

Новосибирский государственный  
университет

# Лекция №8

Цепь переноса электронов

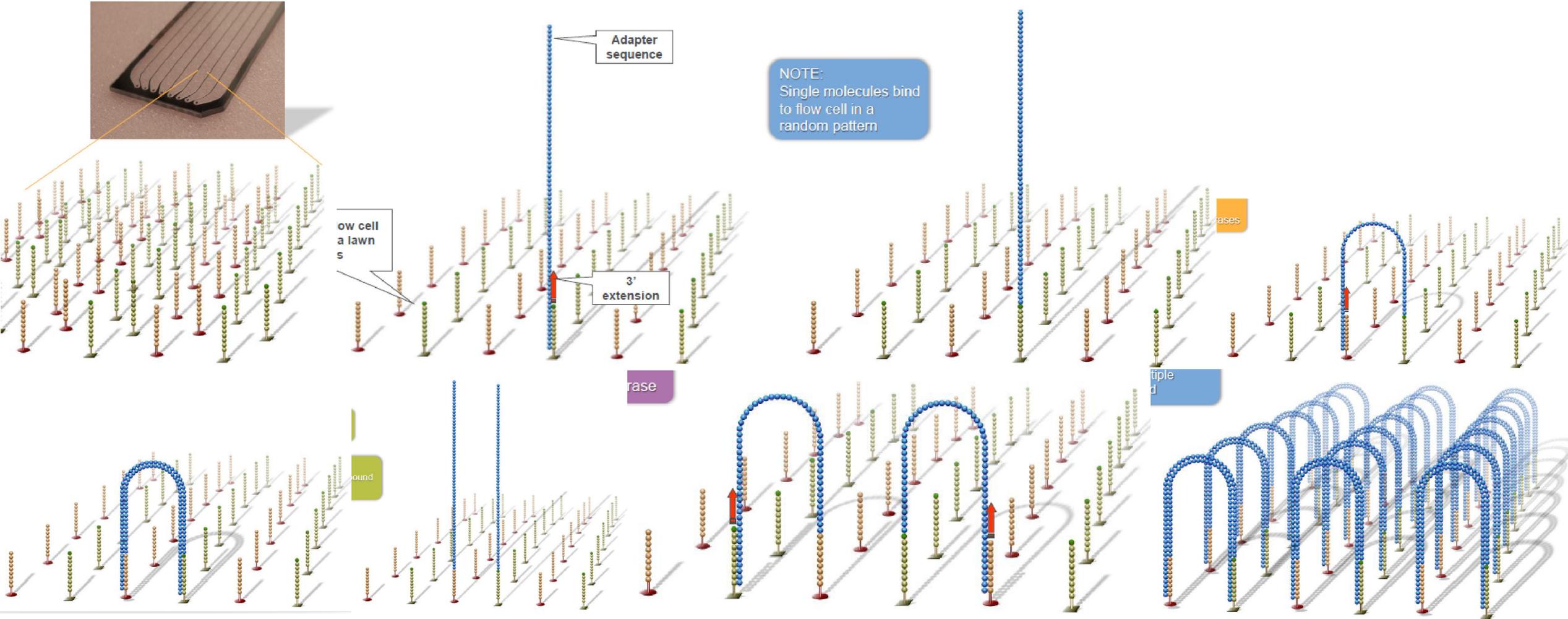
Кечин Андрей Андреевич, к.б.  
н.

Новосибирск -  
2020

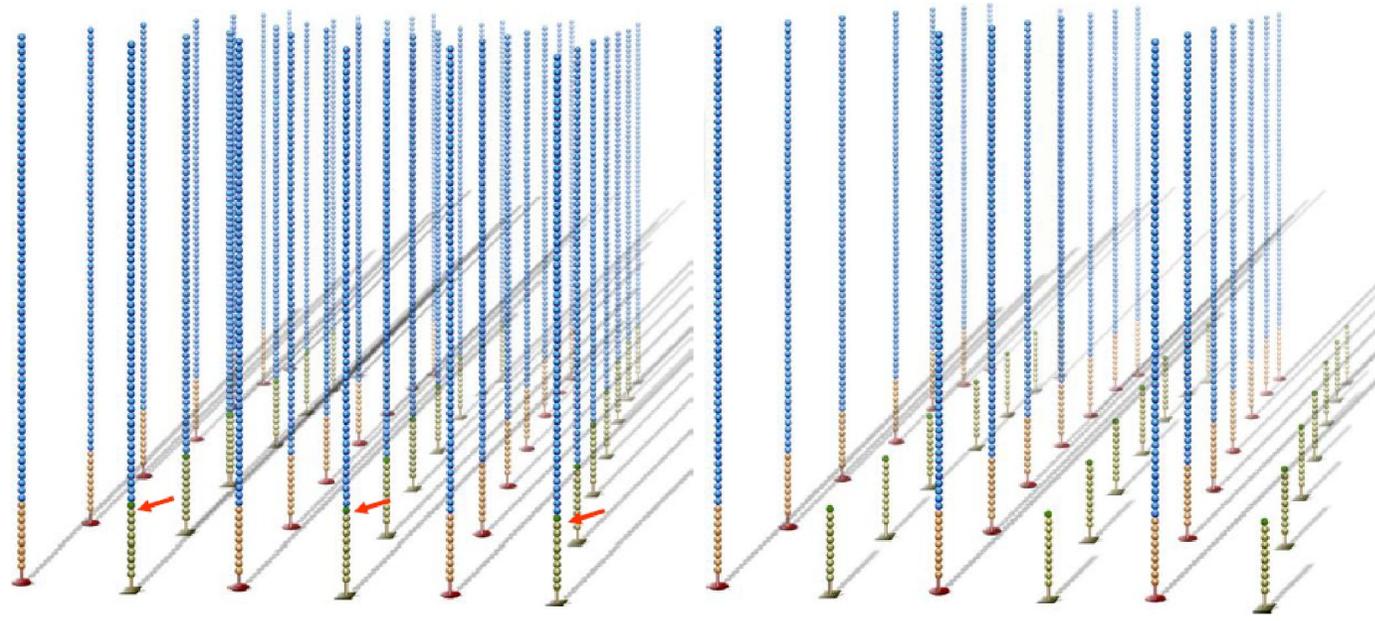
# Вопросы с прошлой лекции

- E1/E2-механизм  $\beta$ -элиминации при разрыве фосфодиэфирной связи
- Секвенирование Illumina

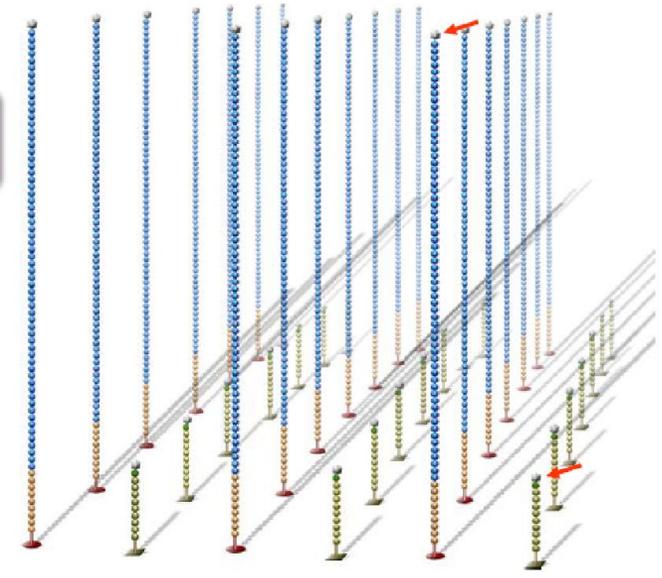
# Технология Illumina (Solexa)



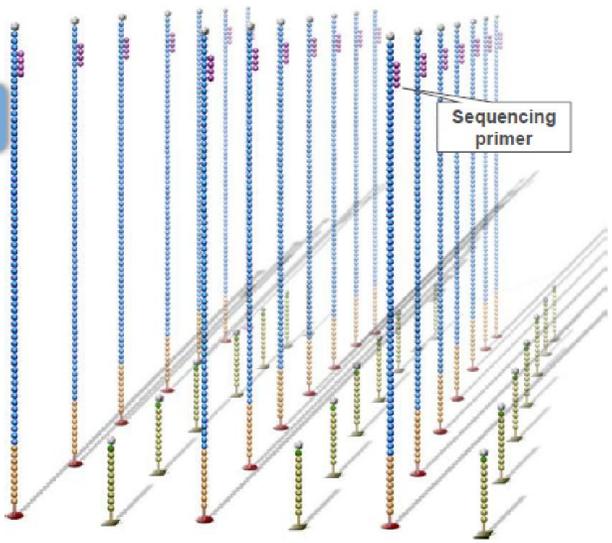
# Технология Illumina (Solexa)



Free 3' ends are blocked to prevent unwanted DNA priming



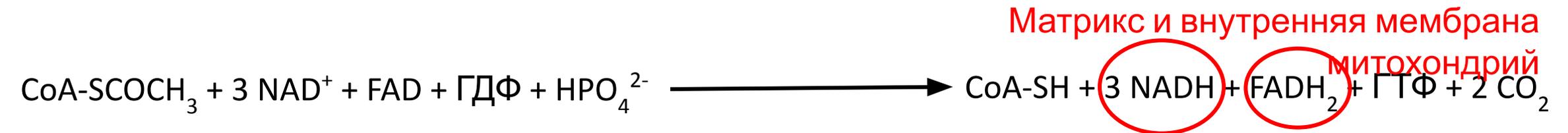
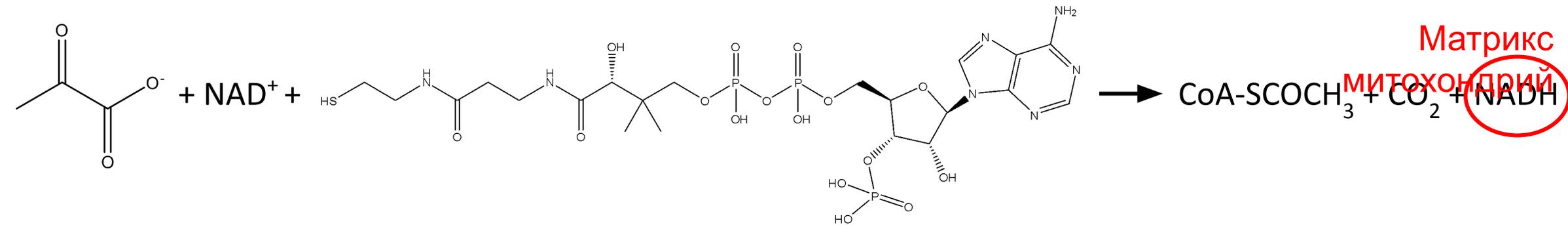
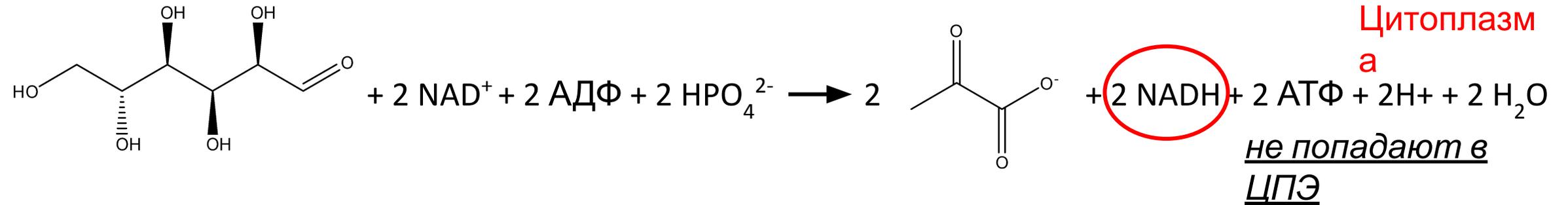
Sequencing primer is hybridized to adapter sequence



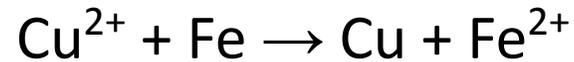
# План лекции

- 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  $\Delta G$  – 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 ( $\text{Cu}^{2+}$ ); восстановитель – молекула, отдающая электрон (Fe)

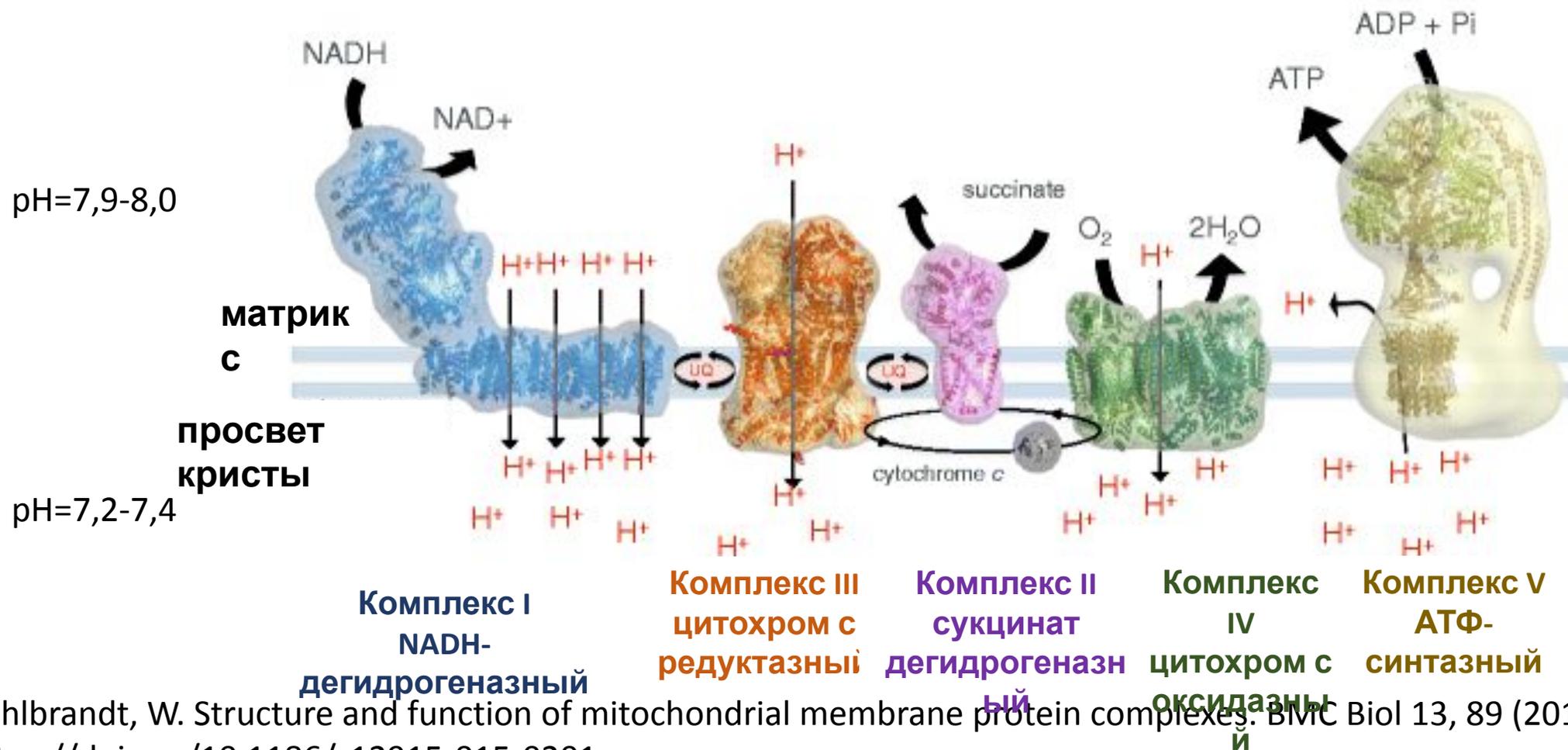
Чтобы было  $\Delta G^0 < 0$ , нужно, чтобы  $\Delta E^0 > 0$

# Строение митохондрий



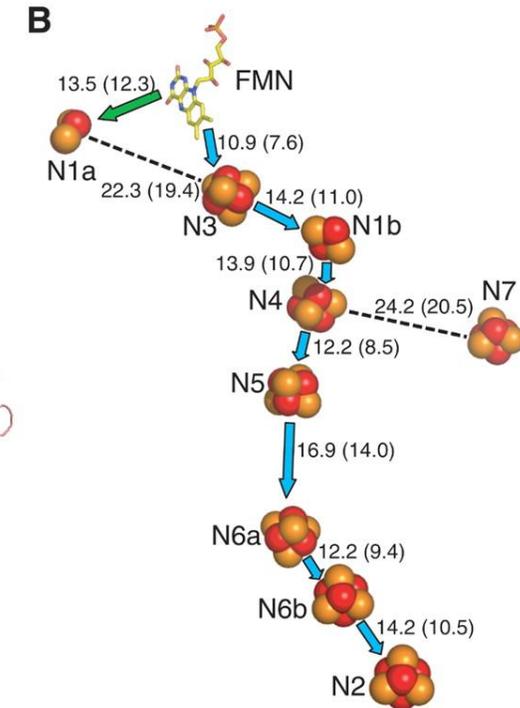
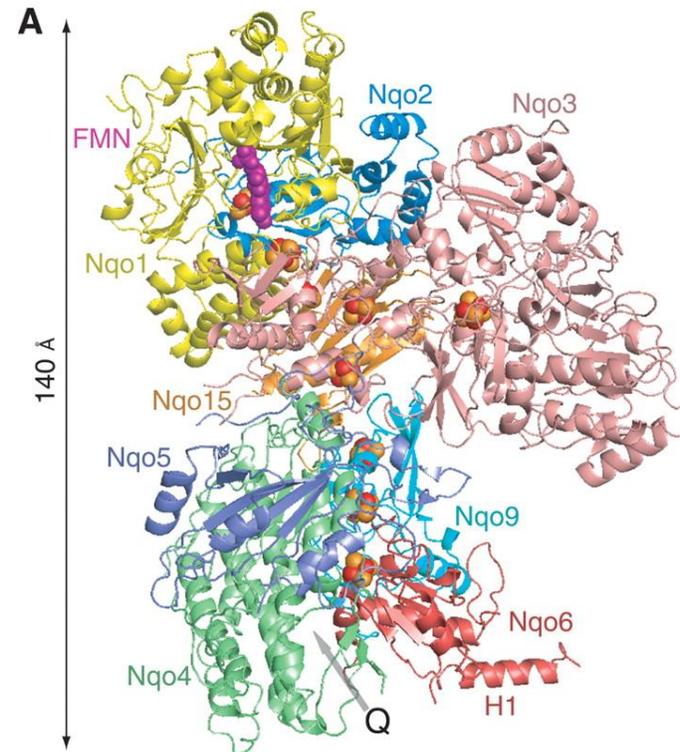
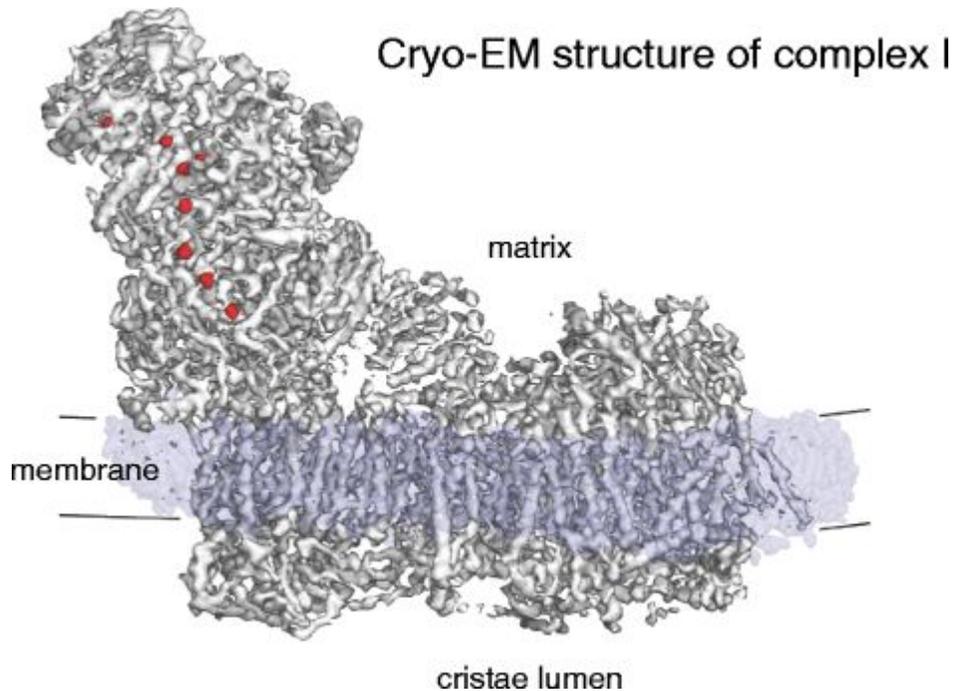
- рН межмембранного пространства 7,2 – 7,4;  
рН матрикса – 7,9 – 8,0
- Концентрация белков в матриксе – 500 мг/мл (концентрация РНКазы или лизоцима в пробирке при выделении ДНК 10 мг/мл). Это близко по концентрации белку в кристаллической форме
- В мембрану крист встроены комплексы I-V цепи переноса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

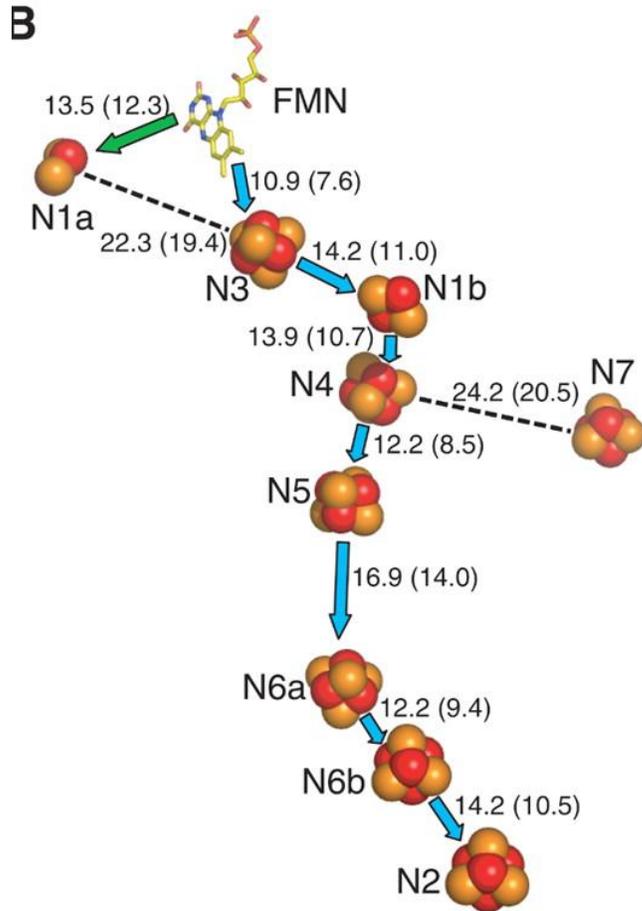
# Комплекс I цепи переноса электронов



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

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

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

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

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

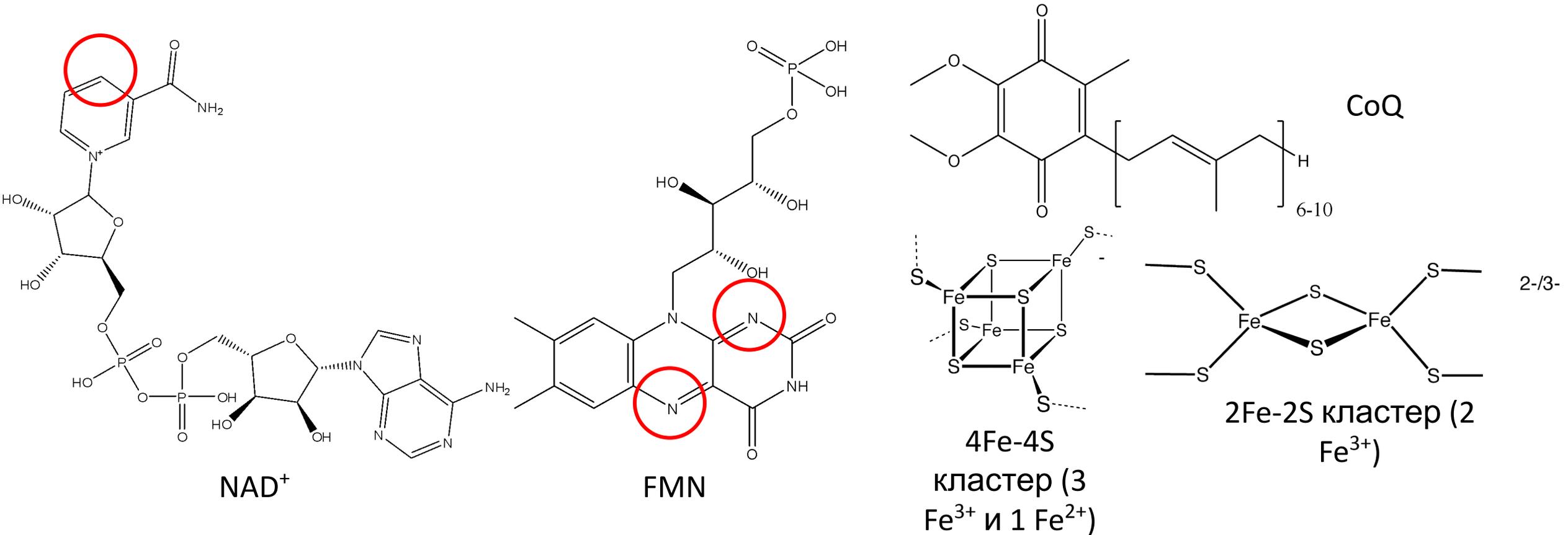
$$E^0 (\text{oxidized N2}/\text{reduced N2}) = -0,1 \text{ B}$$

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

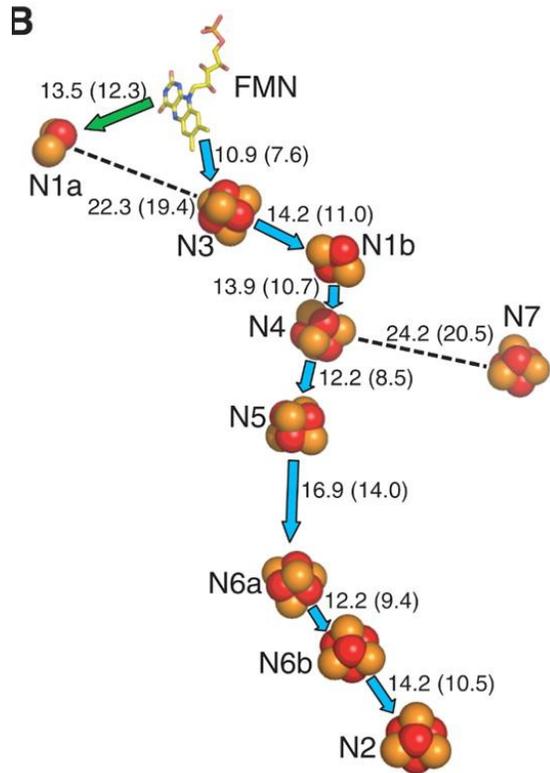
$$\Delta E^0 (\text{NADH} \rightarrow \text{FMN}) = E^0 (\text{FMNH}_2/\text{flavosemiquinone}) - E^0 (\text{NAD}^+/\text{NADH}) = 0,3 \text{ B} - (-0,32 \text{ B}) = 0,02 \text{ B}$$

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

# Комплекс I цепи переноса электронов

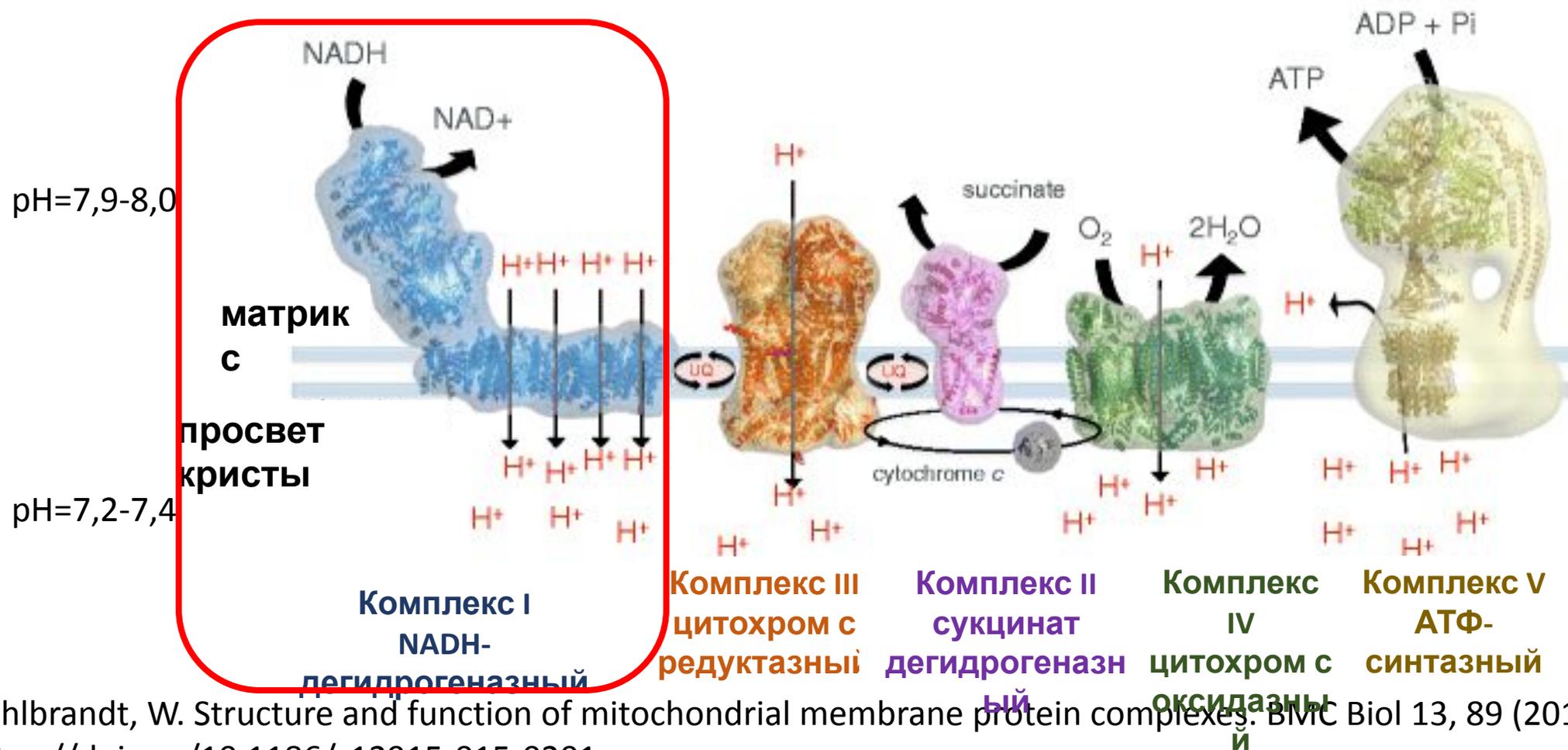


# Комплекс I цепи переноса электронов

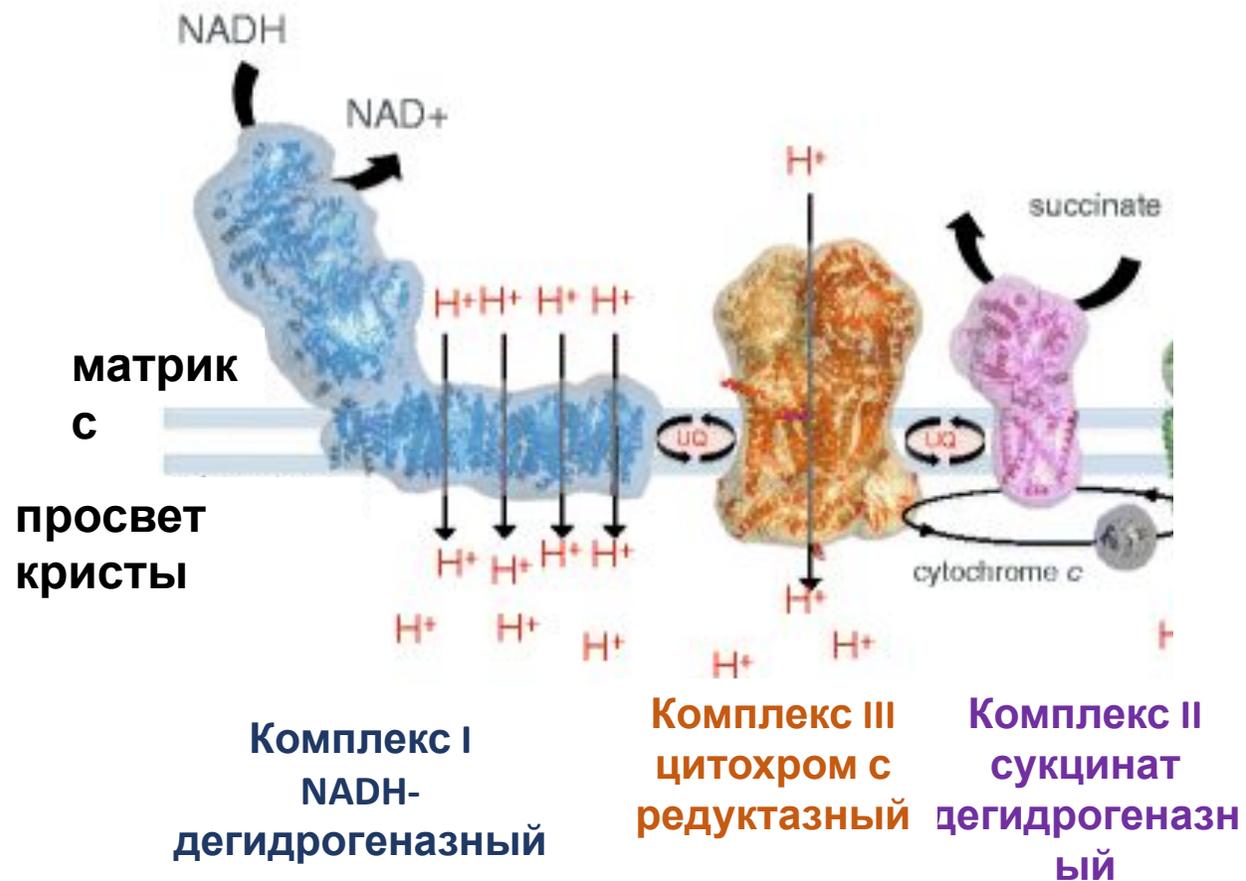


- FMN, находящийся на выступе комплекса I, окисляет NADH до  $\text{NAD}^+$ , переходя в состояние  $\text{FMNH}_2$
- $\text{FMNH}_2$  передает электроны по цепочке железосерных кластеров, расположенных в порядке увеличения  $E^0$ :  $\text{N3} \rightarrow \text{N1b} \rightarrow \text{N4} \rightarrow \text{N5} \rightarrow \text{N6a} \rightarrow \text{N6b} \rightarrow \text{N2}$
- N2 передает электроны на CoQ, при этом N2 меняет свою конформацию и заставляет 4 других субъединицы образовать канал, по которому начинается ток  $\text{H}^+$  из матрикса в просвет кристы
- На 1 пару электронов через мембрану переходит 4  $\text{H}^+$

# Комплексы цепи переноса электронов



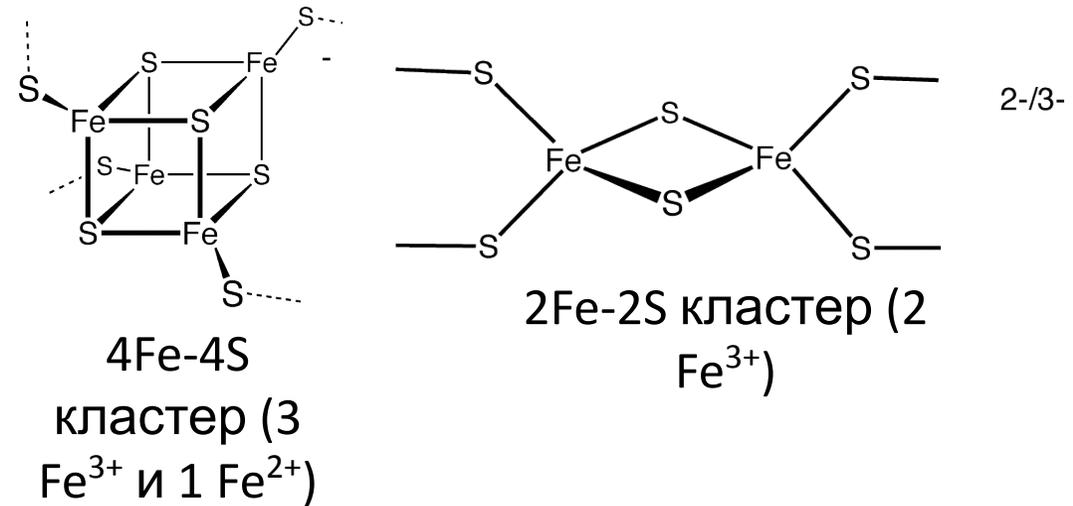
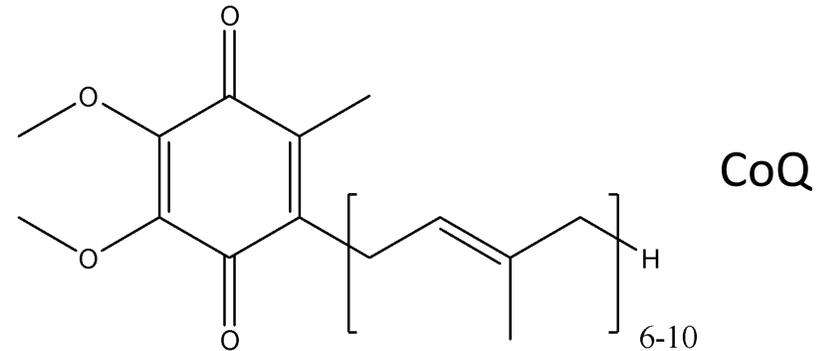
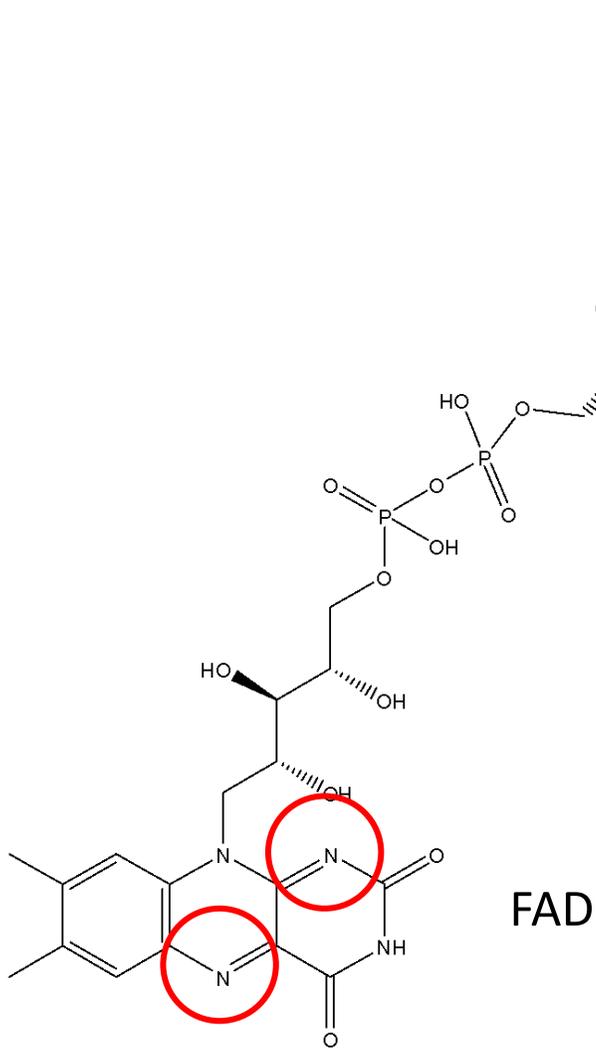
# Комплекс II цепи переноса электронов



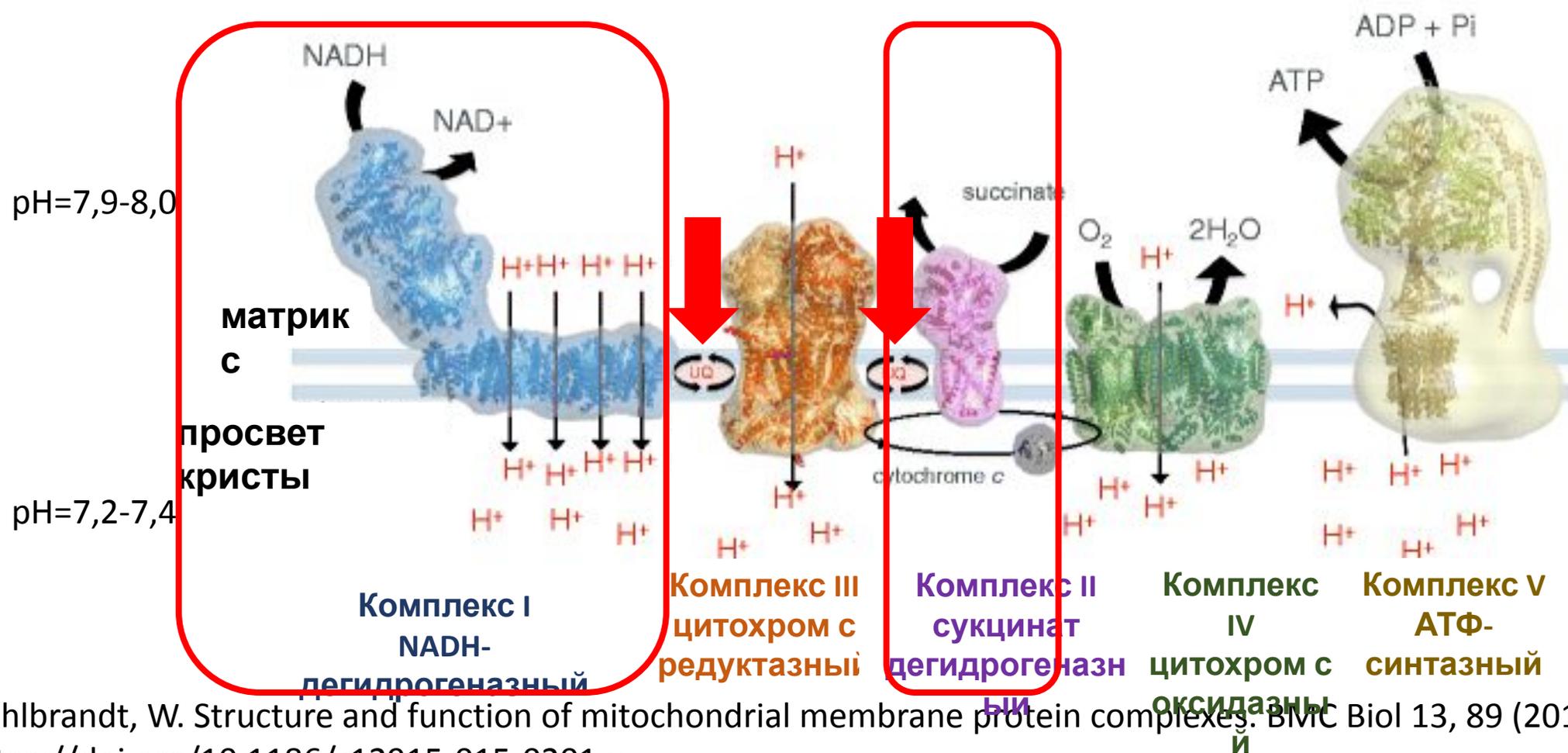
- Комплекс II представляет собой сукцинат-дегидрогеназу, которая окисляет сукцинат до фумарата в ЦТК
- Состоит из 4 субъединиц: 2 гидрофобные (белки CybL и CybS) встроены в мембрану и связываются с CoQ; 2 выпячивают в матрикс и окисляют сукцинат
- Электроны от сукцината принимает FAD, который передает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

Работает независимо от комплексов I

# Комплекс II цепи переноса электронов

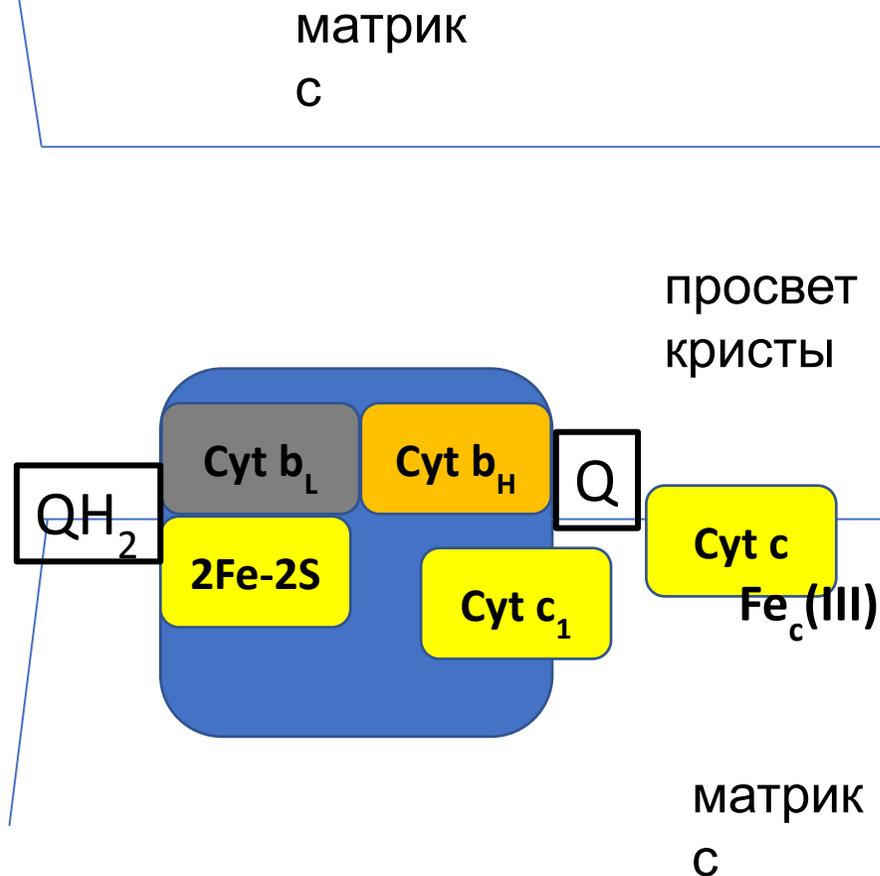


# Комплексы цепи переноса электронов



# Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя  
мембраны

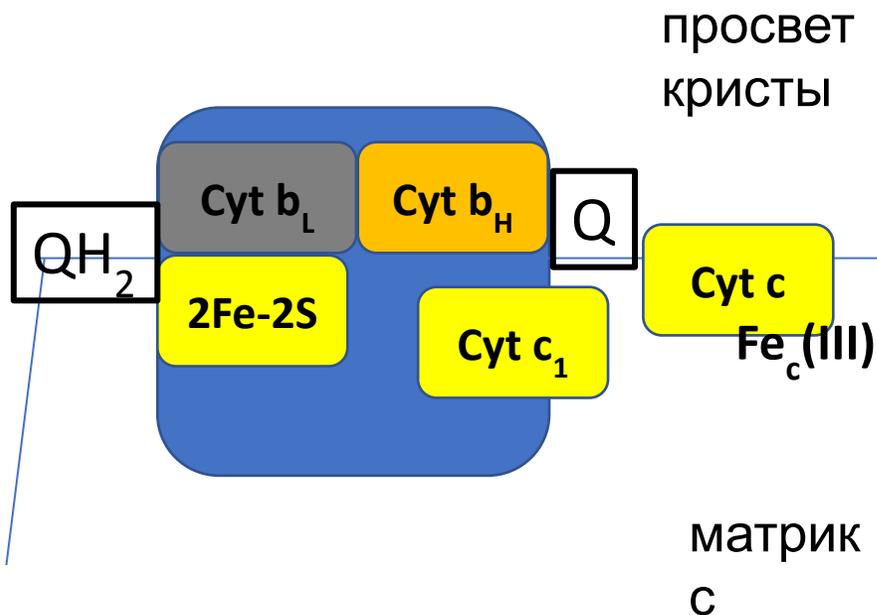


- Комплекс III – это убухинон:цитохром с редуктаза
- Представляет собой димер, каждый из мономеров которых состоит из 11 субъединиц
- Каталитические субъединицы: цитохром b (b<sub>L</sub> и b<sub>H</sub>), цитохром c<sub>1</sub>, цитохром с и 2Fe-2S-кластер
- При передаче электронов осуществляется так-называемый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

# Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя  
мембраны

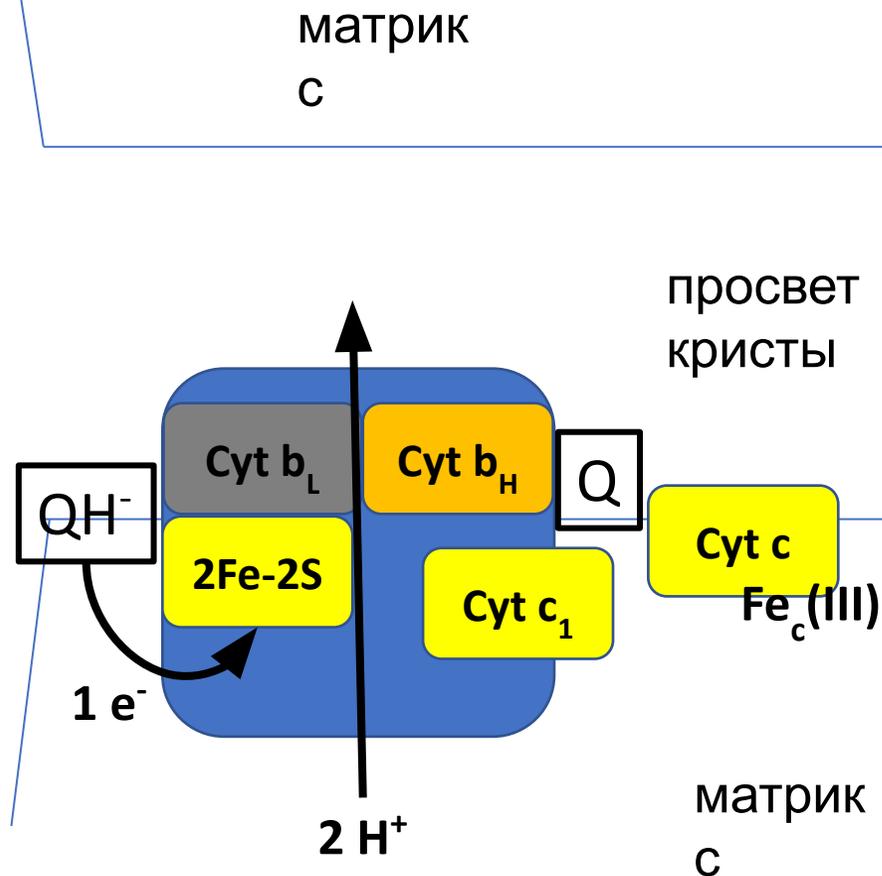
матрик  
с



- $\text{QH}_2$  связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом  $\text{b}_L$ , окисленная форма (Q) – рядом с цитохромом  $\text{b}_H$

# Комплекс III цепи переноса электронов

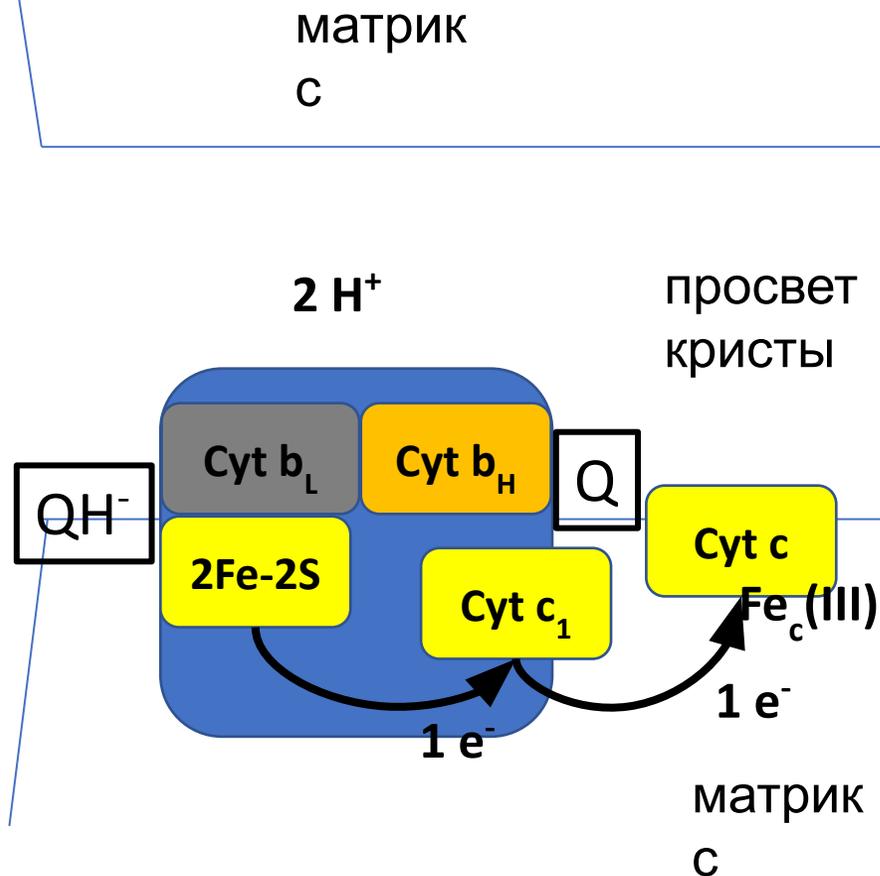
внешняя и внутренняя  
мембраны



- QH<sub>2</sub> связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом b<sub>L</sub>
- 1 электрон QH<sub>2</sub> отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон (QH<sup>-</sup>)
- При этом 2 H<sup>+</sup> переносится из матрикса в просвет кристы

# Комплекс III цепи переноса электронов

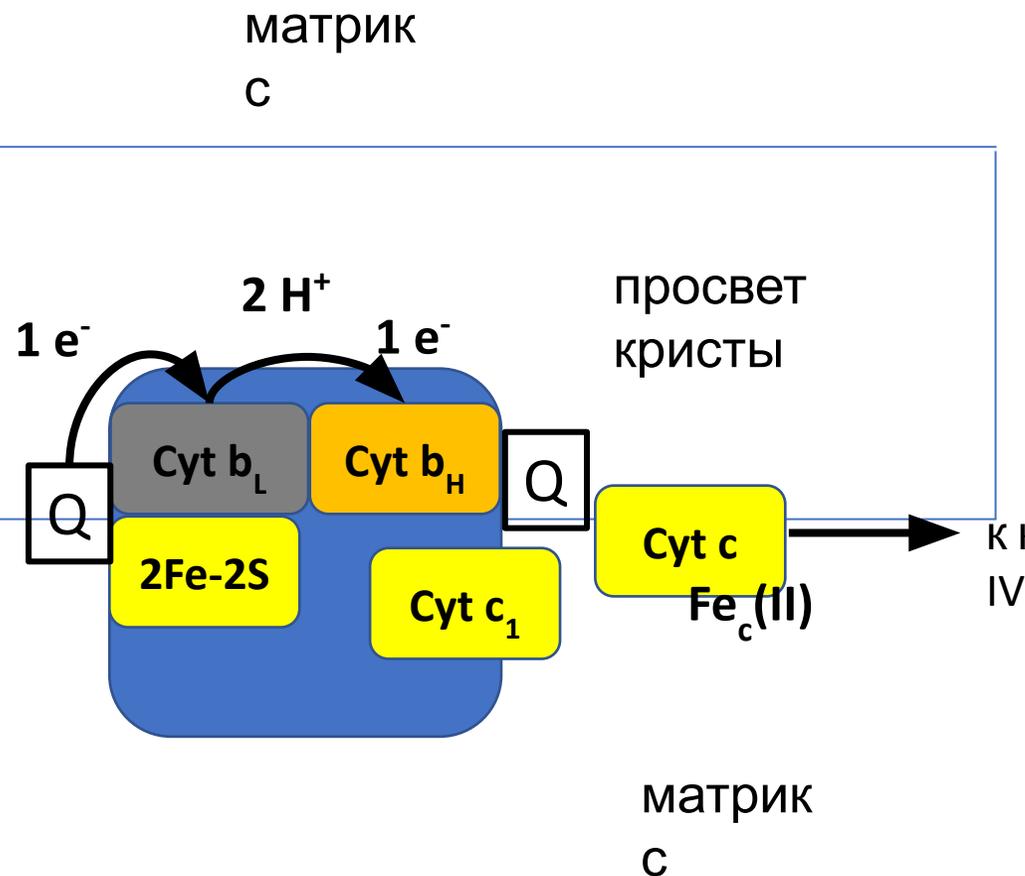
внешняя и внутренняя  
мембраны



- QH<sub>2</sub> связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом b<sub>L</sub>
- 1 электрон QH<sub>2</sub> отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон (QH<sup>-</sup>)
- При этом 2 H<sup>+</sup> переносится из матрикса в просвет кристы
- Электрон от 2Fe-2S переходит к цитохрому c<sub>1</sub>, от него – к цитохрому c (мобильный)

# Комплекс III цепи переноса электронов

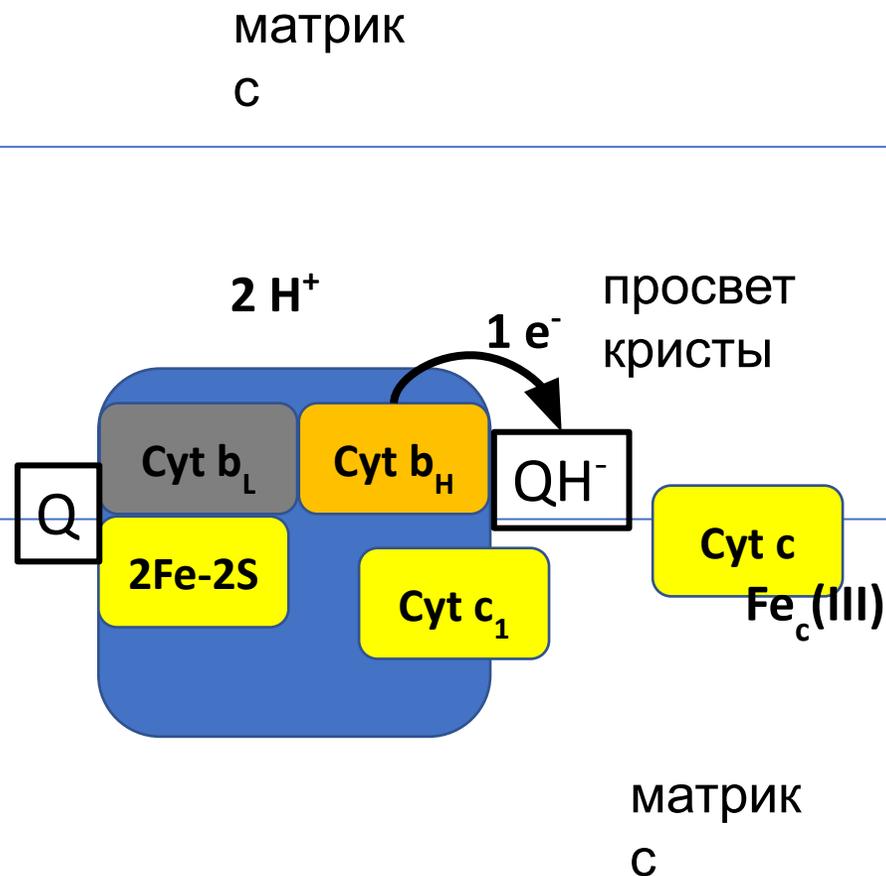
внешняя и внутренняя  
мембраны



- Образовавшийся QH<sup>-</sup> более сильный восстановитель, чем QH<sub>2</sub> (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому b<sub>L</sub>, а тот – цитохрому b<sub>H</sub>
- 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

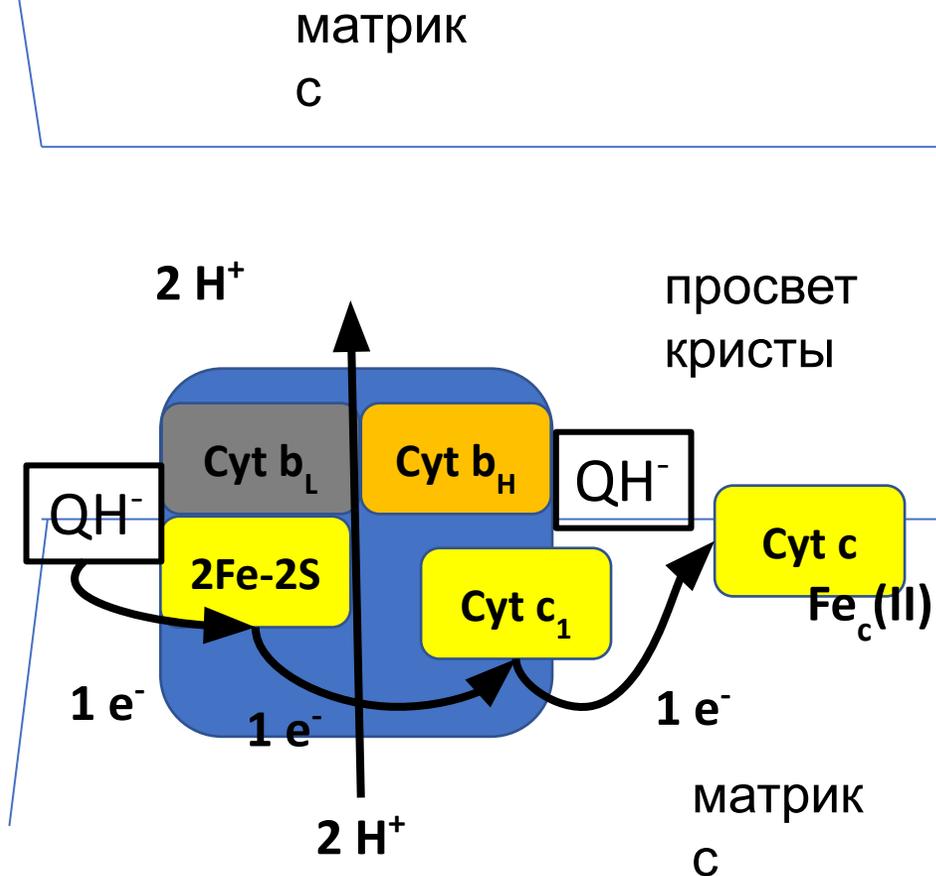


- Образовавшийся QH<sup>+</sup> более сильный восстановитель, чем QH<sub>2</sub> (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому b<sub>L</sub>, а тот – цитохрому b<sub>H</sub>
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный
- Цитохром b<sub>H</sub> передает электрон второму окисленному убихинону, в результате чего образуется семиубихинон (QH<sup>+</sup>)



# Комплекс III цепи переноса электронов

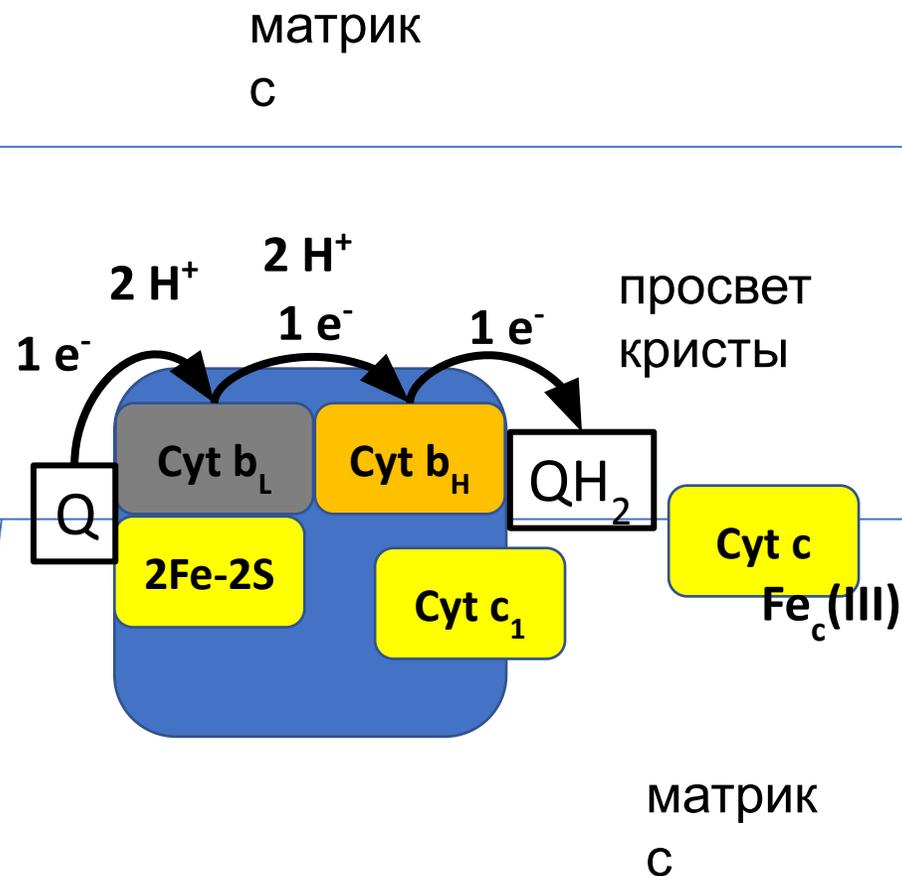
внешняя и внутренняя  
мембраны



- 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 с

# Комплекс III цепи переноса электронов

внешняя и внутренняя  
мембраны



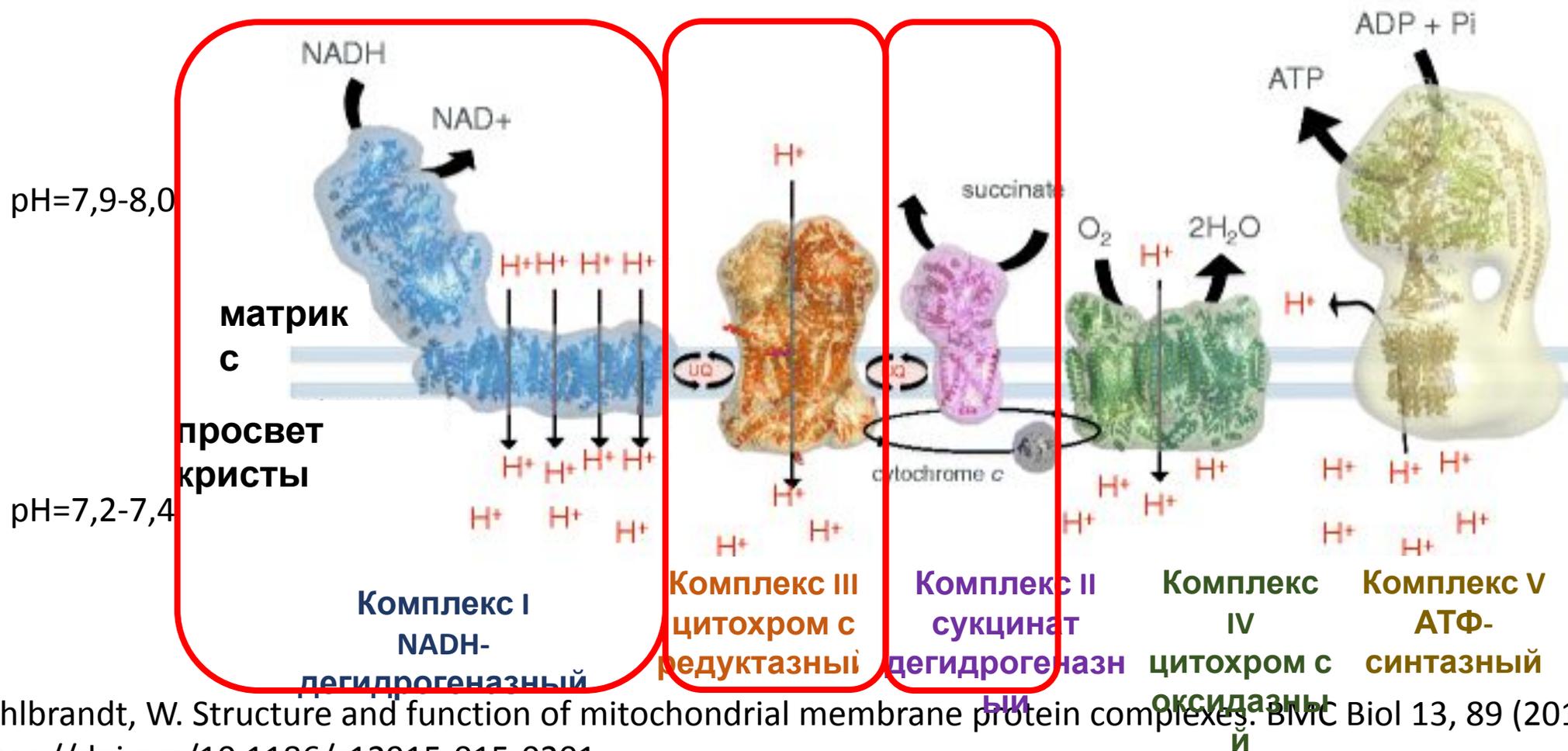
- Новая молекула QH<sub>2</sub> передает один электрон на 2Fe-2S. При этом из матрикса в просвет кристы переносится еще 2 H<sup>+</sup>
- Электрон далее передается на цитохром c<sub>1</sub> и затем – на цитохром c
- Восстановленный цитохром c уходит, новый окисленный - приходит
- Второй электрон через цитохромы b<sub>L</sub> и b<sub>H</sub> передается на второй семиубихинон с захватом двух H<sup>+</sup>, образуя убихинол

# Комплекс III цепи переноса электронов

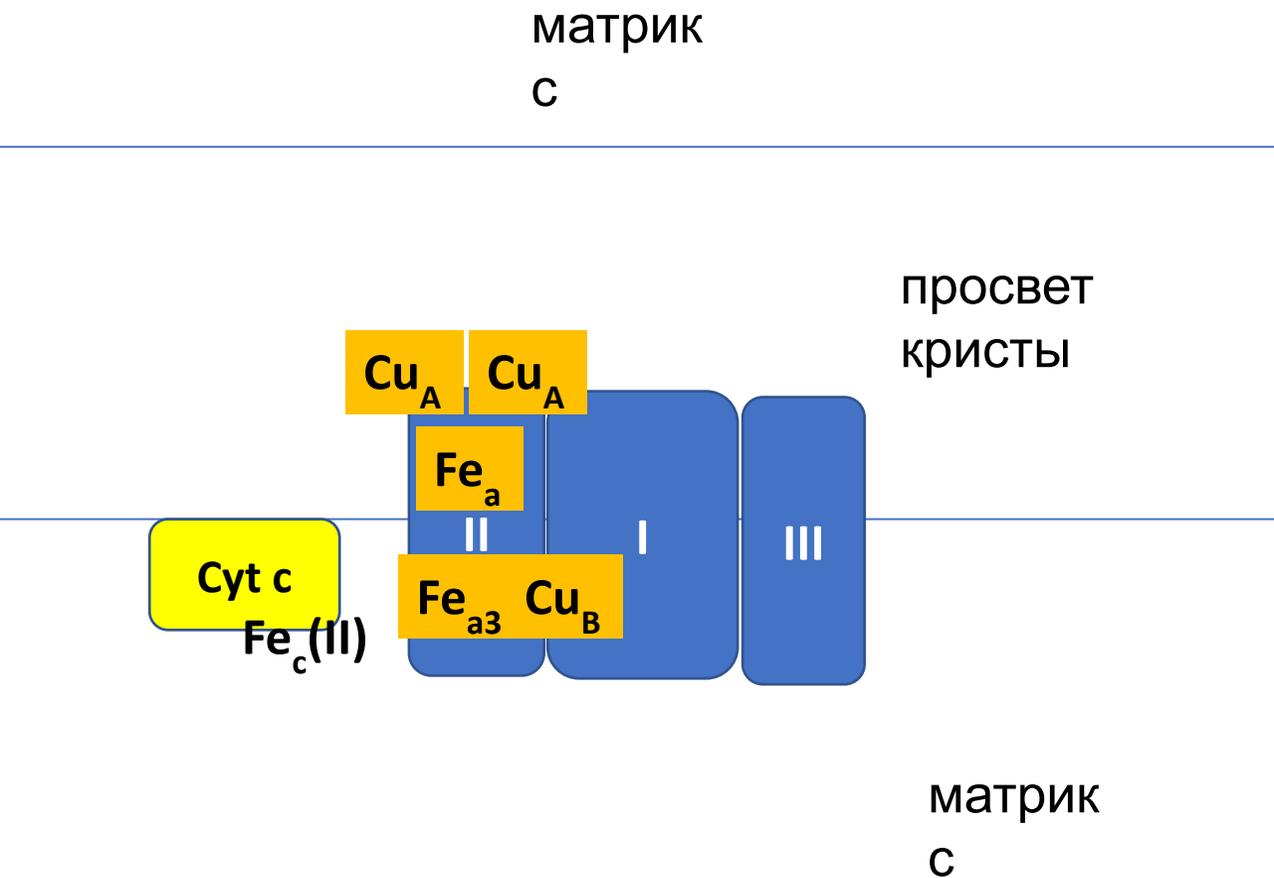
Итоги:

- Два QH<sub>2</sub> окислено, один – образовался снова
- 4 электрона переданы, 2 – на цитохром c
- 4 H<sup>+</sup> перенесены в просвет кристы

# Комплексы цепи переноса электронов

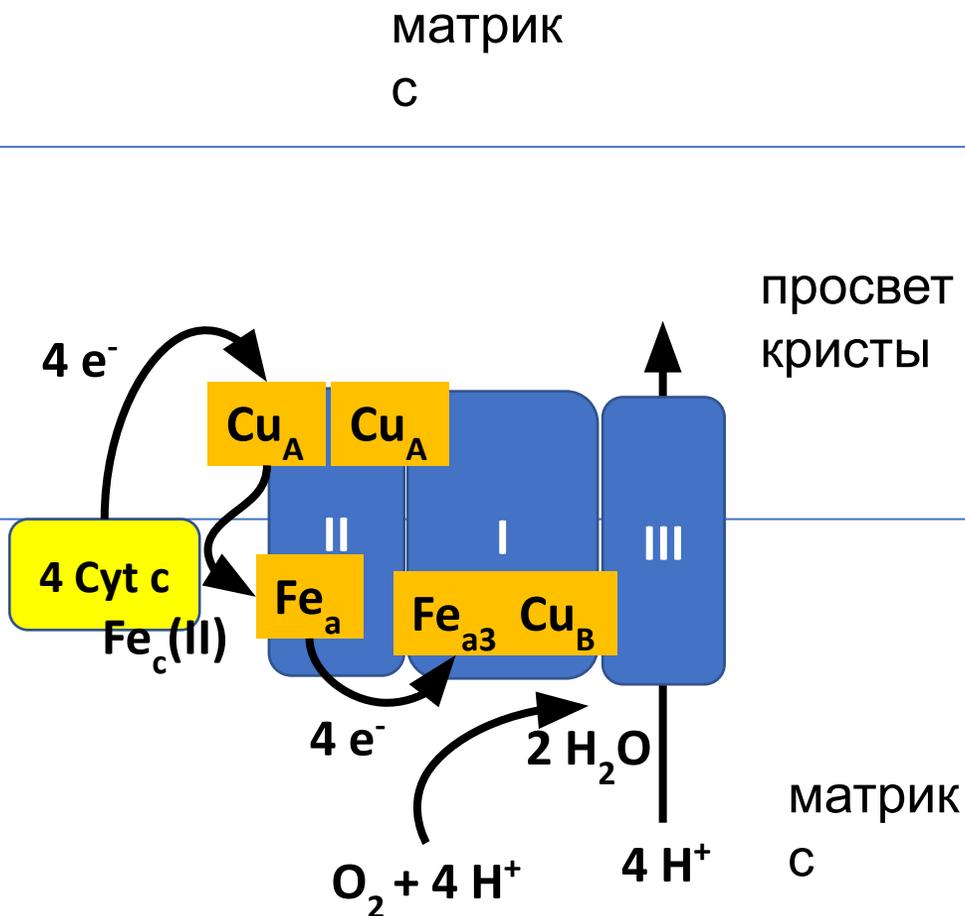


# Комплекс IV цепи переноса электронов



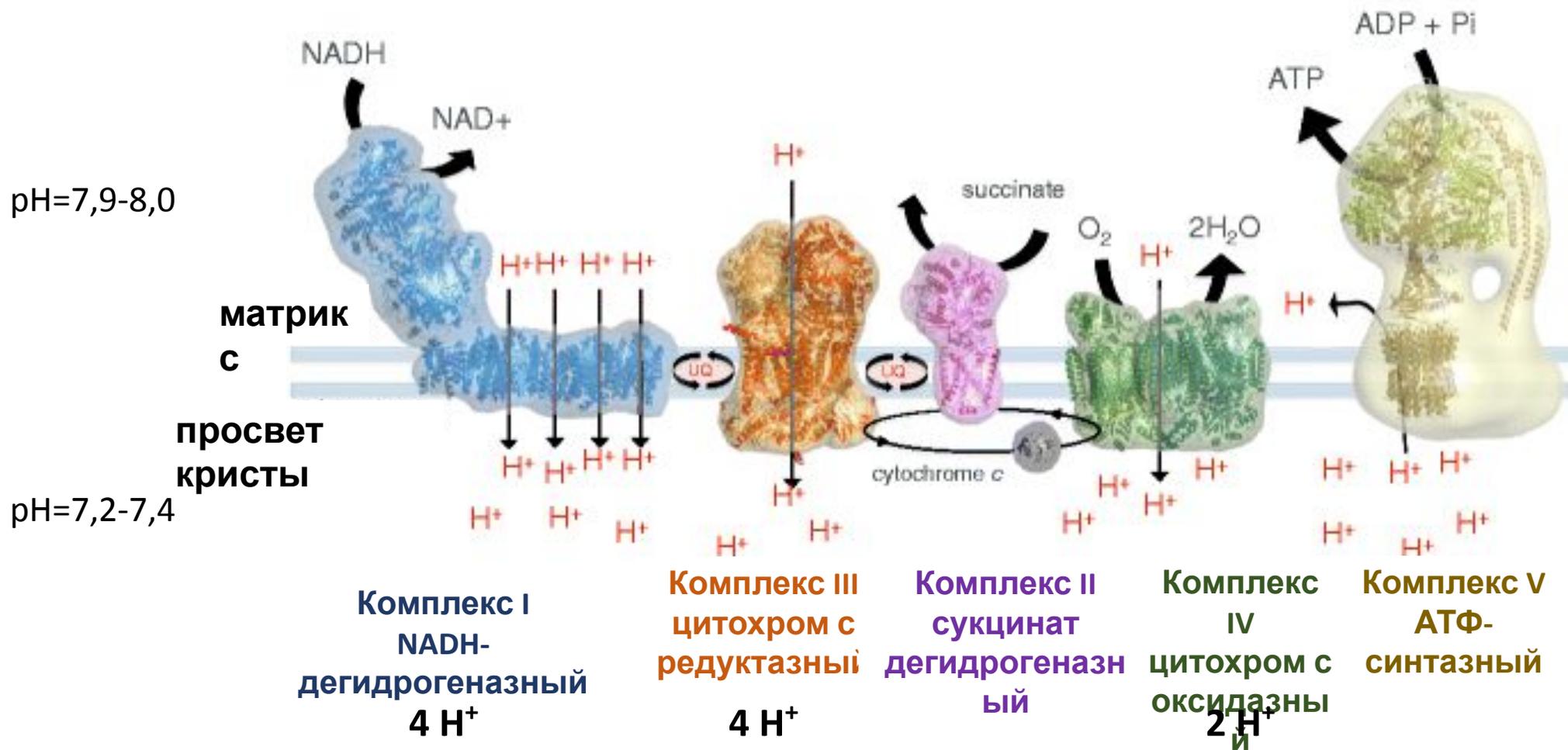
- Комплекс IV – это цитохром с оксидаза
- Состоит из 13 субъединиц, включая 4 центра с металлами:  $\text{Cu}_A$ , гем а ( $\text{Fe}_a$ ) и один двойной центр (гем  $a_3$  и  $\text{Cu}_B$ )
- Субъединицы I, II и III основные и кодируются в митохондриях, остальные – регулируют активность комплекса IV
- Субъединица III участвует в переносе  $\text{H}^+$
- Цитохром с ездит по поверхности

# Комплекс IV цепи переноса электронов

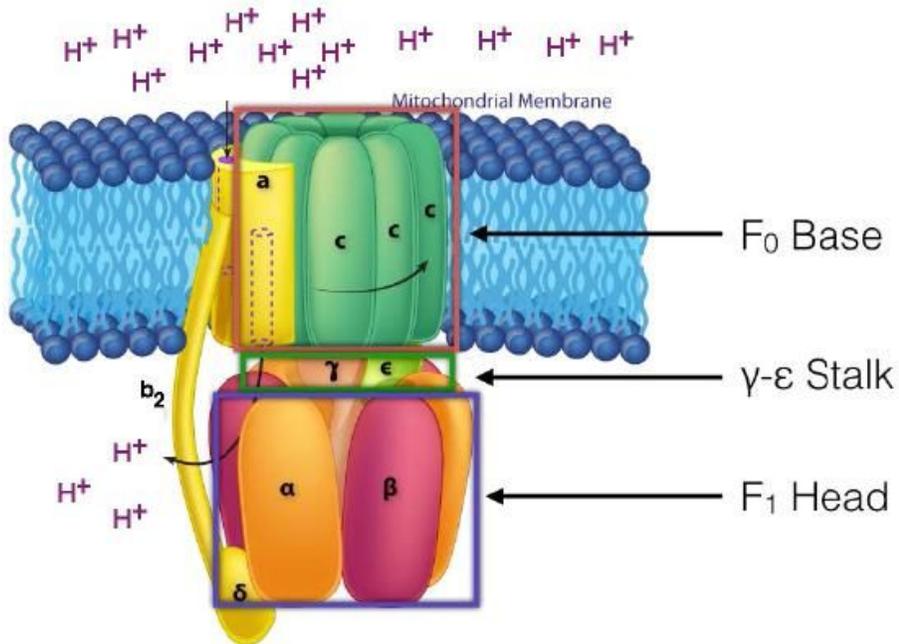


- Цитохром с передает электроны на центр  $\text{Cu}_A$ , с него электроны переходят на гем а, а затем на центр  $\text{Fe}_{a3}\text{-Cu}_B$ , где и происходит восстановление  $\text{O}_2$  до воды
- Всего переносятся почти одновременно 4 электрона с цитохрома с на  $\text{O}_2$
- $8 \text{ H}^+$  захватываются из матрикса:  $4 \text{ H}^+$  для образования воды и  $4 \text{ H}^+$  переносятся в просвет кристы
- Таким образом, на пару электронов от цитохрома с переносятся  $2 \text{ H}^+$

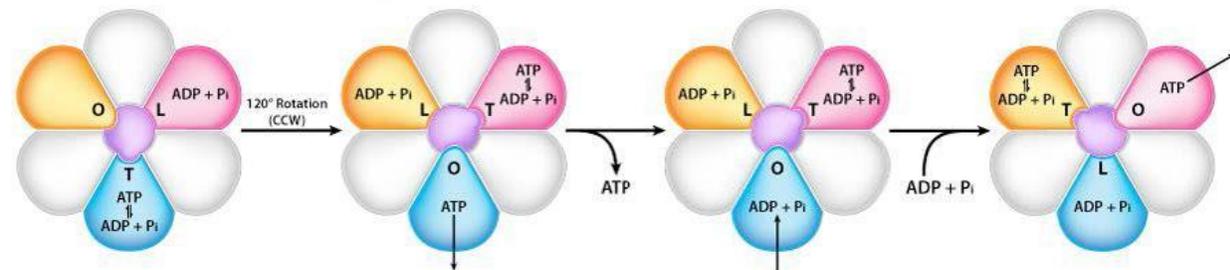
# Комплексы цепи переноса электронов



# Комплекс V цепи переноса электронов

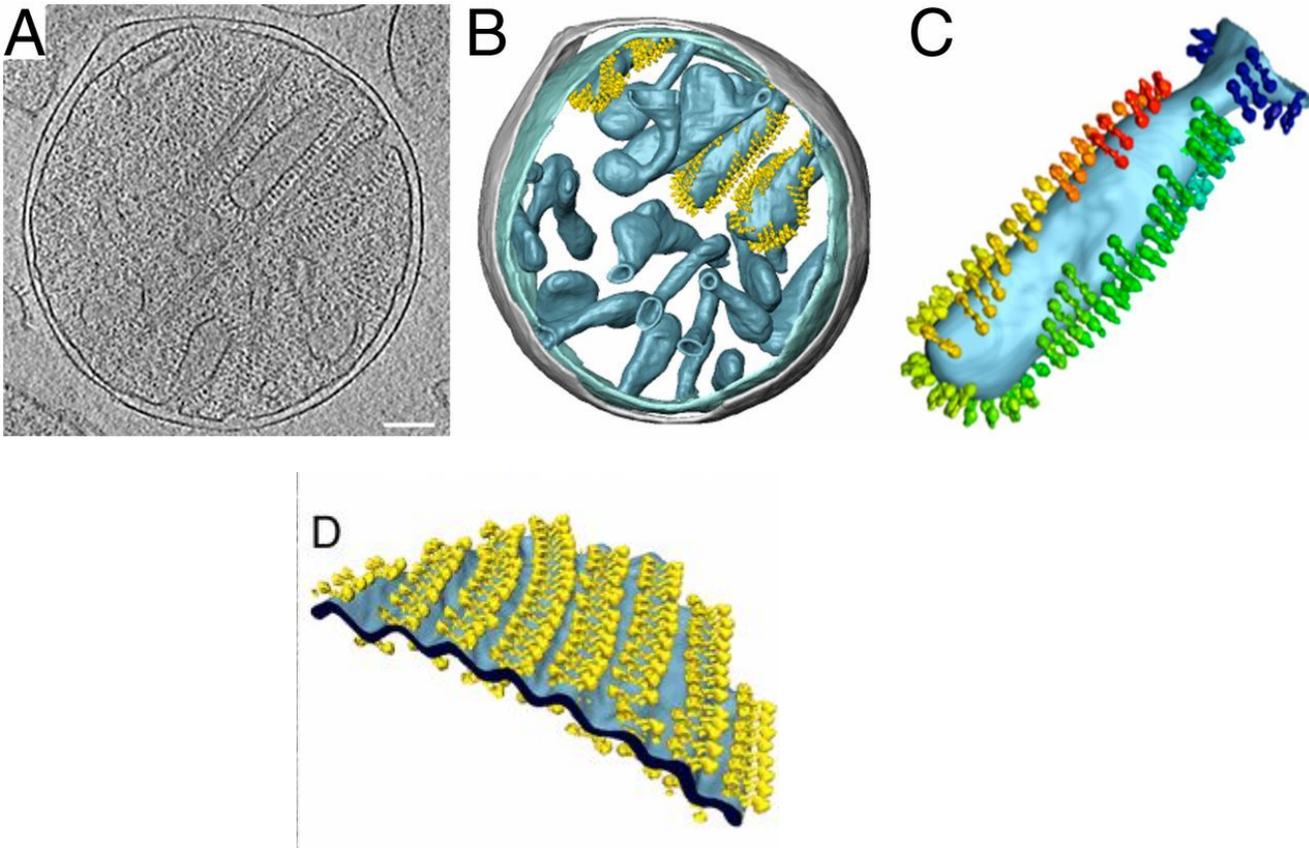


- АТФ-синтазы состоят из двух доменов:  $F_0$  (встроен в мембрану) и  $F_1$  (выходит в матрикс)
- $F_0$  образован кольцом из c-доменов
- 3  $\alpha$ - и 3  $\beta$ -субъединицы образуют каталитический центр домена  $F_1$
- Субъединицы  $\gamma$ ,  $\delta$  и  $\epsilon$  формируют стержень, соединяющий  $F_0$ - 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



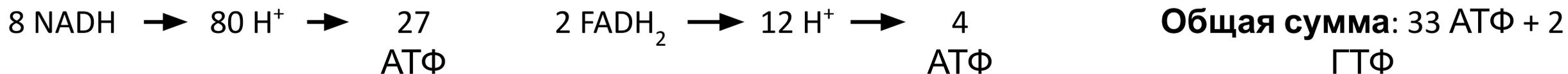
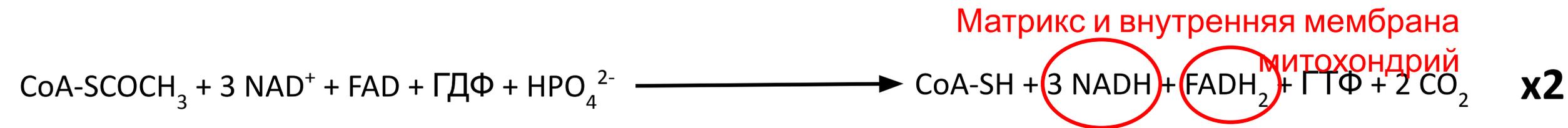
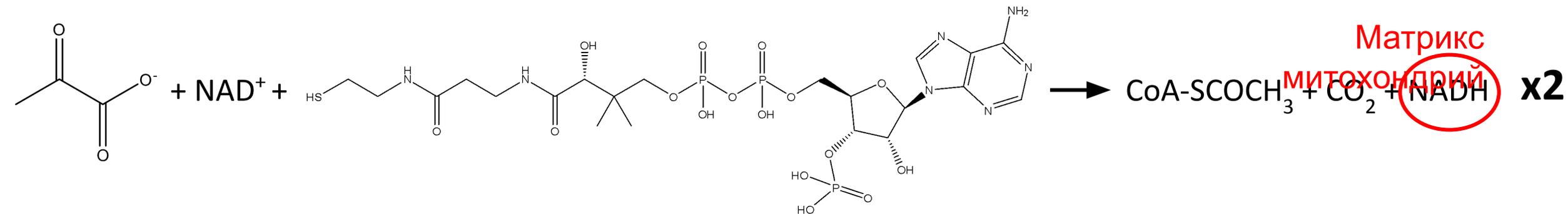
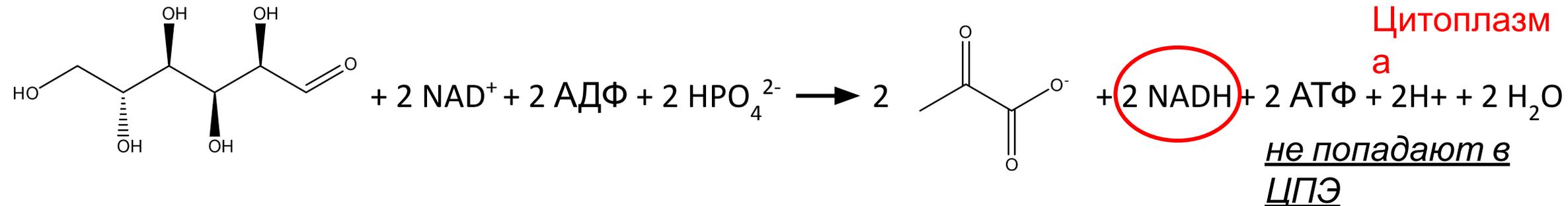
\* Jan Petersen, Kathrin Förster, Paola Turina, and Peter Gräber. Comparison of the  $H^+/ATP$  ratios of the  $H^+$ -ATP synthases from yeast and from chloroplast // PNAS July 10, 2012 109 (28) 11150-11155; <https://doi.org/10.1073/pnas.1202799109>

# 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

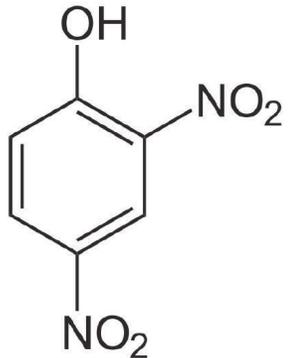


Но это только в идеальной ситуации, на самом деле почти на всех этапах ЦПЭ происходит «подтекание»

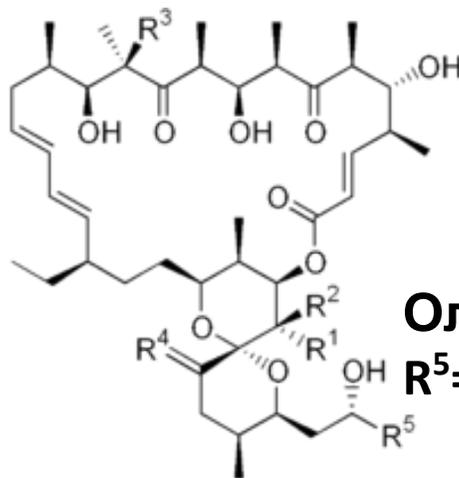
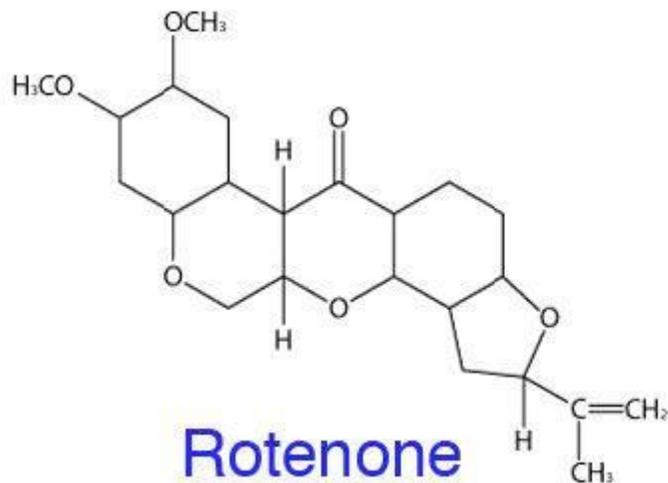
и H+

# 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 ( $R^1=CH_3$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4=H$ ,  $R^5=CH_3$ )**

# Разобщающие 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 разобщающие белки (UCP2-UCP5) участвуют в уменьшении оксидативного стресса