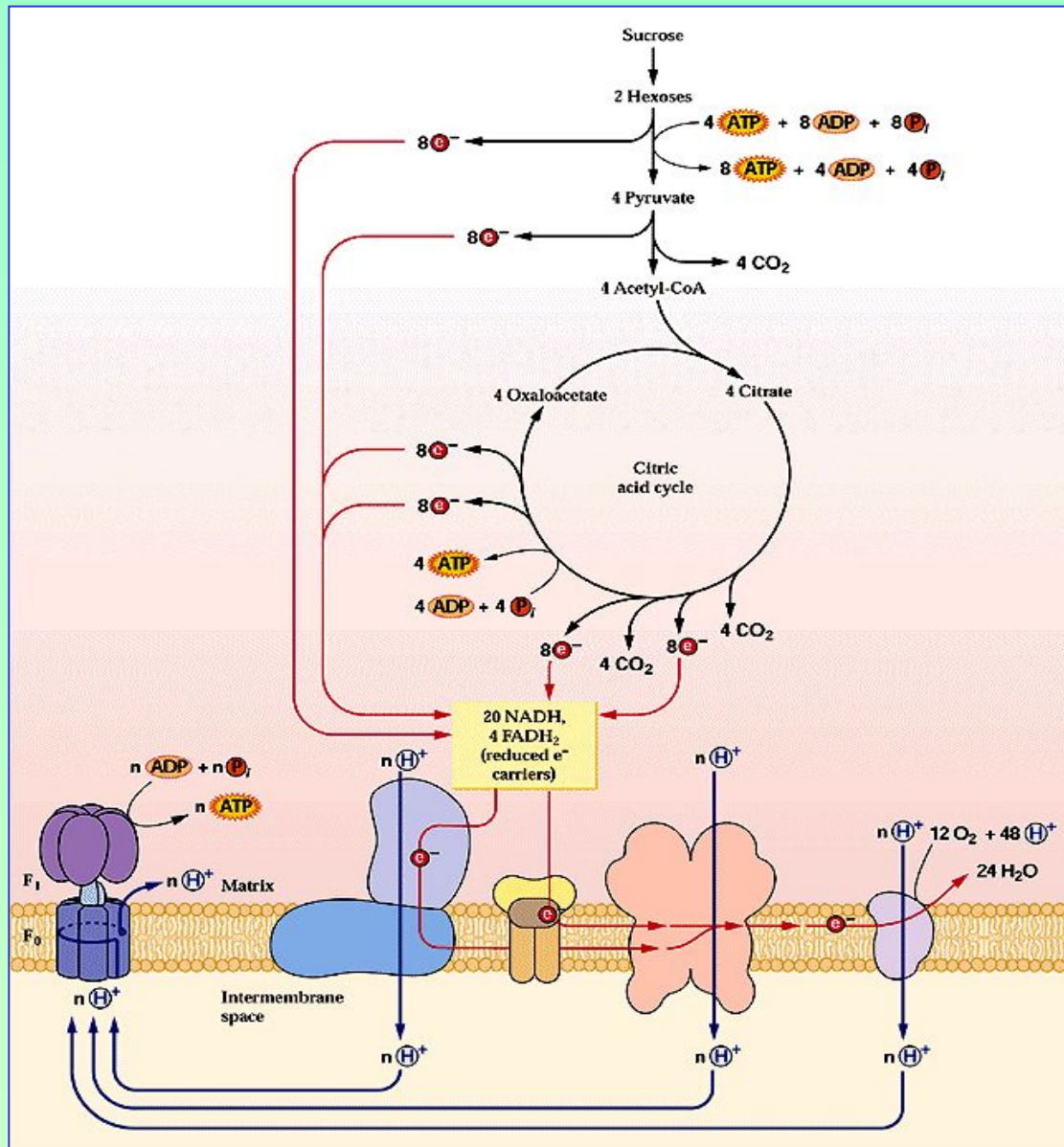
1. Два «входа» в цикл – пируват и малат. Малат к тому же поставляет в митохондрию дополнительные восстановленные эквиваленты
2. Наличие маликэнзима.
3. Наличие НАДФ⁺-изозимов (изоцитрат-дегидрогеназа, НАД⁺/НАДФ⁺-маликэнзим)
4. Более «медленная» работа
5. Образование АТФ, а не ГТФ при окислении α -кетоглутарата. Кстати, это образование АТФ – за счет высокого E_0' α -кетоглутарата..

ВВ. ЦТК в растительных митохондриях обеспечивает синтез многих веществ в матриксе: тимидилат, фолат, жирные кислоты, аминокислоты, порфирины.

«Синтетические» функции митохондрий растительной клетки.

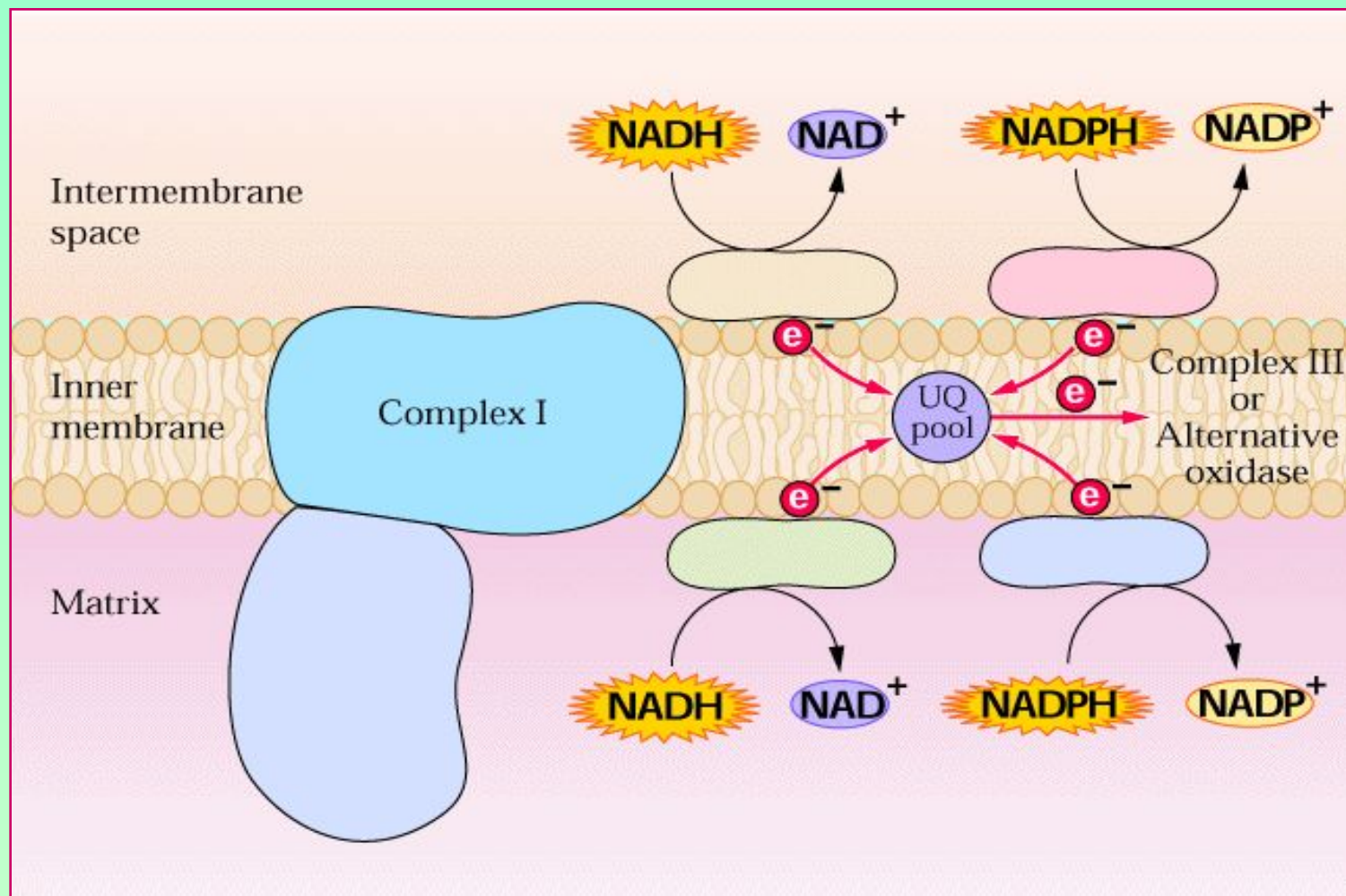


Общая схема энергетической системы клетки



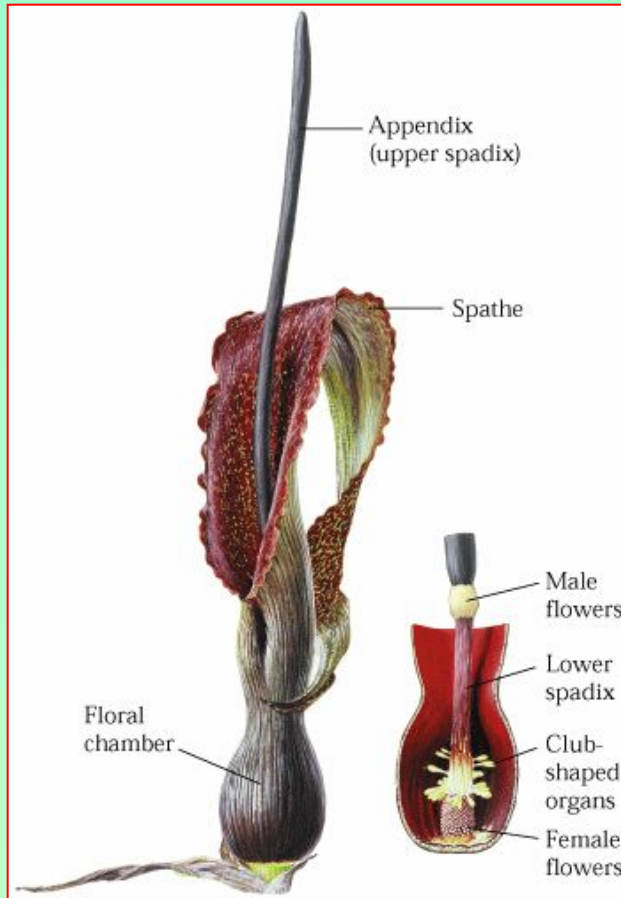
Особенности
растительной
ЭТЦ :
шунты,
регулирование

Особенности ЭТЦ дыхания растений: дополнительные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы



И зачем они нужны? Шунты? Для одной из них – скорее всего. Для других – возможность использования цитозольных НАД(Ф)Н и НАДФН матрикса. Для митохондрий животной клетки для этого может использоваться трнсгидрогеназа

Цианидрезистентное дыхание



Повышение t° в «аппендиксе» увеличивает испарение веществ, привлекающих опылителей...

Термогенез ароидных растений

Термогенез в цветках некоторых растений (*Arum maculatum*, *Symplocarpus foetidus*, *Sauromatum guttatum*, *Philodendron selloum*) связан с терморегуляцией: при понижении температуры воздуха температура тканей цветка остается постоянной, а скорость поглощения кислорода возрастает. При повышении температуры воздуха скорость дыхания падает.

	t воздуха	t цветка
<i>Symplocarpus foetidus</i>	+3 - +24 ⁰	+16 - +26 ⁰
<i>Philodendron selloum</i>	+4 - +39 ⁰	+39 - +44 ⁰

Альтернативная оксидаза (АО) :

Один полипептид (M.B.~ 37 кДа), кодируется в ядре (АОХ1). В мембране Мх мономерная или димерная форма.

АО относится к семейству di-iron белков R-2 типа. Обнаружена у *E. coli*, *Paracoccus denitrificans*, простейших *Trypanosoma*, водорослей и всех семенных растений. Впервые белок АО был получен из митохондрий *Sauromatum guttatum*

Sauromatum guttatum



Symplocarpus foetidus



Helicodicerus muscivorus

889

Dead horse arum
thermogenesis

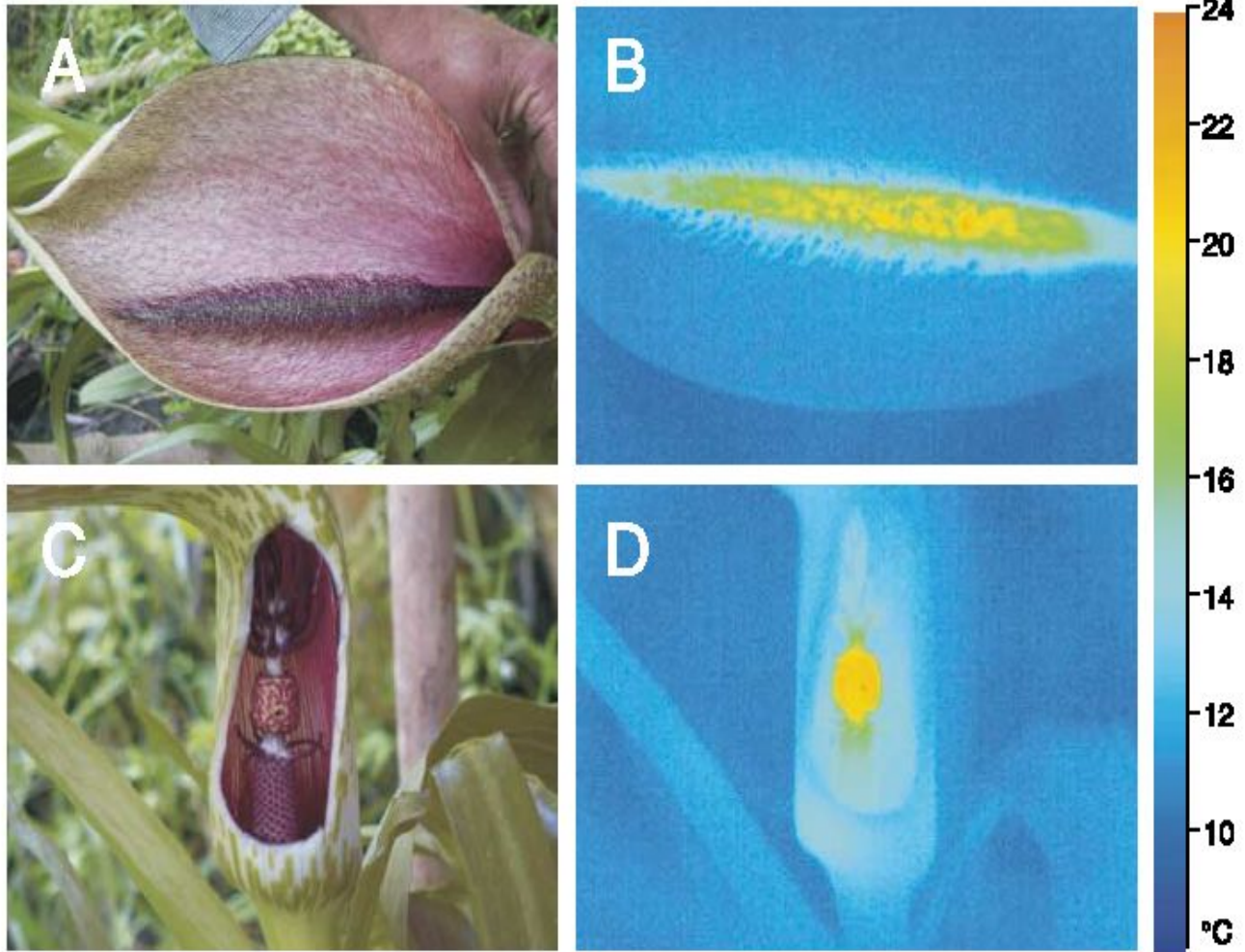
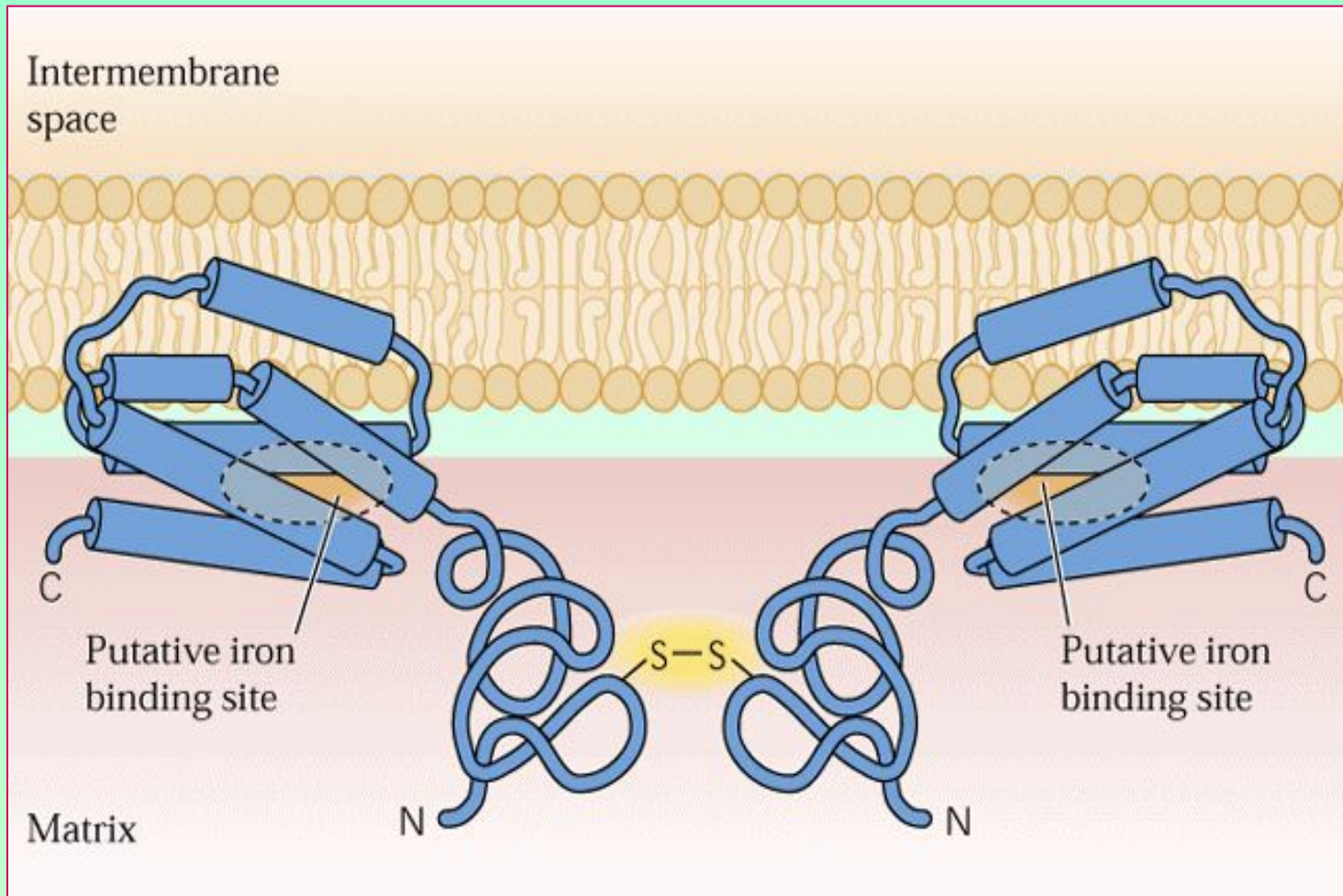


Fig. 1. Photographs of *Helicodicerus muscivorus* on the morning of the first day of anthesis, showing the appendix on the hairy spathe (a) and the male florets above the female florets in the opened floral chamber (c). Thermal images show intense heating of the appendix (b) and male florets (d). Surface temperature of the appendix reached 21.8 °C, while that of the male florets reached 21.6 °C. At the time the air temperature was 12.6 °C.

**Особенности ЭТЦ-дыхания растений:
альтернативная оксидаза (цианидрезистентное дыхание)**

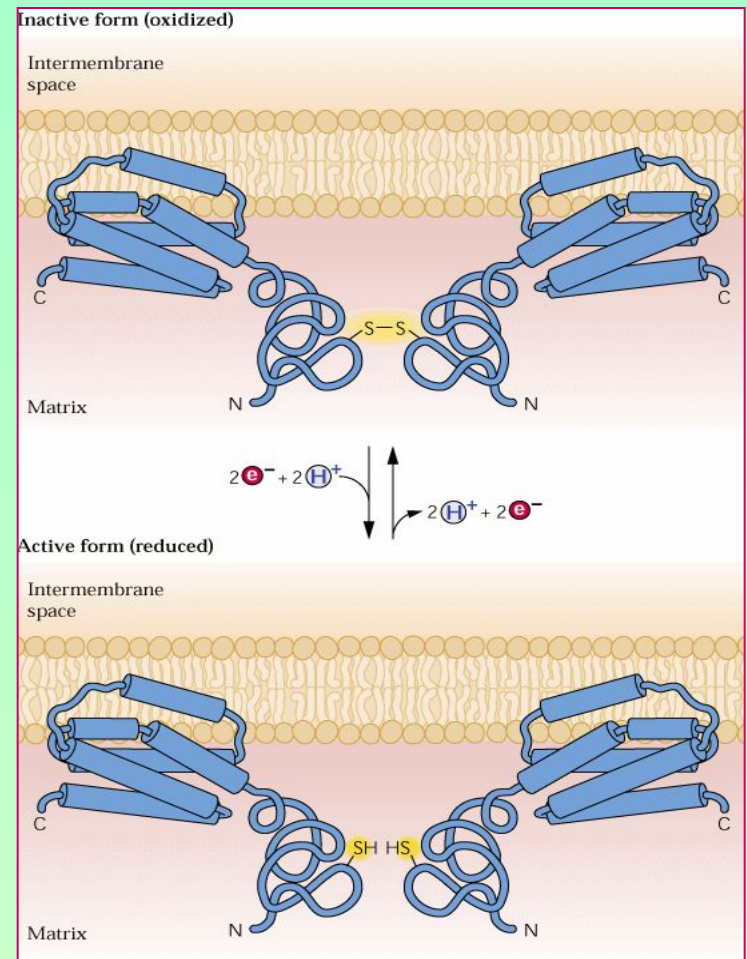
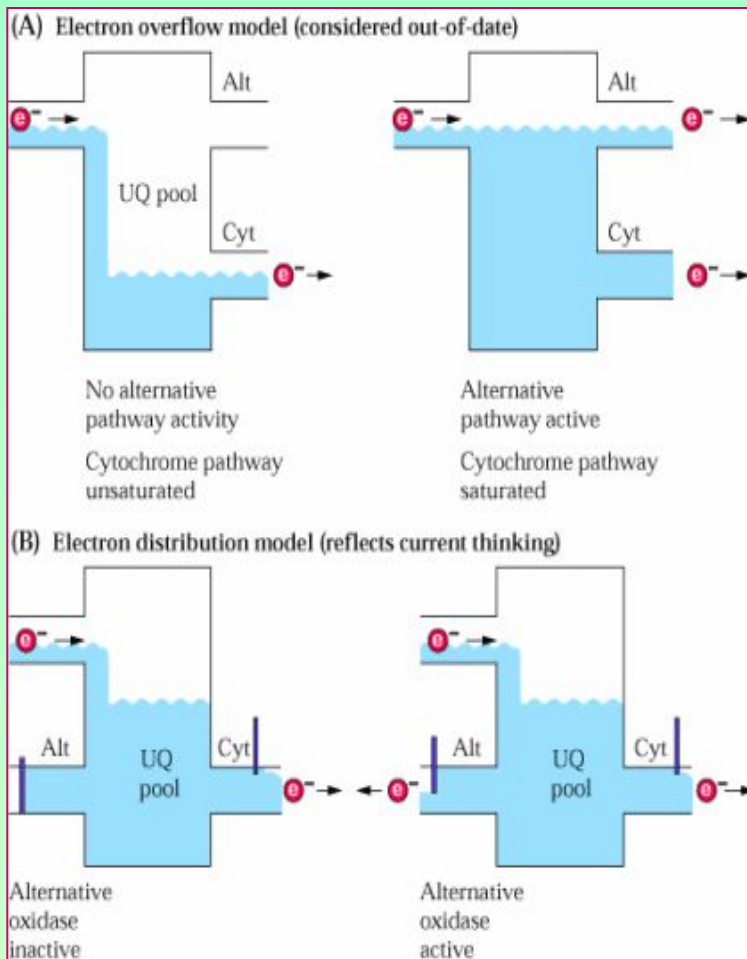


Гомодимер, 37 kDa, ~ 350 а-к. Передает e^- от убихинона на кислород. Устойчива к цианиду. Есть изозимы (минимум 2): конститутивная и индуцибельная АО
Две формы: окисленная и восстановленная. Окисленная неактивна.

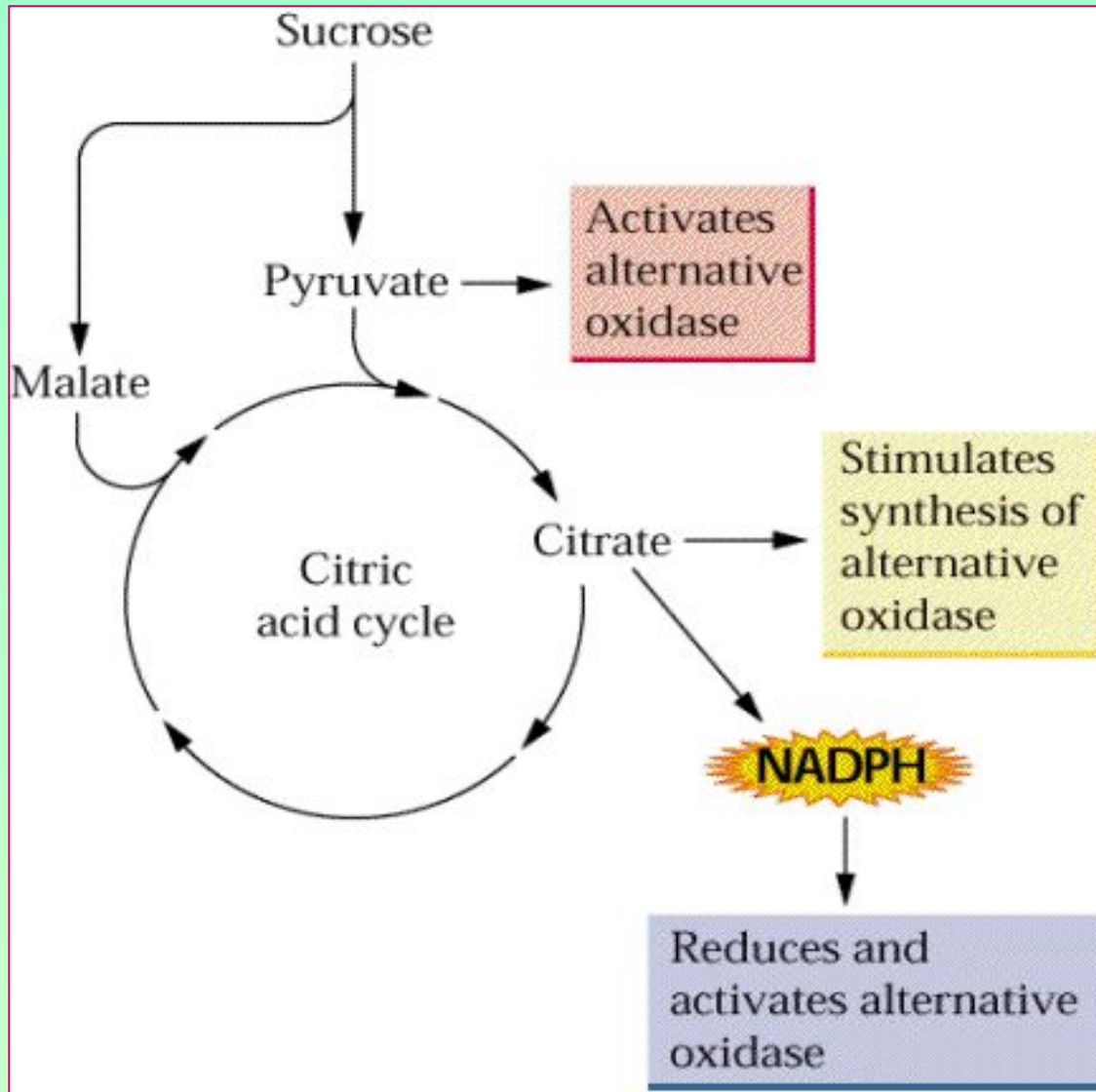
Зачем нужна альтернативная оксидаза и как она включается?

Гипотезы:

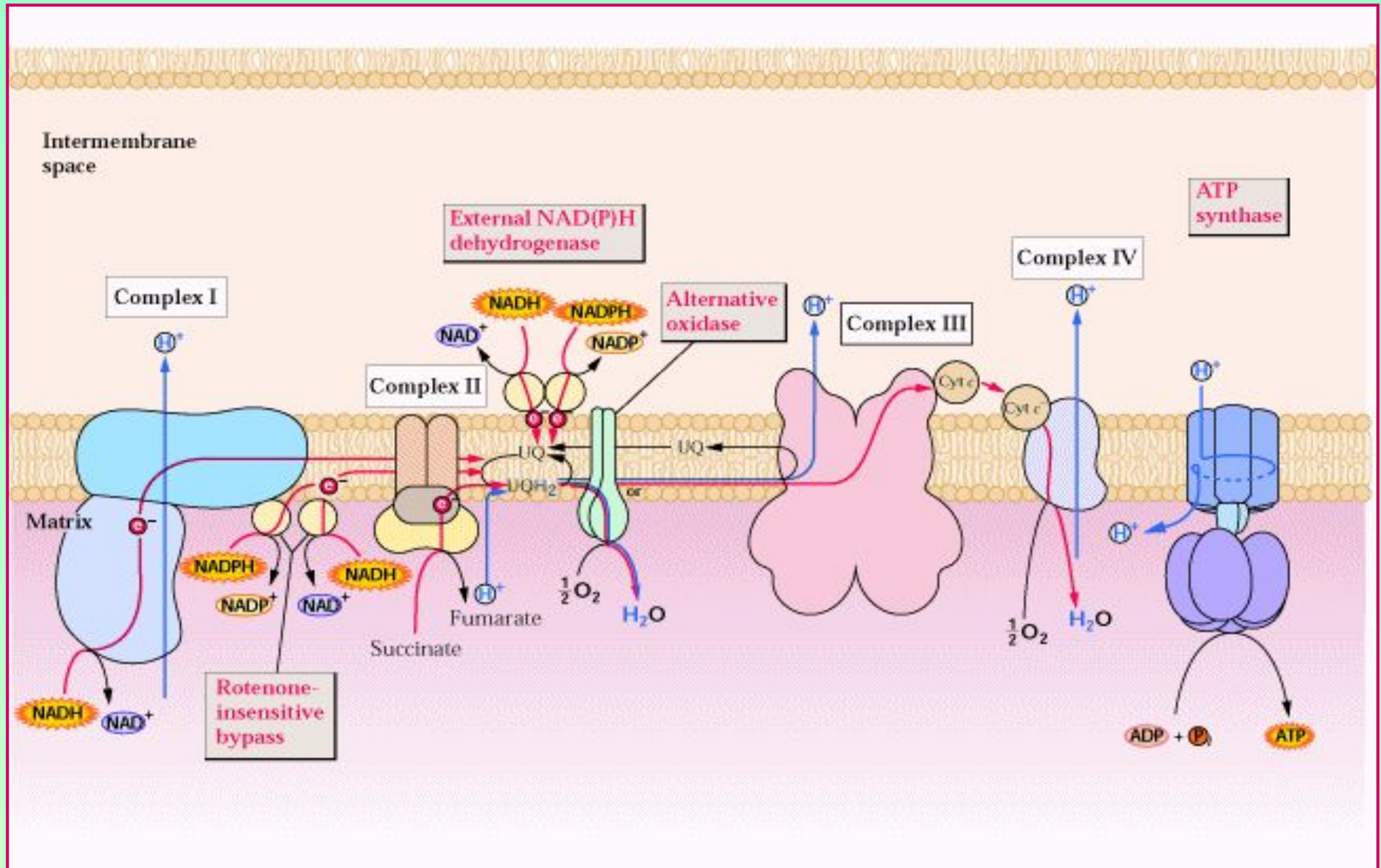
1. Для шунтирования ЭТЦ – модели «перелива» и «распределения»
2. Для снижения уровня активных форм кислорода (АФК)
3. Для быстрого генерирования энергии (например, при стрессе)



Регулирование синтеза и активности альтернативной оксидазы



Итак, ЭТЦ дыхания растений

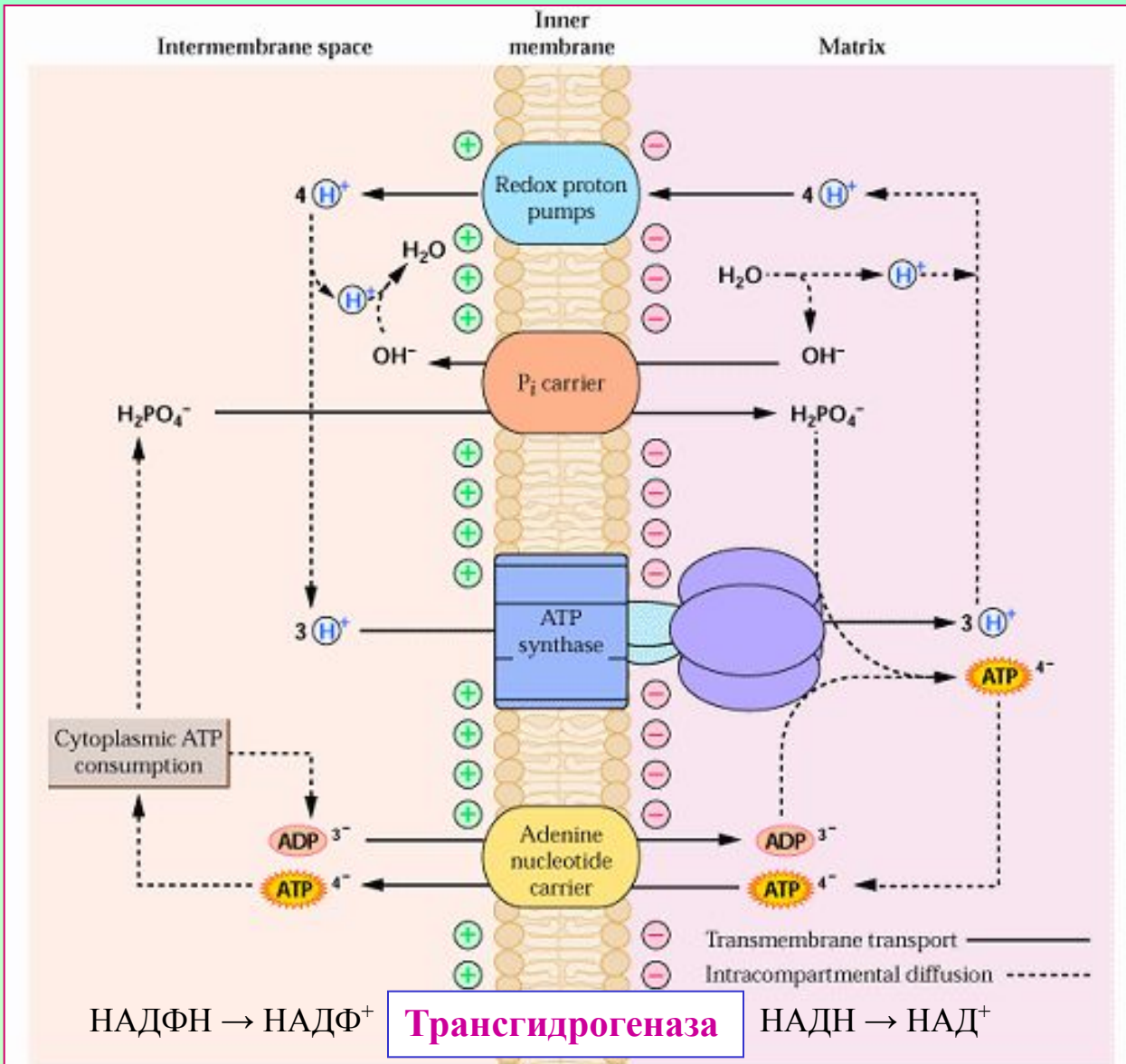


Похоже, у растений обнаружили еще и разобщающий белок, как и у животных...

Транспорт интермедиатов дыхания через мембрану митохондрий.

Для каждого процесса используется $\Delta\mu\text{H}^+$

В растениях трансгидрогеназа либо малоактивна либо ее нет вовсе

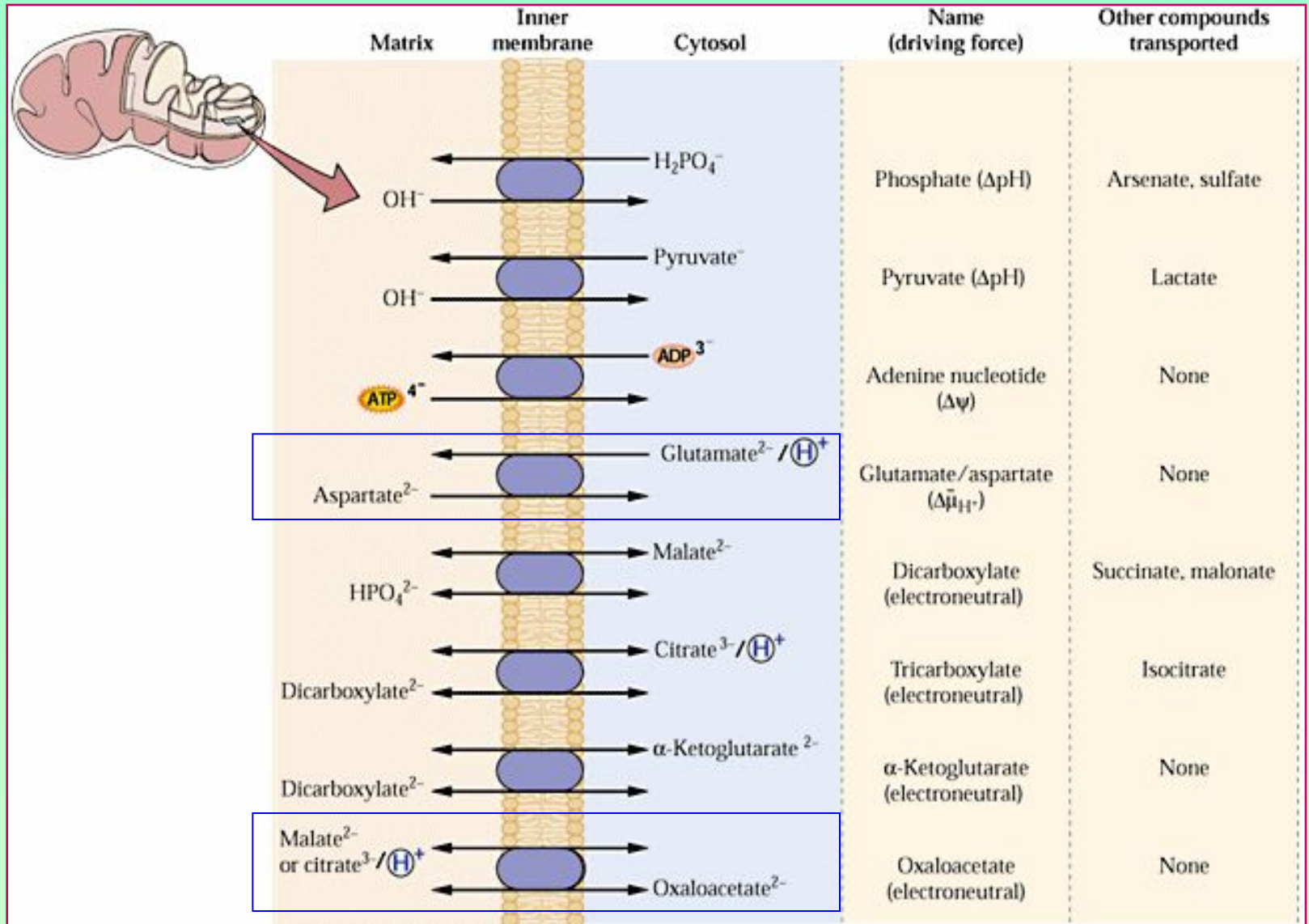


$\text{НАДФН} \rightarrow \text{НАДФ}^+$

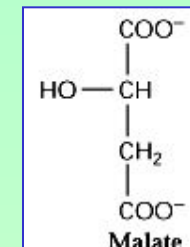
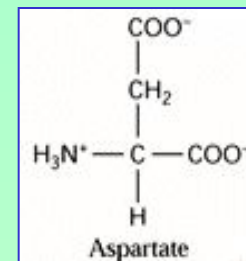
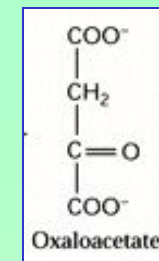
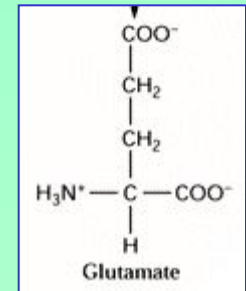
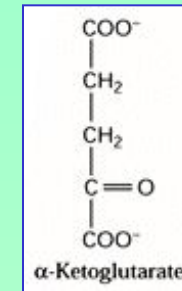
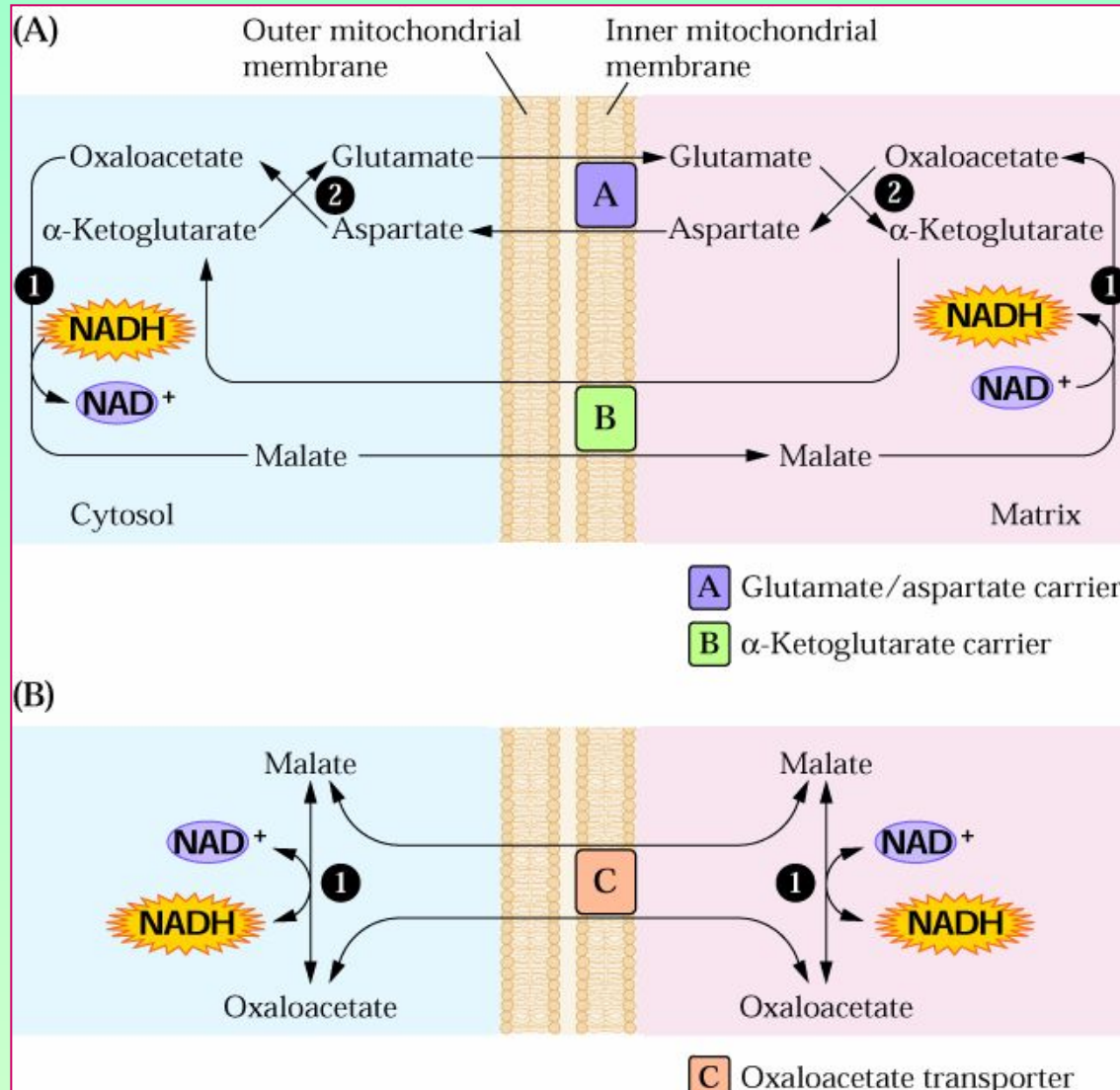
Трансгидрогеназа

$\text{НАДН} \rightarrow \text{НАД}^+$

Митохондрии растений играют важную роль во многих процессах и в кооперации с разными органеллами – фотодыхание, глюконеогенез...

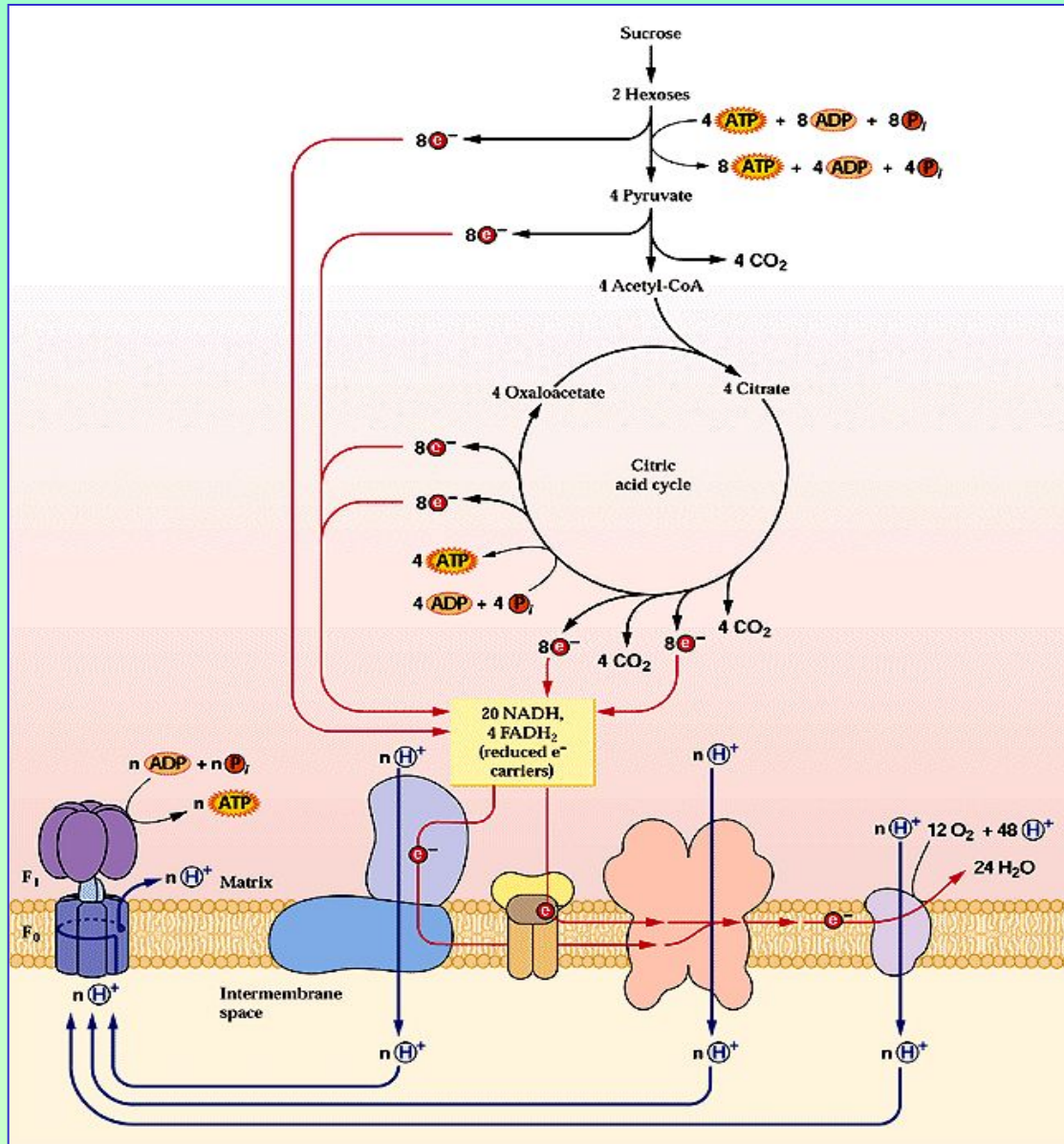


Челночные механизмы транспорта для обмена метаболитами и восстановленными эквивалентами



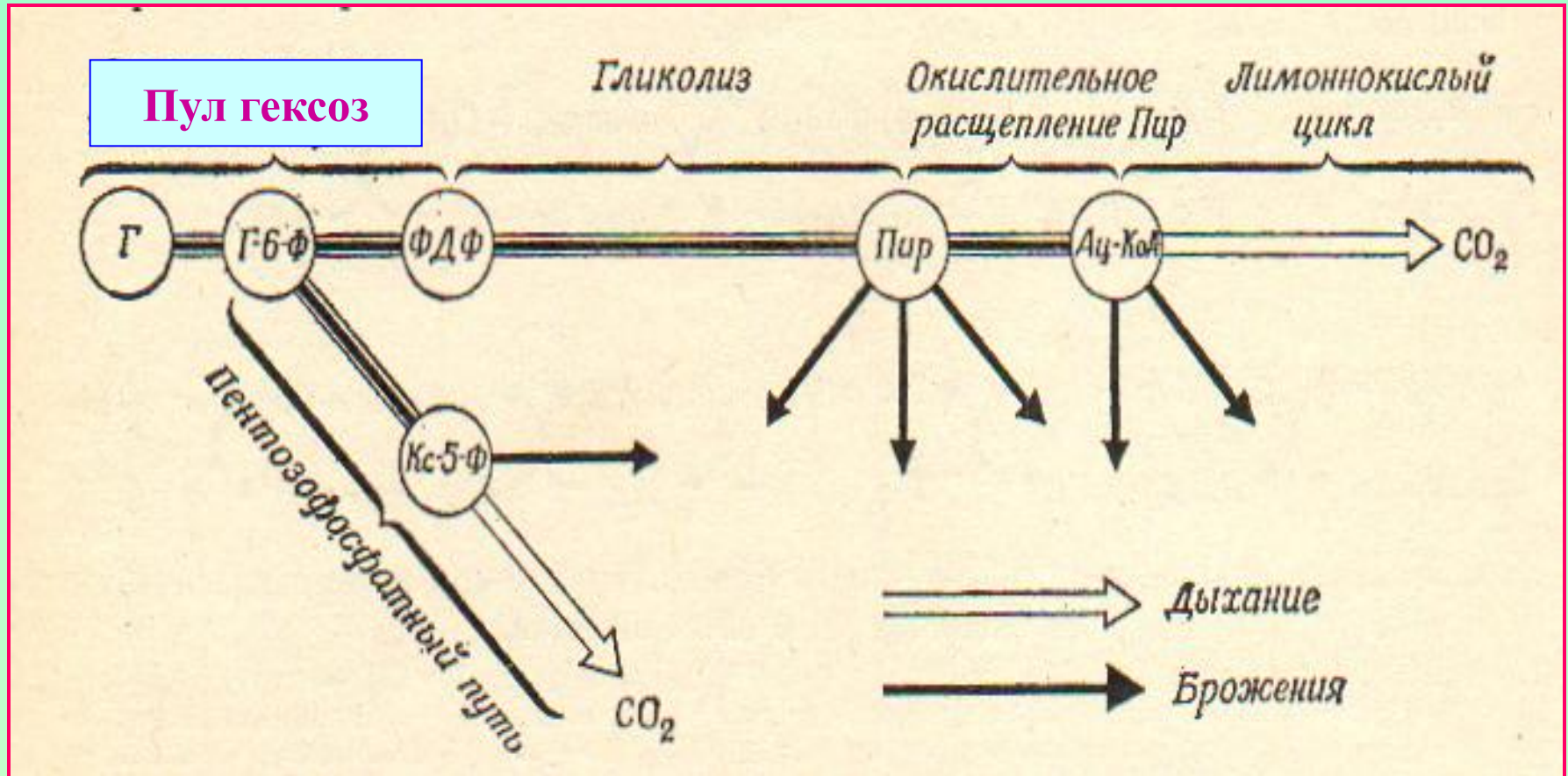
В растительной клетке эти механизмы работают и для транспорта веществ, и для синтезов в цитозоле

И еще раз - общая схема энергетической системы клетки

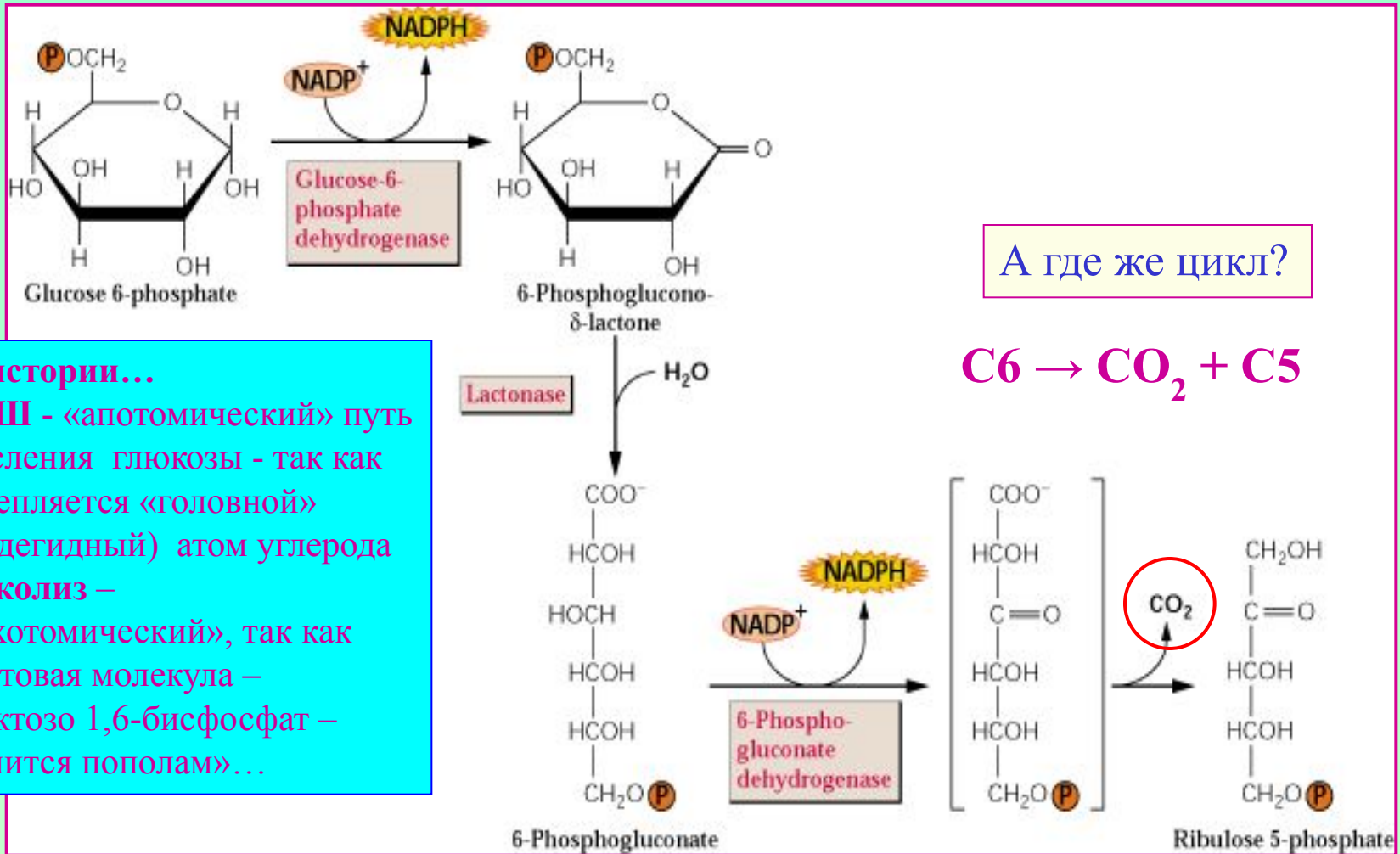


Особенности дыхания растений: «глобальные» шунты (альтернативные пути), система оксидаз.

Альтернативные пути дыхания растений



Окислительная стадия пентозофосфатного цикла



А где же цикл?

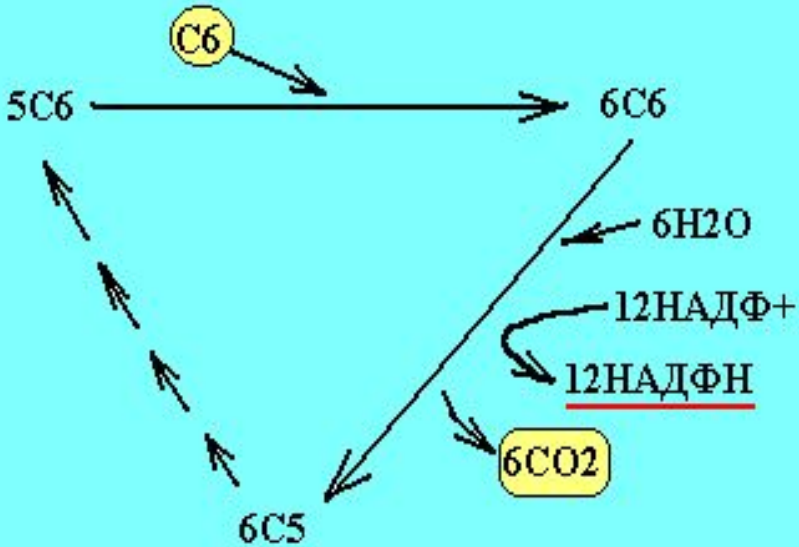


Из истории...

ПФШ - «апотомический» путь окисления глюкозы - так как отщепляется «головной» (альдегидный) атом углерода
Гликолиз - «дихотомический», так как стартовая молекула - фруктозо 1,6-бисфосфат - «делится пополам»...

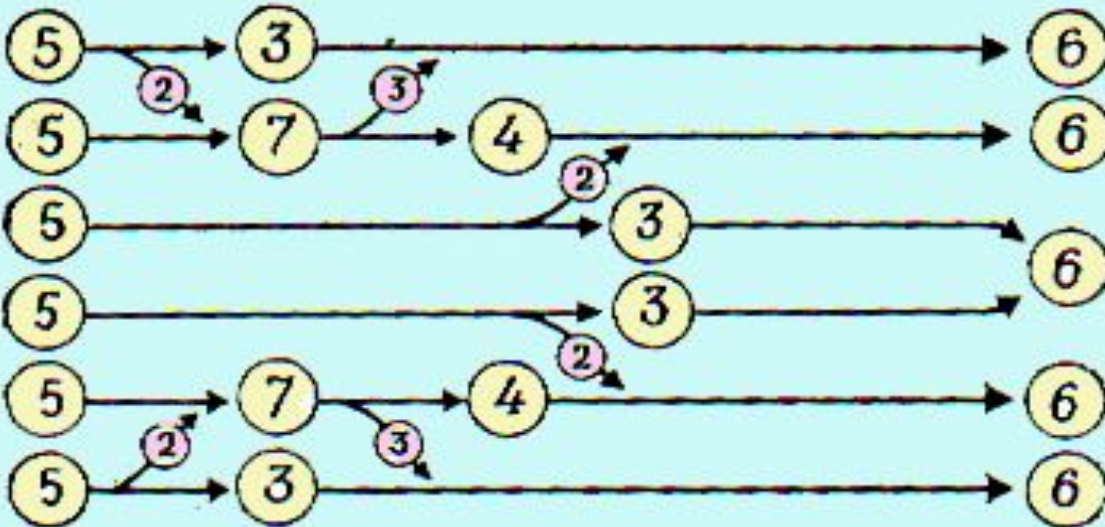
Как и гликолиз, окислительный ПФШ у растений идет не только в цитозоле, но и в пластидах, при этом в хлоропластах - как правило, в темноте

Окислительный пентозофосфатный цикл (шунт) - ПФШ

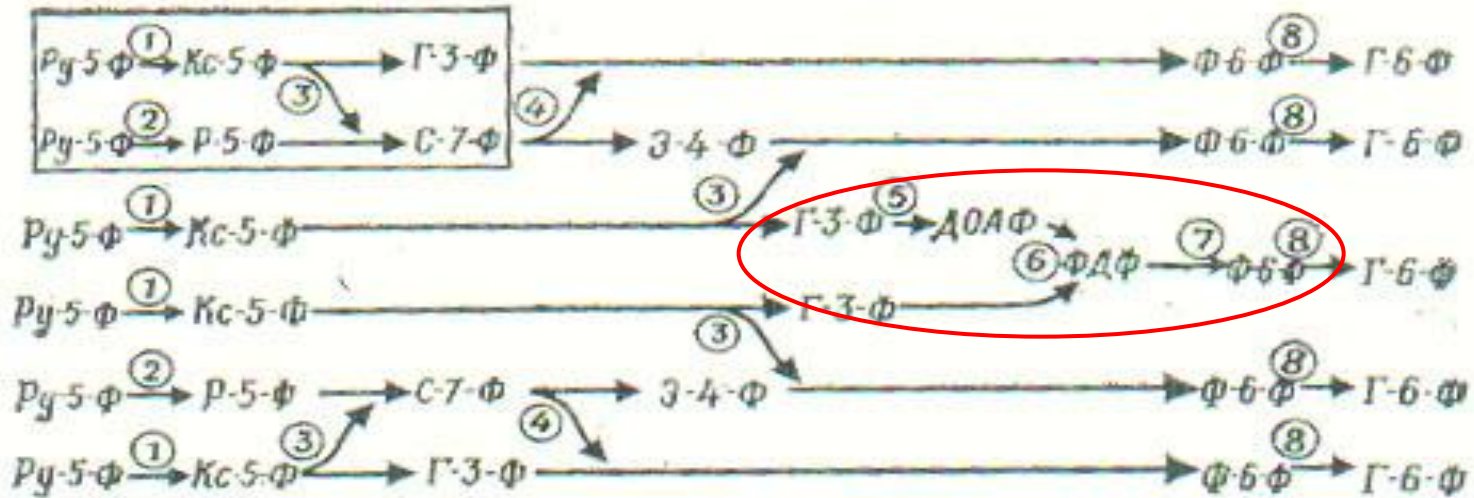
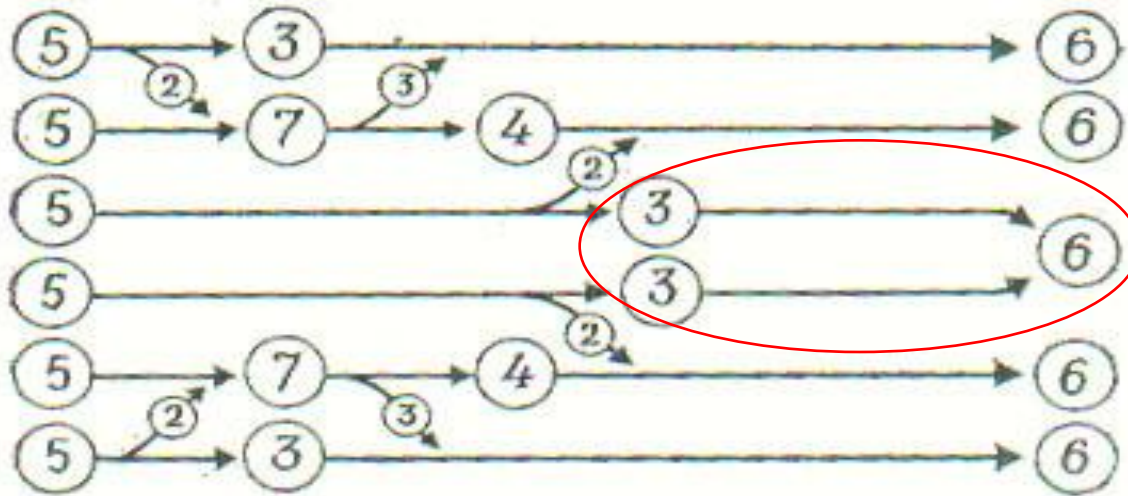


Функции:

1. Поставка НАДФН для восстановительных синтезов
2. Поставка НАДФН для дыхания.
3. Поставка субстратов для различных биосинтезов (цитозоль)
4. Поставка интермедиатов для цикла Кальвина (пластиды)



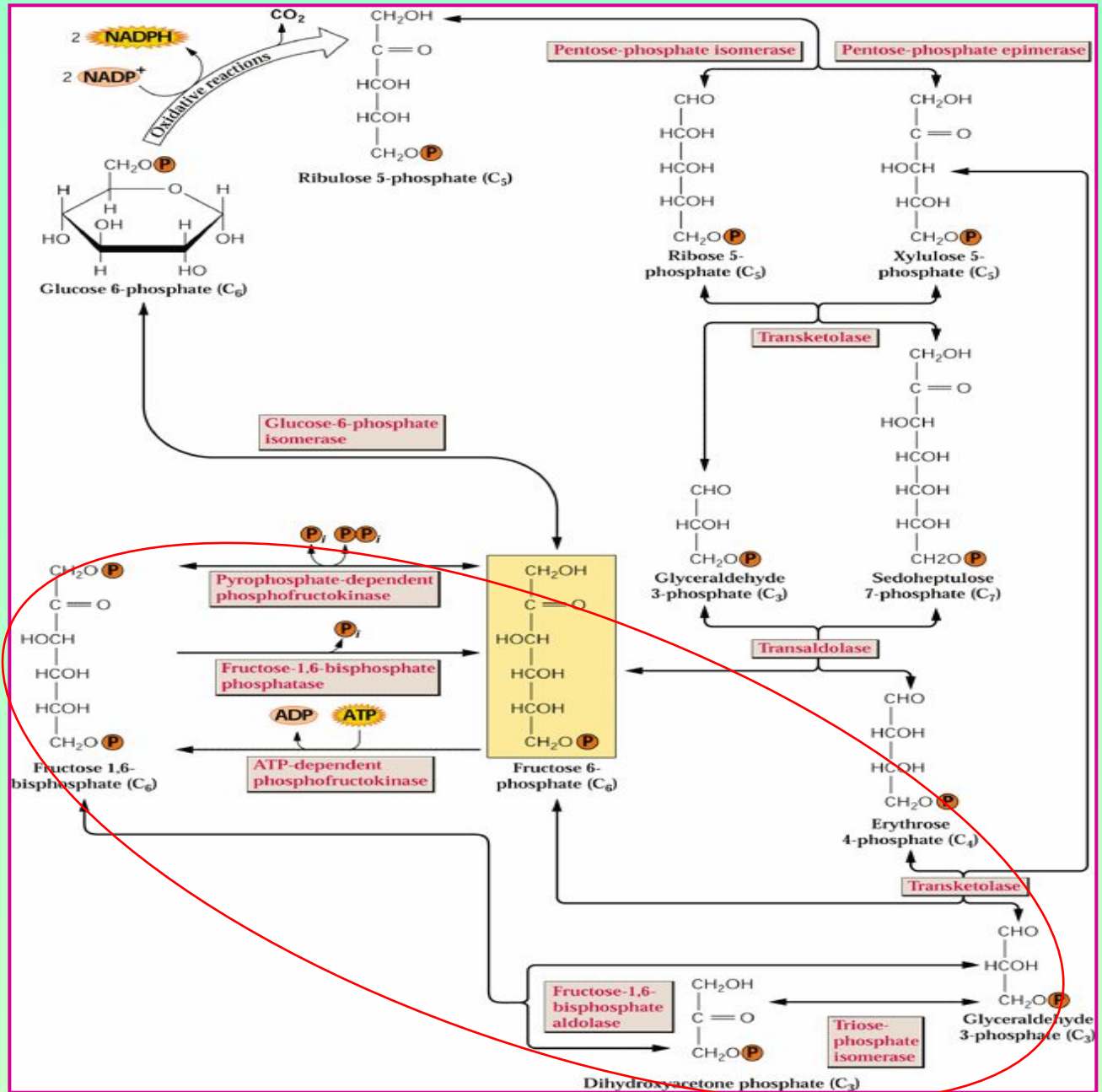
Фаза регенерации пентозофосфатного цикла



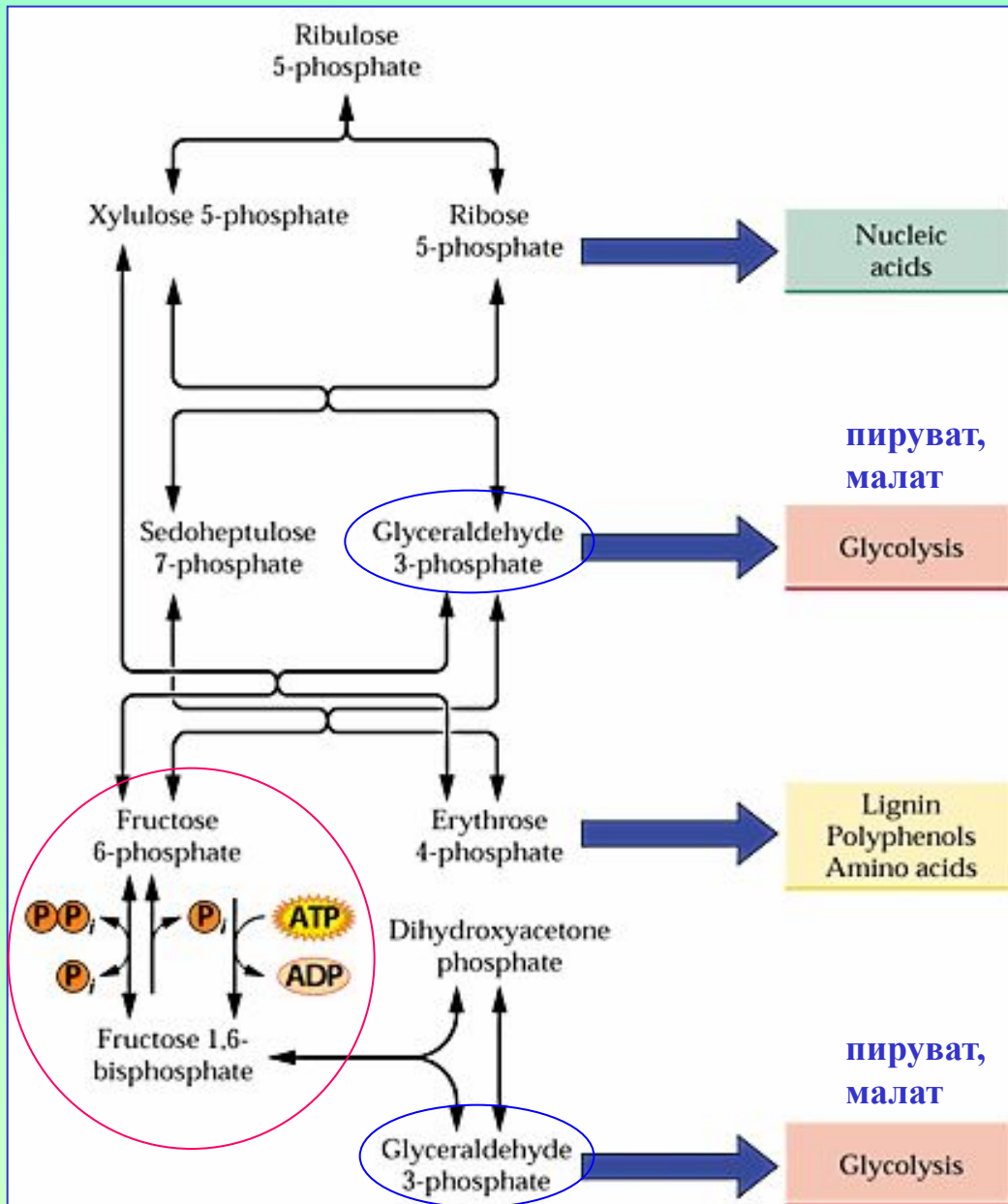
«Начало» гликолиза – составная часть пентозофосфатного цикла

В норме на долю гликолиза приходится до 70-90% используемого фруктозо-6-фосфата. Но возможны варианты...

Фруктозо 1,6-бисфосфат входит в «пул гексоз» из за дифосфат-зависимой фосфофруктокиназы, так как ее наличие делает реакцию его образования обратимой.



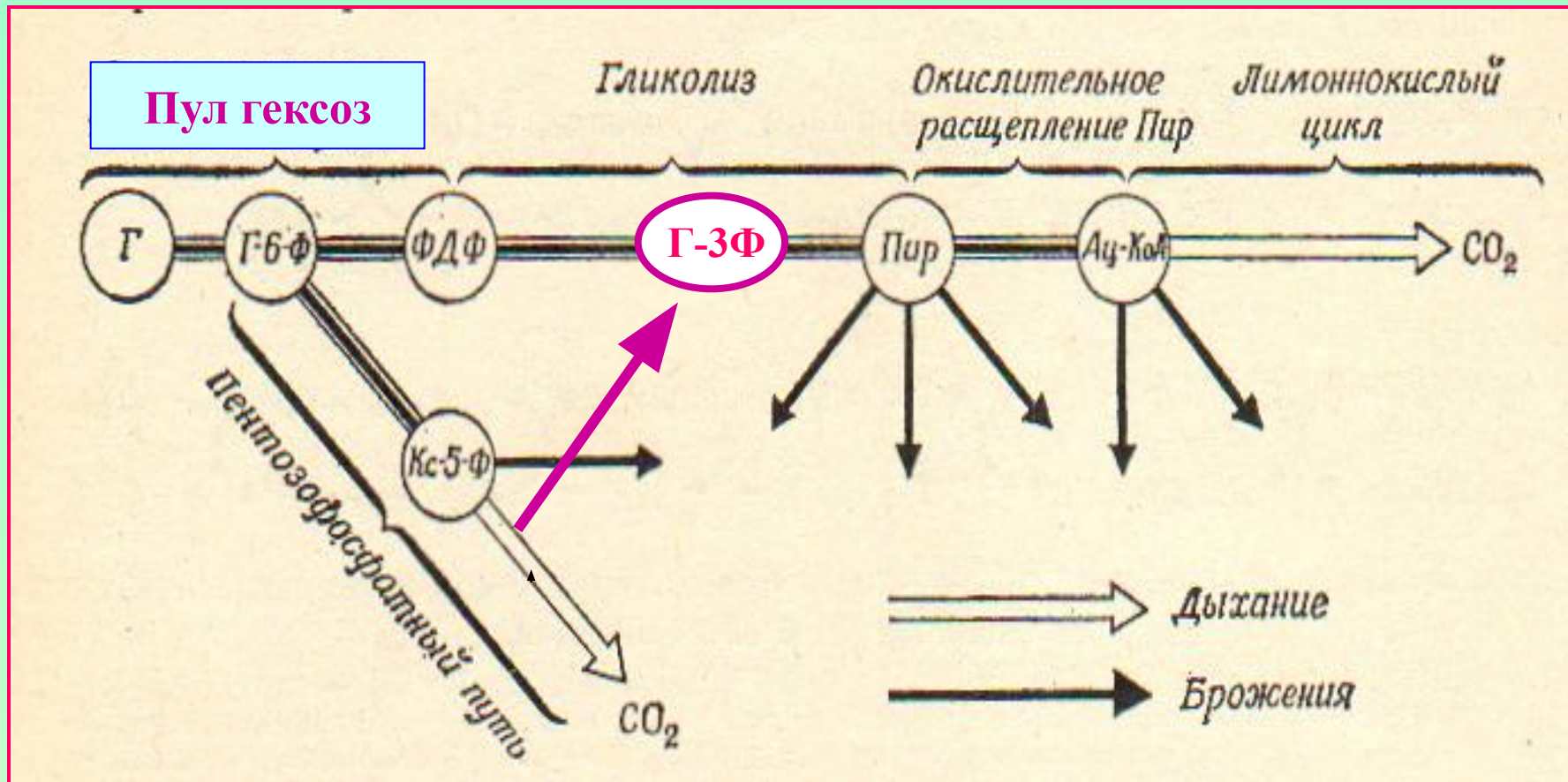
NB - гликолиз и ПФШ имеют общие пулы гексоз и триоз.



Получается, что «центром» окислительного метаболизма является глицеральдегид-3-фосфат. Он образуется из фруктозо 1,6 бисфосфата как в гликолизе, так и в ПФШ. То есть пул гексоз двумя путями (шунты!) формирует пул триоз, которые служат исходным материалом для ЦТК – и опять же несколькими вариантами (пируват, малат)...

Кроме того, ПФШ является источником минимум еще двух важнейших метаболических путей: синтез ароматики – шикиматный путь (из эритрозо 4-фосфата) и формирование нуклеотидов (из рибозо 5-фосфата).

Альтернативные пути дыхания растений



Цитоплазматические электрон-транспортные цепи растений

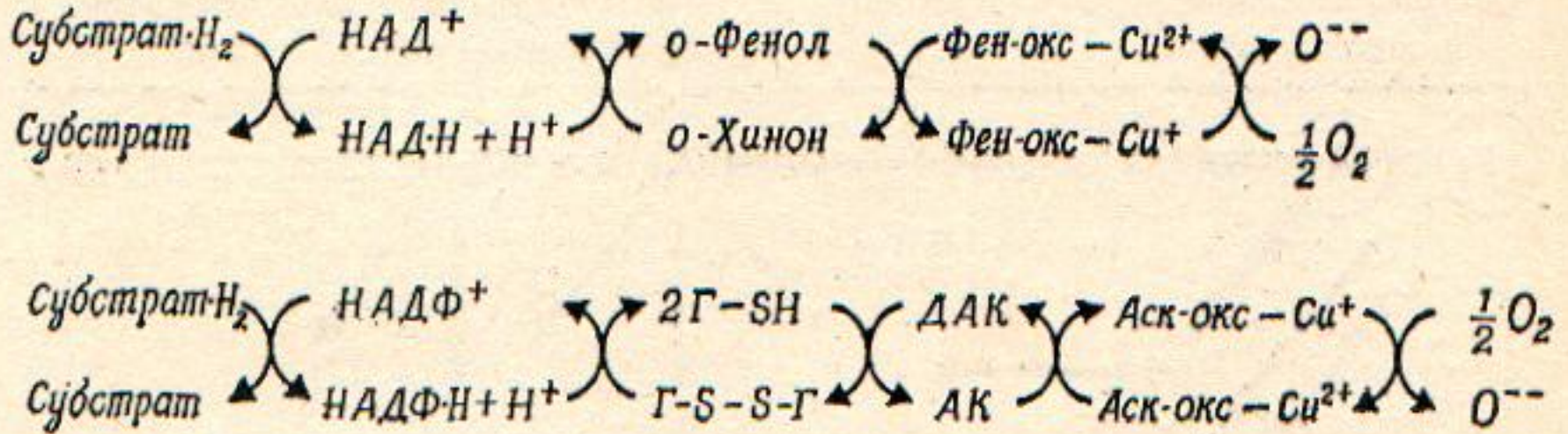
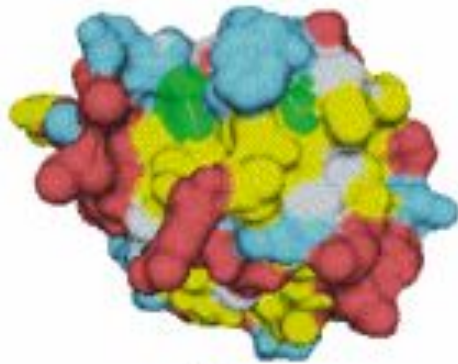


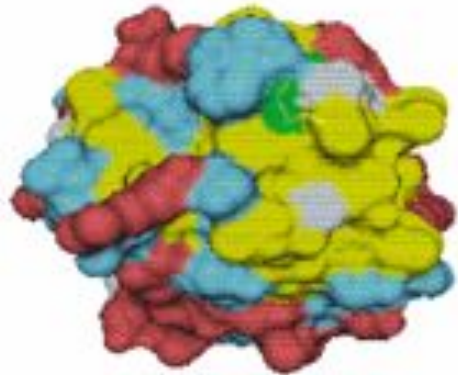
Рис. 55. Дыхательные цепи, включающие фенолоксидазу или аскорбатоксидазу в качестве терминальных оксидаз.

Продолжение работы по теме: влияние температуры на скорость ферментативных реакций. Влияние pH на активность ферментов. Влияние концентрации субстрата на скорость ферментативных реакций.

Тиоредоксин и глутатион – компоненты многих регуляторных Red-Ox реакций



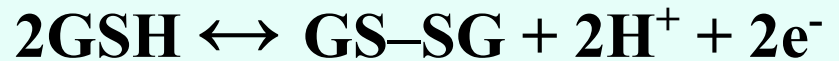
Trx f



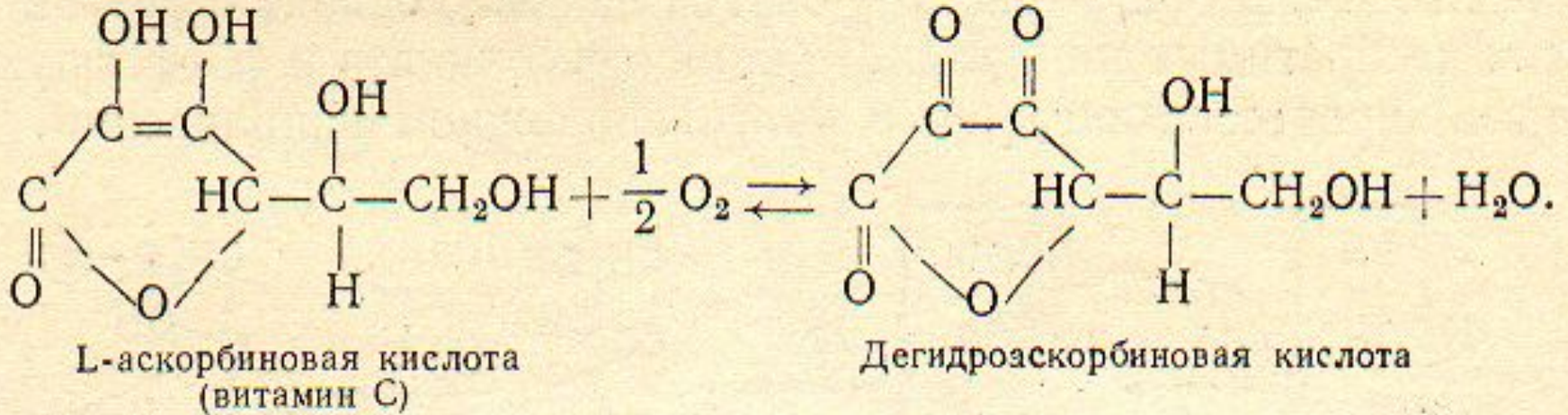
Trx m

Тиоредоксины – небольшие белки, Red-Ox реакции – за счет SH-групп.

Глутатион: трипептид:
L-γ-глутамил-L-цистенил-глицин.



Аскорбатоксидаза



Медь- содержащий фермент.

8 атомов Cu – $6Cu^{2+}$, $2Cu^{+}$.

М.в. 140-170 kDa

Работает в паре с глутатионом.

Дифенолоксидазы (полифенолоксидазы)

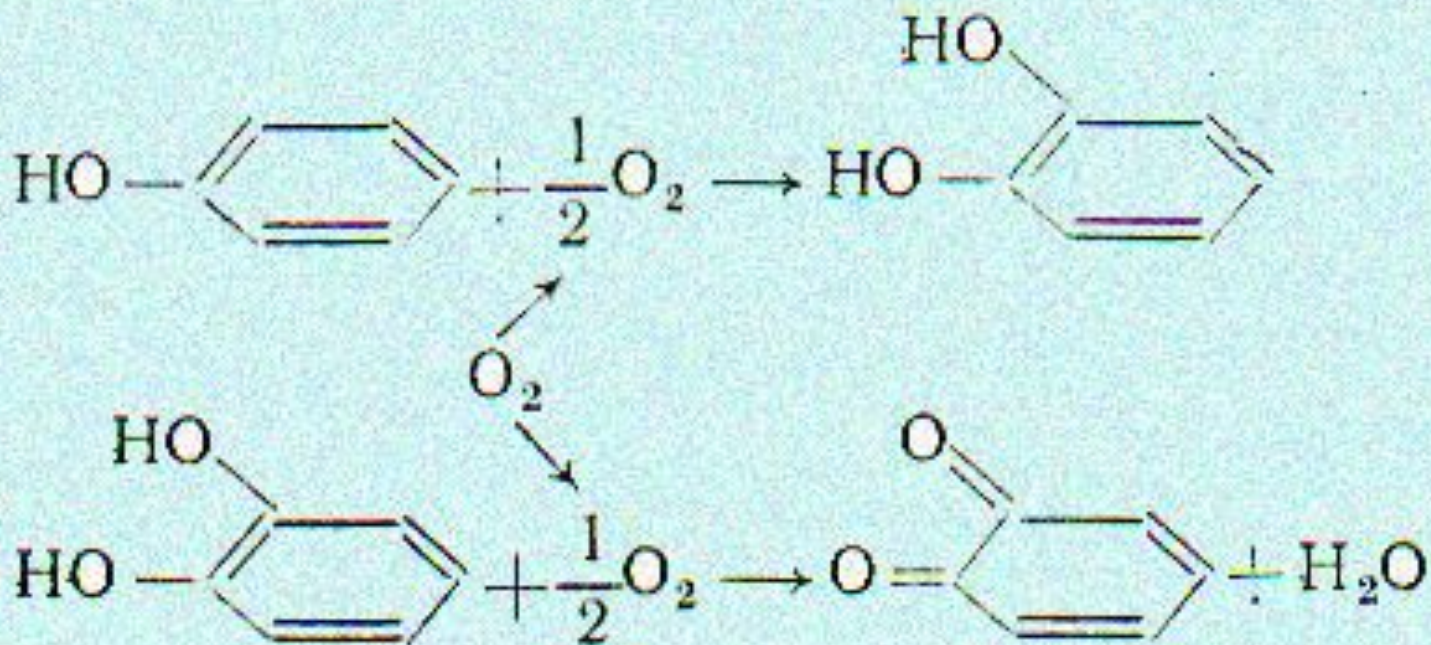
о-дифенолоксидаза:

**Медь-содержащий фермент,
М.в. 32 kDa.**

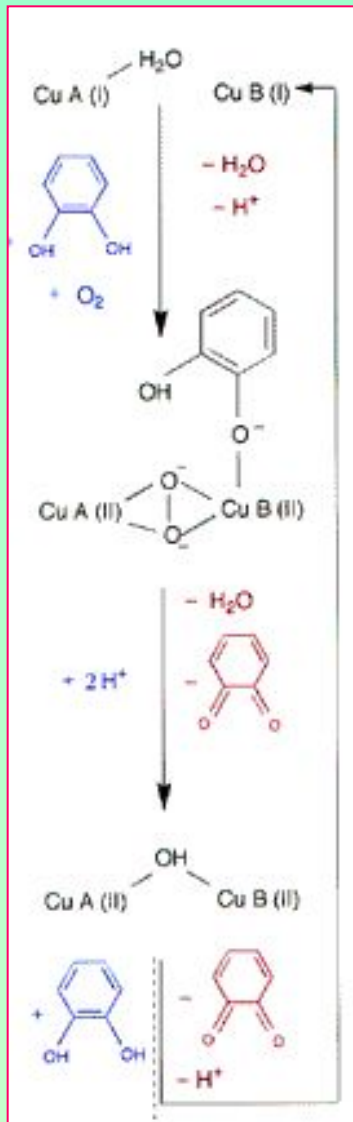
**Крезолазная и
катехолазная активность**

п-дифенолоксидаза:

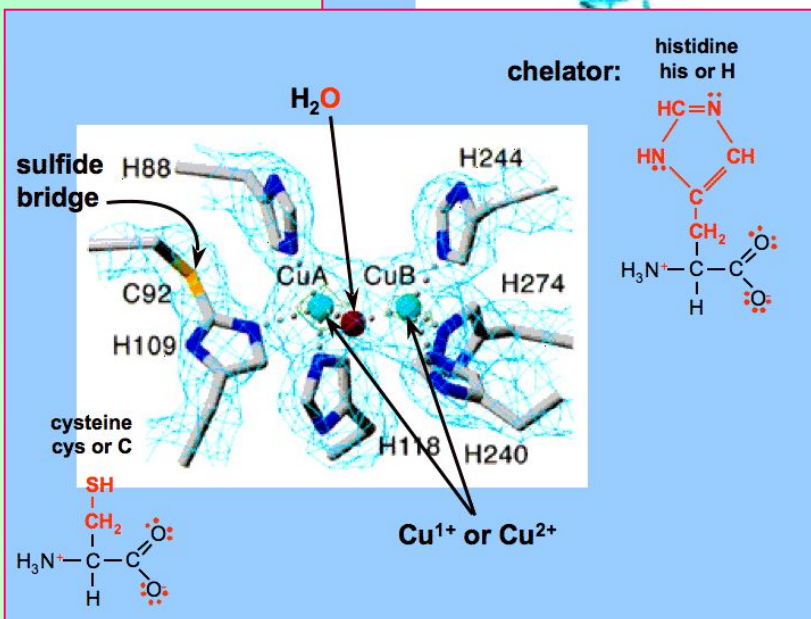
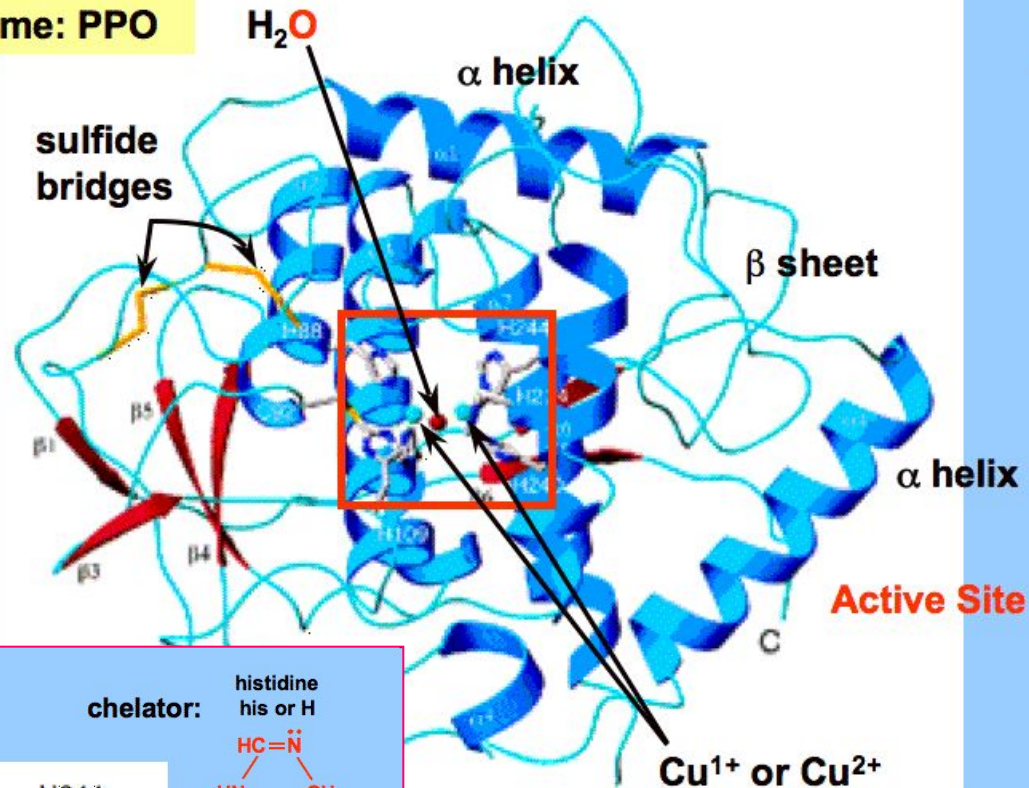
**Медь-содержащий фермент,
4 Cu, М.в. 120 kDa**



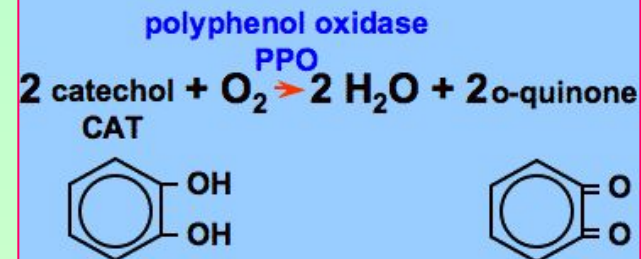
Структура полифенолоксидазы и механизм реакции



Enzyme: PPO

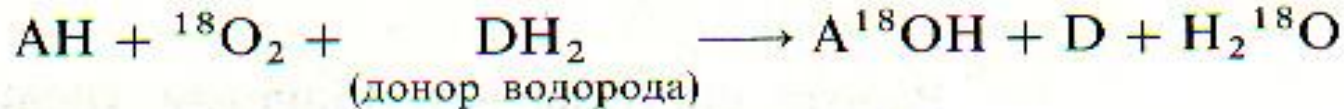


© 1998. Crystal structure of a plant catechol oxidase containing a dicopper center. nature.com/nsmb/journal/v5/n12/full/nsb1298_1084.html

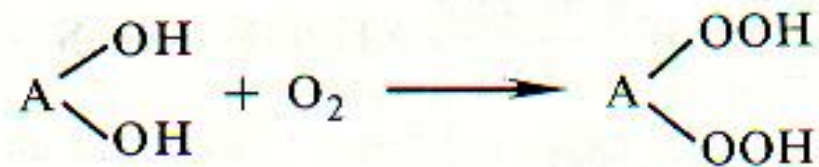


Оксигеназы растений

Монооксигеназы осуществляют реакцию гидроксилирования по схеме



Диоксигеназы внедряют два атома кислорода в самые разнообразные группировки:



Пример:

Липоксигеназы:

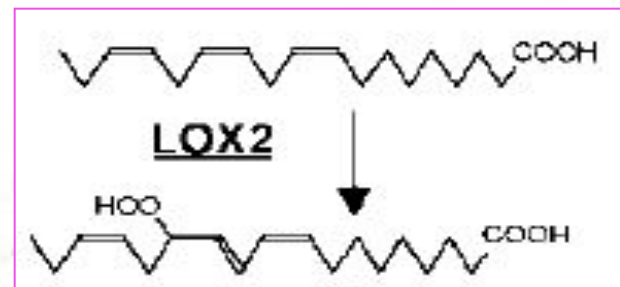
Мономерные белки
94 – 97 kDa,

Много изоформ:

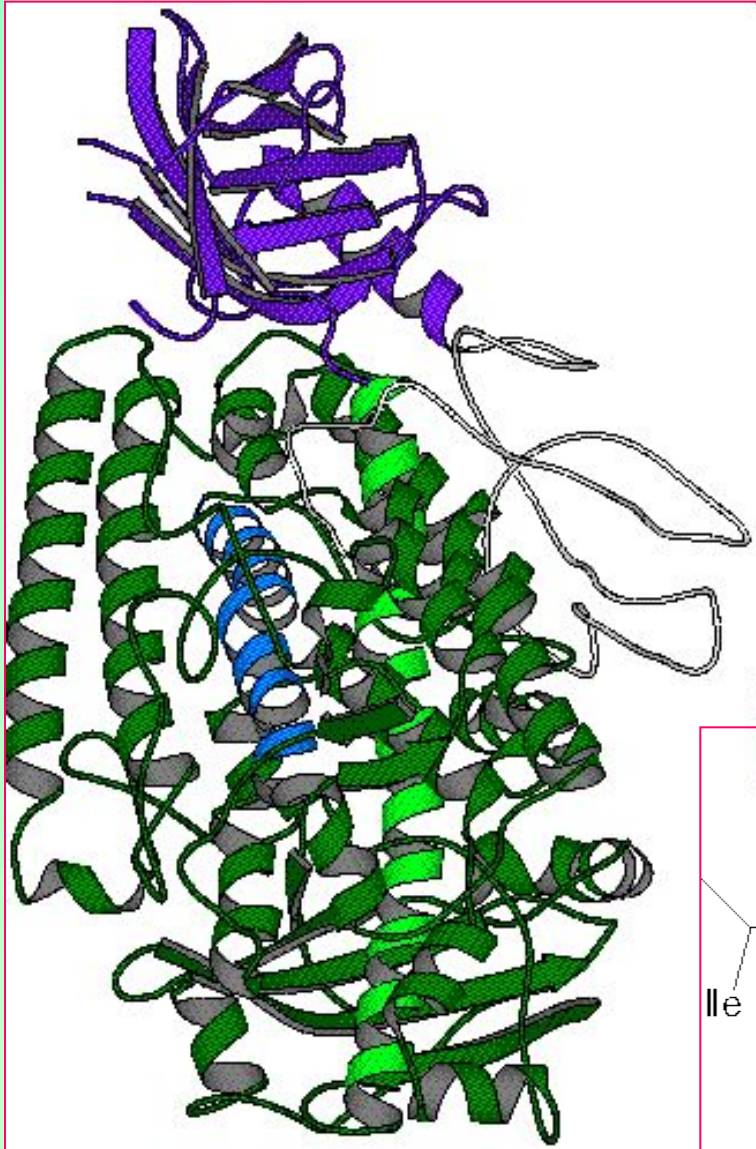
цитозоль (семена)

хлоропласты (листья)

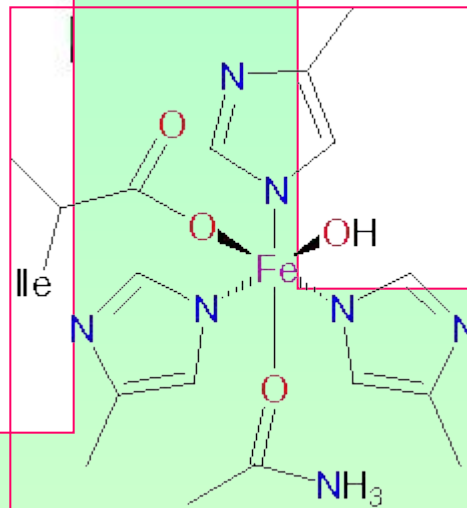
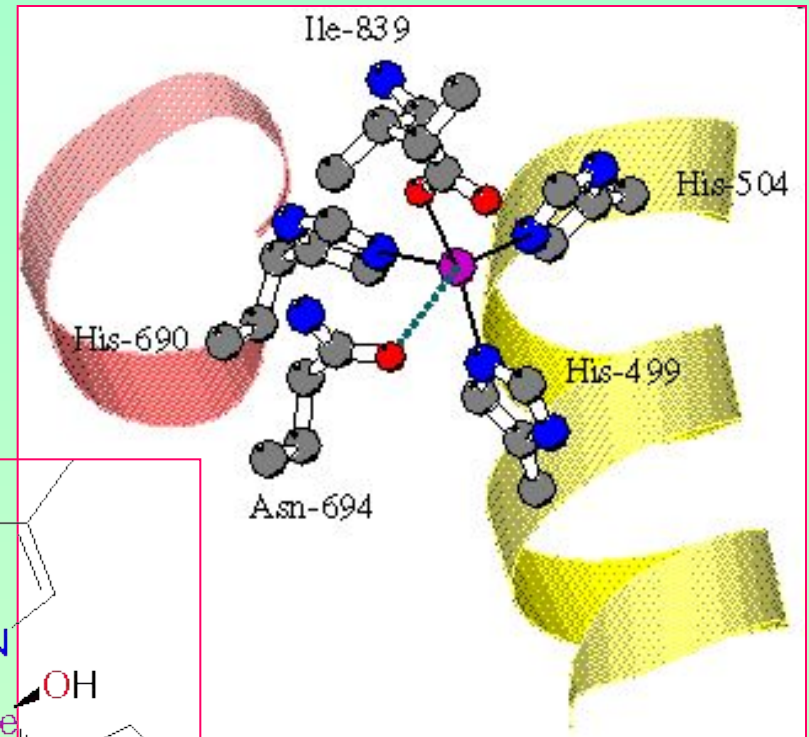
вакуоль (корни)



Структура липоксигеназы соевых бобов



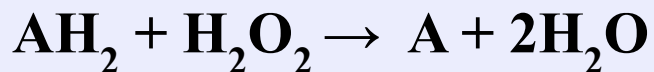
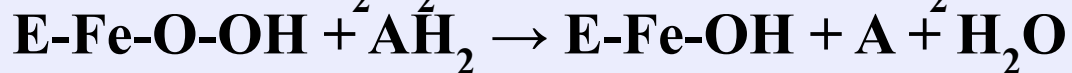
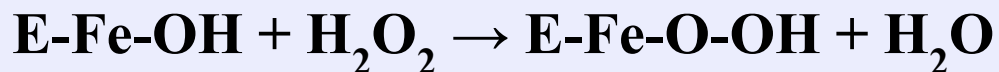
Мономерные белки 94 – 97 kDa
Небольшой N-домен (фиолетовый) и
значительный C-домен (зеленый),
содержащий активный центр.



Пероксидаза и каталаза

Пероксидазы: гем-содержащие белки, М.в. ~44 kDa.

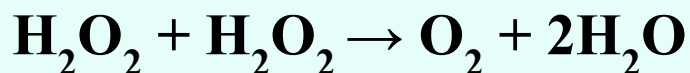
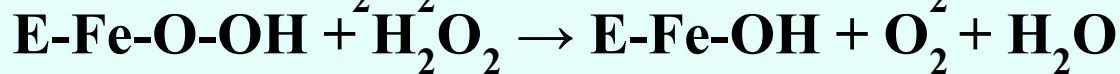
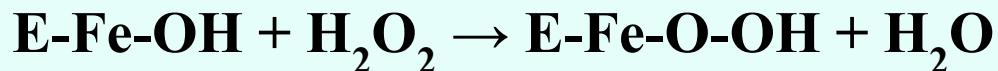
Окисляют субстраты за счет перекиси водорода.



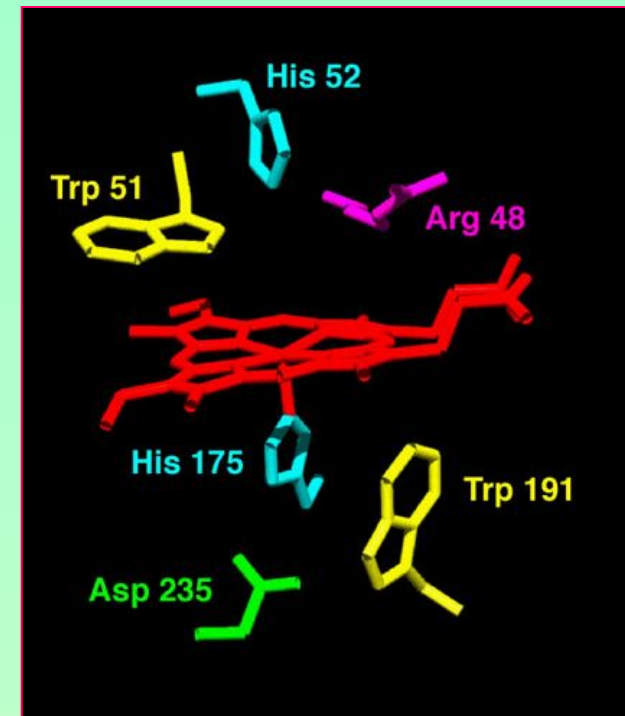
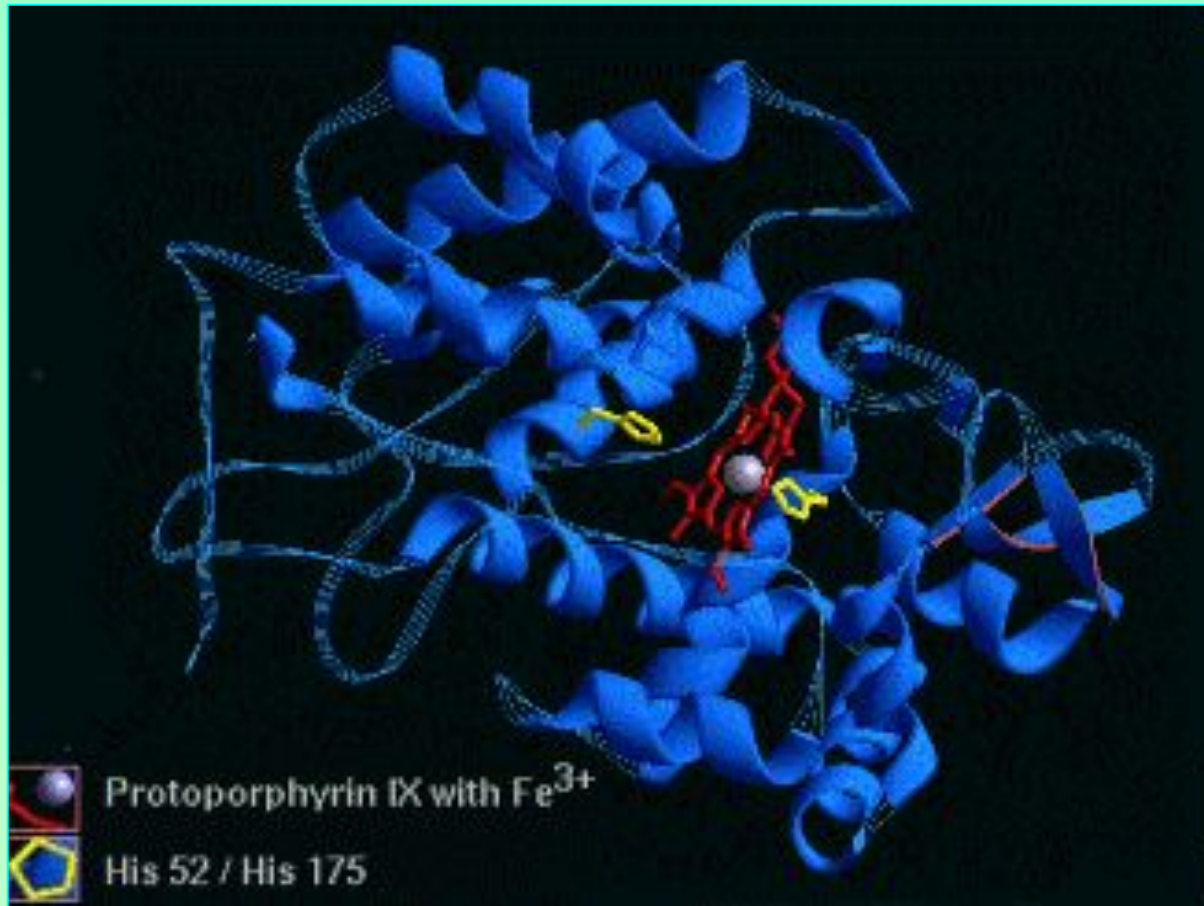
Классическая пероксидаза, НФДФ-пероксидаза, пероксидаза ж.к.

Цитохром-пероксидаза, глутатион-пероксидаза и др.

Каталазы: гем-содержащие белки, 60 – 75 kDa.

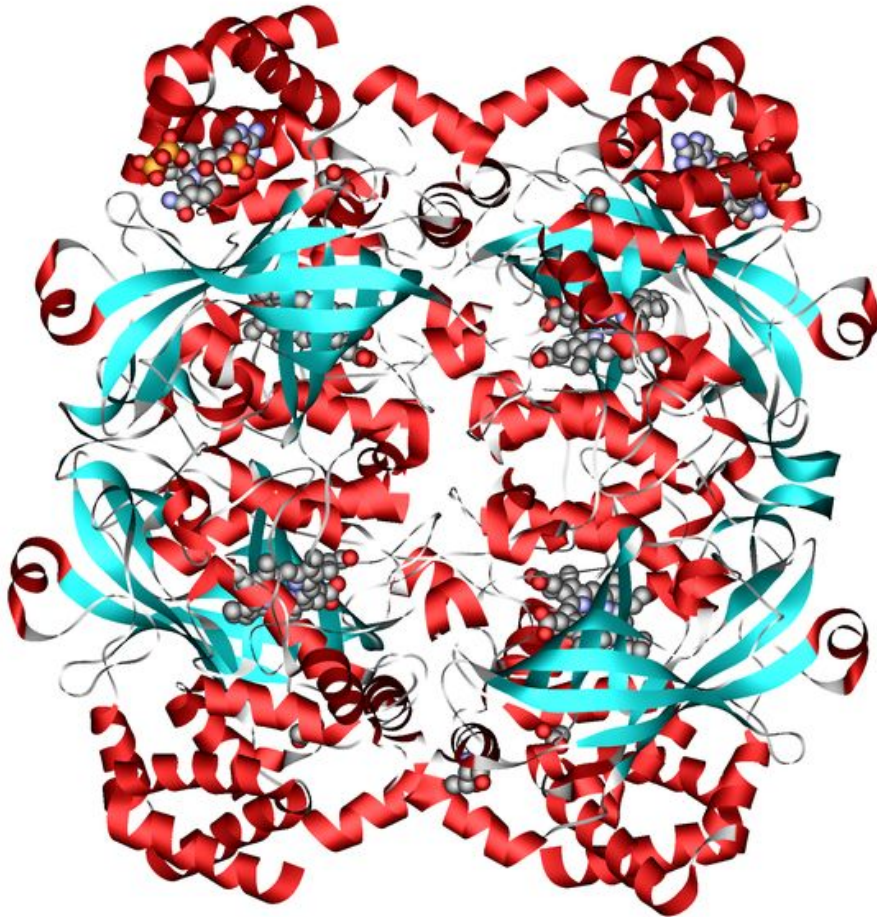


Пероксидаза и ее активный центр



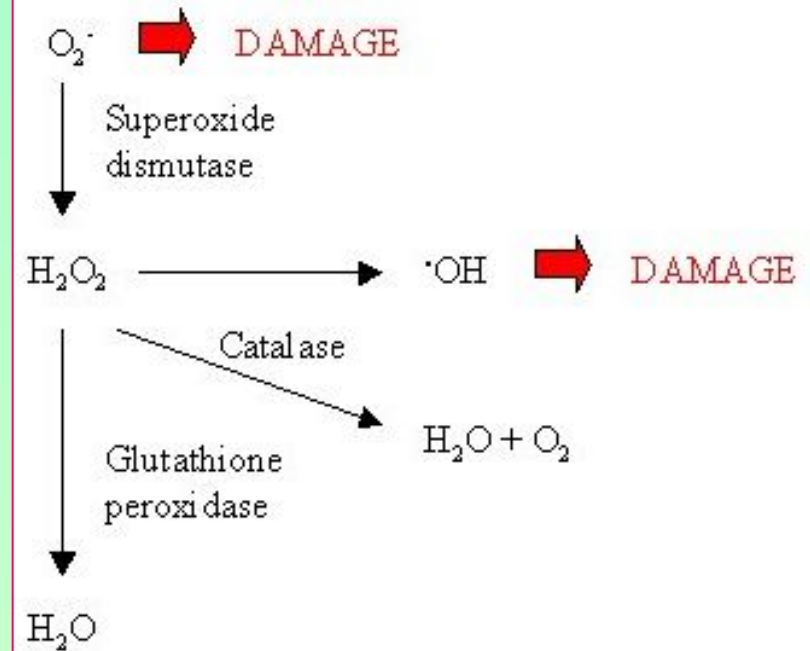
Пероксидазы окисляют субстраты за счет перекиси водорода. У них обязательно присутствует гистидин в качестве аксиального лиганда. Активная форма - Fe^{III} , которая реагирует с пероксидом, при этом формируется высокоокисленный интермедиат $O=Fe(IV)$

Структура каталазы и ее защитные функции

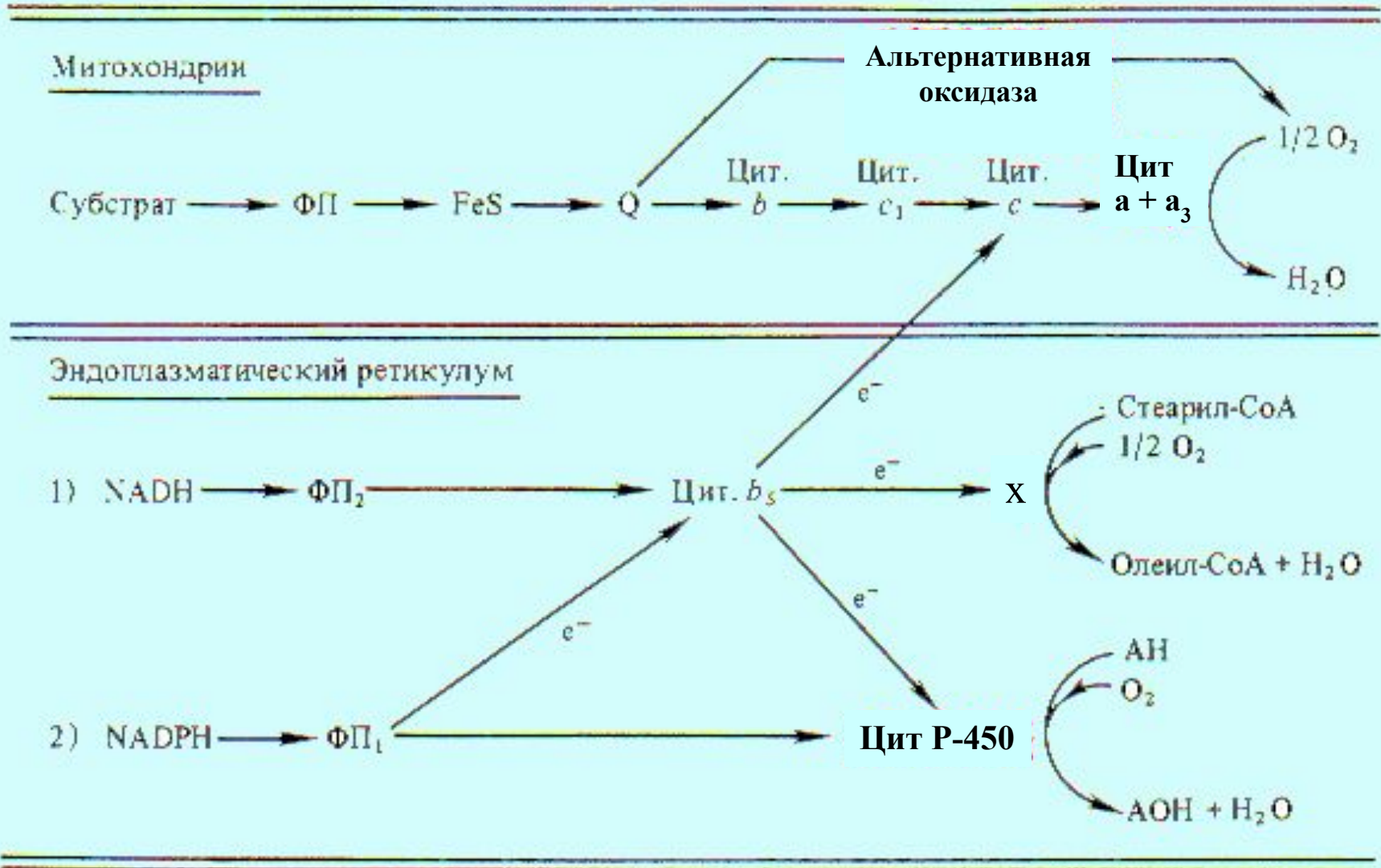


Каталаза – тетрамер, 60 или 75 kDa, каждая из субъединиц содержит гем.

Каталаза - один из наиболее стабильных белков.



Оксидазы митохондрий и ЭР



Оксидазы цитозоля

Цитоплазма



Система оксидаз растительной клетки

