Новосибирский государственный
университет

# Лекция №8

## Цепь переноса электронов

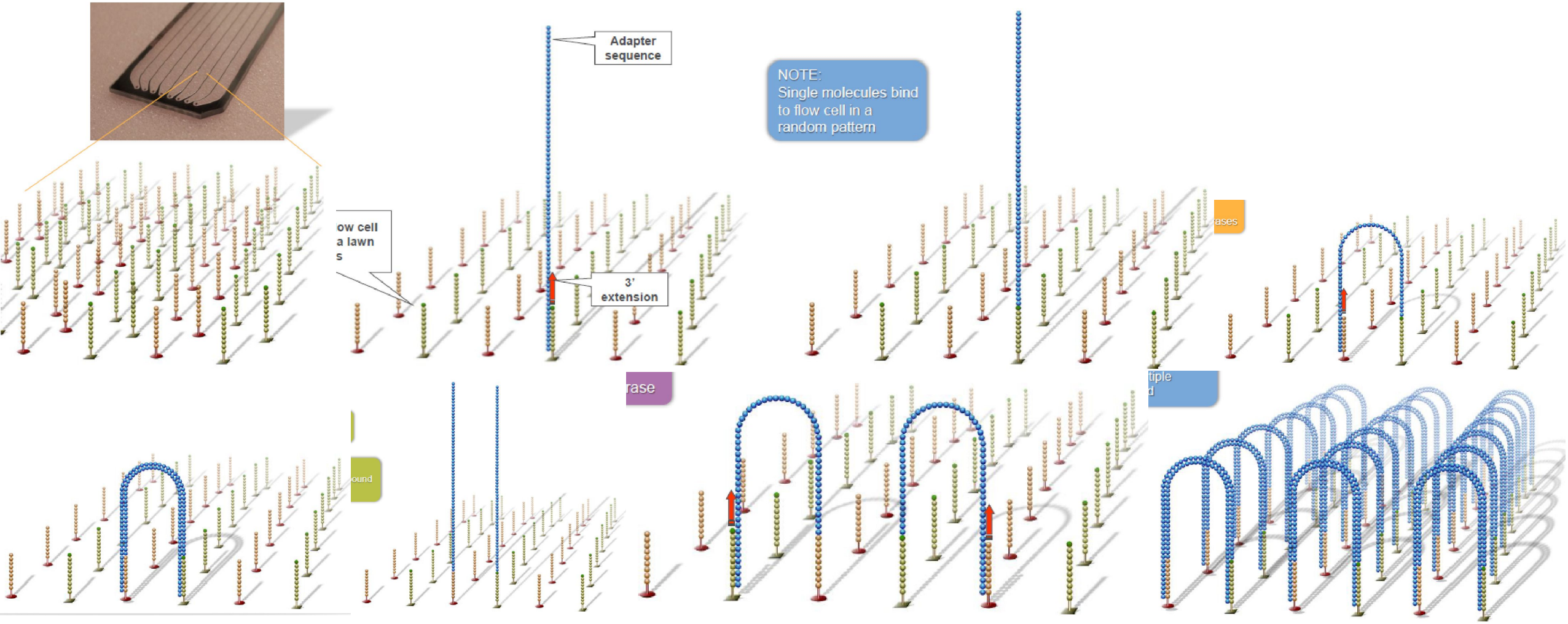
Кечин Андрей Андреевич, к.б.
н.

Новосибирск -
2020

# Вопросы с прошлой лекции

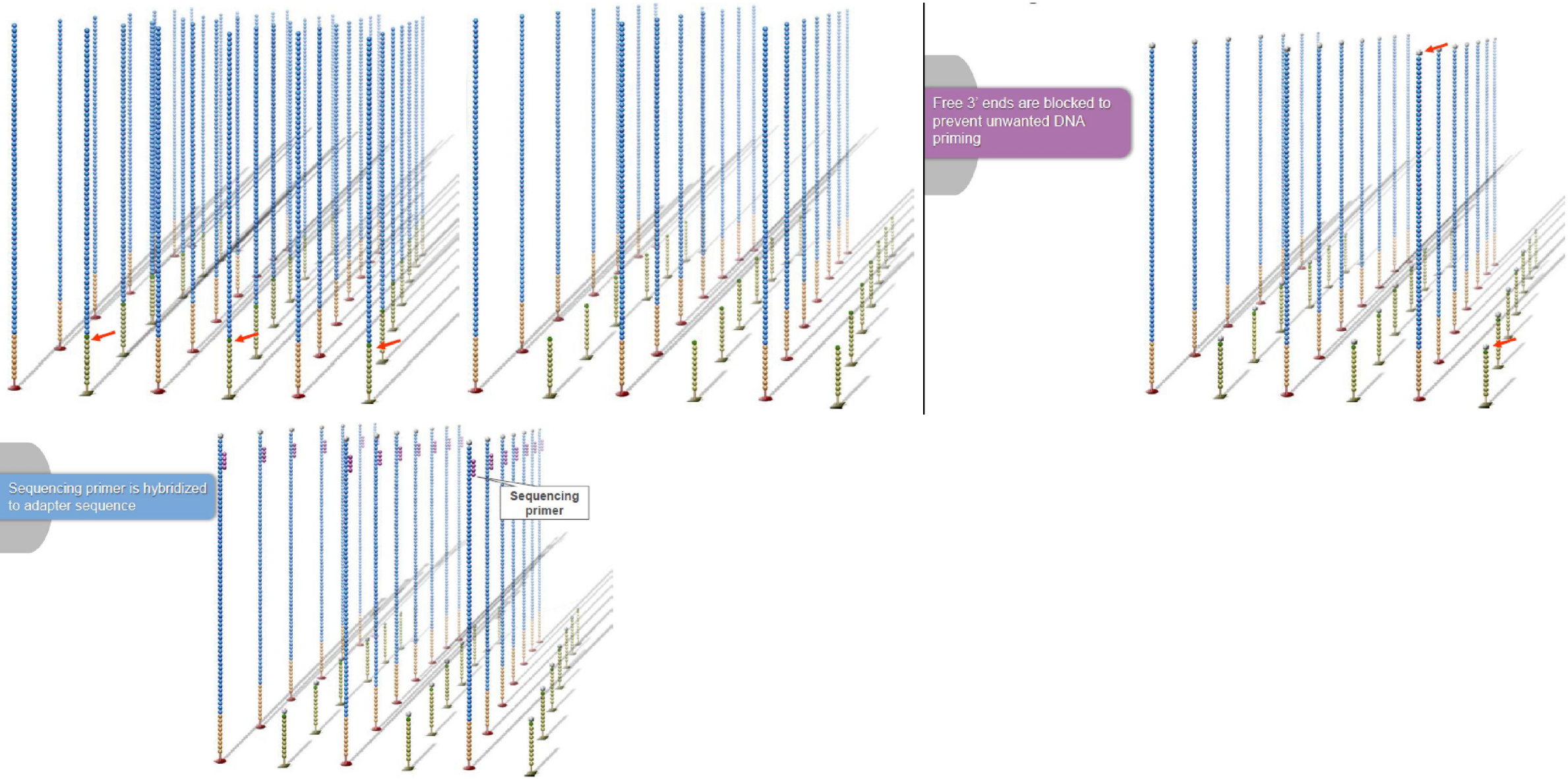
- E1/E2-механизм β-элиминации при разрыве фосфодиэфирной связи
- Секвенирование Illumina

# Технология Illumina (Solexa)




https://www.well.ox.ac.uk/ogc/wp-content/uploads/2017/09/Illumina_Sequencing_Overview_15045845_D.pdf

# Технология Illumina (Solexa)

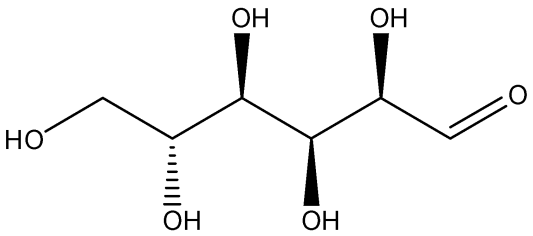



https://www.well.ox.ac.uk/ogc/wp-content/uploads/2017/09/Illumina_Sequencing_Overview_15045845_D.pdf

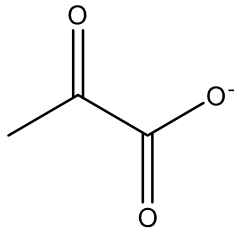
# План лекции

- 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



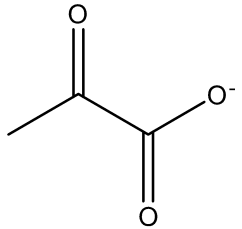
$+ 2\ NAD^+ + 2$ АДФ $+ 2\ HPO_4^{2-} \longrightarrow 2$



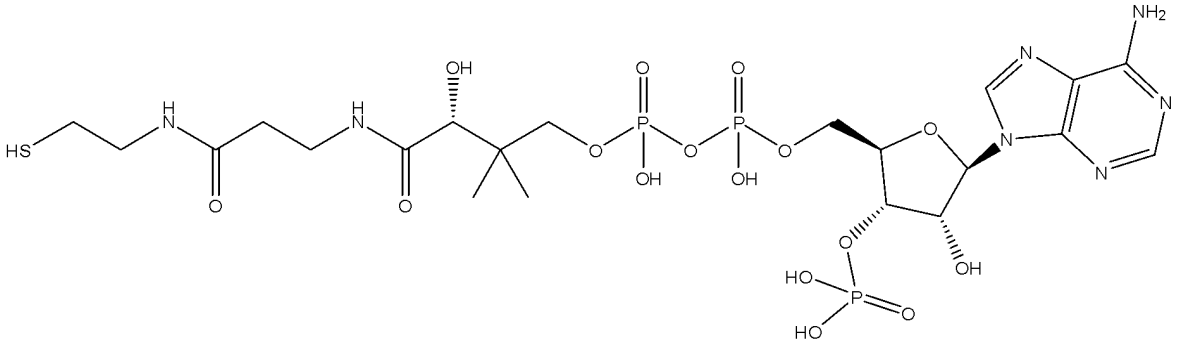
$+ 2$ NADH $+ 2$ АТФ $+ 2H+ + 2\ H_2O$

Цитоплазма

*не попадают в ЦПЭ*



$+ NAD^+ +$



$\longrightarrow CoA\text{-}SCOCH_3 + CO_2 +$ NADH

Матрикс митохондрий

$CoA\text{-}SCOCH_3 + 3\ NAD^+ + FAD +$ ГДФ $+ HPO_4^{2-} \longrightarrow CoA\text{-}SH +$ 3 NADH $+ FADH_2 +$ ГТФ $+ 2\ CO_2$

Матрикс и внутренняя мембрана митохондрий

# Окислительно-восстановительный потенциал

$$Cu^{2+} + Fe \rightarrow Cu + Fe^{2+}$$

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

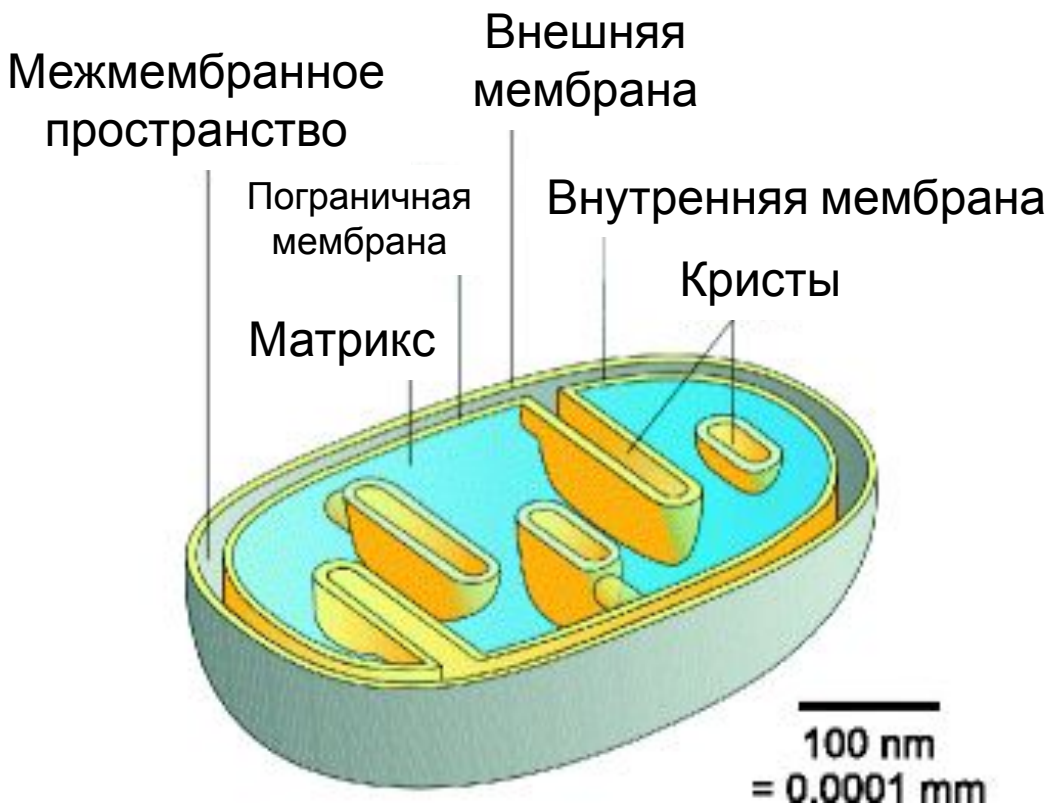
$\Delta G^0 = -\Delta E^{0*} n*F$, где n – число электронов, переносимых от окислителя к восстановителю; F – постоянная Фарадея (96500 Кл)

1 Дж = 1 Кл*В

$\Delta E^0 = E^0_{ок\text{-}ля} - E^0_{в\text{-}ля}$, 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

Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

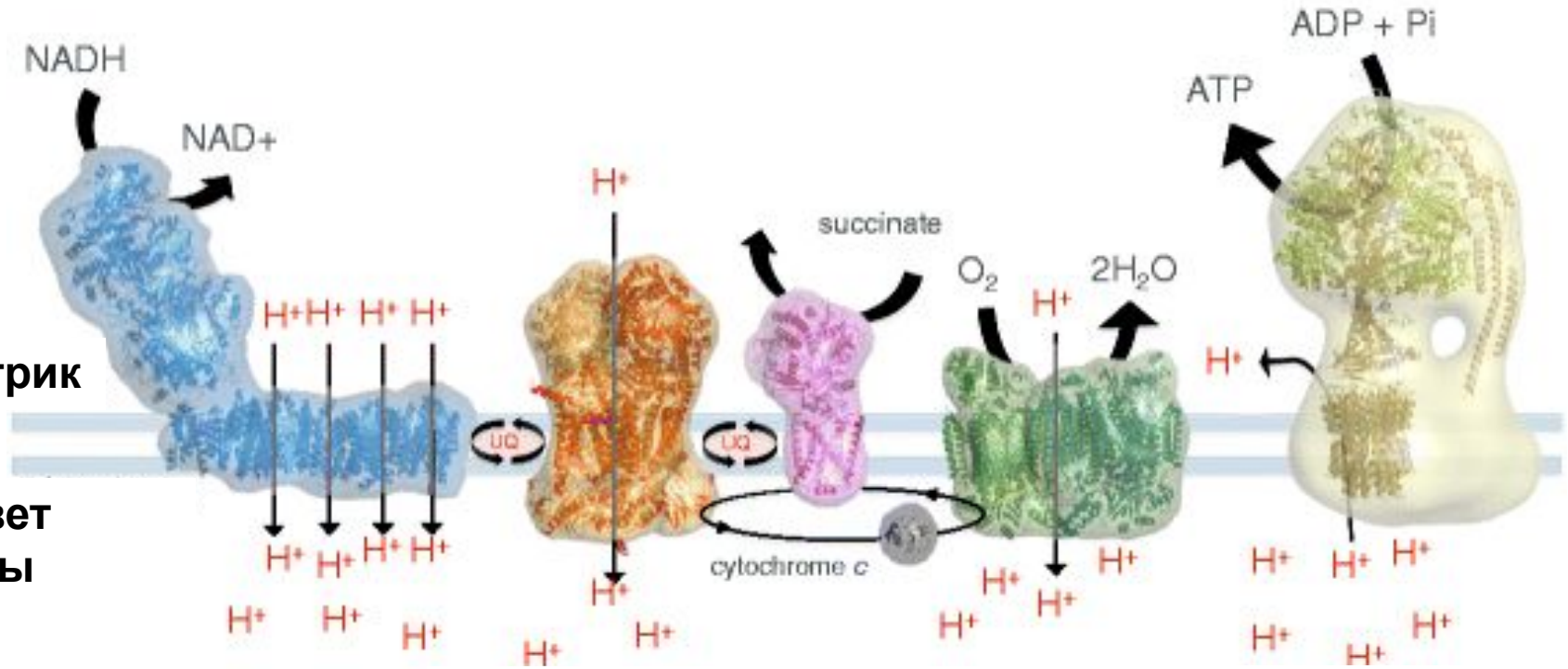
# Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

**матрикс**

**просвет кристы**

pH=7,2-7,4




**Комплекс I NADH-дегидрогеназный**

**Комплекс III цитохром с редуктазный**

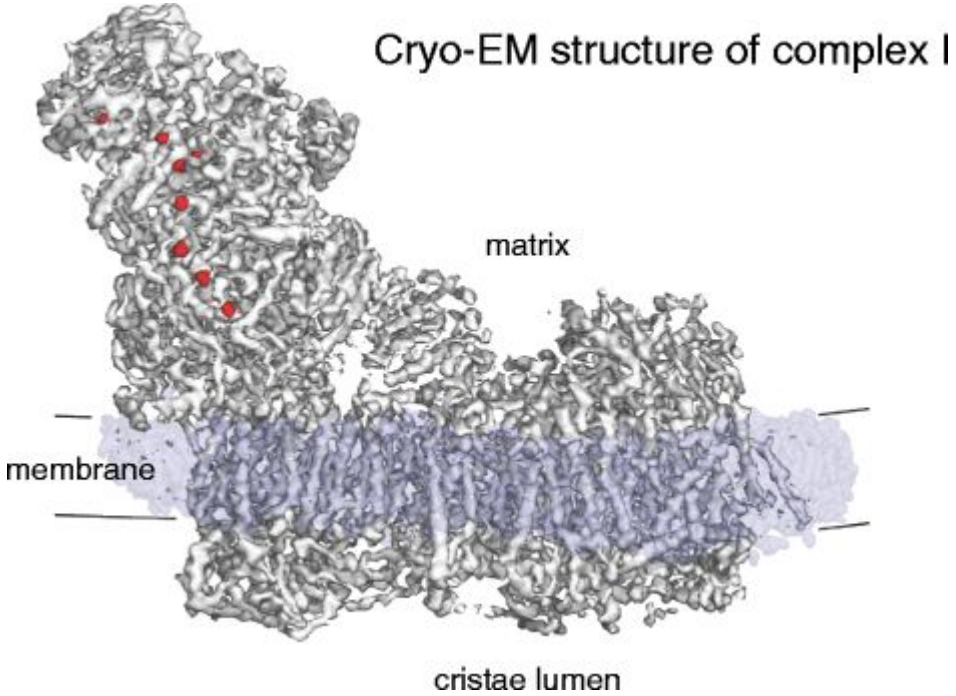
**Комплекс II сукцинат дегидрогеназный**

**Комплекс IV цитохром с оксидазный**

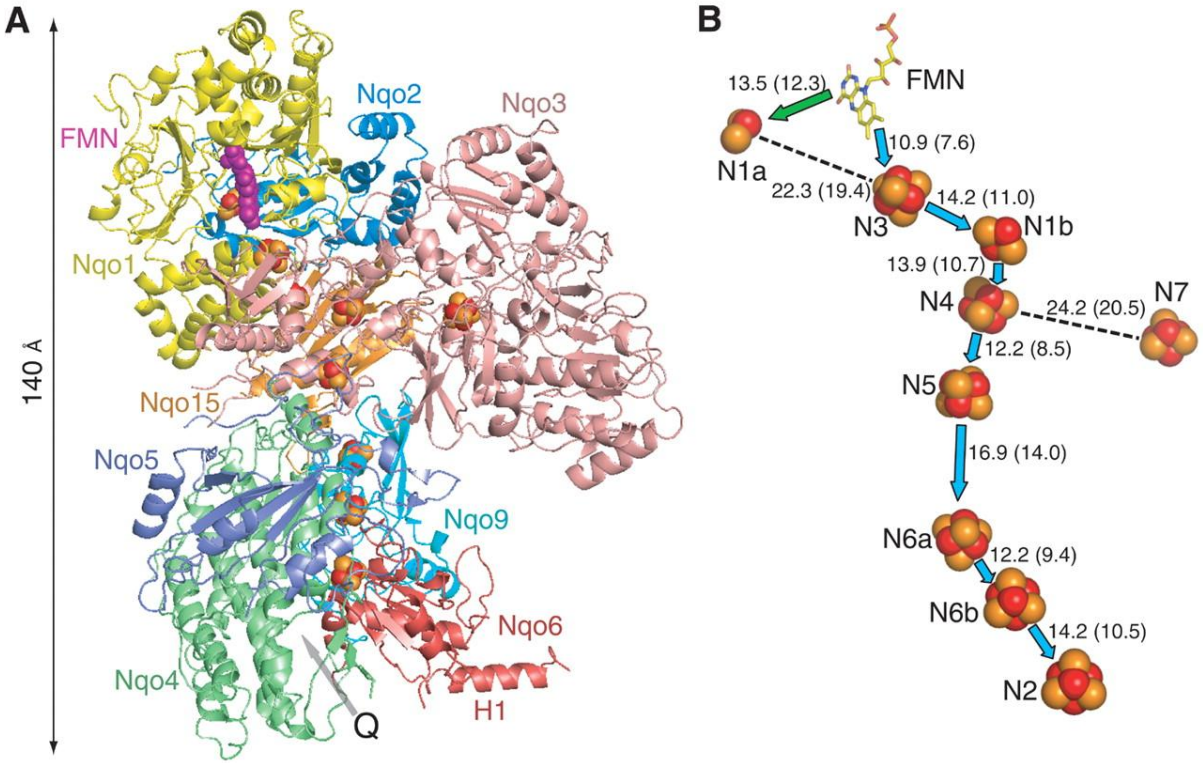
**Комплекс V АТФ-синтазный**

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



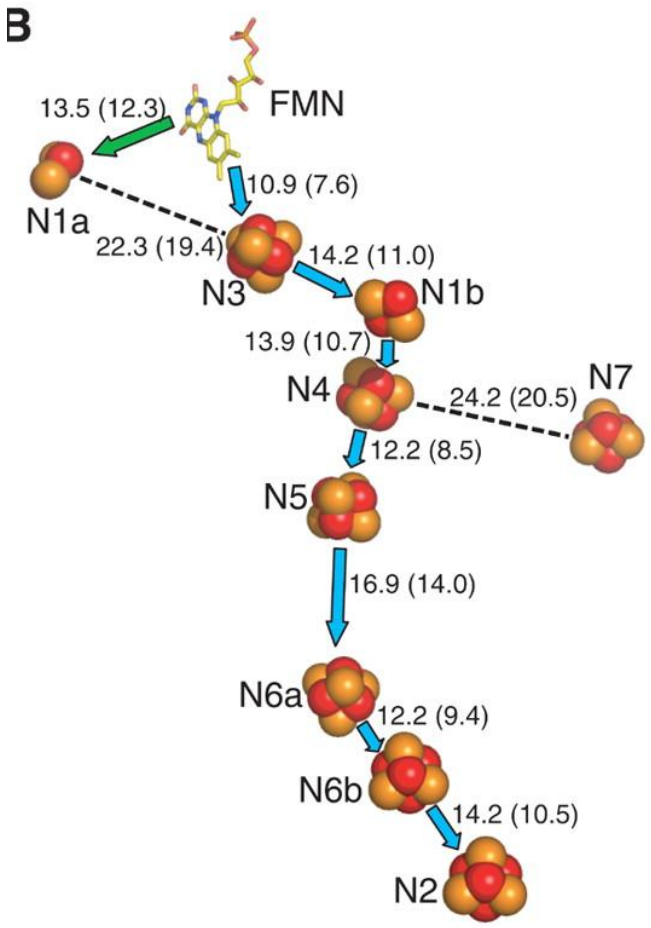

Комплекс I имеет 2 домена: мембранный и матричный. Всего 14 субъединиц, 45 белков




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

Zhao RZ, Jiang S, Zhang L and Yu ZB: Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). Int J Mol Med 44: 3-15, 2019
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




FMN сидит на самой верхушке комплекса I

$E^0$ ($NAD^+$/NADH) = - 0,32 В

$E^0$ (FMNH2/flavosemiquinone) = - 0,3 В

$E^0$ (flavosemiquinone/oxidized flavin) = - 0,39 В

$E^0$ (oxidized N3–N6b/reduced N3–N6b) = - 0,25 В

$E^0$ (oxidized N2/reduced N2) = - 0,1 В

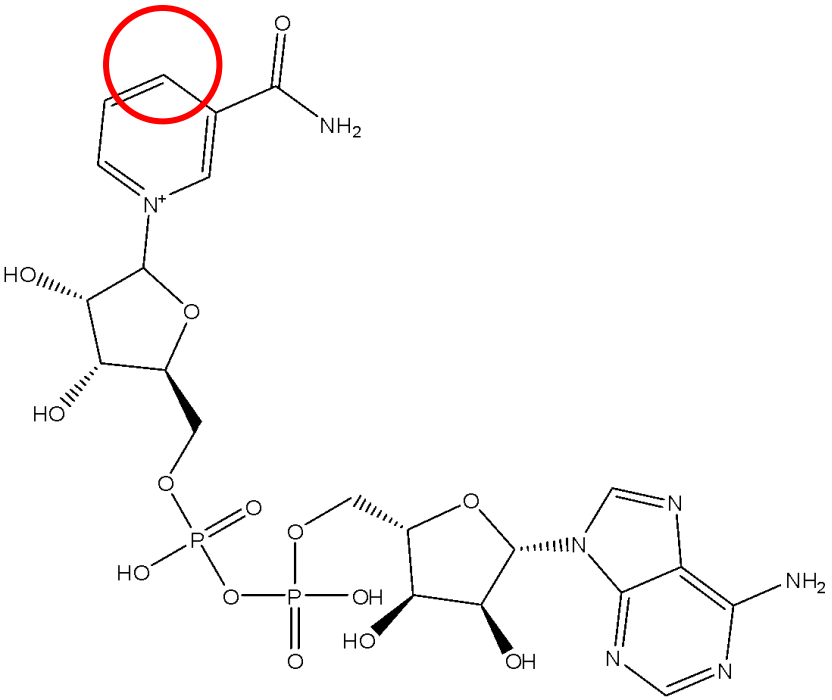
$E^0$ ($Q/QH_2$) = 0,11 В

$\Delta E^0$ (NADH→FMN)= $E^0$ (FMNH2/flavosemiquinone) - $E^0$ ($NAD^+$/NADH) = 0,3 В – (-0,32 В) = 0,02 В

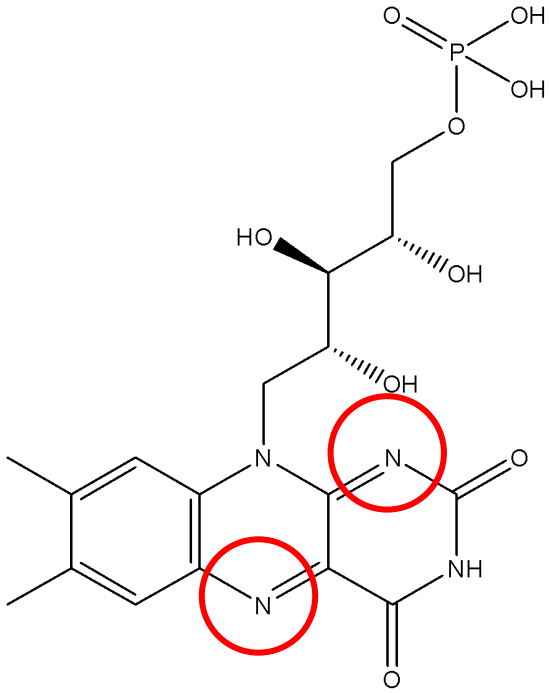
Чтобы окислительно-восстановительная реакция протекала должно быть $\Delta E^0 > 0$

Zhao RZ, Jiang S, Zhang L and Yu ZB: Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). Int J Mol Med 44: 3-15, 2019
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

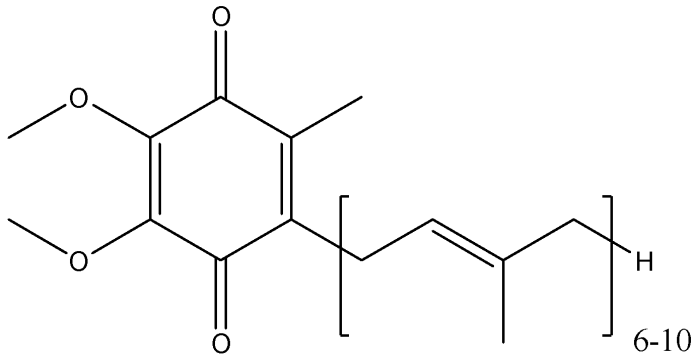
# Комплекс I цепи переноса электронов



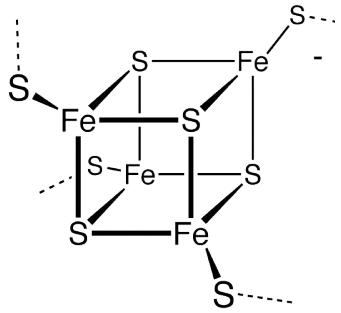
$NAD^+$



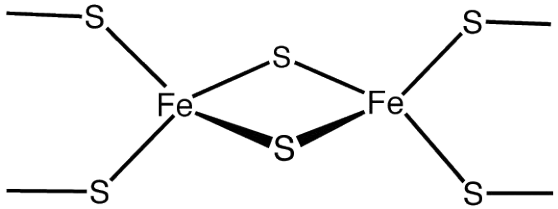
FMN



CoQ



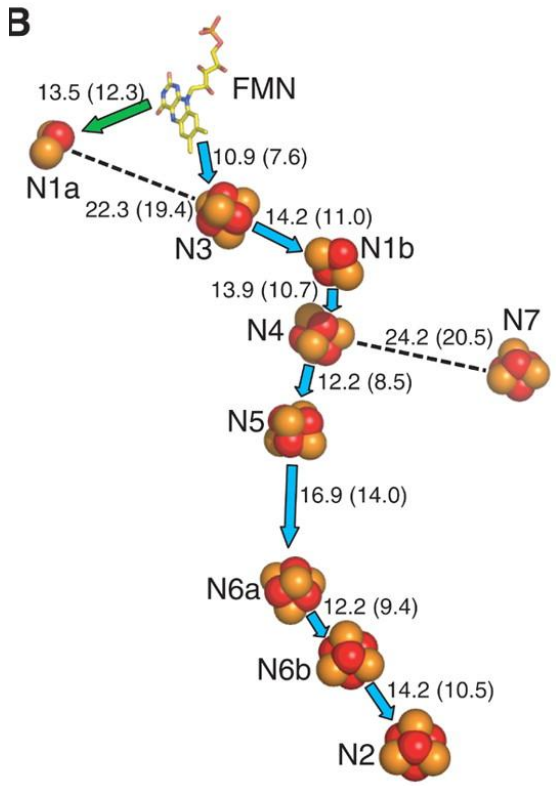
4Fe-4S кластер (3 $Fe^{3+}$ и 1 $Fe^{2+}$)



2Fe-2S кластер (2 $Fe^{3+}$)

Zhao RZ, Jiang S, Zhang L and Yu ZB: Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). Int J Mol Med 44: 3-15, 2019
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




- 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 $E^0$: N3→N1b→N4→N5→N6a→N6b→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 $H^+$

Zhao RZ, Jiang S, Zhang L and Yu ZB: Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). Int J Mol Med 44: 3-15, 2019
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

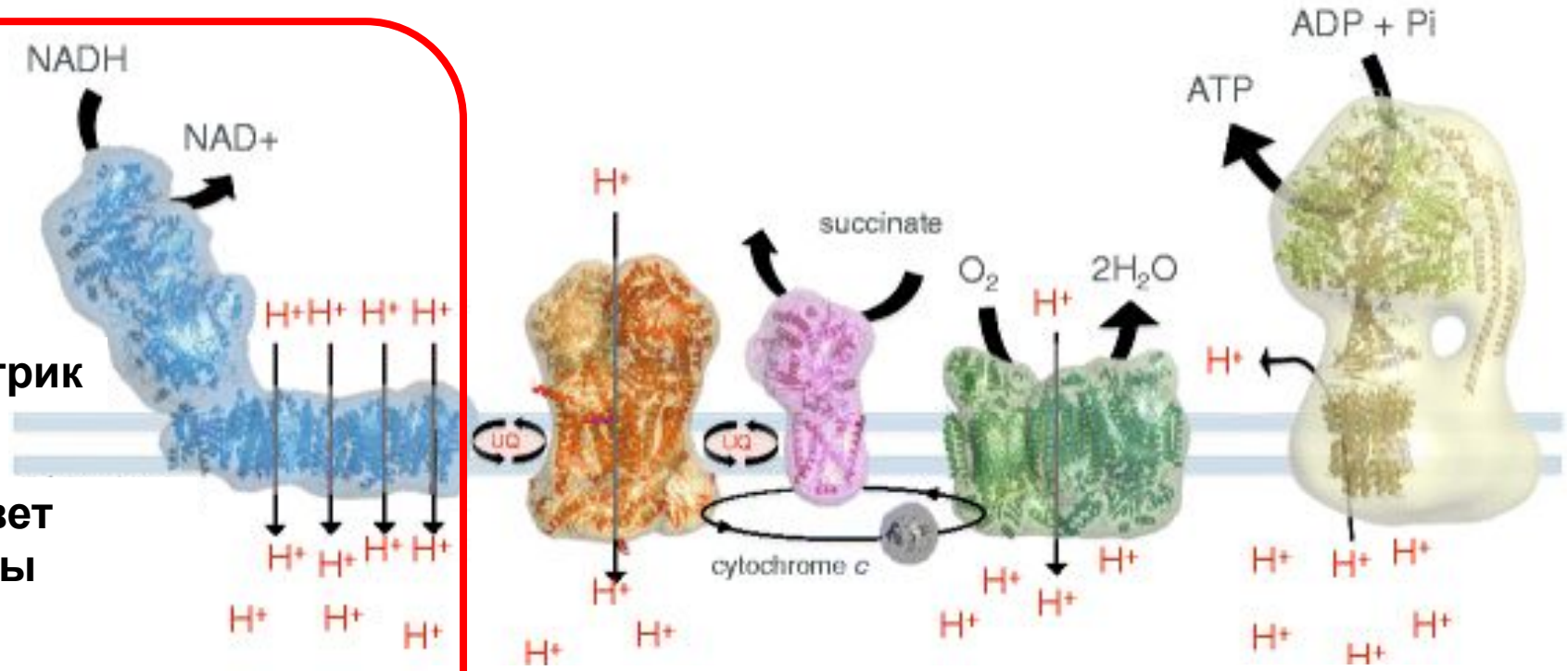
# Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

матрикс

просвет кристы

pH=7,2-7,4




Комплекс I NADH-дегидрогеназный

Комплекс III цитохром с редуктазный

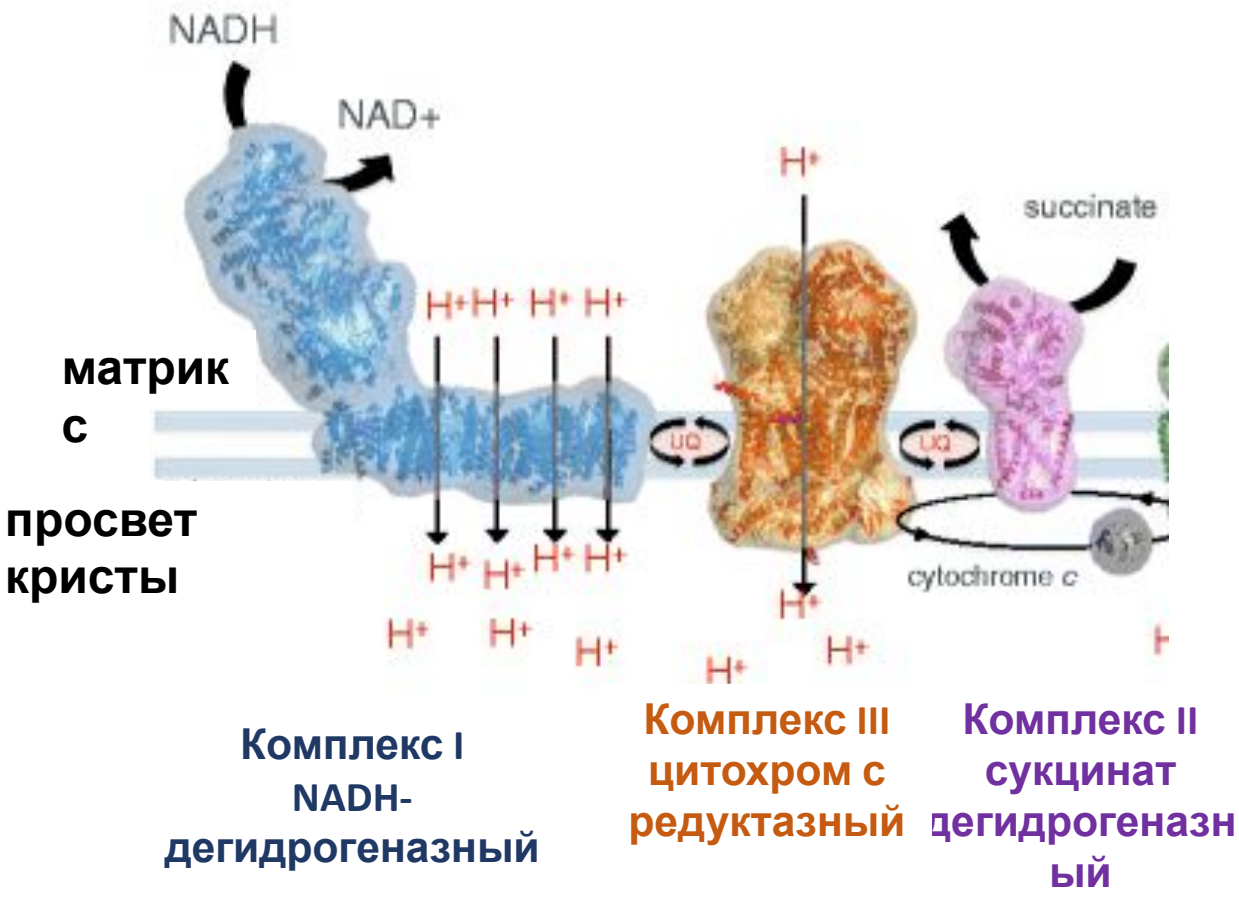
Комплекс II сукцинат дегидрогеназный

Комплекс IV цитохром с оксидазный

Комплекс V АТФ-синтазный

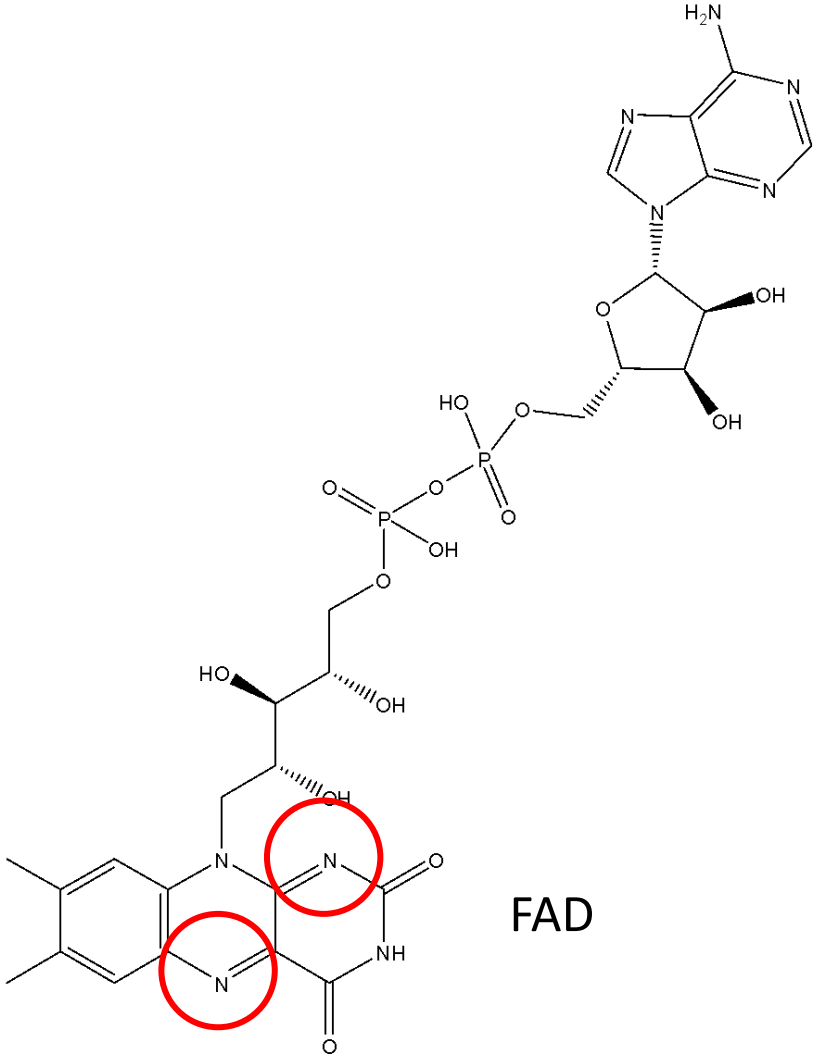
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

# Комплекс II цепи переноса электронов

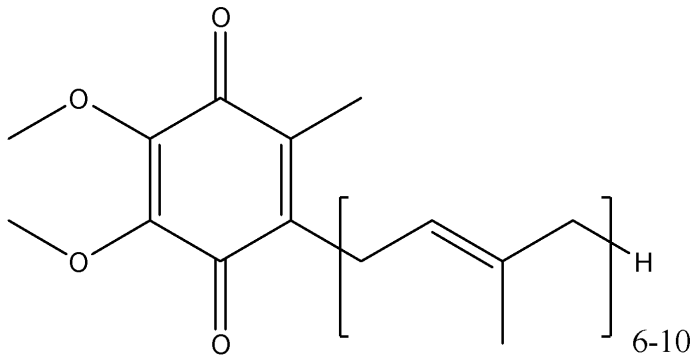



- Комплекс II представляет собой сукцинат-дегидрогеназу, которая окисляет сукцинат до фумарата в ЦТК
- Состоит из 4 субъединиц: 2 гидрофобные (белки CybL и CybS) встроены в мембрану и связываются с CoQ; 2 выпячивают в матрикс и окисляют сукцинат
- Электроны от сукцината принимает FAD, который передает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

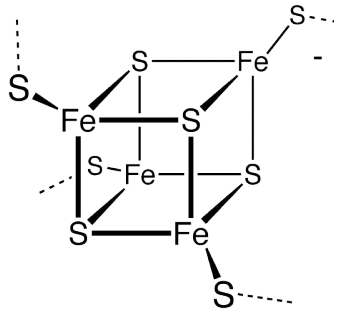
# Комплекс II цепи переноса электронов



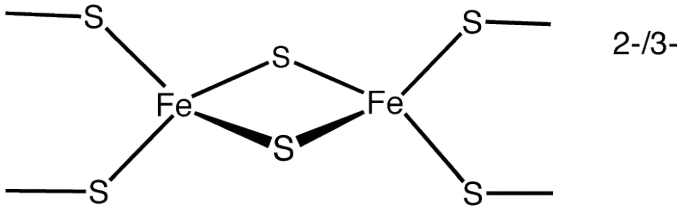

FAD




CoQ




4Fe-4S кластер (3 $Fe^{3+}$ и 1 $Fe^{2+}$)




2Fe-2S кластер (2 $Fe^{3+}$)

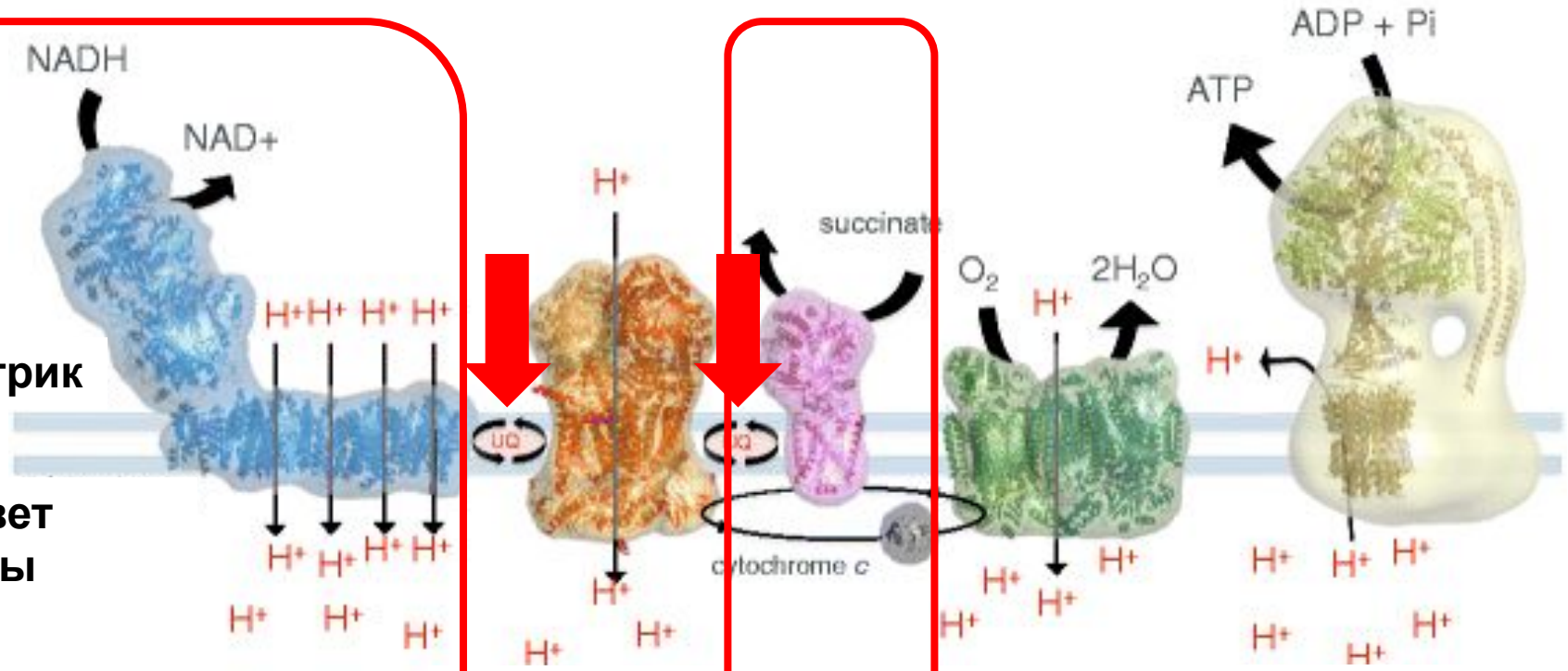
# Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

матрикс

просвет кристы

pH=7,2-7,4




Комплекс I NADH-дегидрогеназный

Комплекс III цитохром с редуктазный

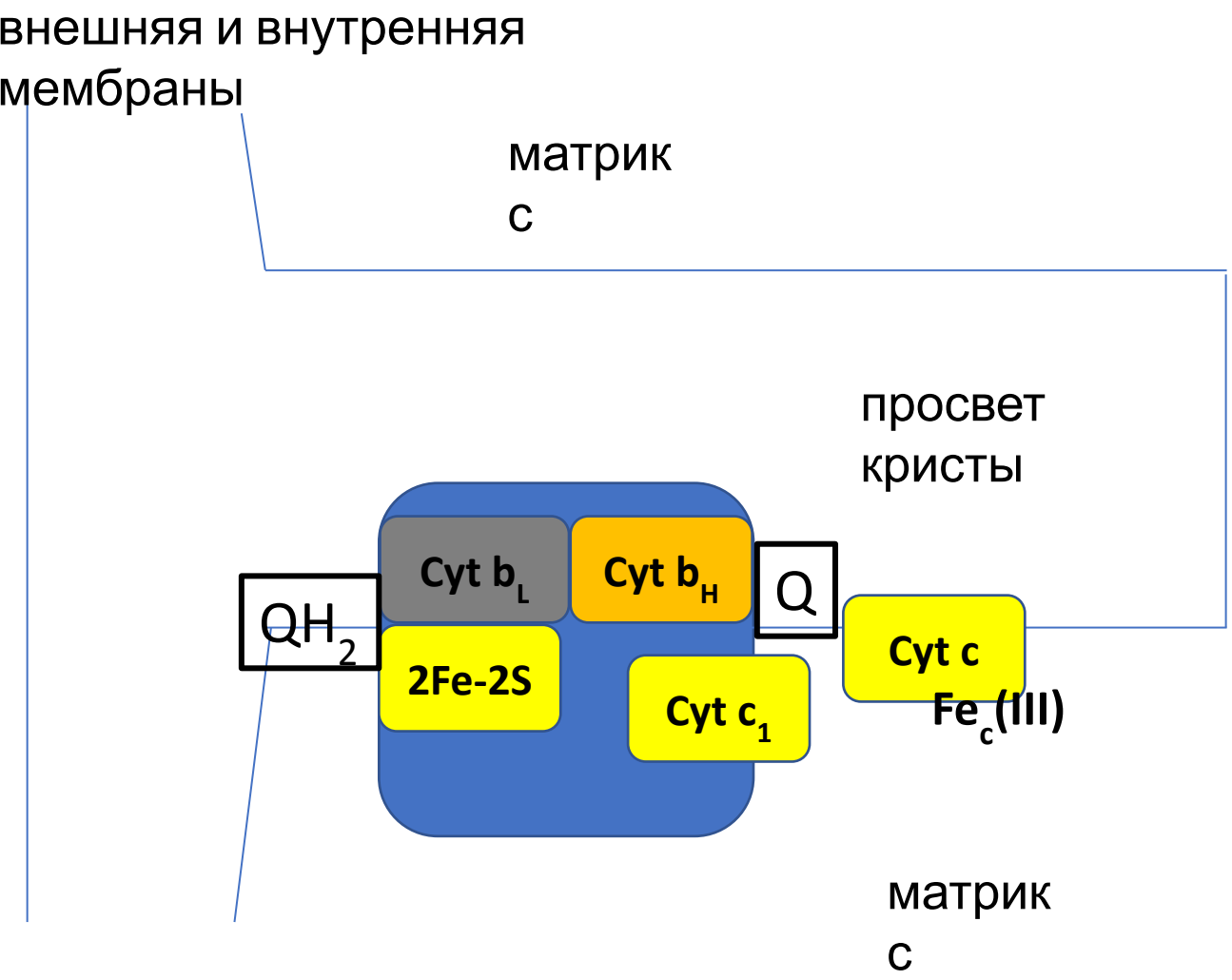
Комплекс II сукцинат дегидрогеназный

Комплекс IV цитохром с оксидазный

Комплекс V АТФ-синтазный

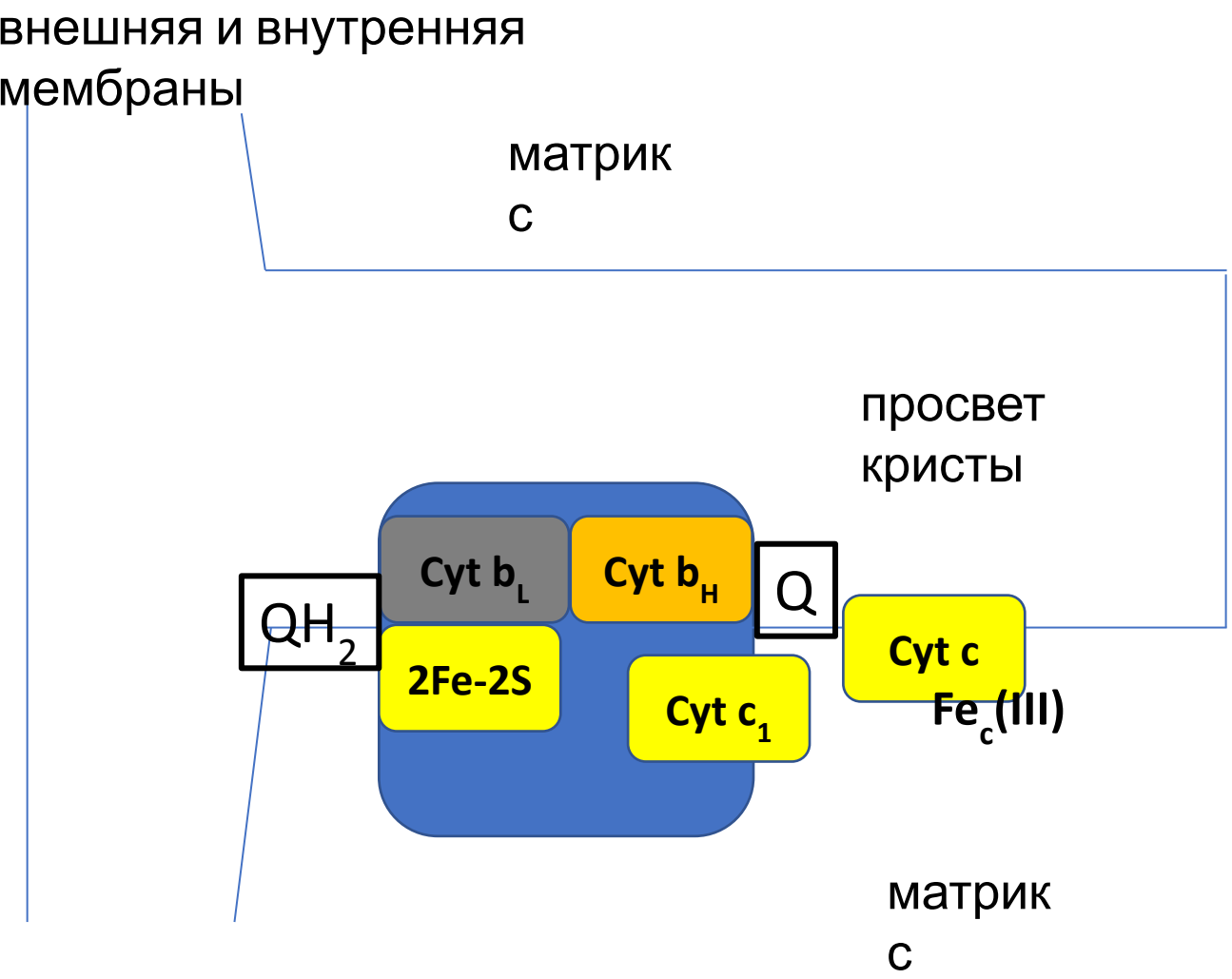
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

# Комплекс III цепи переноса электронов



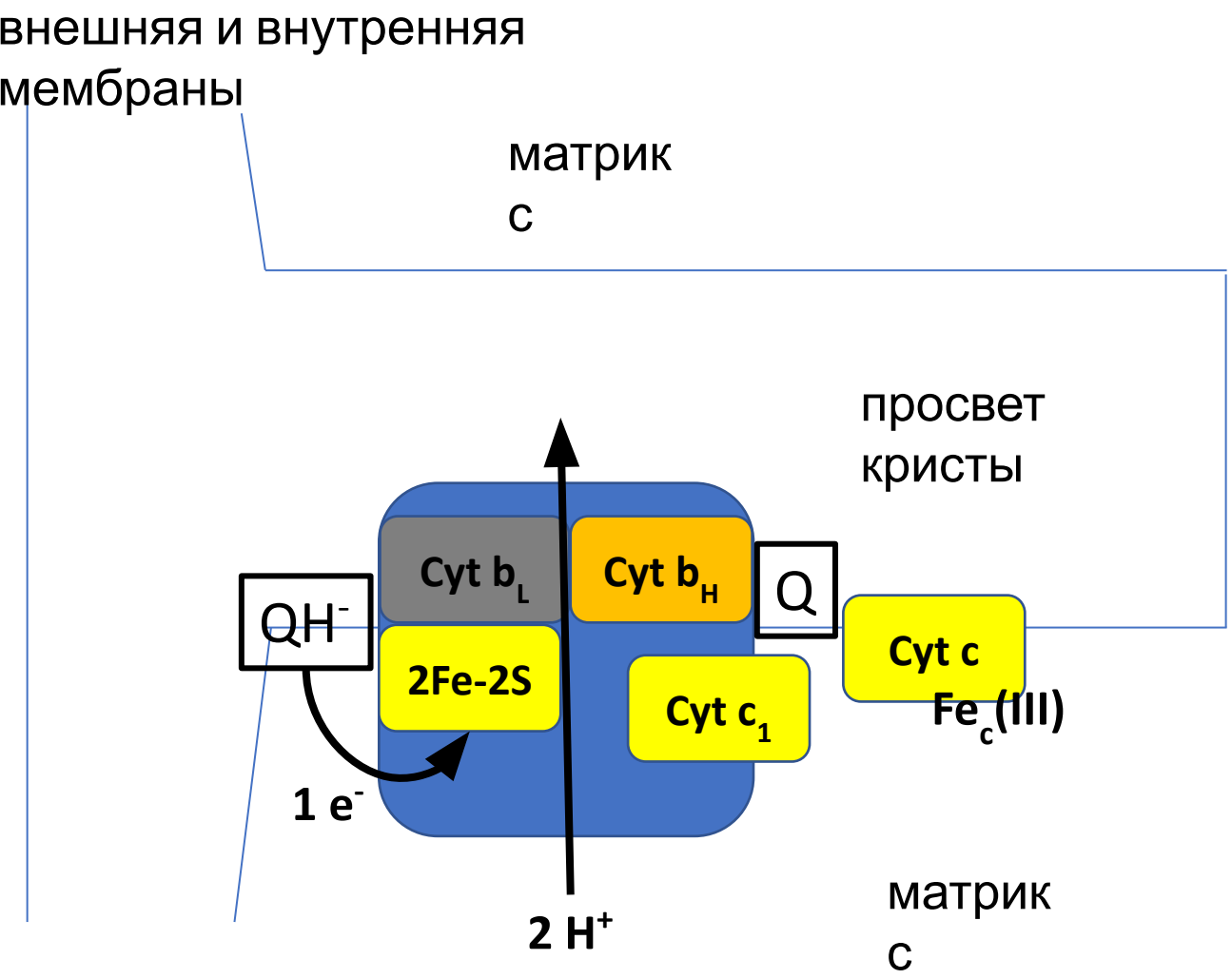

- Комплекс III – это убихинон:цитохром с редуктаза
- Представляет собой димер, каждый из мономеров которых состоит из 11 субъединиц
- Каталитические субъединицы: цитохром b ($b_L$ и $b_H$), цитохром $c_1$, цитохром c и 2Fe-2S-кластер
- При передаче электронов осуществляется так-называемый Q-цикл
- Суммарно, на 1 пару электронов

# Комплекс III цепи переноса электронов



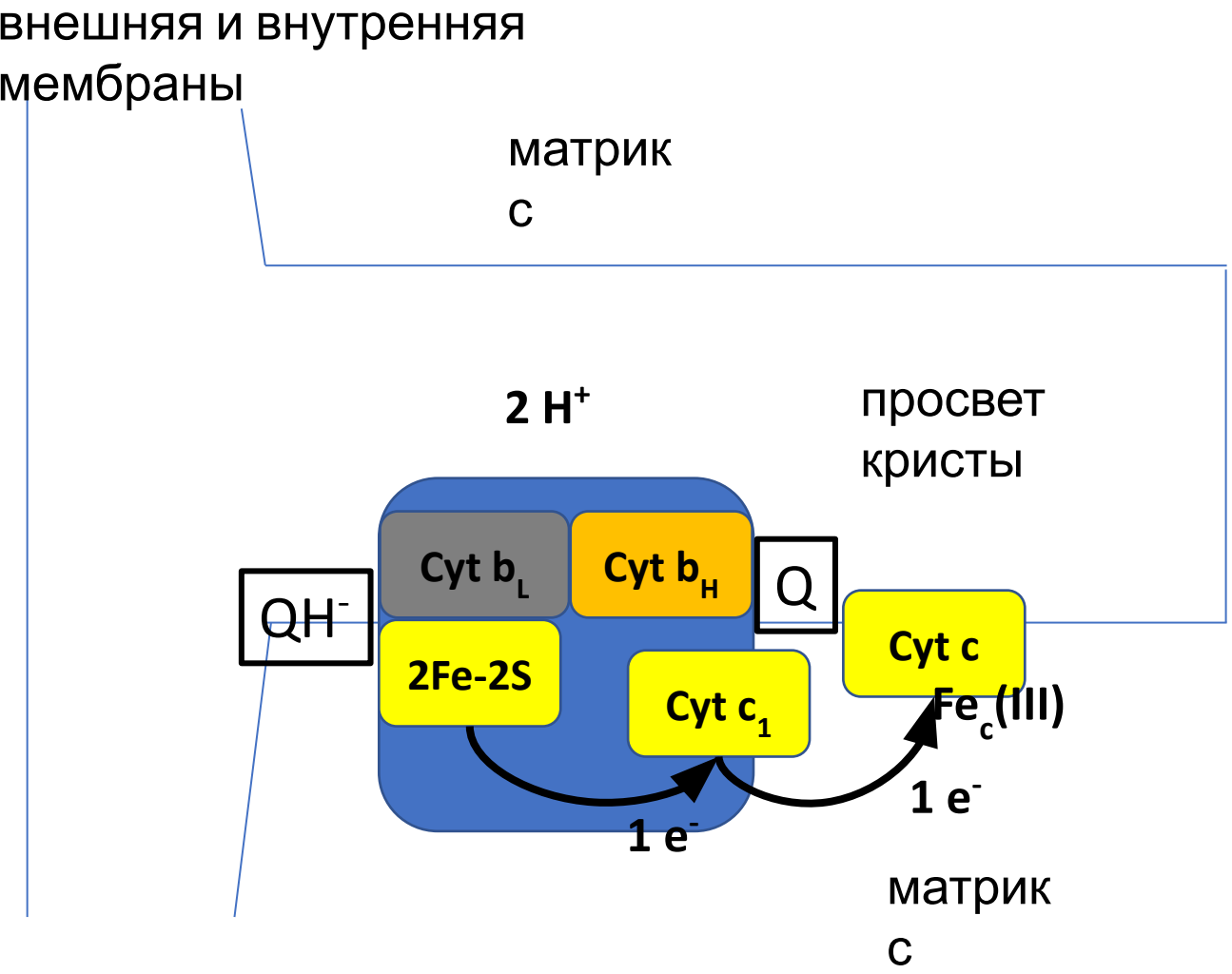

- $QH_2$ связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом $b_L$, окисленная форма (Q) – рядом с цитохромом $b_H$

# Комплекс III цепи переноса электронов



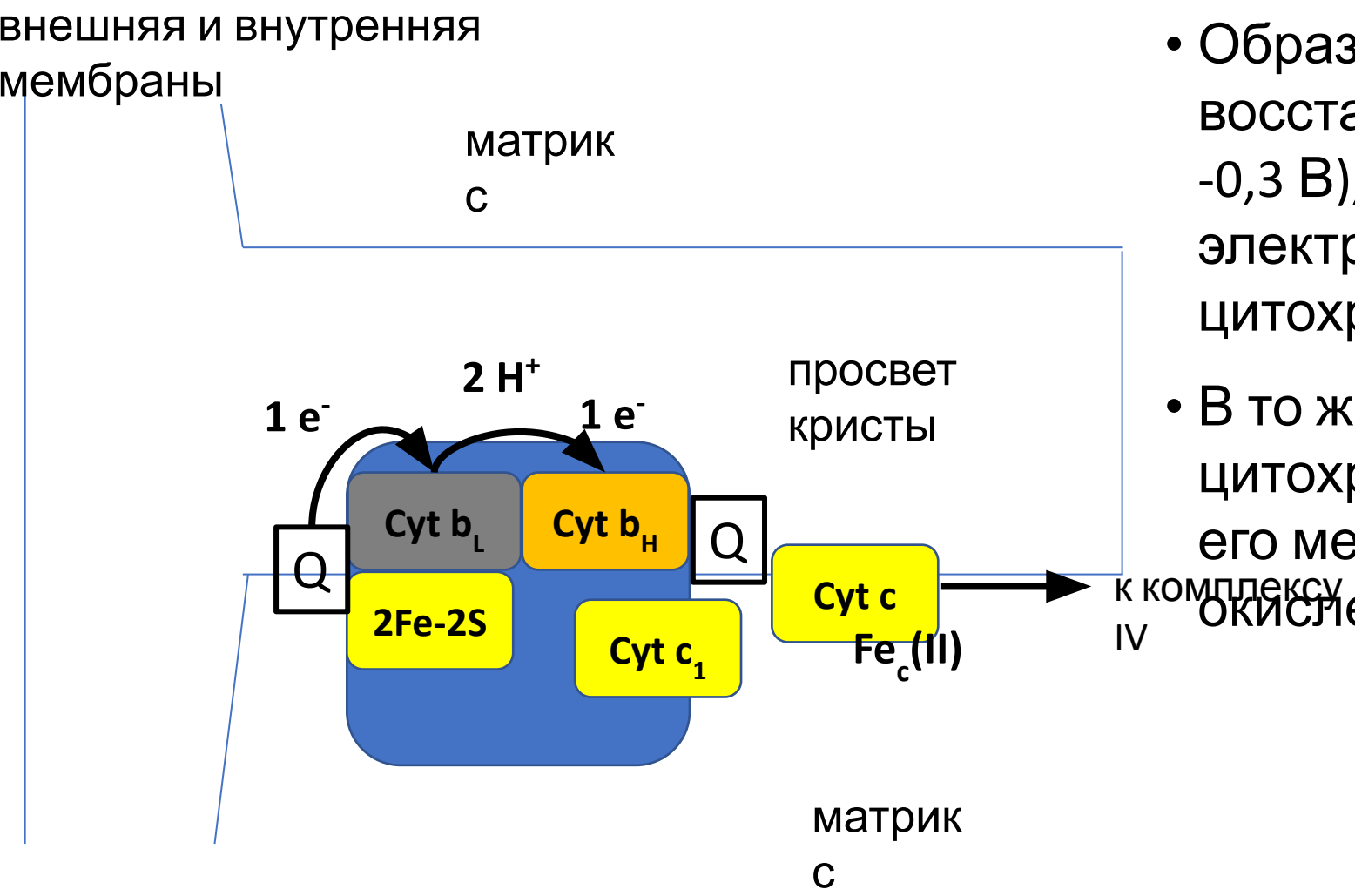

- $QH_2$ связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом $b_L$
- 1 электрон $QH_2$ отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон ($QH^-$)
- При этом 2 $H^+$ переносится из матрикса в просвет кристы

# Комплекс III цепи переноса электронов



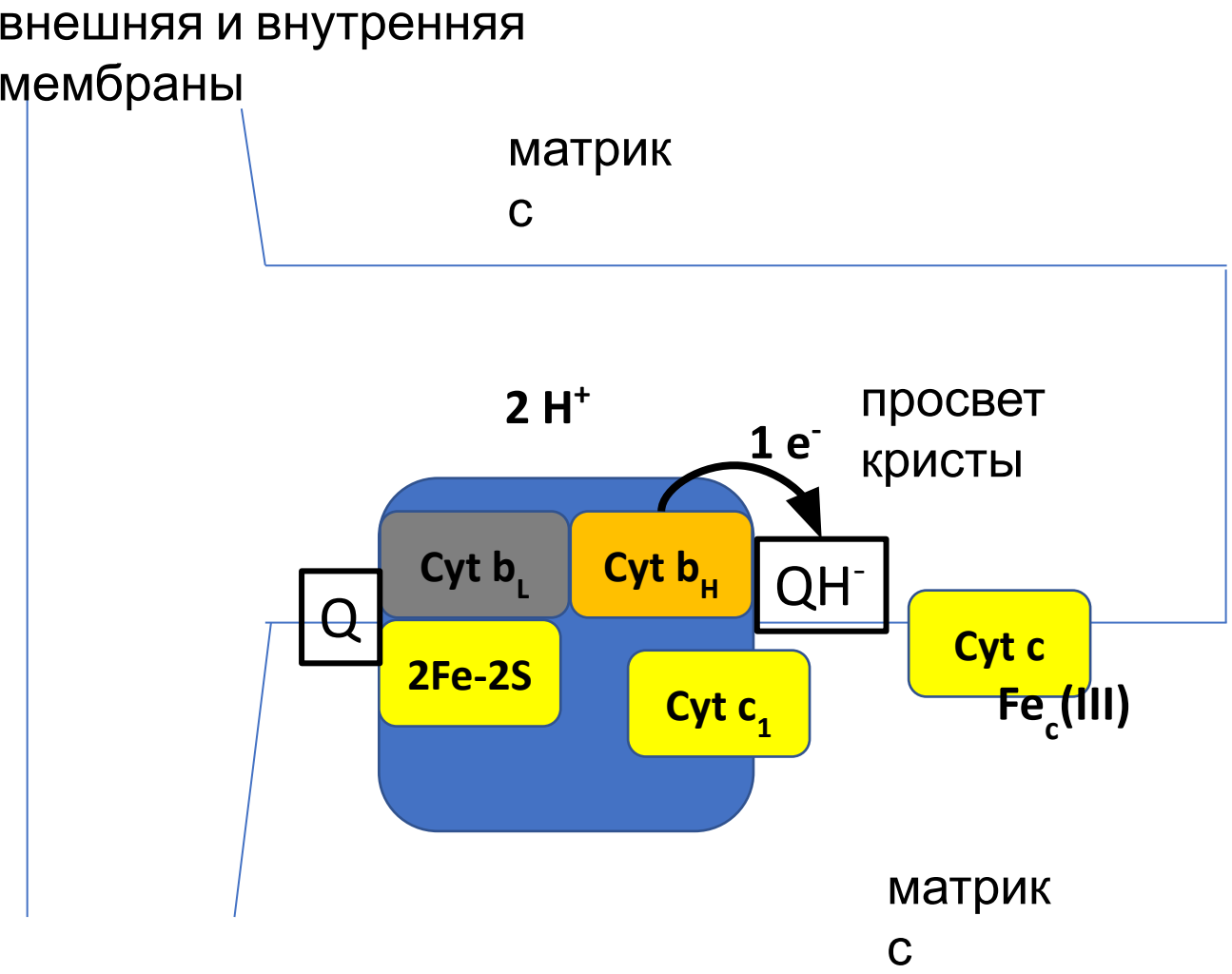

- $QH_2$ связывается с сайтом связывания рядом с цитохромом $b_L$
- 1 электрон $QH_2$ отдает 2Fe-2S-кластеру, превращаясь в семиубихинон ($QH^-$)
- При этом 2 $H^+$ переносится из матрикса в просвет кристы
- Электрон от 2Fe-2S переходит к цитохрому $c_1$, от него – к цитохрому c (мобильный)

# Комплекс III цепи переноса электронов



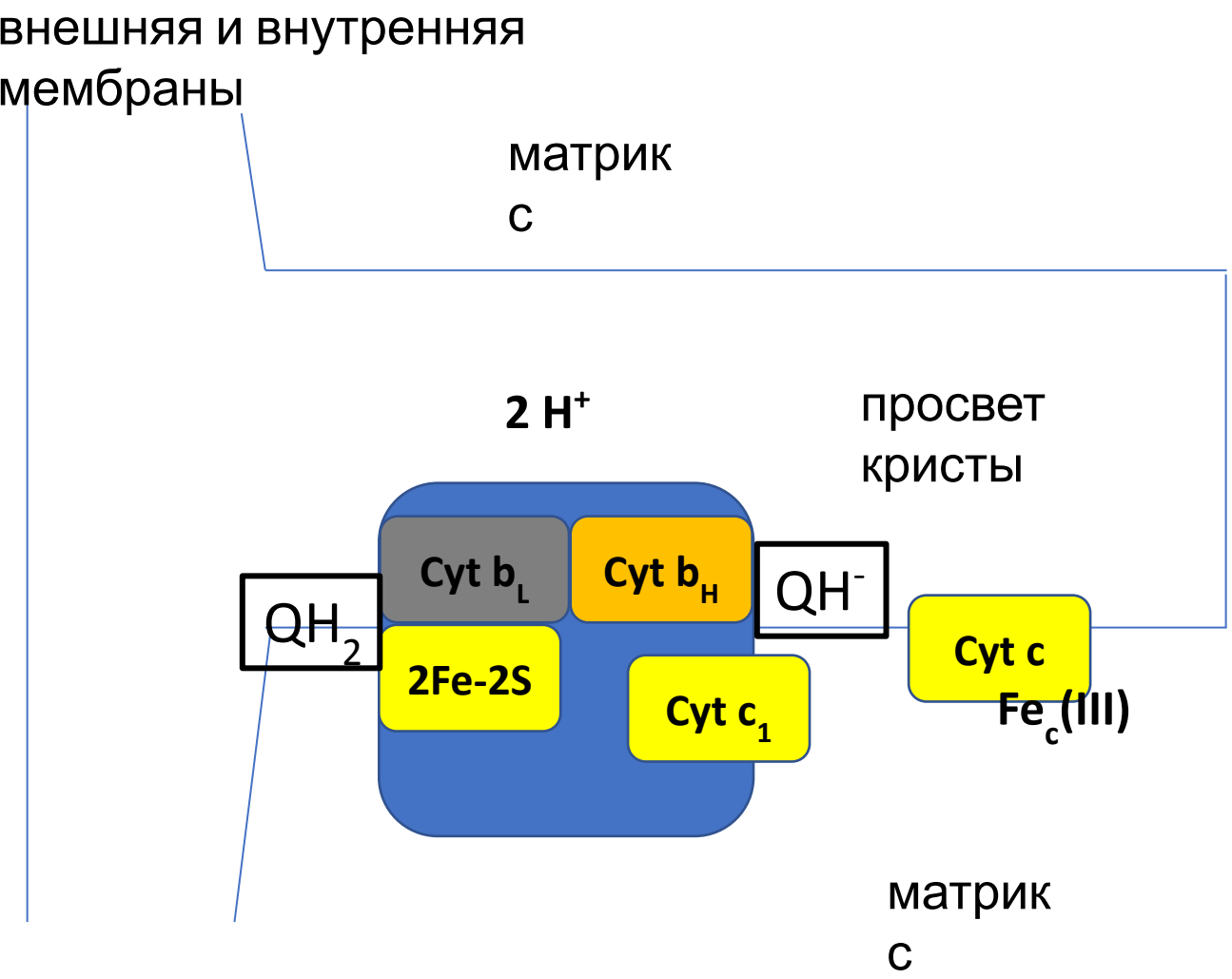

- Образовавшийся $QH^-$ более сильный восстановитель, чем $QH_2$ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому $b_L$, а тот – цитохрому $b_H$
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный

# Комплекс III цепи переноса электронов



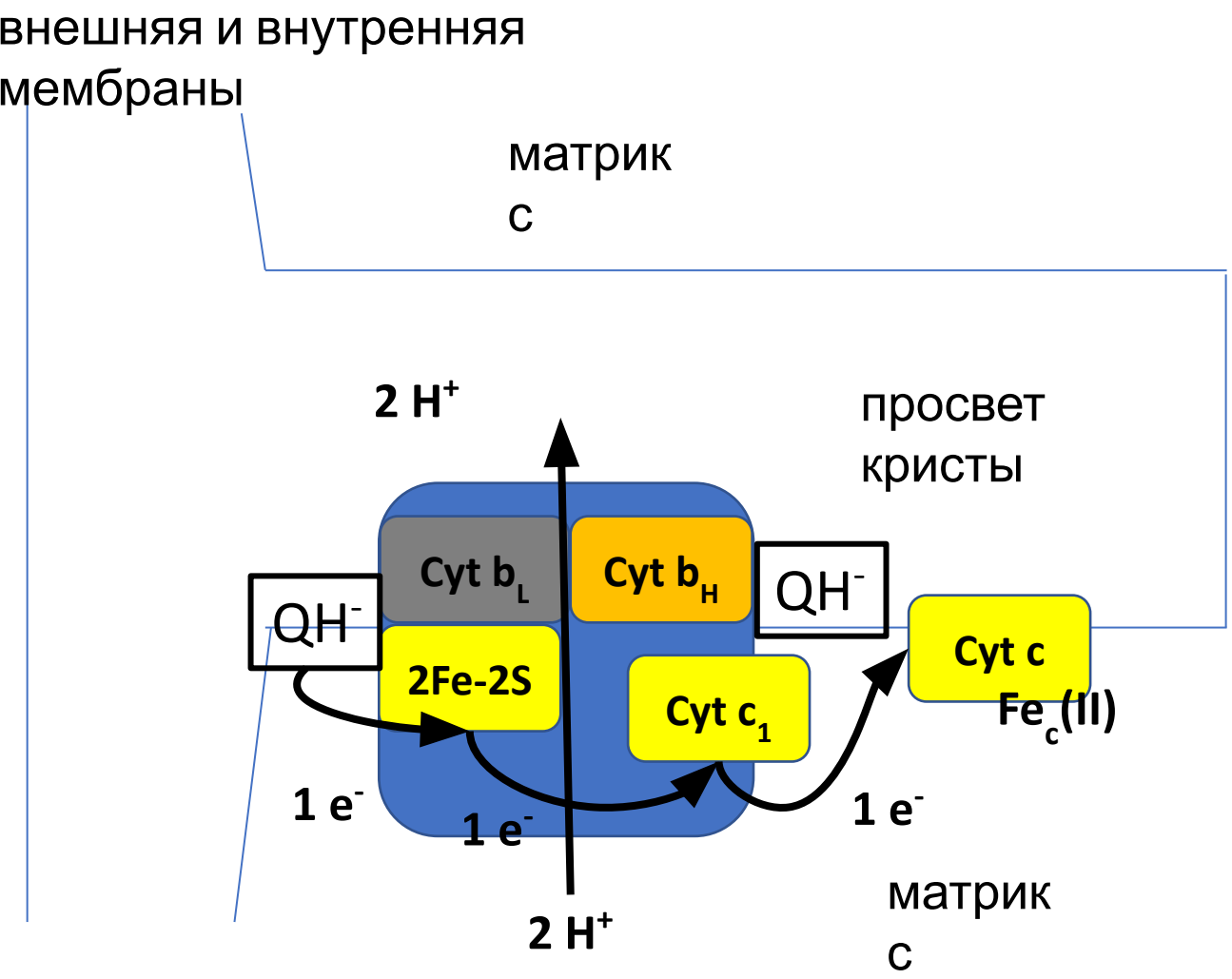

- Образовавшийся $QH^-$ более сильный восстановитель, чем $QH_2$ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому $b_L$, а тот – цитохрому $b_H$
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный
- Цитохром $b_H$ передает электрон второму окисленному убихинону, в результате чего образуется семиубихинон ($QH^-$)

# Комплекс III цепи переноса электронов



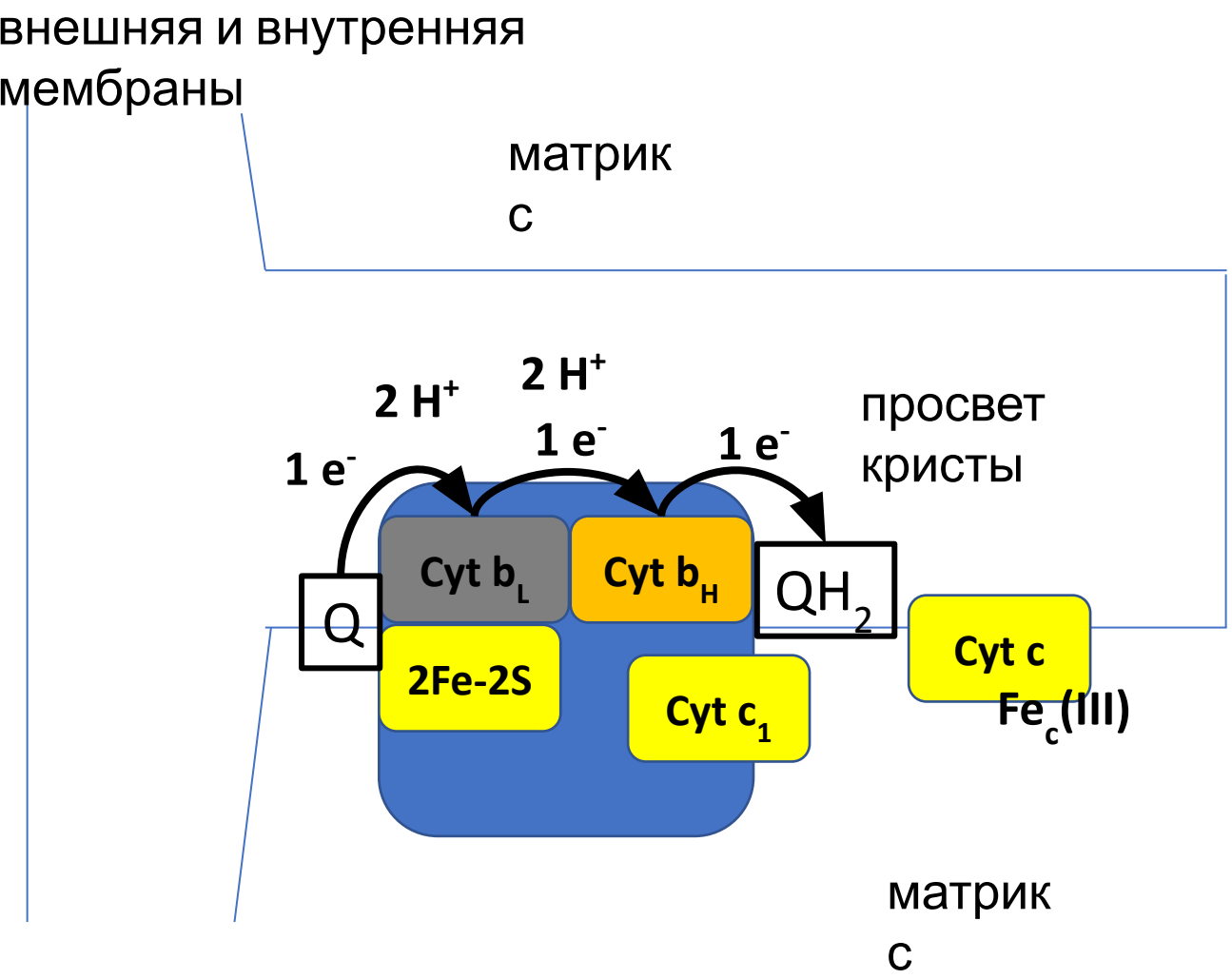

- Образовавшийся $QH^-$ более сильный восстановитель, чем $QH_2$ (-0,39 В vs -0,3 В), поэтому он быстро отдает электрон цитохрому $b_L$, а тот – цитохрому $b_H$
- В то же время восстановленный цитохром с уходит к комплексу IV, на его место приходит другой окисленный
- Цитохром $b_H$ передает электрон второму окисленному убихинону, в результате чего образуется семиубихинон ($QH^-$)
- На место окисленного убихинона к

# Комплекс III цепи переноса электронов




- 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




- 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
- 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 с
- 4 $H^+$ перенесены в просвет кристы

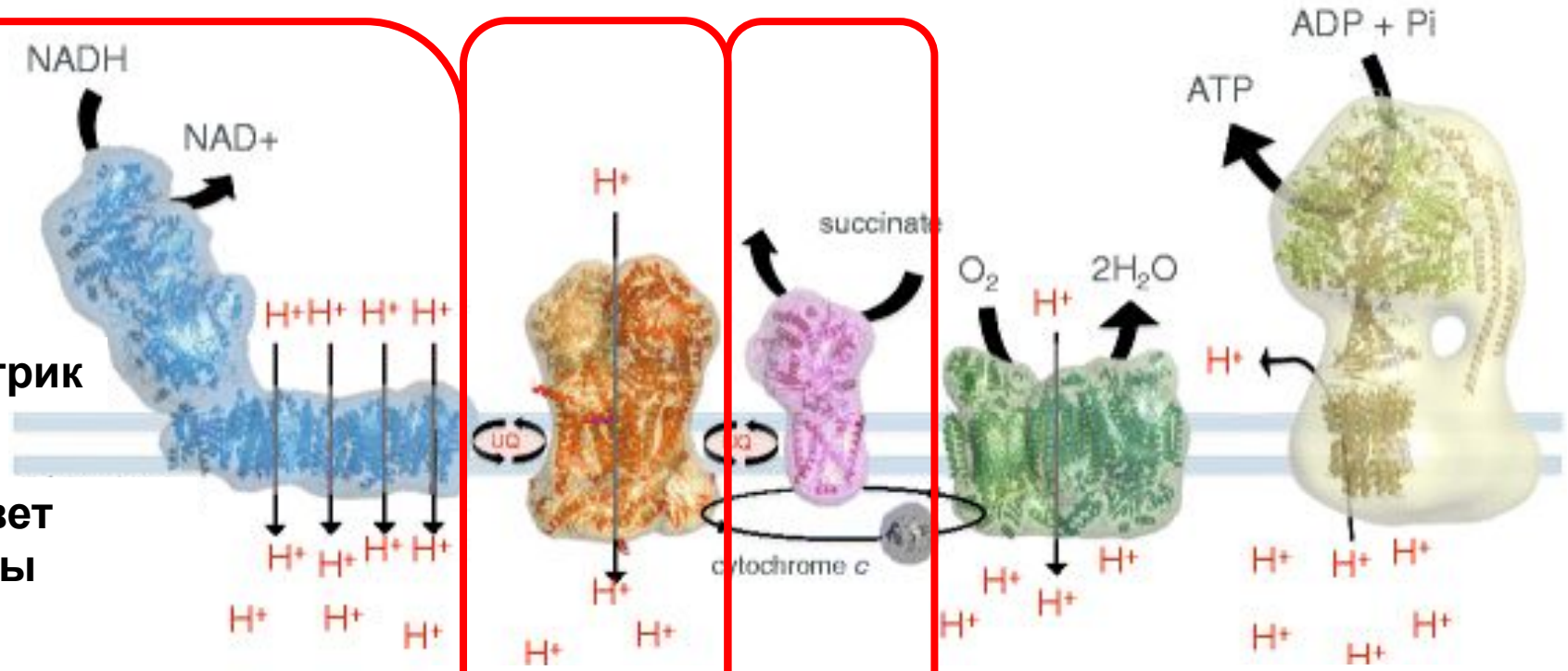
# Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

матрикс

просвет кристы

pH=7,2-7,4




Комплекс I NADH-дегидрогеназный

Комплекс III цитохром с редуктазный

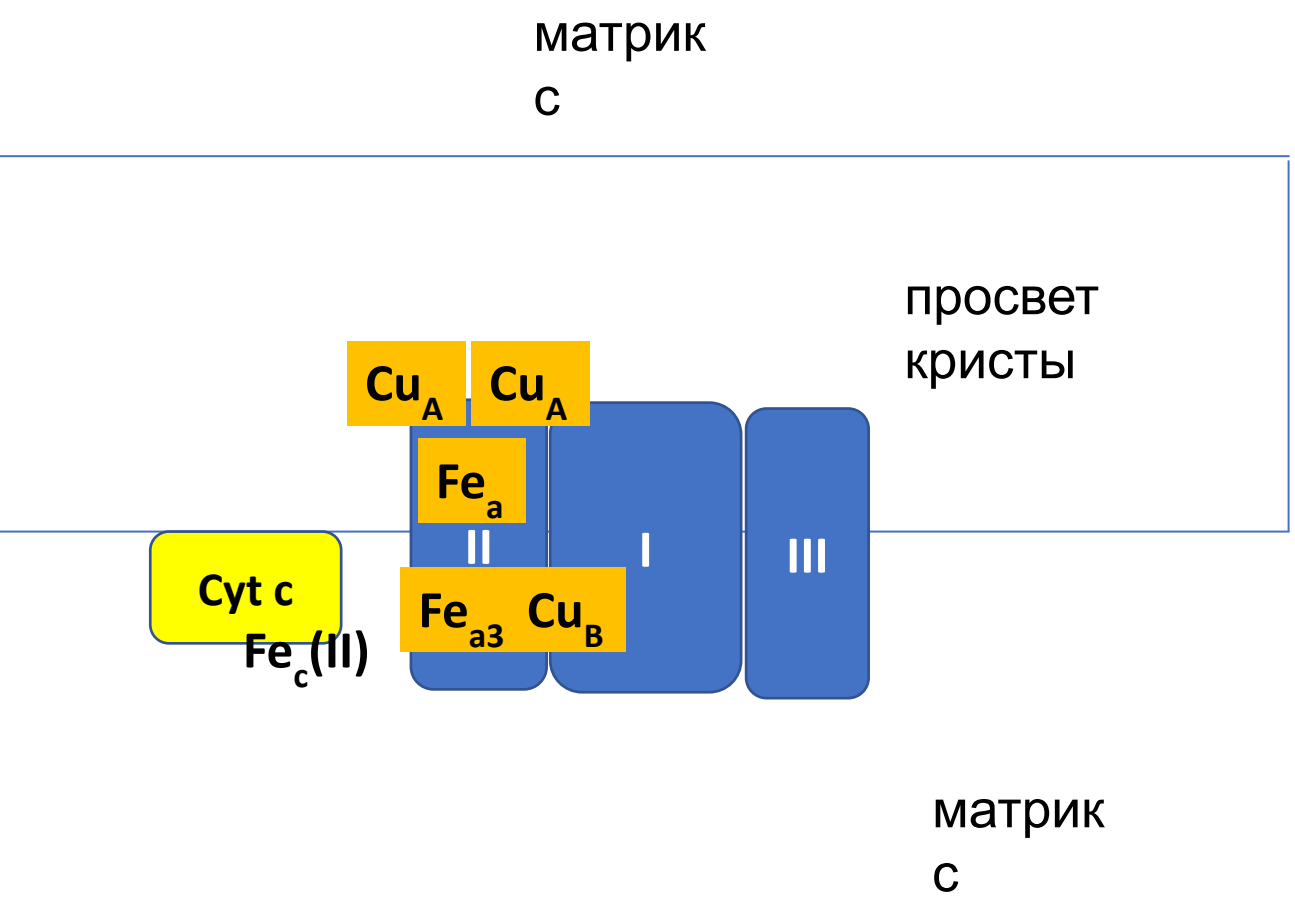
Комплекс II сукцинат дегидрогеназный

Комплекс IV цитохром с оксидазный

Комплекс V АТФ-синтазный

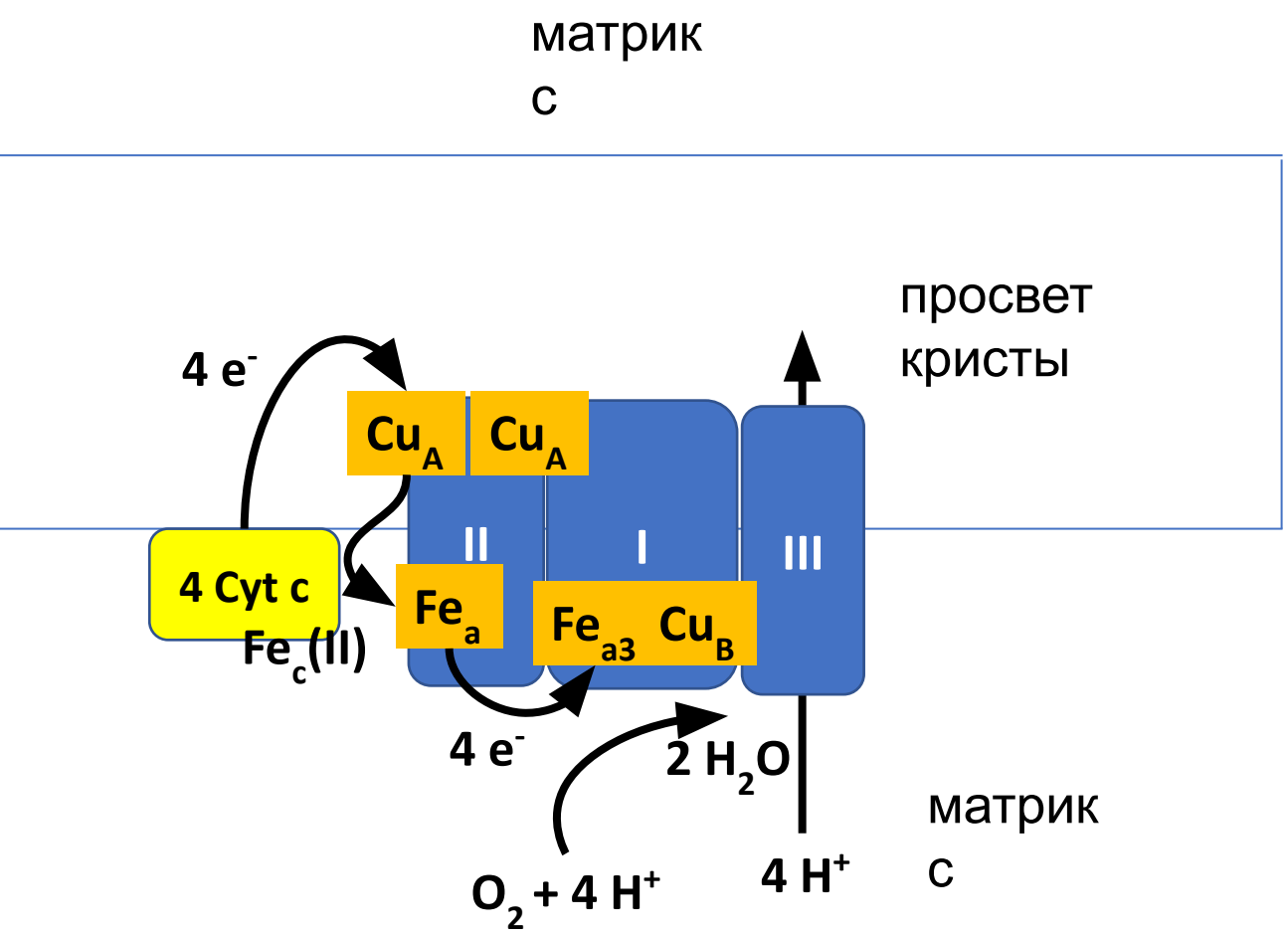
Kühlbrandt, W. Structure and function of mitochondrial membrane protein complexes. BMC Biol 13, 89 (2015). https://doi.org/10.1186/s12915-015-0201-x

# Комплекс 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 $Fe_{a3}$-$Cu_B$, 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 $H^+$

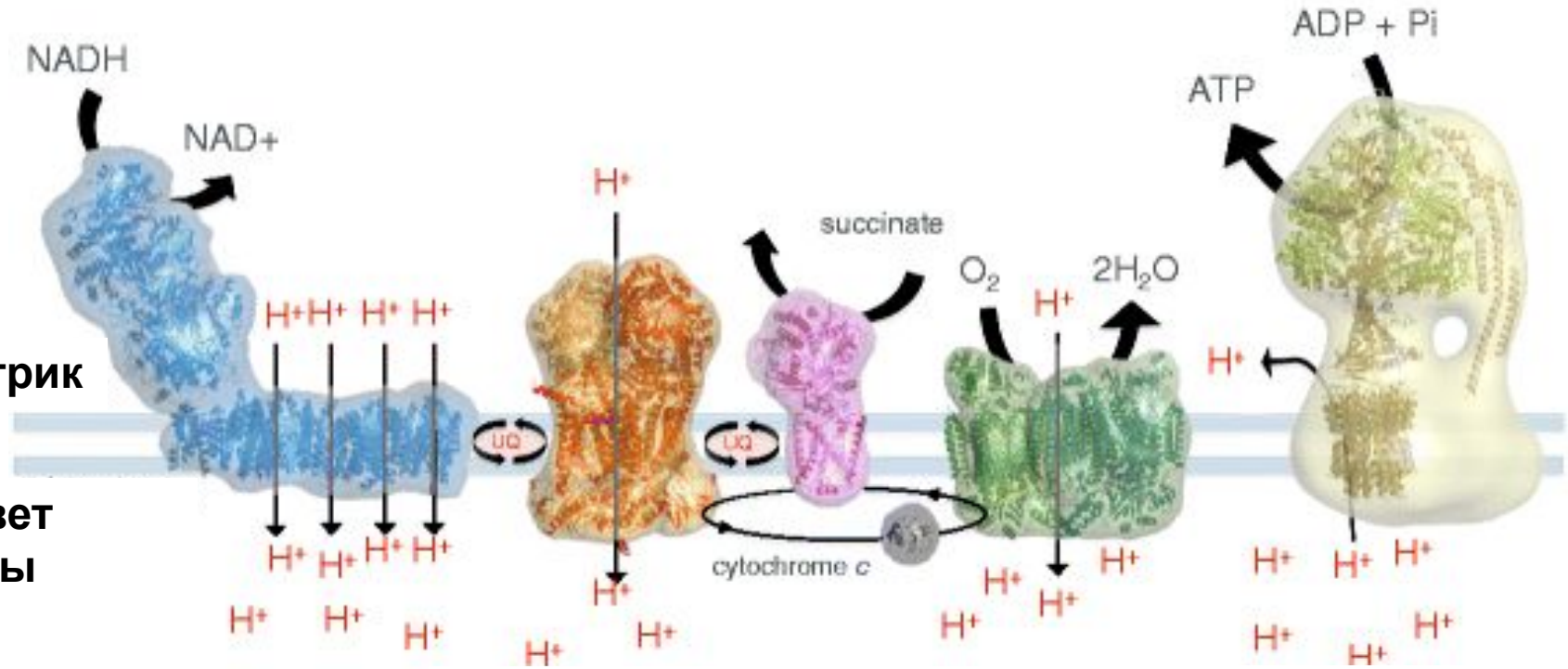
# Комплексы цепи переноса электронов

pH=7,9-8,0

матрикс

просвет кристы

pH=7,2-7,4




**Комплекс I NADH-дегидрогеназный**
**4 $H^+$**

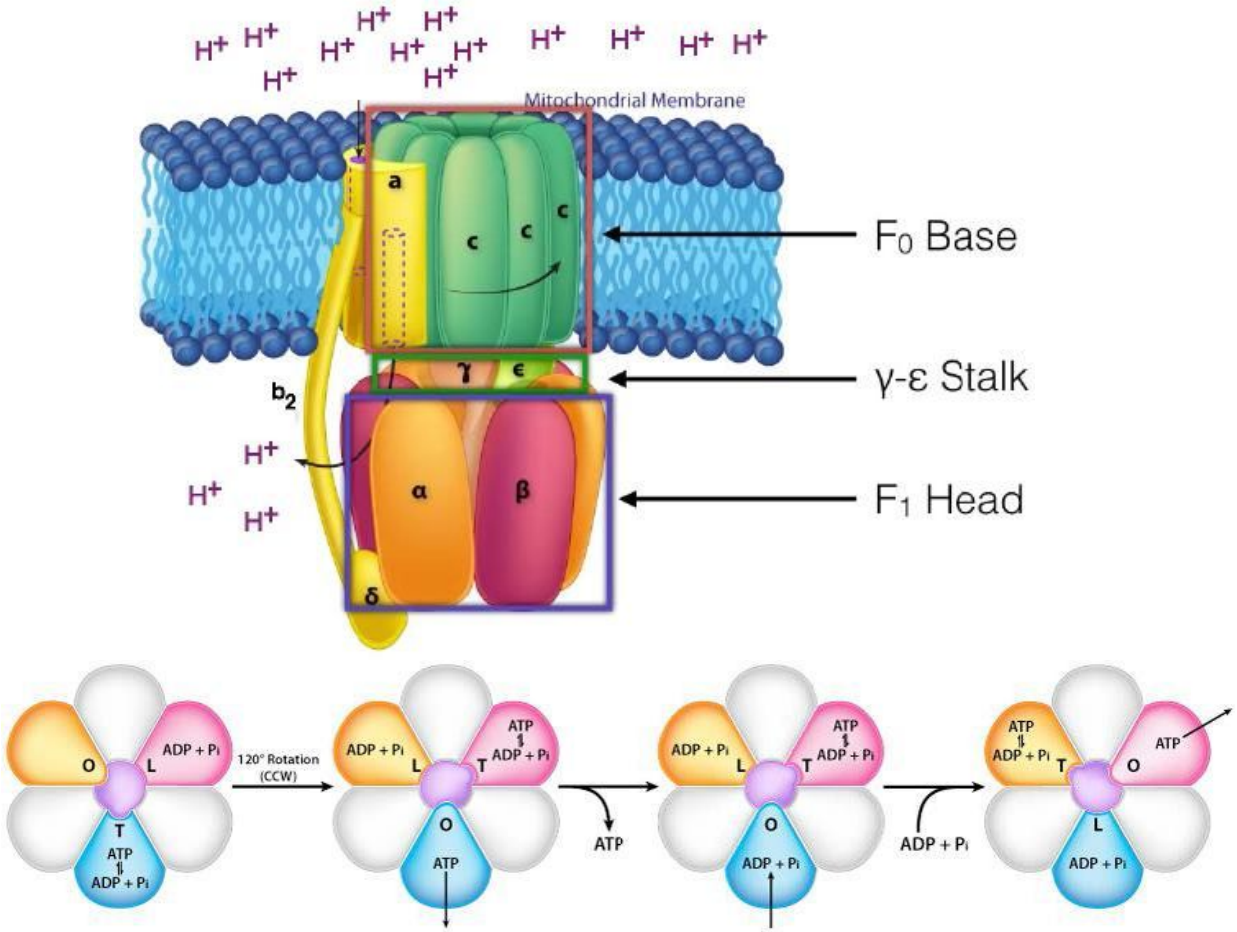
**Комплекс III цитохром с редуктазный**
**4 $H^+$**

**Комплекс II сукцинат дегидрогеназный**

**Комплекс IV цитохром с оксидазный**
**2 $H^+$**

**Комплекс V АТФ-синтазный**

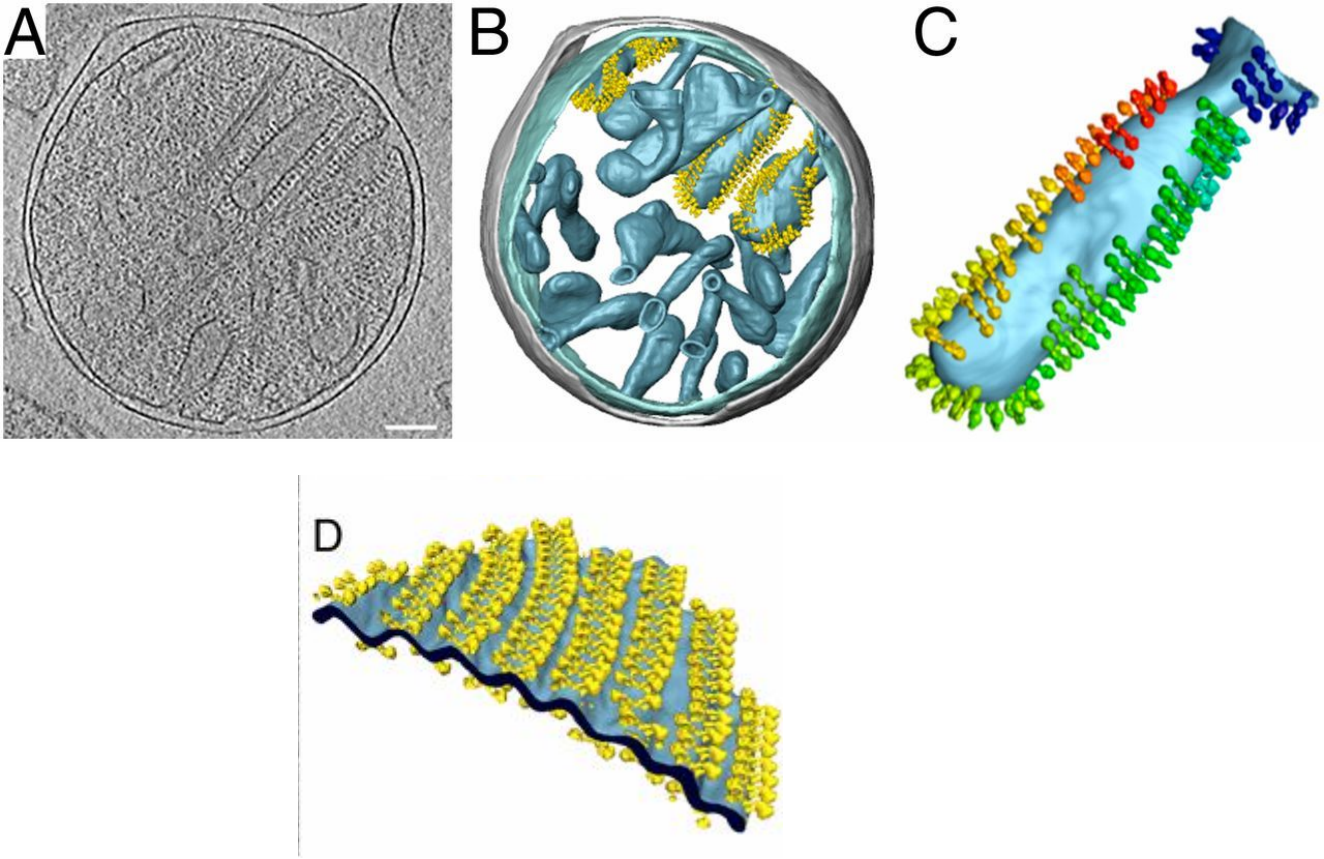
# Комплекс V цепи переноса электронов




* 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

- АТФ-синтазы состоят из двух доменов: $F_0$ (встроен в мембрану) и $F_1$ (выходит в матрикс)
- $F_0$ образован кольцом из с-доменов
- 3 α- и 3 β-субъединицы образуют каталитический центр домена $F_1$
- Субъединицы γ, δ и ε формируют стебель, 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 ≈ 2,9 для митохондрий и 3,9 для хлоропластов *. Это числа почти

# Расположение комплекса V (АТФ-синтазы) на кристах

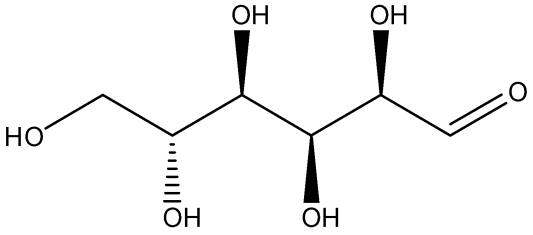



- АТФ-синтазы встроены в кристы в виде димеров и расположены целыми рядами
- Это необходимо, чтобы $H^+$ не утекали из просвета крист в межмембранное пространство
- Так эффективнее идет синтез АТФ
- У бактерий этого нет
- Такая плотность молекул АТФ-синтазы изгибает мембрану крист

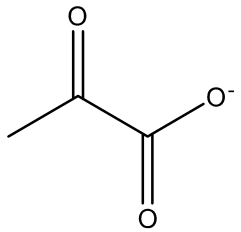
Thorsten B. Blum, Alexander Hahn, Thomas Meier, Karen M. Davies, Werner Kühlbrandt. Dimers of mitochondrial ATP synthase induce membrane curvature and self-assemble into rows // Proceedings of the National Academy of Sciences Mar 2019, 116 (10) 4250-4255; DOI: 10.1073/pnas.1816556116

# Итоги гликолиза, ПДК, ЦТК и ЦПЭ

Цитоплазма

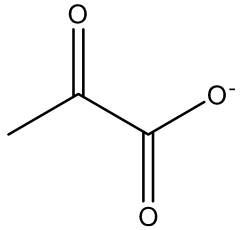


$+ 2\ NAD^+ + 2$ АДФ $+ 2\ HPO_4^{2-} \longrightarrow 2$

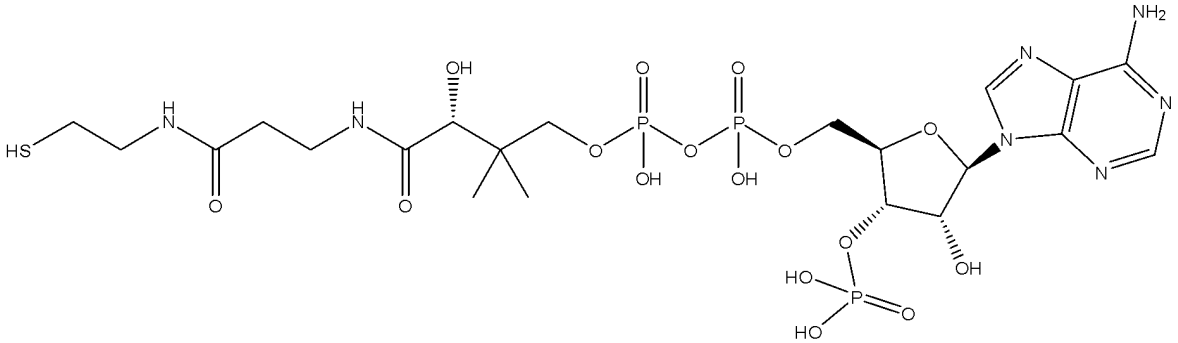


$+ 2\ NADH + 2$ АТФ $+ 2H+ + 2\ H_2O$

*не попадают в ЦПЭ*



$+ NAD^+ +$



Матрикс митохондрий

$\longrightarrow CoA\text{-}SCOCH_3 + CO_2 + NADH$ **x2**

Матрикс и внутренняя мембрана митохондрий

$CoA\text{-}SCOCH_3 + 3\ NAD^+ + FAD +$ ГДФ $+ HPO_4^{2-} \longrightarrow CoA\text{-}SH + 3\ NADH + FADH_2 +$ ГТФ $+ 2\ CO_2$ **x2**

8 NADH → 80 $H^+$ → 27 АТФ

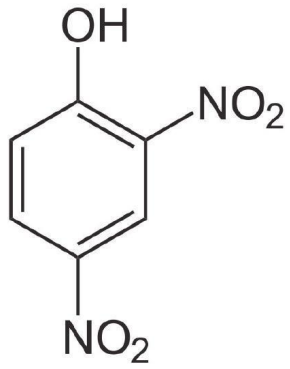
2 $FADH_2$ → 12 $H^+$ → 4 АТФ

**Общая сумма**: 33 АТФ + 2 ГТФ

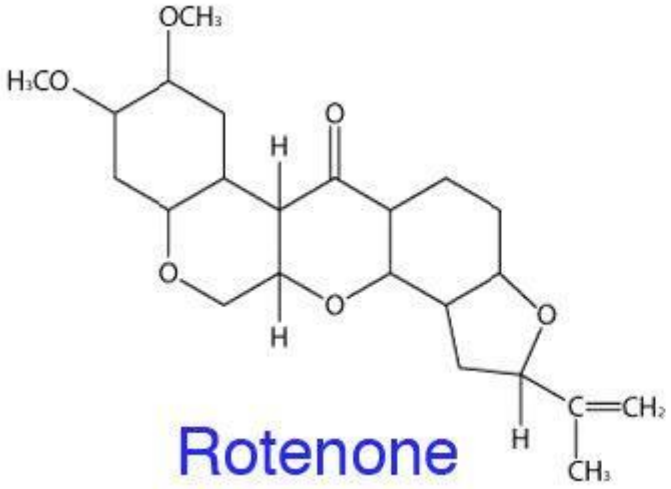
**Но это только в идеальной ситуации, на самом деле почти на всех этапах ЦПЭ происходит «подтекание» $e^-$ и $H^+$**

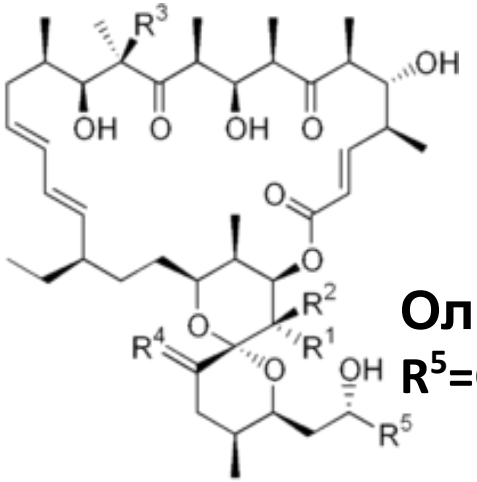
# Ингибиторы цепи переноса электронов

- 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