

Новосибирский государственный
университет

Лекция №8

Цепь переноса электронов

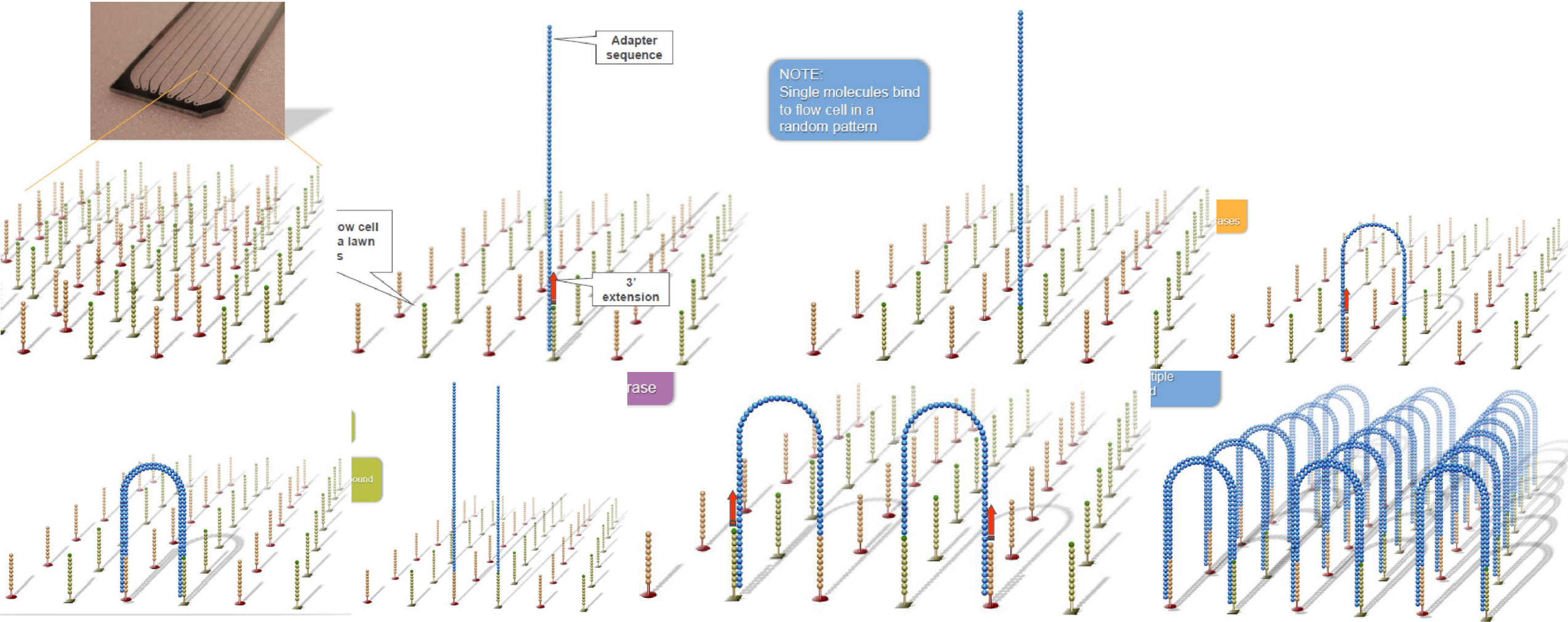
Кечин Андрей Андреевич, к.б.
н.

Новосибирск -
2020

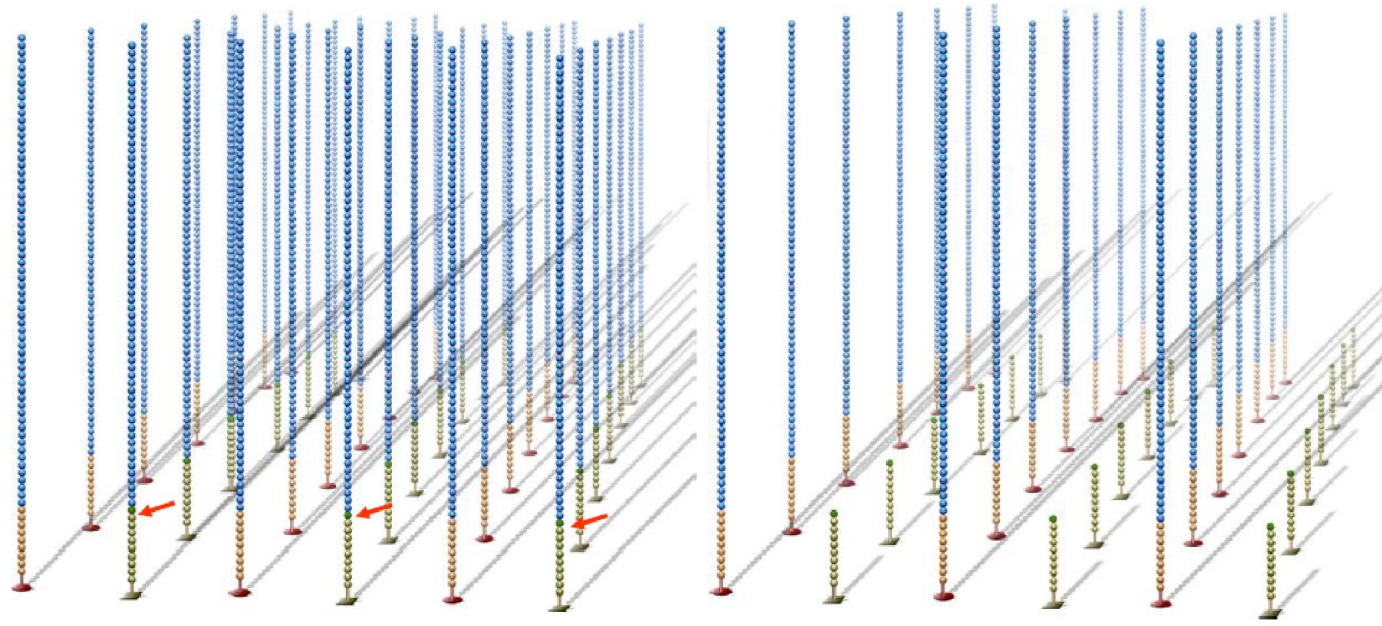
Вопросы с прошлой лекции

- E1/E2-механизм β -элиминации при разрыве фосфодиэфирной связи
- Секвенирование Illumina

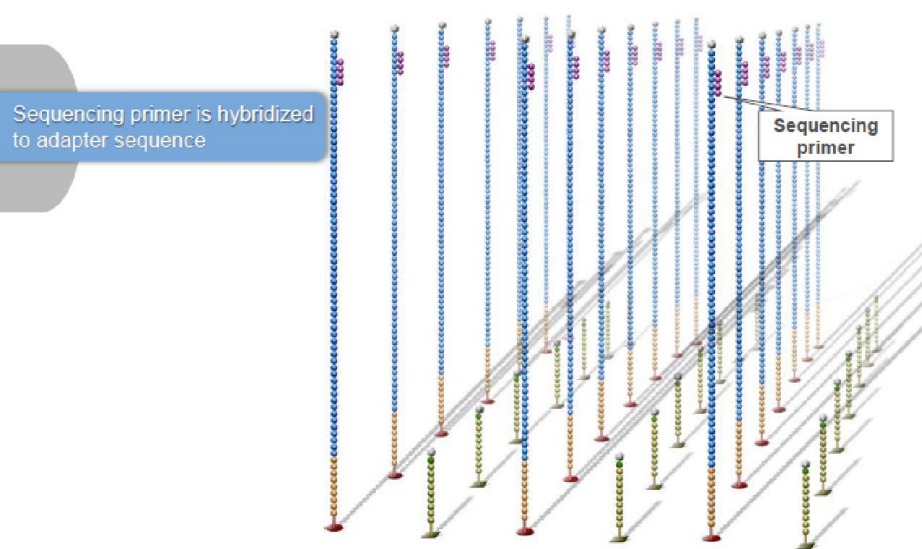
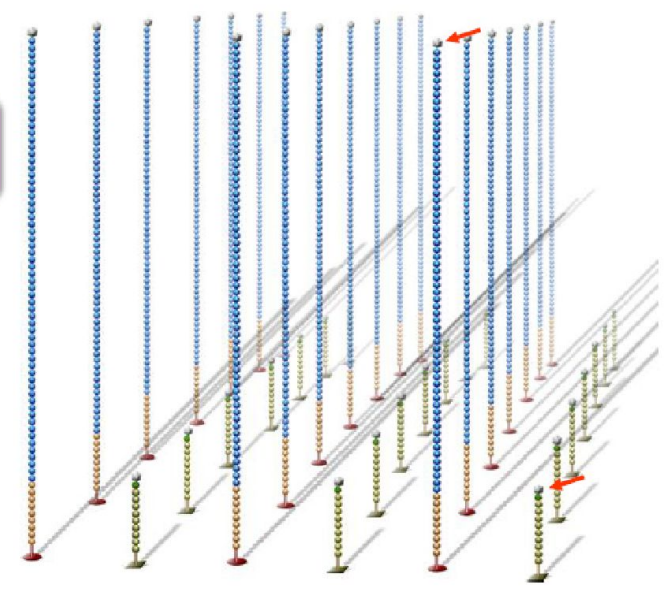
Технология Illumina (Solexa)



Технология Illumina (Solexa)



Free 3' ends are blocked to prevent unwanted DNA priming



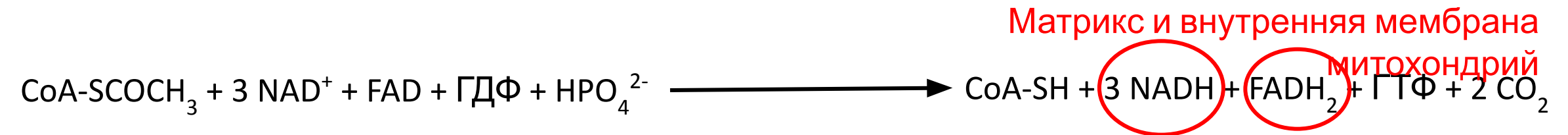
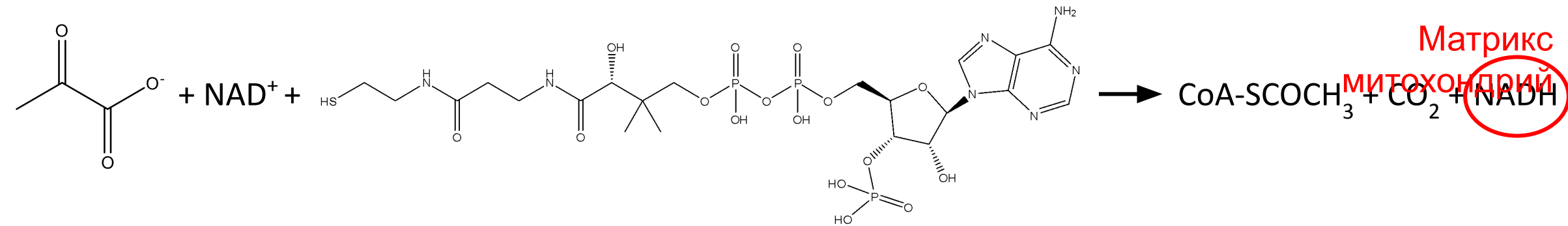
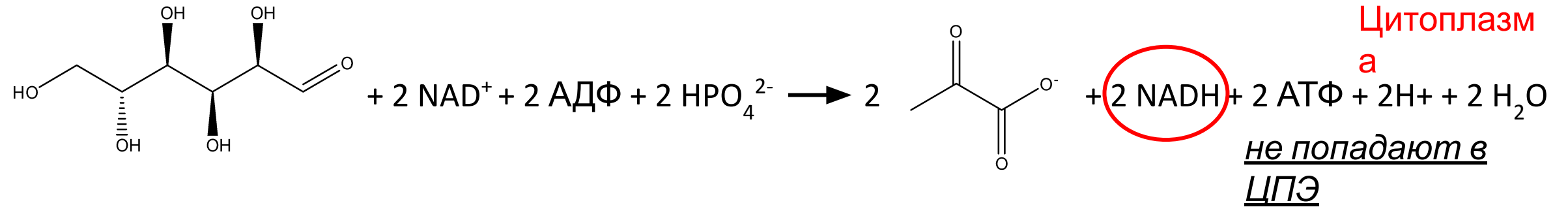
Sequencing primer is hybridized to adapter sequence

Sequencing primer

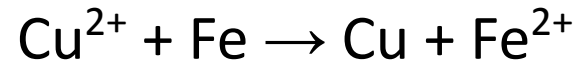
План лекции

- Молекулы, попадающие в цепь переноса электронов
- Что такое окислительно-восстановительный потенциал
- Строение митохондрий
- Общая структура цепи переноса электронов
- Строение и функционирование каждого из элементов цепи переноса электронов
- Железосерные белки

Молекулы, попадающие в цепь переноса электронов



Окислительно-восстановительный потенциал



$K = e^{(-\Delta G/RT)}$, где ΔG – изменение свободной энергии (энергии Гиббса); R – универсальная газовая постоянная (8,3 Дж/(моль*К)); T – температура в К

$\Delta G^0 = -\Delta E^0 \cdot n \cdot F$, где n – число электронов, переносимых от окислителя к восстановителю; F – постоянная Фарадея (96500 Кл)

$$1 \text{ Дж} = 1 \text{ Кл} \cdot \text{В}$$

$\Delta E^0 = E^0_{\text{ок-ля}} - E^0_{\text{в-ля}}$, окислитель – молекула, которая забирает электрон (Cu^{2+}); восстановитель – молекула, отдающая электрон (Fe)

Чтобы было $\Delta G^0 < 0$, нужно, чтобы $\Delta E^0 > 0$

Строение митохондрий



- pH межмембранного пространства 7,2 – 7,4;
pH матрикса – 7,9 – 8,0
- Концентрация белков в матриксе – 500 мг/мл (концентрация РНКазы или лизоцима в пробирке при выделении ДНК 10 мг/мл). Это близко по концентрации белку в кристаллической форме
- В мембрану крист встроены комплексы I-V цепи переноса электронов

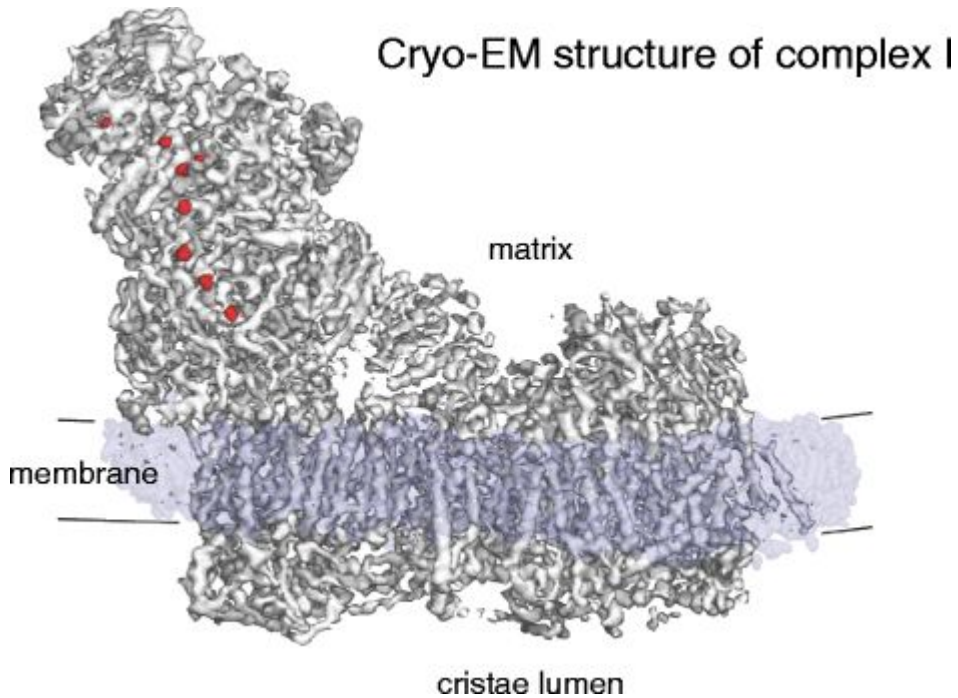
Комплексы цепи переноса электронов



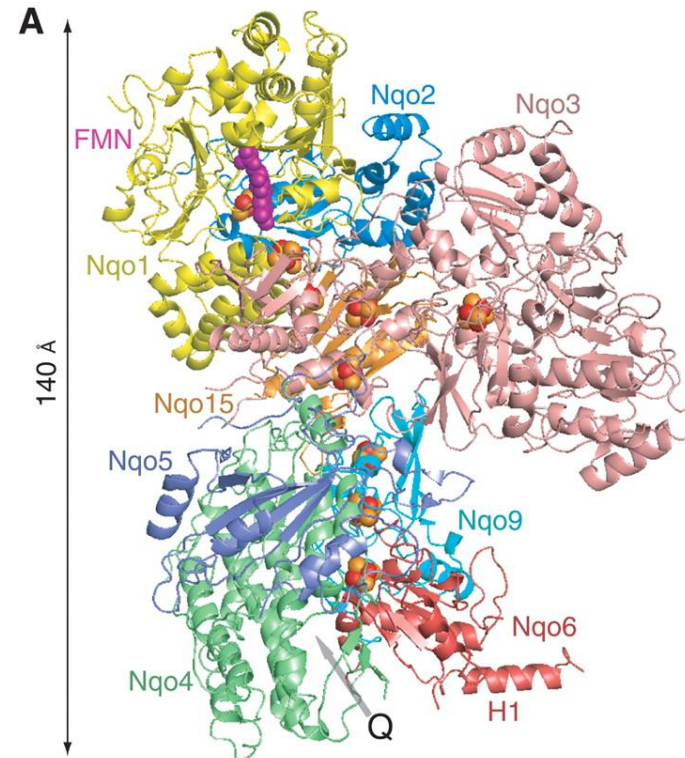
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015).

<https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x>

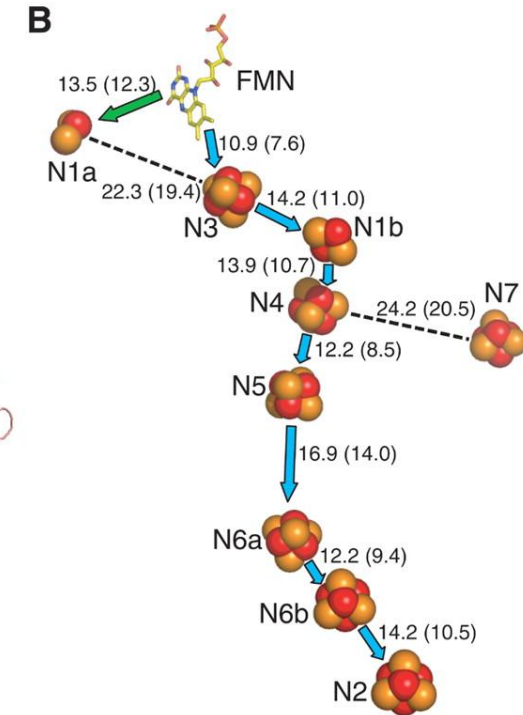
Комплекс I цепи переноса электронов



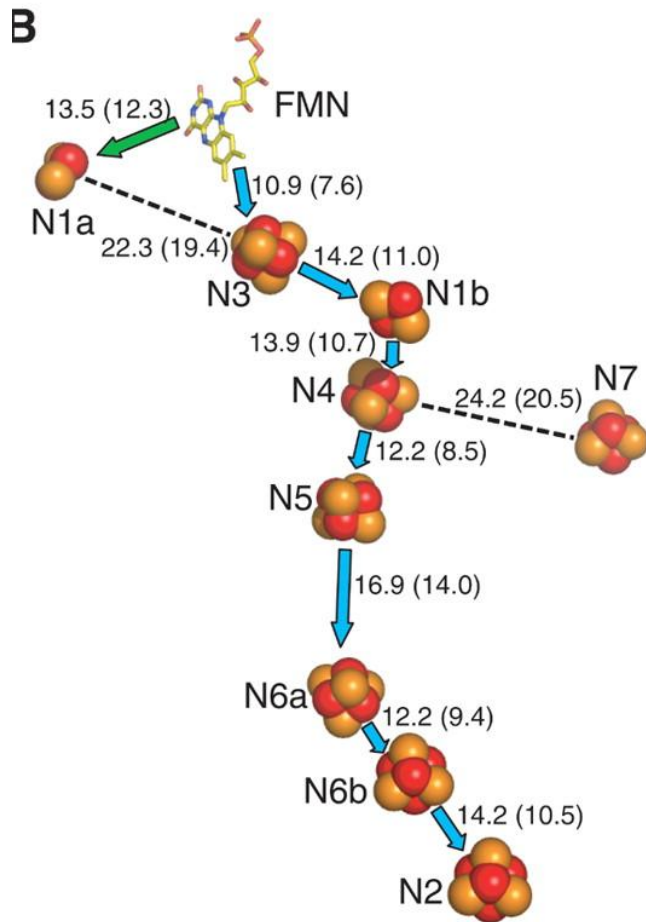
Комплекс I имеет 2 домена: мембранный и матричный. Всего 14 субъединиц, 45 белков



Комплекс I содержит следующие кофакторы: FMN и 7–9 FeS-кластеров (N3, N1b, N4 и т.д.), которые передают друг другу электроны, которые в конце переходят на убихинон



Комплекс I цепи переноса электронов



FMN сидит на самой верхушке комплекса I

$E^0 (\text{NAD}^+/\text{NADH}) = -0,32 \text{ V}$

$E^0 (\text{FMNH}_2/\text{flavosemiquinone}) = -0,3 \text{ V}$

$E^0 (\text{flavosemiquinone}/\text{oxidized flavin}) = -0,39 \text{ V}$

$E^0 (\text{oxidized N3-N6b}/\text{reduced N3-N6b}) = -0,25 \text{ V}$

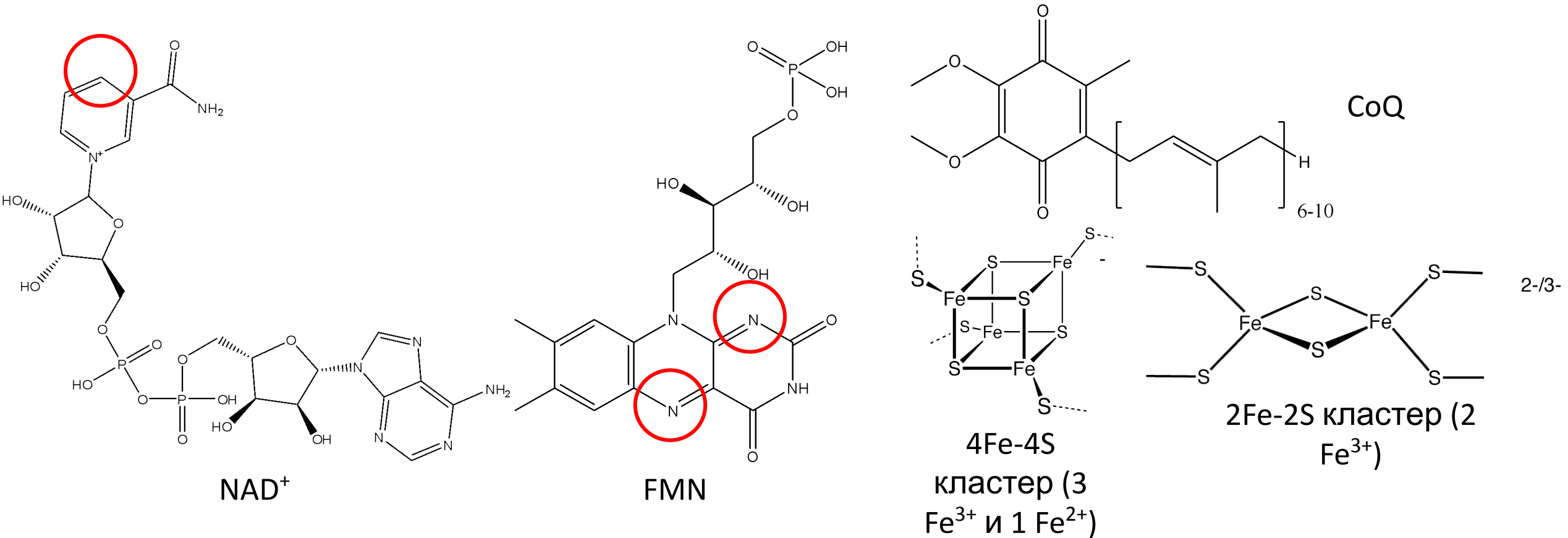
$E^0 (\text{oxidized N2}/\text{reduced N2}) = -0,1 \text{ V}$

$E^0 (\text{Q}/\text{QH}_2) = 0,11 \text{ V}$

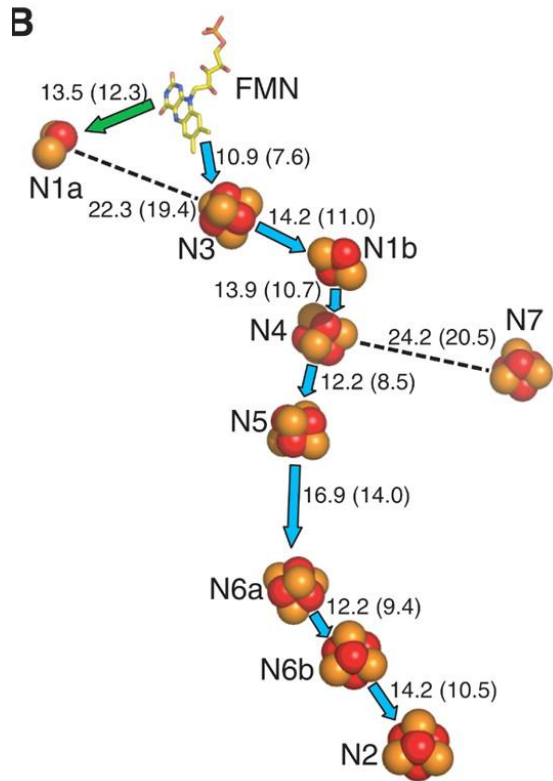
$\Delta E^0 (\text{NADH} \rightarrow \text{FMN}) = E^0 (\text{FMNH}_2/\text{flavosemiquinone}) - E^0 (\text{NAD}^+/\text{NADH}) = 0,3 \text{ V} - (-0,32 \text{ V}) = 0,02 \text{ V}$

Чтобы окислительно-восстановительная реакция протекала должно быть $\Delta E^0 > 0$

Комплекс I цепи переноса электронов

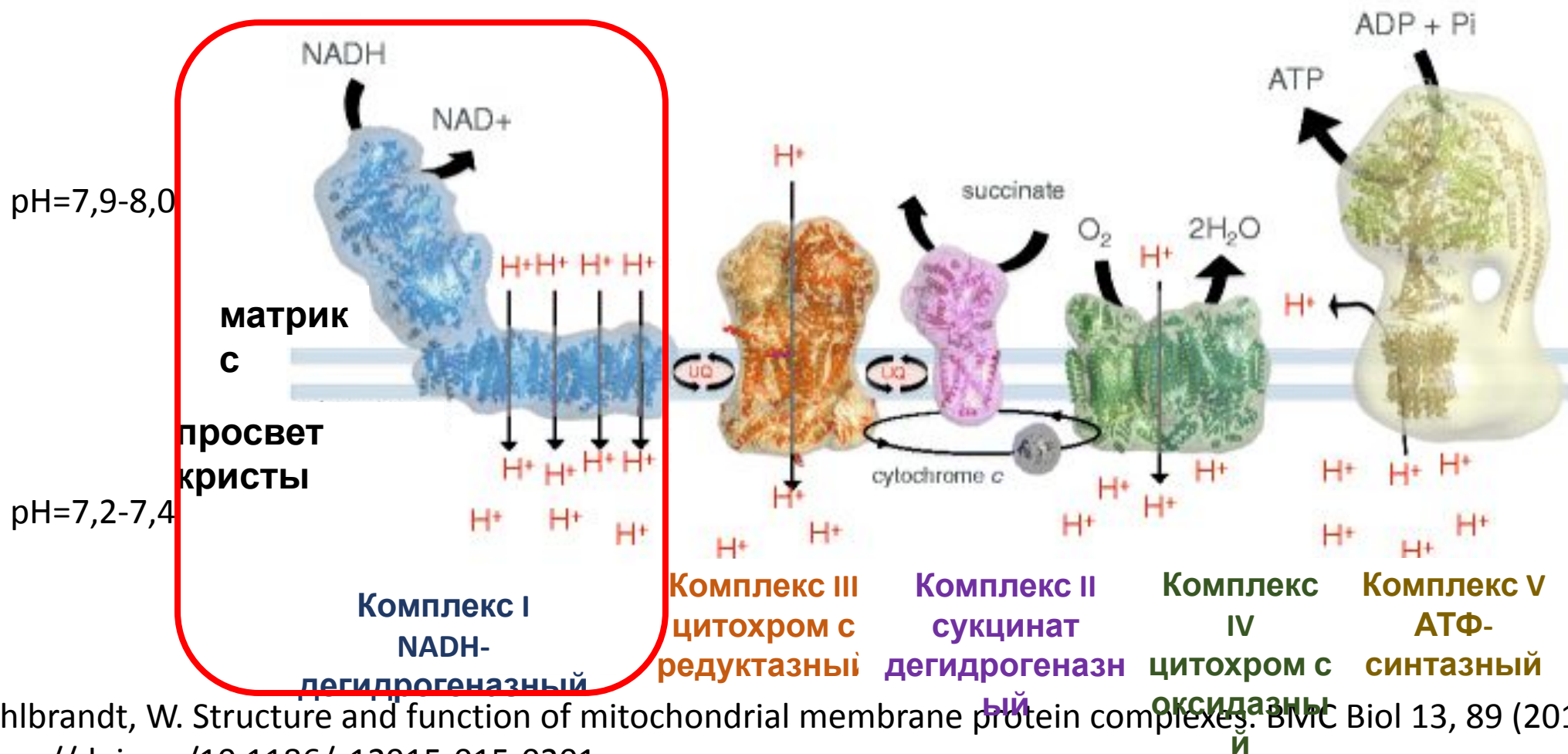


Комплекс I цепи переноса электронов

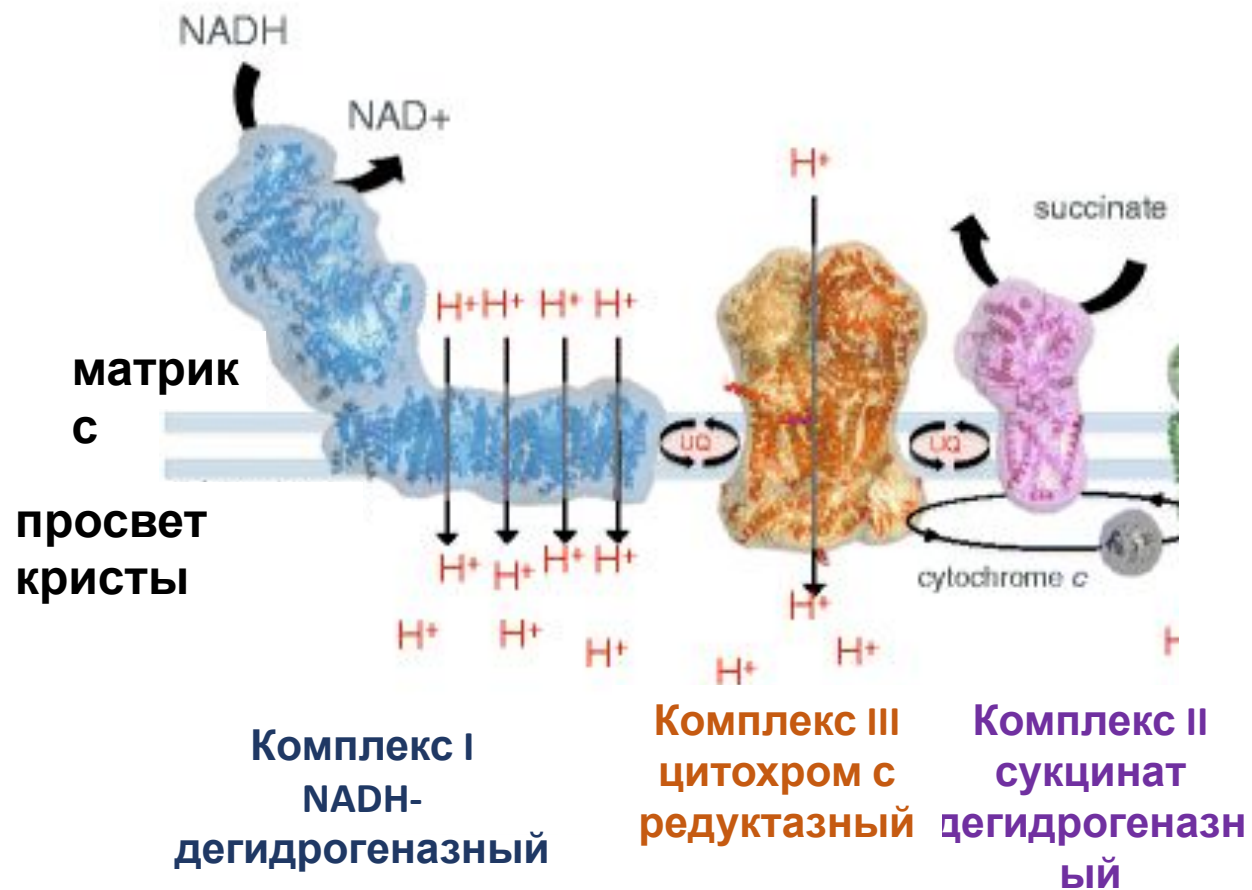


- FMN, находящийся на выступе комплекса I, окисляет NADH до NAD^+ , переходя в состояние FMNH_2
- FMNH_2 передает электроны по цепочке железосерных кластеров, расположенных в порядке увеличения E^0 : $\text{N3} \rightarrow \text{N1b} \rightarrow \text{N4} \rightarrow \text{N5} \rightarrow \text{N6a} \rightarrow \text{N6b} \rightarrow \text{N2}$
- N2 передает электроны на CoQ, при этом N2 меняет свою конформацию и заставляет 4 других субъединицы образовать канал, по которому начинается ток H^+ из матрикса в просвет кристы
- На 1 пару электронов через мембрану переходит 4 H^+

Комплексы цепи переноса электронов



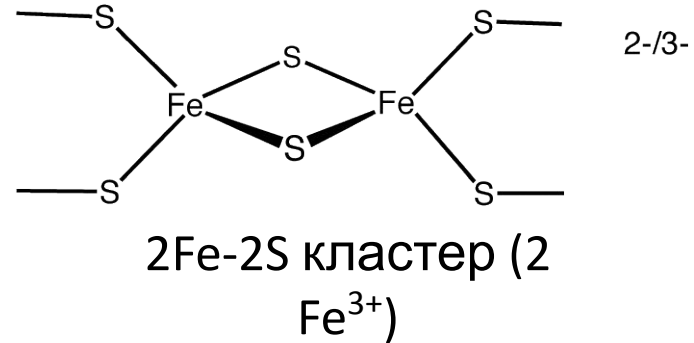
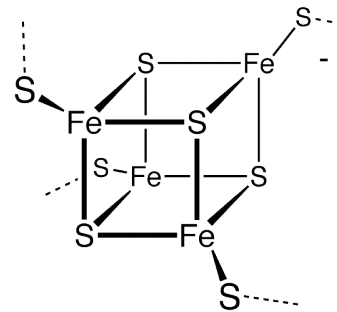
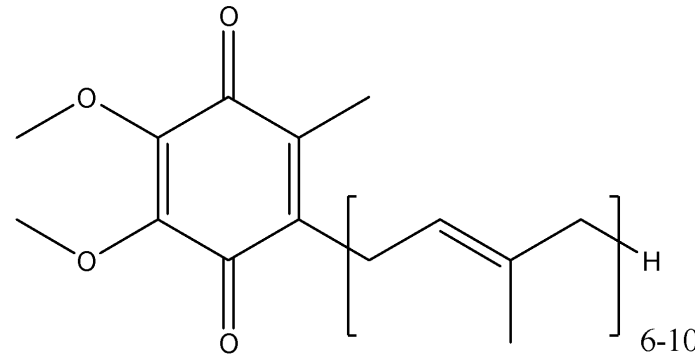
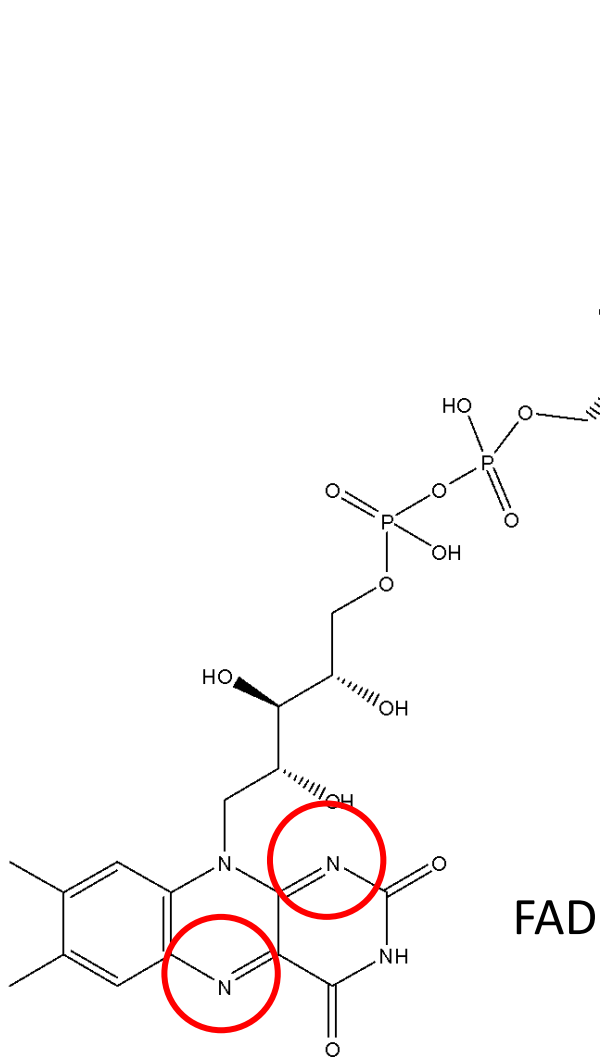
Комплекс II цепи переноса электронов



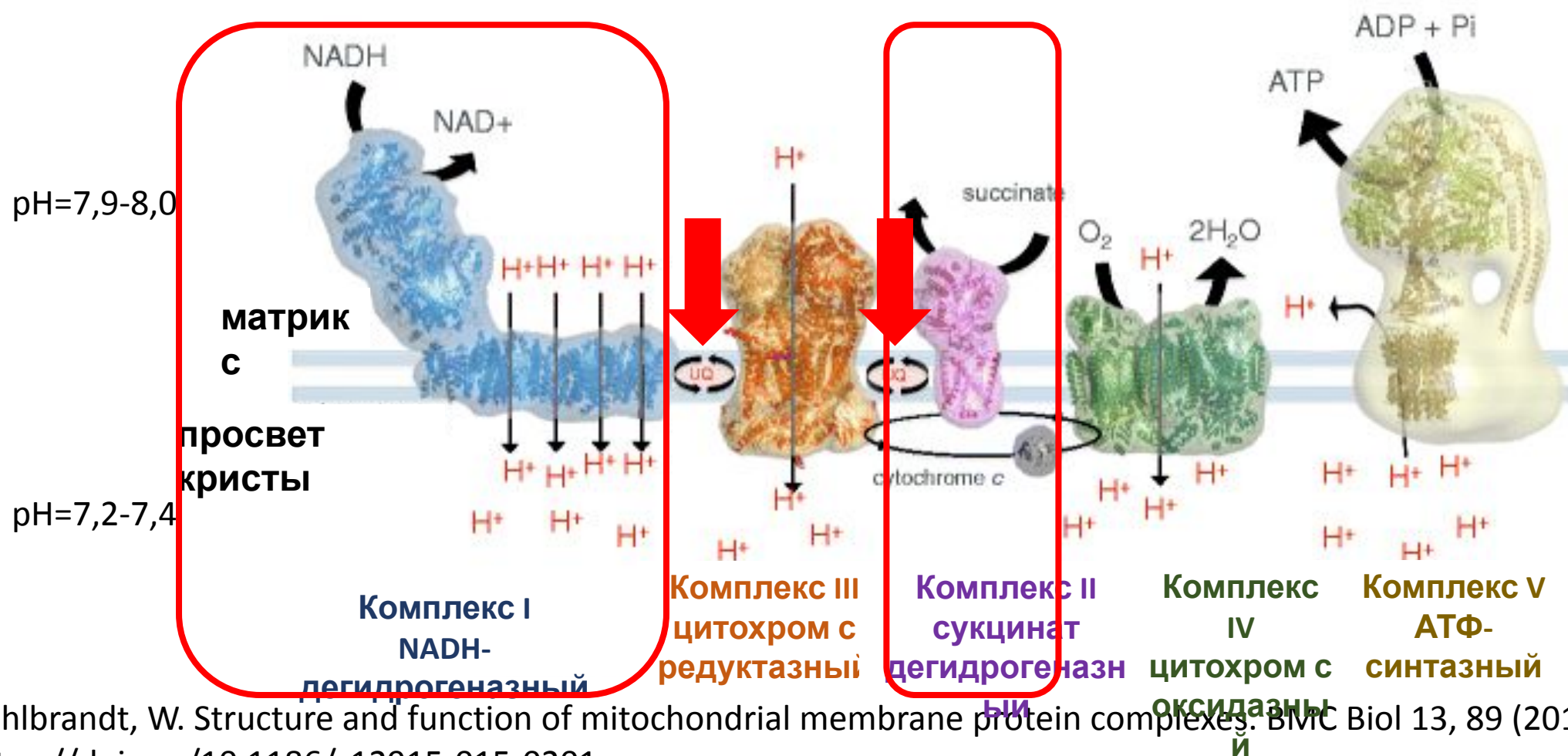
- Комплекс II представляет собой сукцинат-дегидрогеназу, которая окисляет сукцинат до фумарата в ЦТК
- Состоит из 4 субъединиц: 2 гидрофобные (белки CybL и CybS) встроены в мембрану и связываются с CoQ; 2 выпячивают в матрикс и окисляют сукцинат
- Электроны от сукцината принимает FAD, который передает их на цепочку из 3-х FeS-белков
- С FeS-белков электроны переходят на CoQ
- Переноса H^+ не происходит

Работает непосредственно от комплекса I

Комплекс II цепи переноса электронов

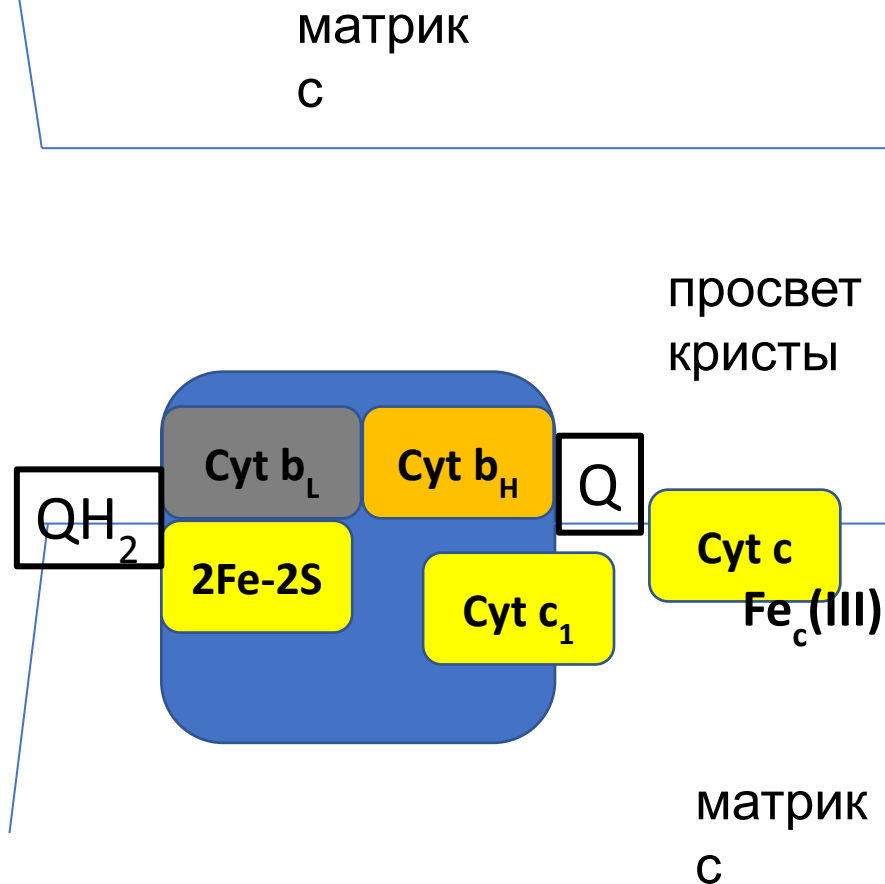


Комплексы цепи переноса электронов



Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя
мембраны

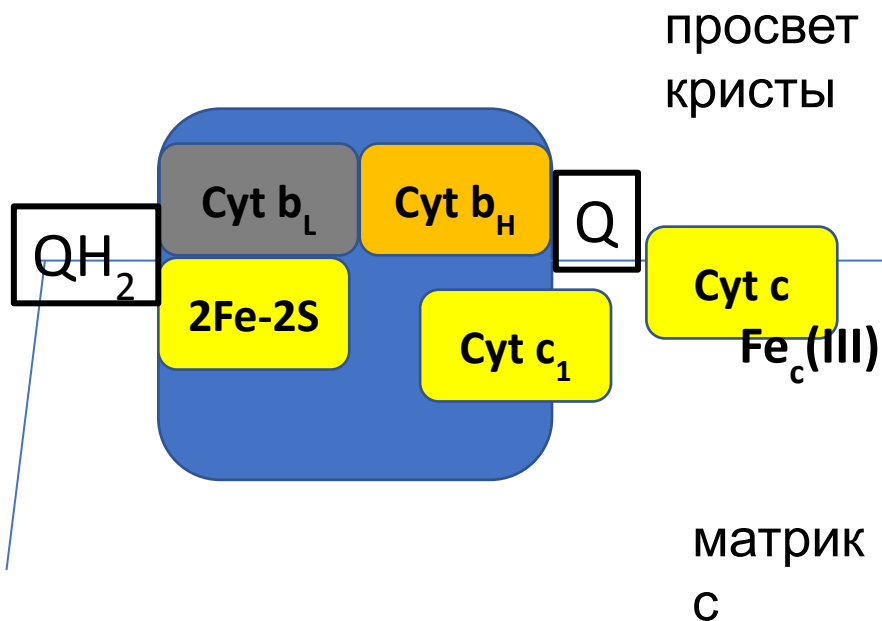


- Комплекс III – это убухинон:цитохром с редуктаза
- Представляет собой димер, каждый из мономеров которых состоит из 11 субъединиц
- Каталитические субъединицы: цитохром b (b_L и b_H), цитохром c₁, цитохром с и 2Fe-2S-кластер
- При передаче электронов осуществляется так-называемый Q-цикл
- Суммарно, на 1 пару электронов

Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя
мембраны

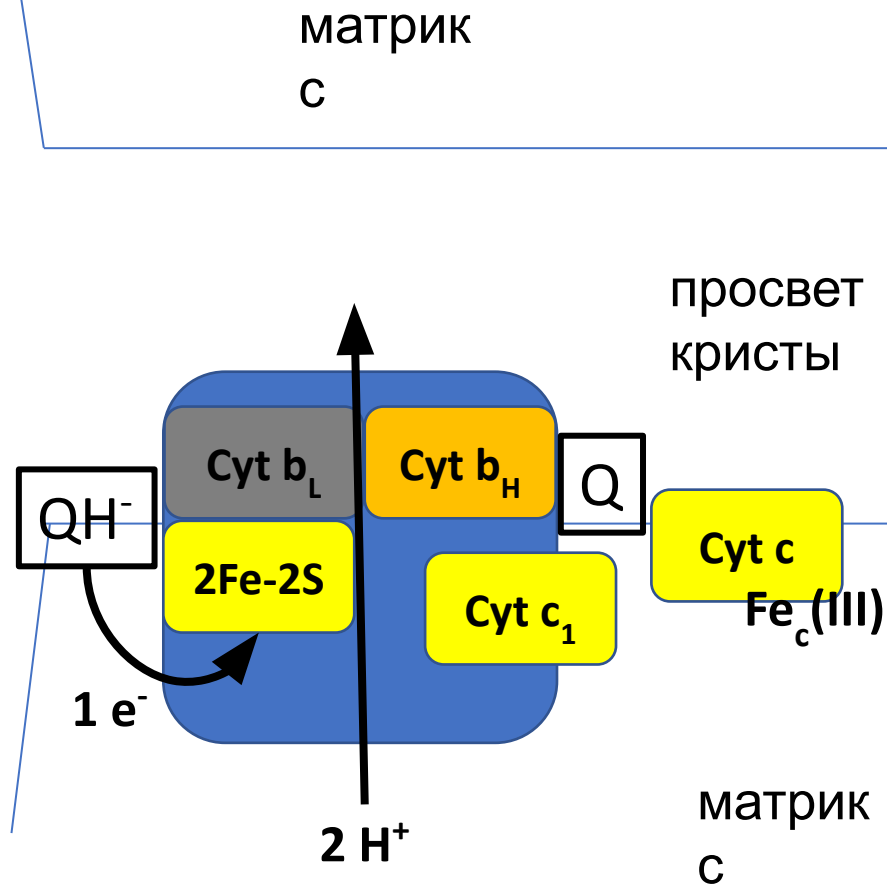
матрик
с



- QH_2 связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом b_L , окисленная форма (Q) – рядом с цитохромом b_H

Комплекс III цепи переноса электронов

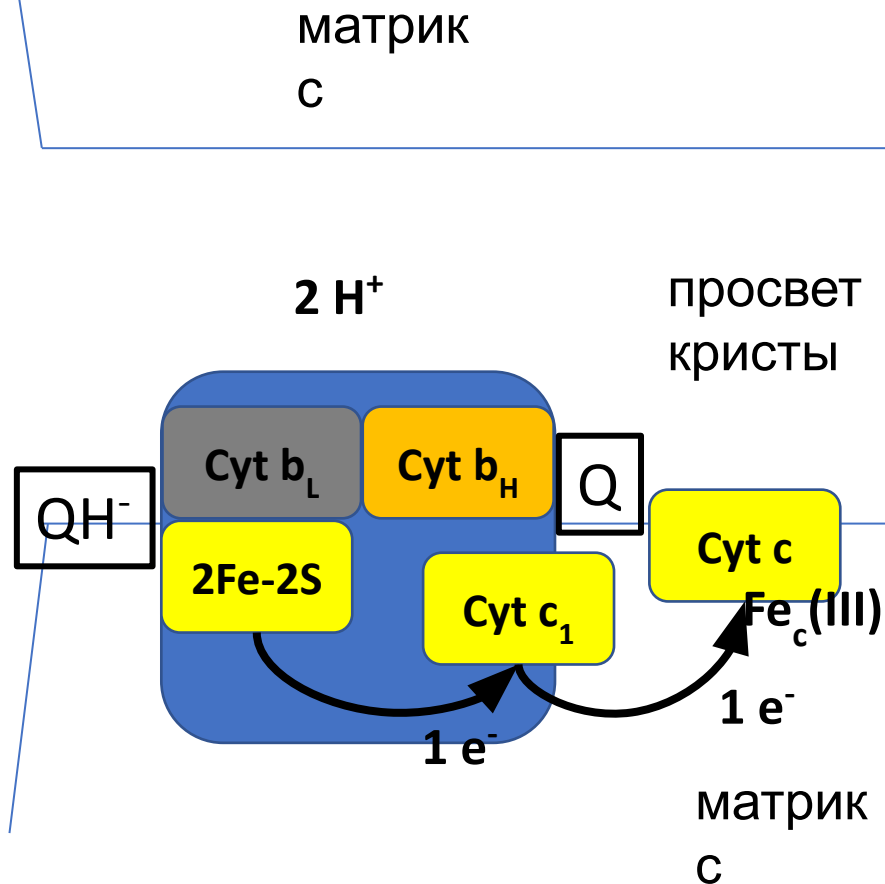
внешняя и внутренняя
мембраны



- QH₂ связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом b_L
- 1 электрон QH₂ отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон (QH⁻)
- При этом 2 H⁺ переносится из матрикса в просвет кристы

Комплекс III цепи переноса электронов

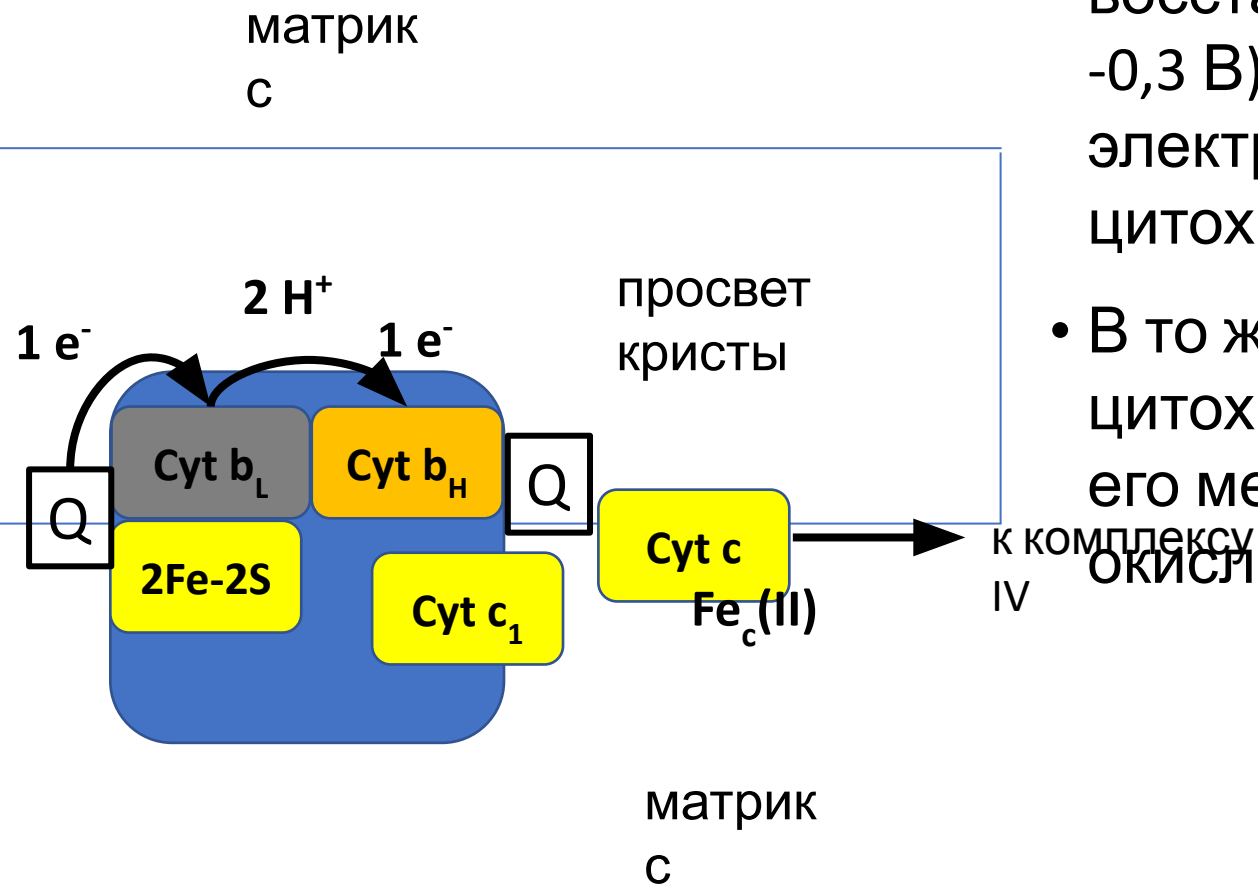
внешняя и внутренняя
мембраны



- QH₂ связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом b_L
- 1 электрон QH₂ отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон (QH⁻)
- При этом 2 H⁺ переносится из матрикса в просвет кристы
- Электрон от 2Fe-2S переходит к цитохрому c₁, от него – к цитохрому c (мобильный)

Комплекс III цепи переноса электронов

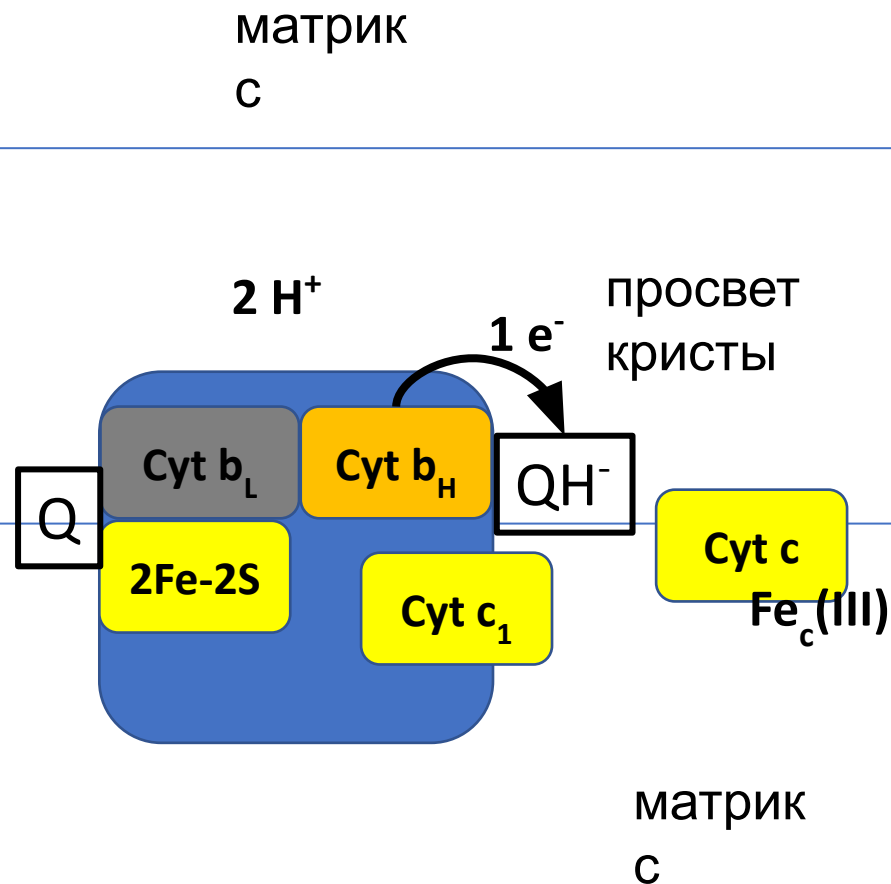
внешняя и внутренняя
мембраны



- Образовавшийся QH⁻ более сильный восстановитель, чем QH₂ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому b_L, а тот – цитохрому b_H
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный

Комплекс III цепи переноса электронов

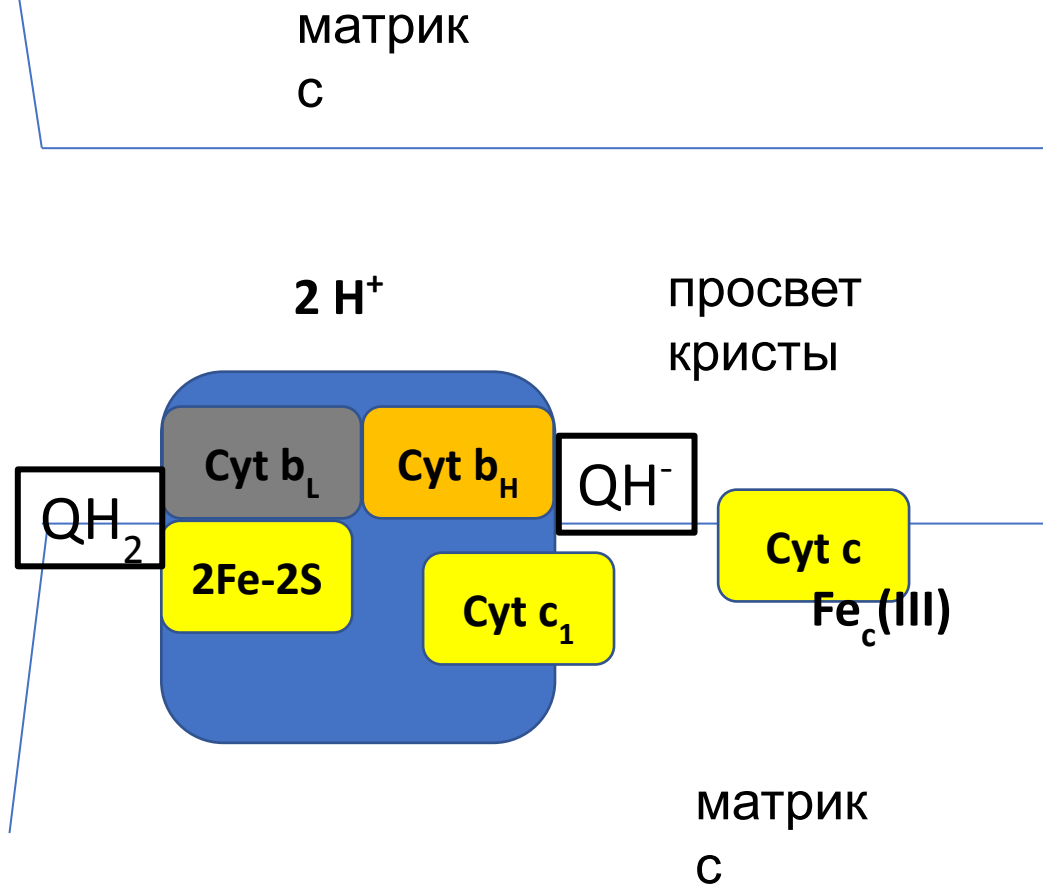
внешняя и внутренняя
мембраны



- Образовавшийся QH⁺ более сильный восстановитель, чем QH₂ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому b_L, а тот – цитохрому b_H
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный
- Цитохром b_H передает электрон второму окисленному убихинону, в результате чего образуется семиубихинон (QH⁺)

Комплекс III цепи переноса электронов

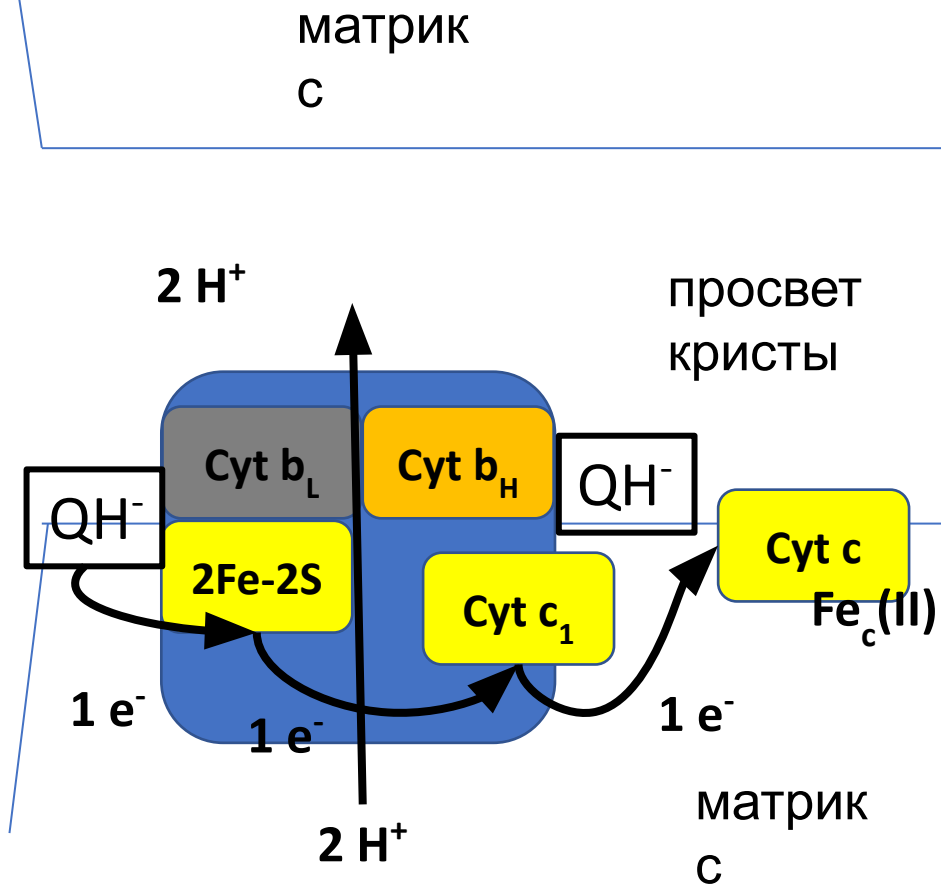
внешняя и внутренняя
мембраны



- Образовавшийся QH[•] более сильный восстановитель, чем QH₂ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому b_L, а тот – цитохрому b_H
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный
- Цитохром b_H передает электрон второму окисленному убихинону, в результате чего образуется семиубихинон (QH[•])
- На место окисленного убихинона к

Комплекс III цепи переноса электронов

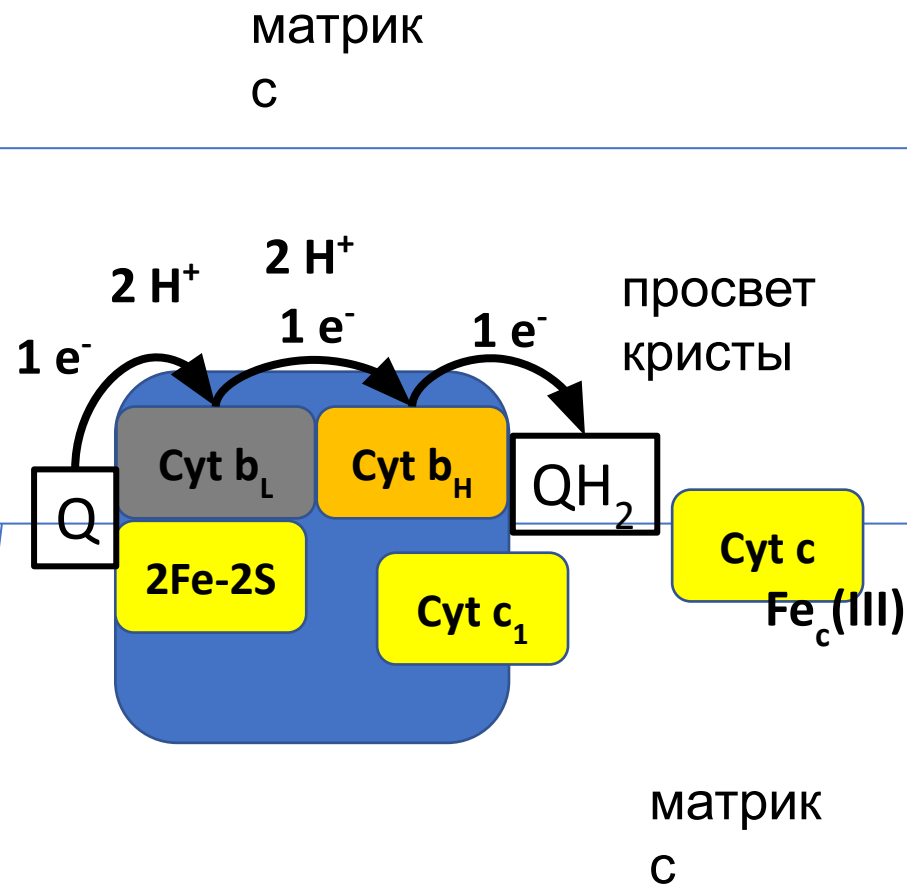
внешняя и внутренняя
мембраны



- Новая молекула QH_2 передает один электрон на $2Fe-2S$. При этом из матрикса в просвет кристы переносится еще $2 H^+$
- Электрон далее передается на цитохром c_1 и затем – на цитохром c

Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя
мембраны



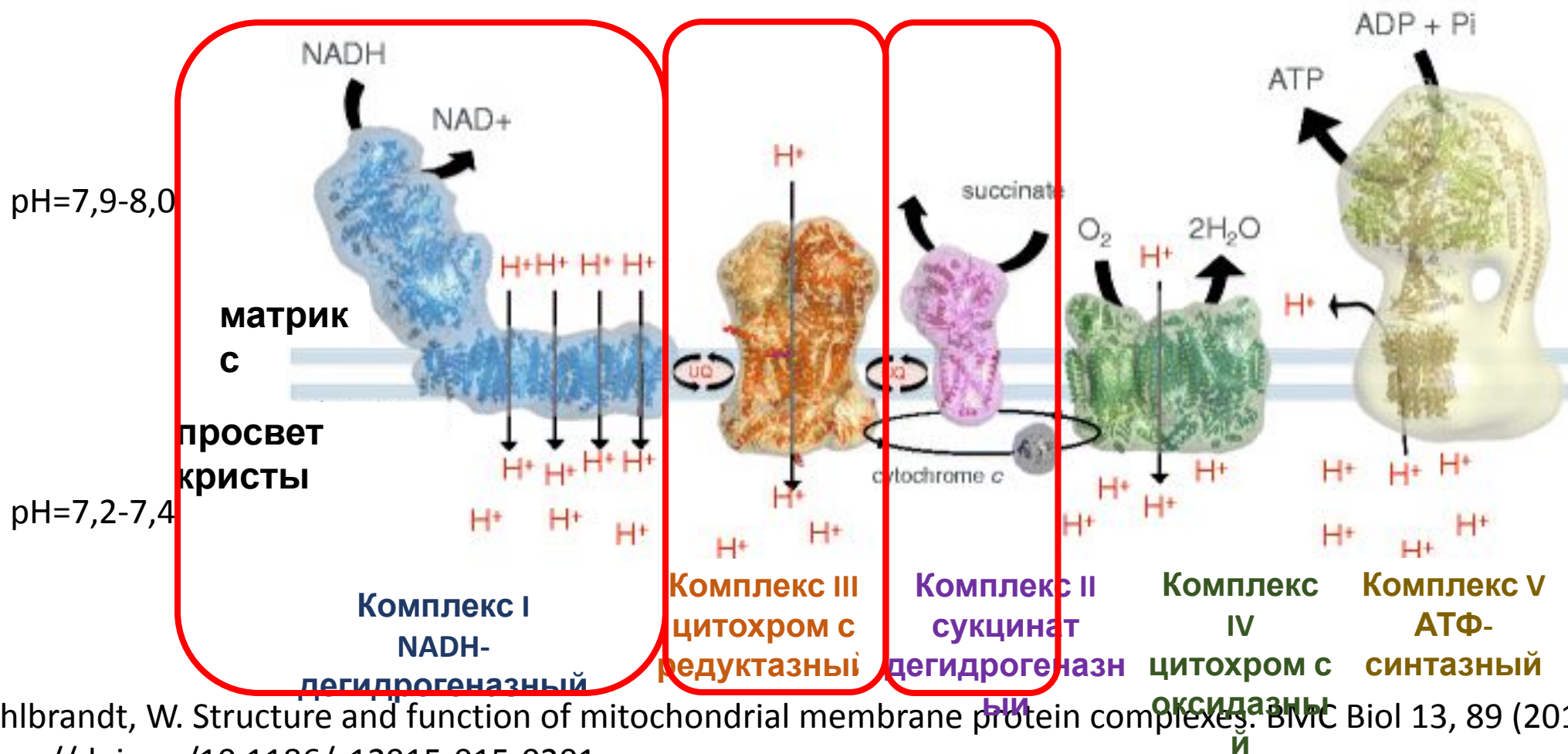
- Новая молекула QH₂ передает один электрон на 2Fe-2S. При этом из матрикса в просвет кристы переносится еще 2 H⁺
- Электрон далее передается на цитохром c₁ и затем – на цитохром c
- Восстановленный цитохром c уходит, новый окисленный - приходит
- Второй электрон через цитохромы b_L и b_H передается на второй семиубихинон с захватом двух H⁺, образуя убихинол

Комплекс III цепи переноса электронов

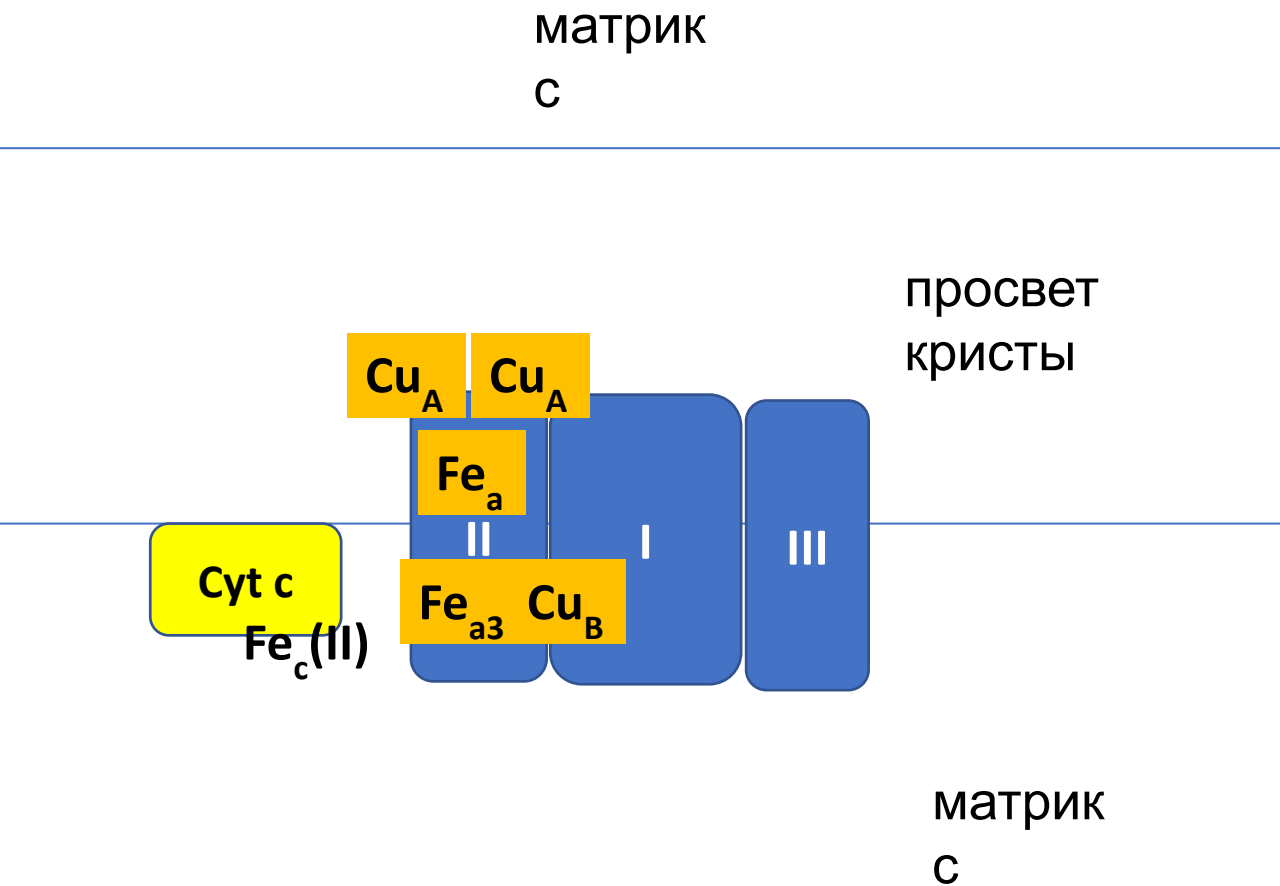
Итоги:

- Два QH₂ окислено, один – образовался снова
- 4 электрона переданы, 2 – на цитохром c
- 4 H⁺ перенесены в просвет кристы

Комплексы цепи переноса электронов

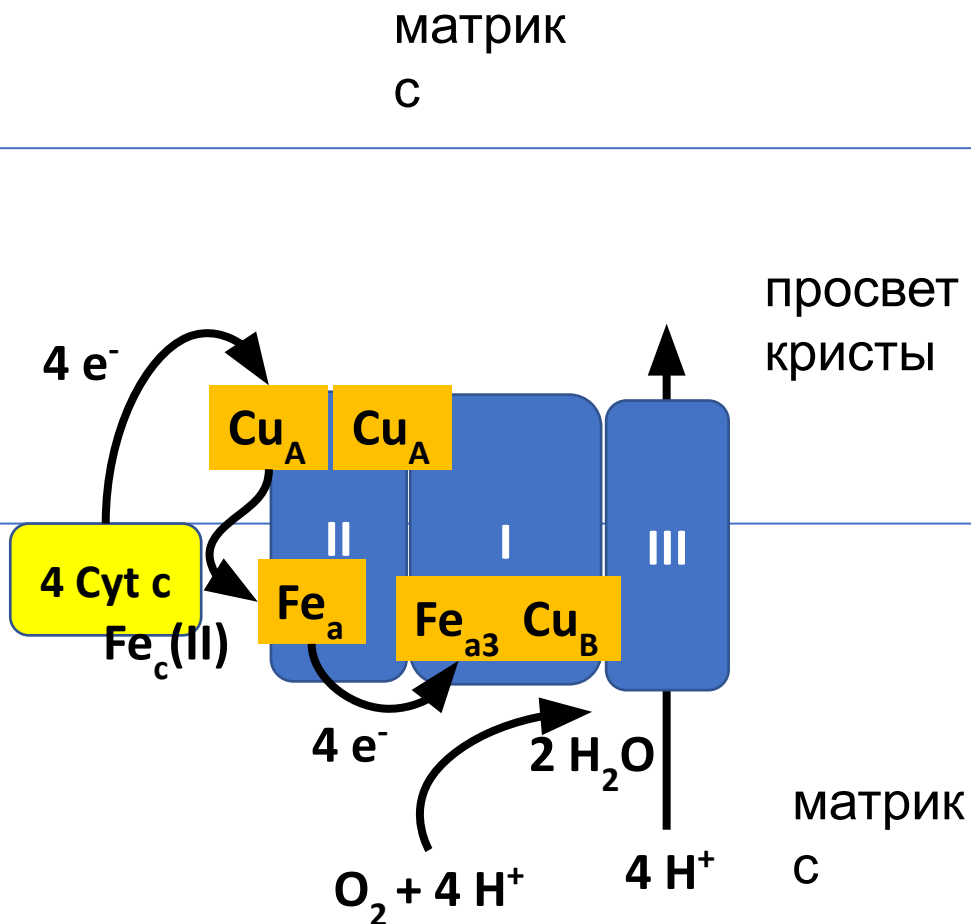


Комплекс IV цепи переноса электронов



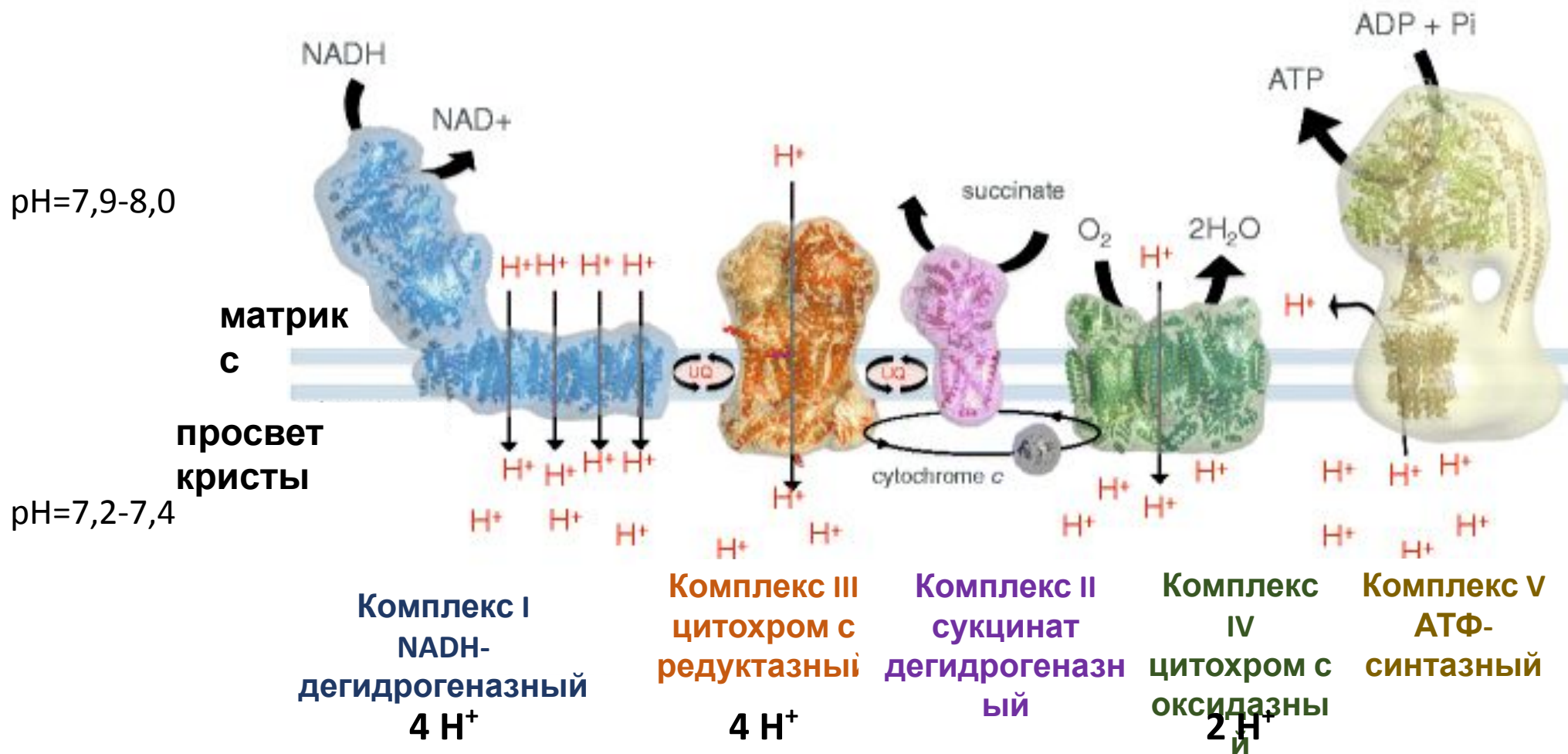
- Комплекс IV – это цитохром с оксидаза
- Состоит из 13 субъединиц, включая 4 центра с металлами: Cu_A , гем а (Fe_a) и один двойной центр (гем a_3 и Cu_B)
- Субъединицы I, II и III основные и кодируются в митохондриях, остальные – регулируют активность комплекса IV
- Субъединица III участвует в переносе H^+
- Цитохром с ездит по поверхности

Комплекс IV цепи переноса электронов

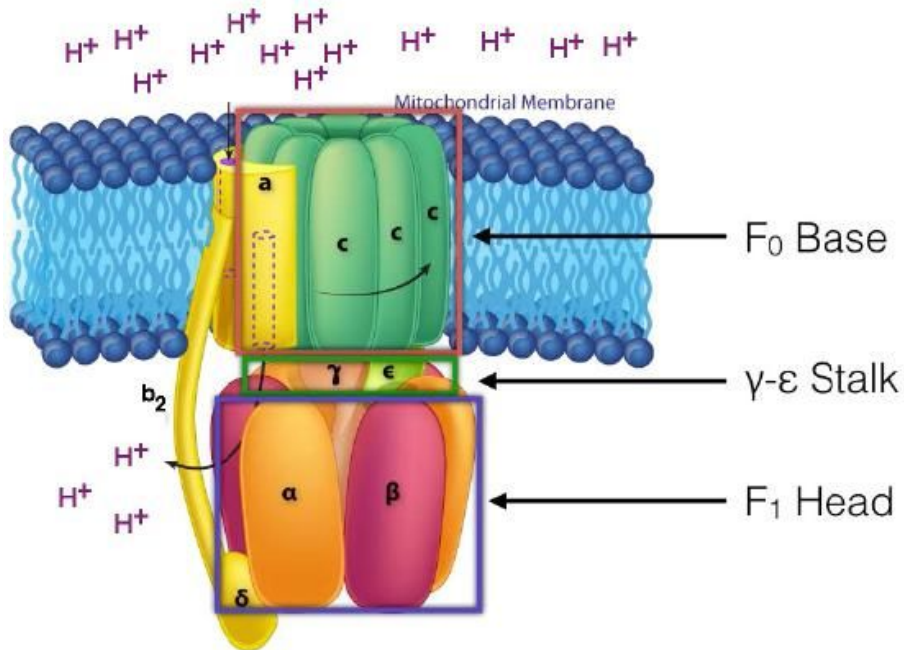


- Цитохром с передает электроны на центр Cu_A , с него электроны переходят на гем а, а затем на центр $\text{Fe}_{a3}\text{-Cu}_B$, где и происходит восстановление O_2 до воды
- Всего переносятся почти одновременно 4 электрона с цитохрома с на O_2
- 8 H^+ захватываются из матрикса: 4 H^+ для образования воды и 4 H^+ переносятся в просвет кристы
- Таким образом, на пару электронов от цитохрома с переносятся 2 H^+

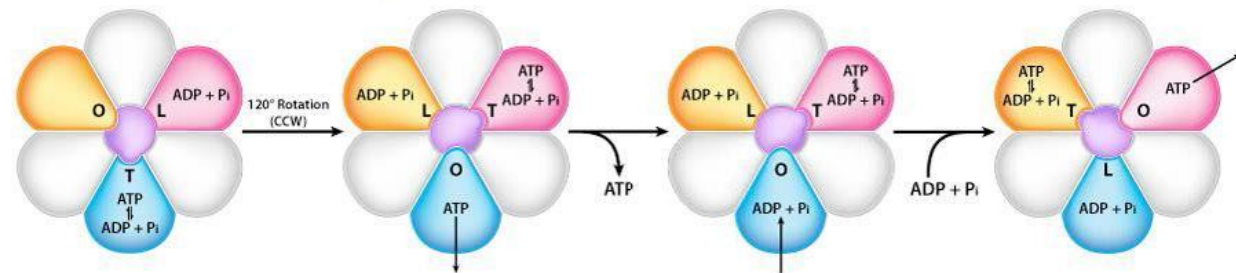
Комплексы цепи переноса электронов



Комплекс V цепи переноса электронов

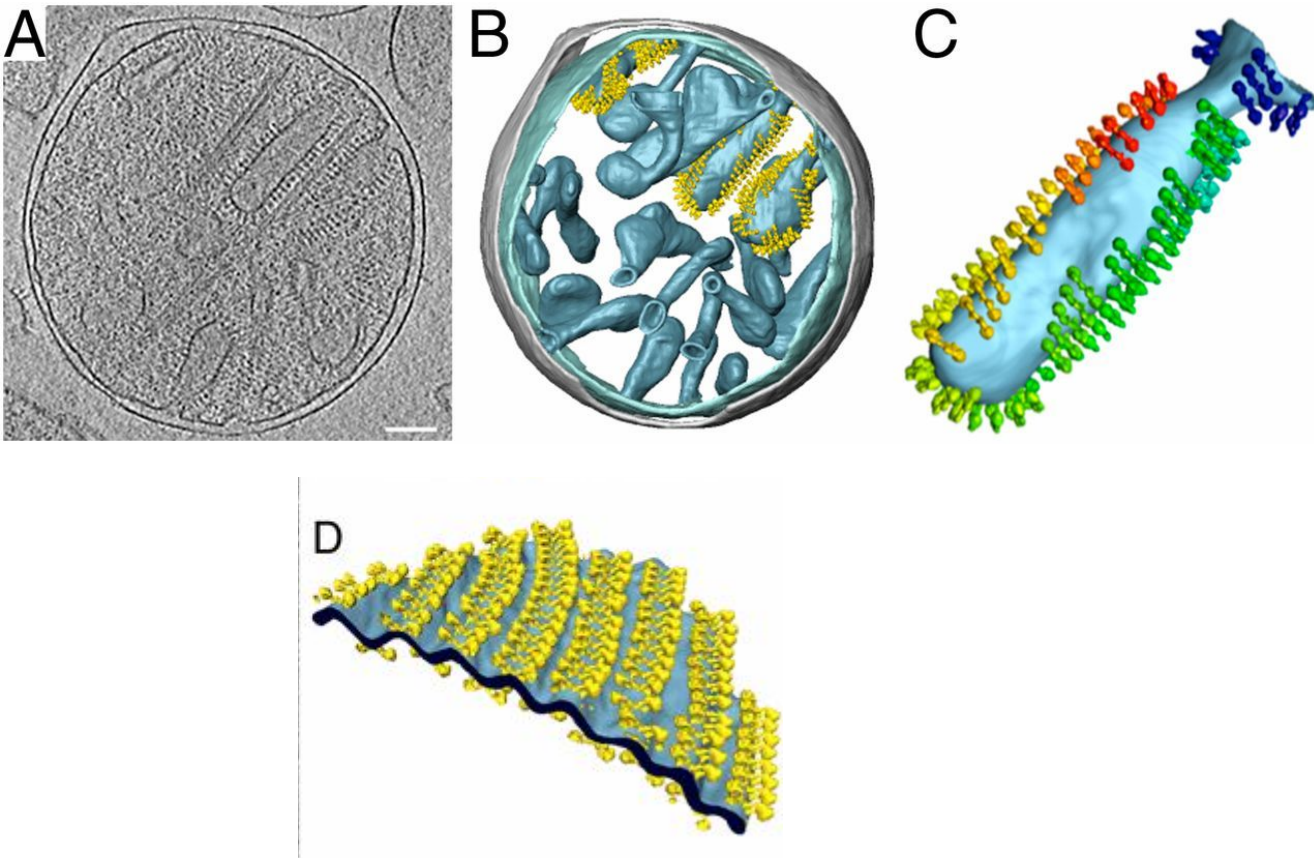


- АТФ-синтазы состоят из двух доменов: F_0 (встроен в мембрану) и F_1 (выходит в матрикс)
- F_0 образован кольцом из c -доменов
- 3 α - и 3 β -субъединицы образуют каталитический центр домена F_1
- Субъединицы γ , δ и ϵ формируют стержень, соединяющий F_0 - и F_1 -домены
- H^+ , проходя по градиенту через F_0 , вызывают изменение конформации F_1 так, что из АДФ и фосфата образуется АТФ
- $H^+/ATP \approx 2,9$ для митохондрий и $3,9$ для хлоропластов *. Это числа почти



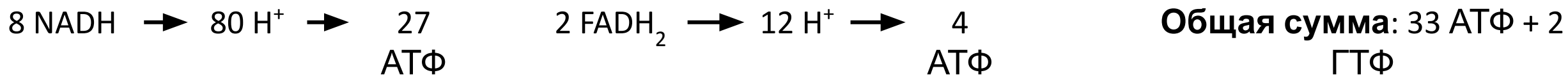
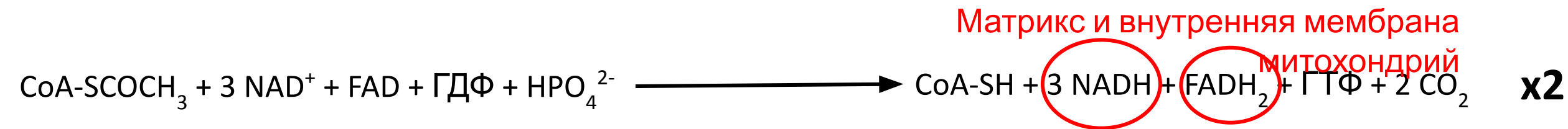
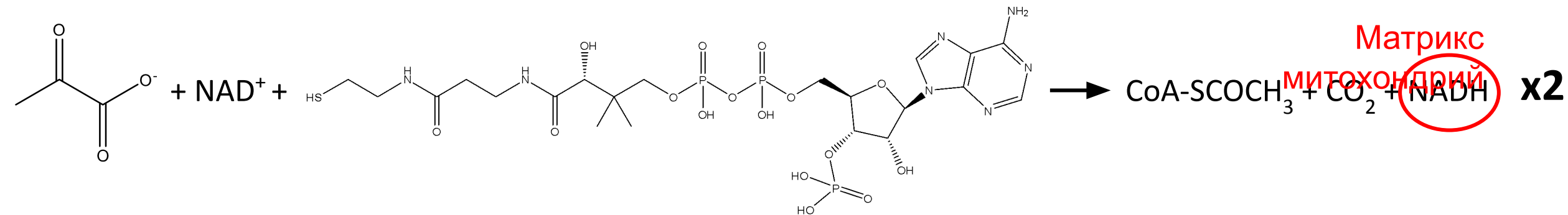
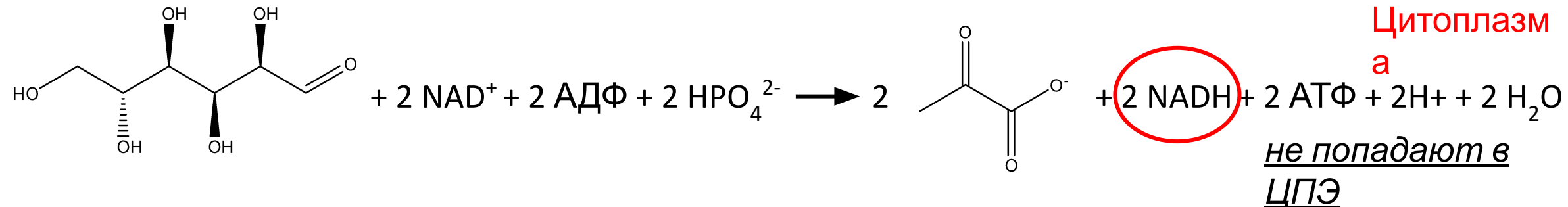
* Jan Petersen, Kathrin Förster, Paola Turina, and Peter Gräber. Comparison of the H^+/ATP ratios of the H^+ -ATP synthases from yeast and from chloroplast // PNAS July 10, 2012 109 (28) 11150-11155; <https://doi.org/10.1073/pnas.1202799109>

Расположение комплекса V (АТФ-синтазы) на кристах



- АТФ-синтазы встроены в кристы в виде димеров и расположены целыми рядами
- Это необходимо, чтобы H^+ не утекали из просвета крист в межмембранное пространство
- Так эффективнее идет синтез АТФ
- У бактерий этого нет
- Такая плотность молекул АТФ-синтазы изгибает мембрану крист

Итоги гликолиза, ПДК, ЦТК и ЦПЭ

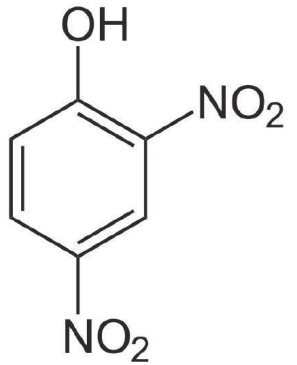


Но это только в идеальной ситуации, на самом деле почти на всех этапах ЦПЭ происходит «подтекание»

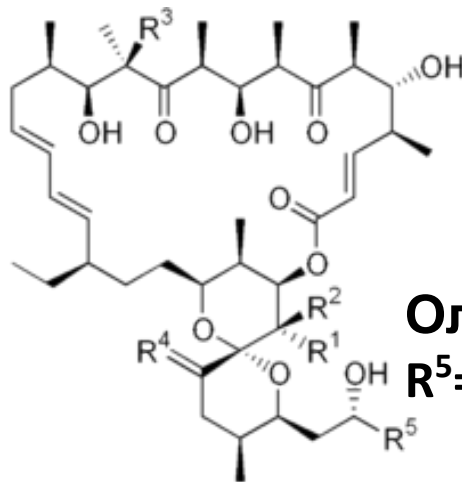
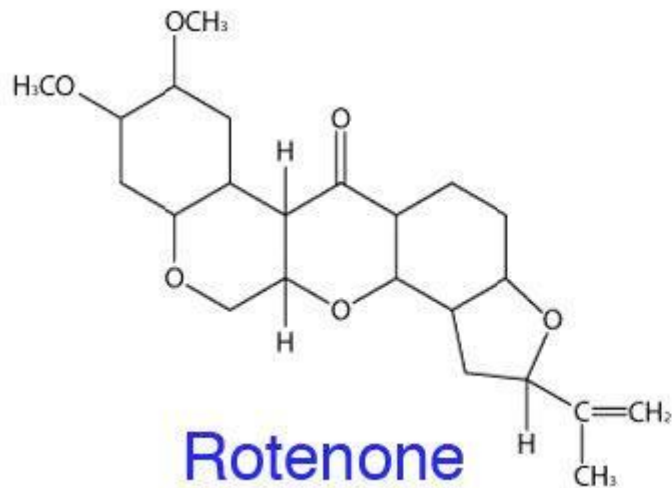
и H+

Ингибиторы цепи переноса электронов

- Ротенон: блокирует перенос электронов на комплексе I, используется как инсектицид
- Цианид: блокирует комплекс IV, токсичнее, чем ротенон
- 2,4-DNP (2,4-динитрофенол): делает внутреннюю мембрану митохондрий проницаемой для H^+
- Олигомицин А: блокирует F_0 -домен АТФ-синтазы



2,4-DNP



Олигомицин А (R¹=CH₃, R², R³, R⁴=H, R⁵=CH₃)

Разобобщающие белки (UCP)

- Переносят H^+ из просвета кристы в матрикс без синтеза АТФ
- UCP1 (термогенин) в клетках бурого жира тем самым увеличивает продукцию тепла, поскольку еще больше усиливается катаболизм
- Остальные разобобщающие белки (UCP2-UCP5) участвуют в уменьшении оксидативного стресса