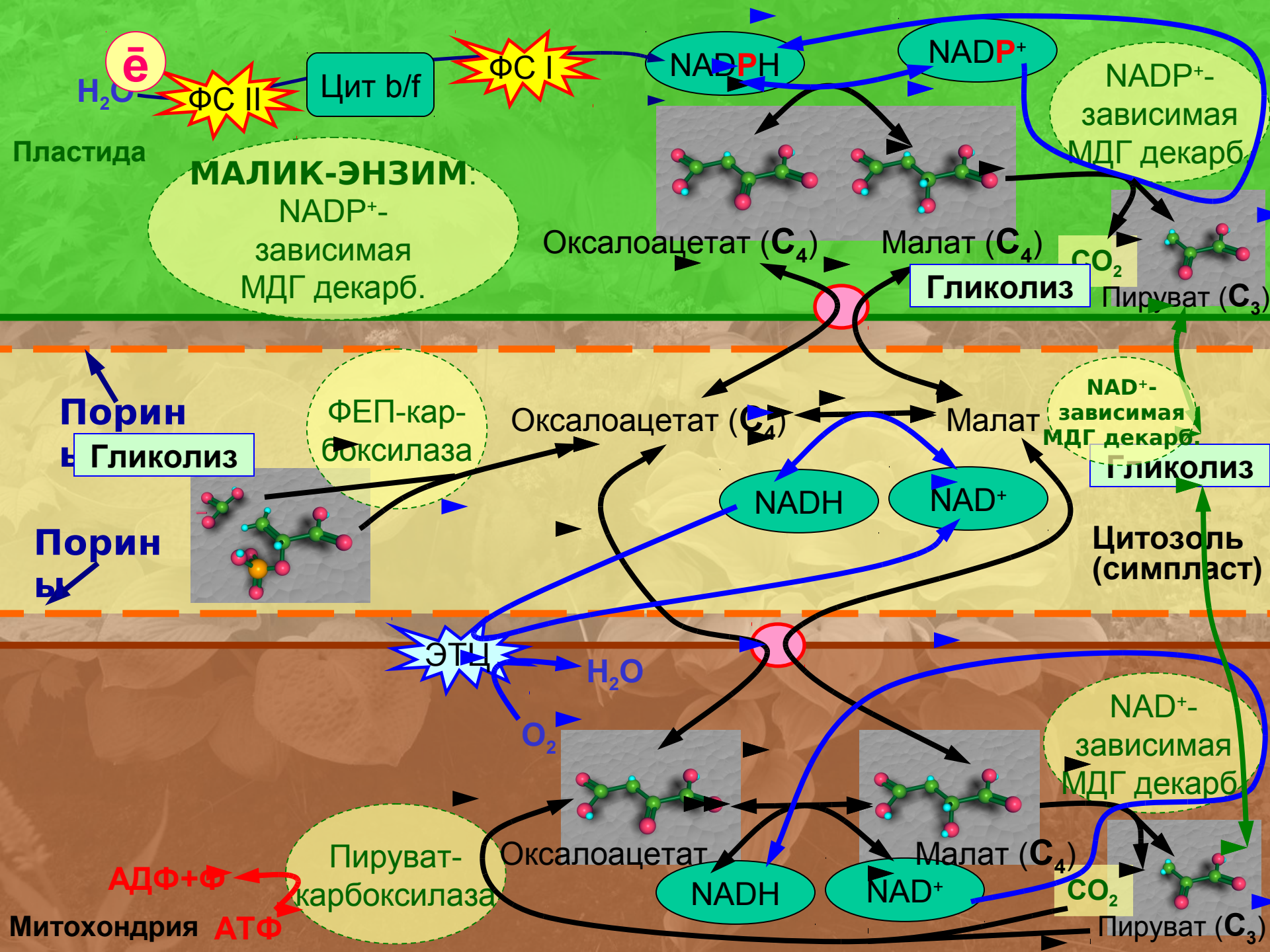
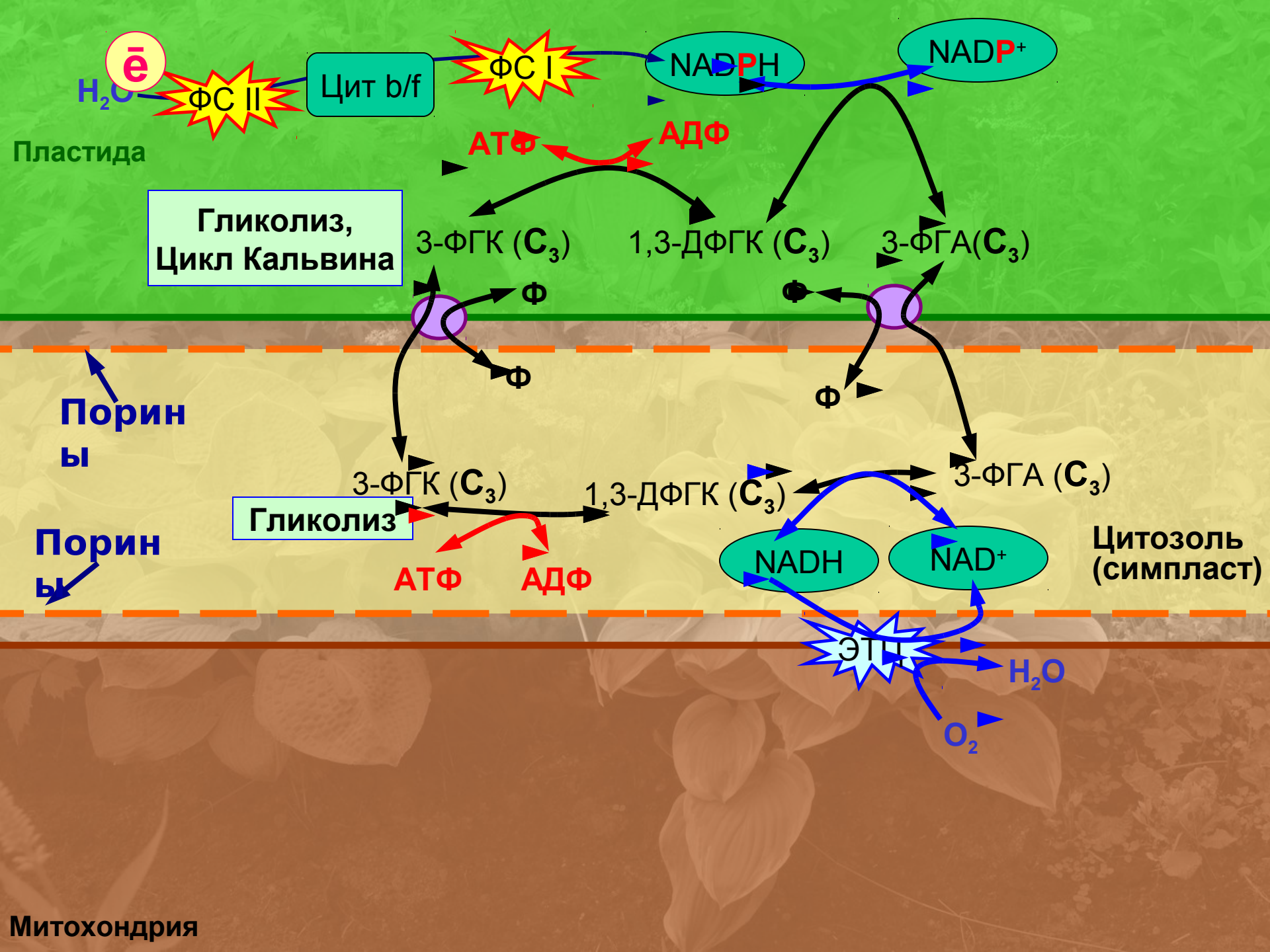
Plant cell as a metabolic puzzle

Компартменты растительной клетки

Поток электронов в растительной клетке


ē
H_2O
ФС II
Цит b/f
ФС I
NADPH
NADP+
NADP+-зависимая МДГ декарб.
Пластида
МАЛИК-ЭНЗИМ:
NADP+-зависимая МДГ декарб.
Оксалоацетат (C_4)
Малат (C_4)
CO_2
Пируват (C_3)
Гликолиз
Порин
Гликолиз
ФЕП-карбоксилаза
Оксалоацетат (C_4)
Малат
NAD+-зависимая МДГ декарб.
Гликолиз
NADH
NAD+
Порин
Цитозоль (симпласт)
ЭТЦ
H_2O
O_2
NAD+-зависимая МДГ декарб.
Пируват-карбоксилаза
Оксалоацетат
Малат (C_4)
NADH
NAD+
CO_2
Пируват (C_3)
АДФ+Ф
АТФ
Митохондрия


ē
H_2O
ФС II
Цит b/f
ФС I
NADPH
$NADP^+$
Пластида
АТФ
АДФ
Гликолиз,
Цикл Кальвина
3-ФГК (C_3)
1,3-ДФГК (C_3)
3-ФГА(C_3)
Ф
Ф
Ф
Ф
Порины
3-ФГК (C_3)
1,3-ДФГК (C_3)
3-ФГА (C_3)
Гликолиз
Порины
АТФ
АДФ
NADH
NAD^+
Цитозоль
(симпласт)
ЭТЦ
H_2O
O_2
Митохондрия

Гликолиз

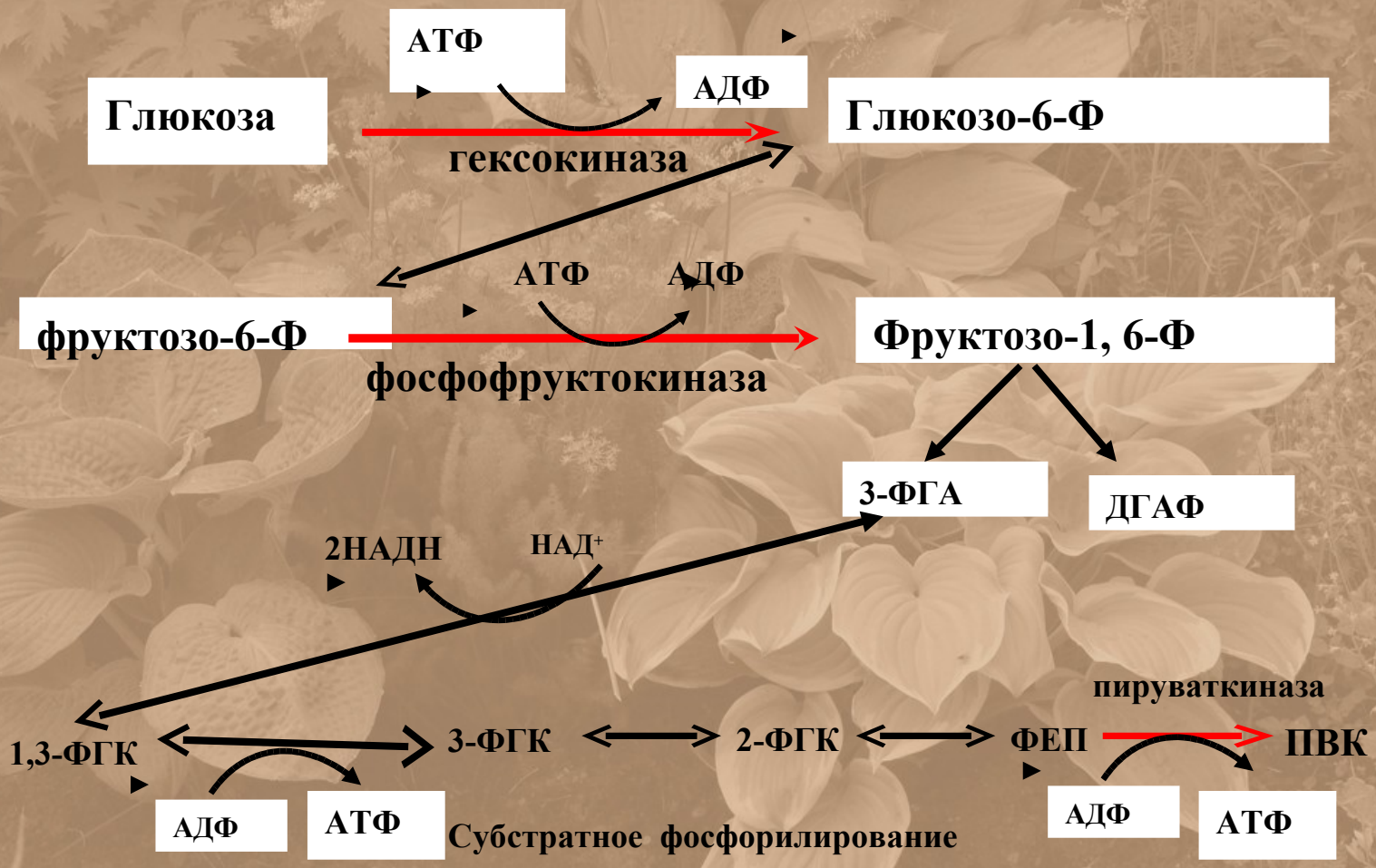
Глюкоза (C_6) → 2 Пируват (C_3)

2АТФ

2НАДН

Сахароза или крахмал

Гликолиз


АТФ
АДФ
Глюкоза
Глюкозо-6-Ф
гексокиназа
АТФ
АДФ
фруктозо-6-Ф
Фруктозо-1, 6-Ф
фосфофруктокиназа
3-ФГА
ДГАФ
2НАДН
НАД+
пируваткиназа
1,3-ФГК
3-ФГК
2-ФГК
ФЕП
ПВК
АДФ
АТФ
Субстратное фосфорилирование
АДФ
АТФ

Протекание гликолиза в клетках растений имеет свои особенности.

Локализация: цитозоль и пластиды

Обратимость гликолиза

Регуляция гликолиза

Глюконеогенез

Гликолиз

Глюкоза ⟶ ⟵ Пируват

Глюконеогенез

(Прорастающие семена)

Синтез сахаров при обращении гликолиза называется глюконеогенезом.

Как растения «обходят» необратимые реакции гликолиза, катализируемые

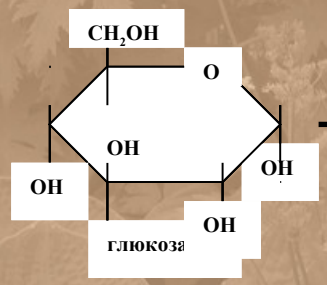
гексокиназой, фосфофруктокиназой, пируваткиназой

Особенности киназных реакций гликолиза

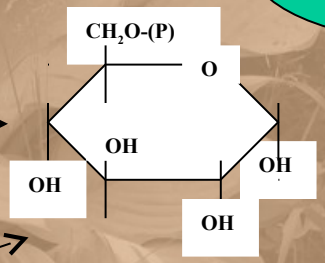
цитозоль

пластиды

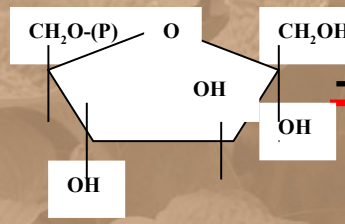
гексокиназа



АТФ ► АДФ



Глюкозо-6-фосфат

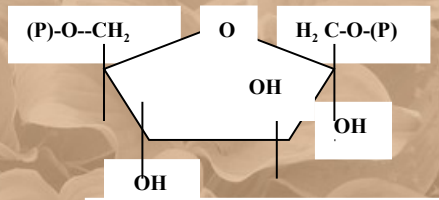


фруктозо-6-фосфат

АТФ ► АДФ

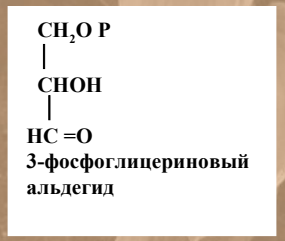
АТФ - фосфофруктокиназа

ФФ - фосфофруктокиназа

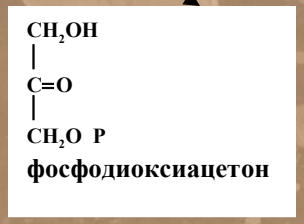


фруктозо-1.6-бисфосфат

альдолаза

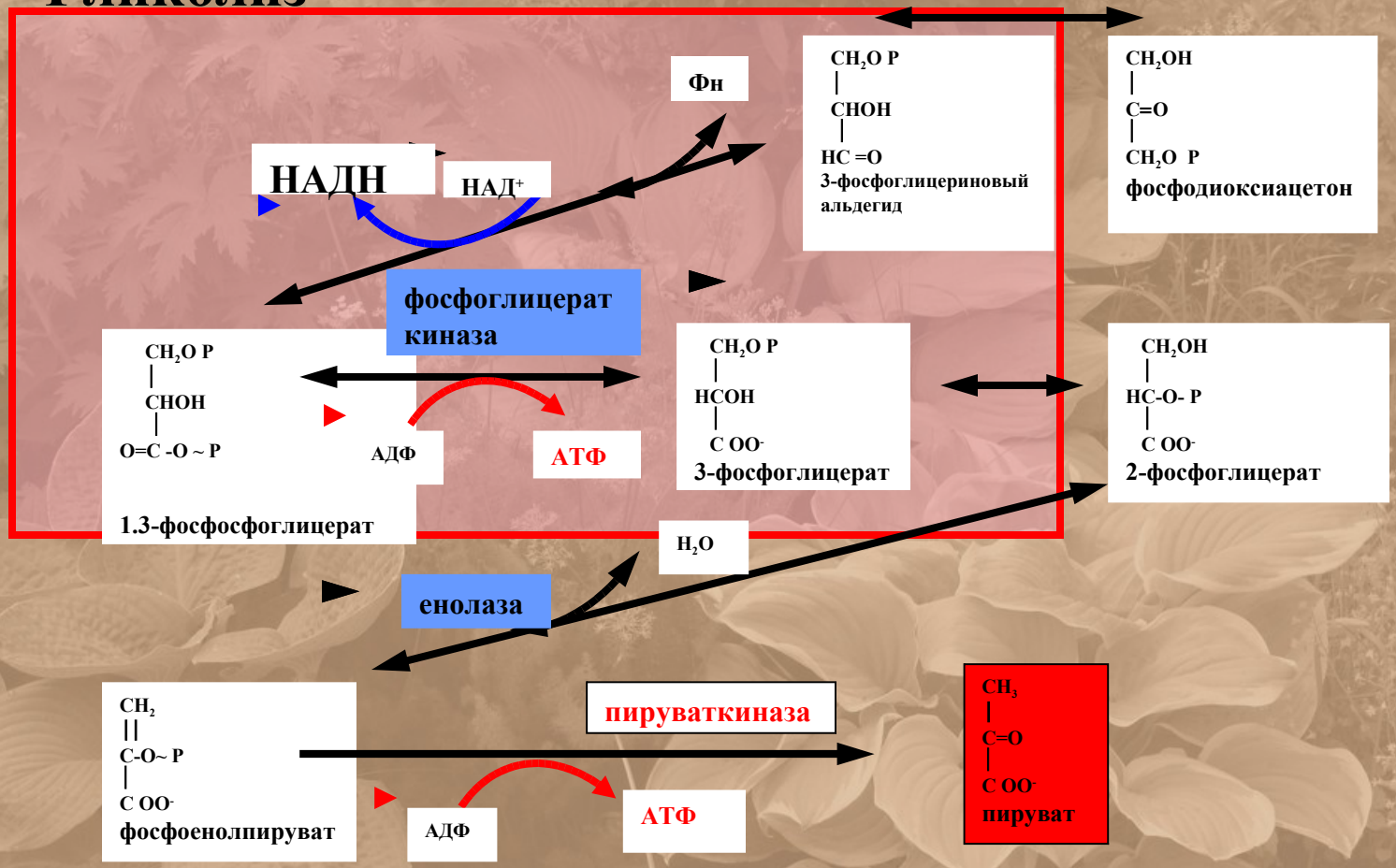


3-фосфоглицериновый альдегид



фосфодиоксиацетон

Гликолиз



Глюкоза + 2НАД$^+$ + 2 Фн + 2 АДФ = 2 пирувата + 2 НАДН + 2Н$^+$ +2 АТФ

Активация спиртового брожения наблюдается при аноксии

Растения проявляют разную устойчивость к этанолу.

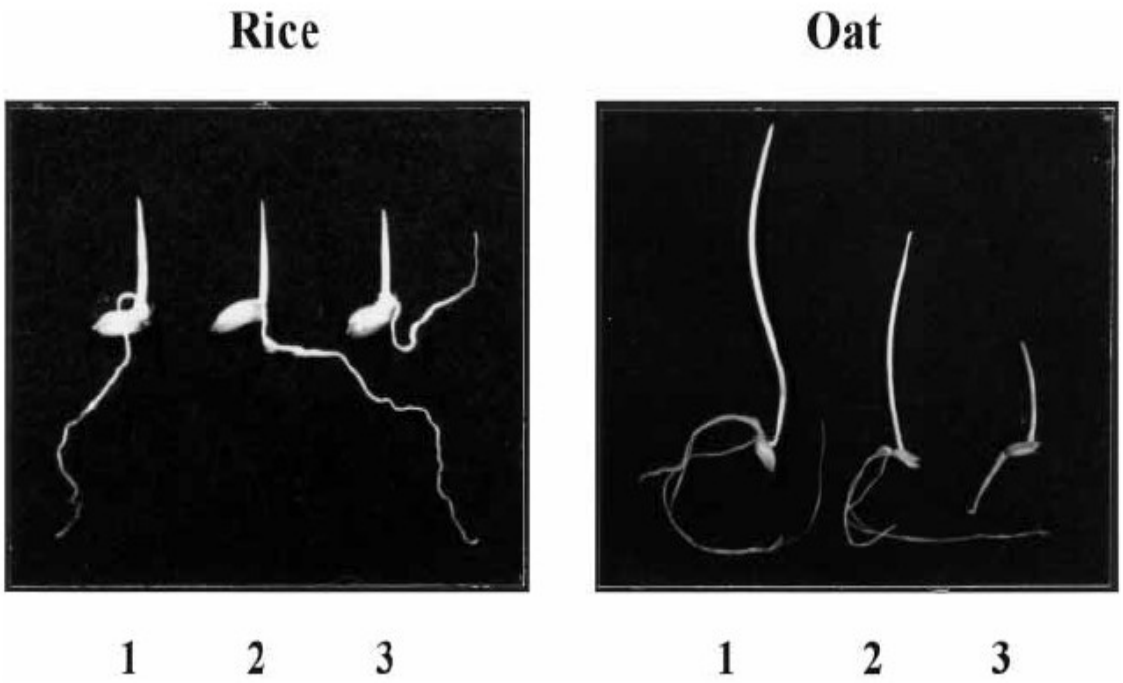
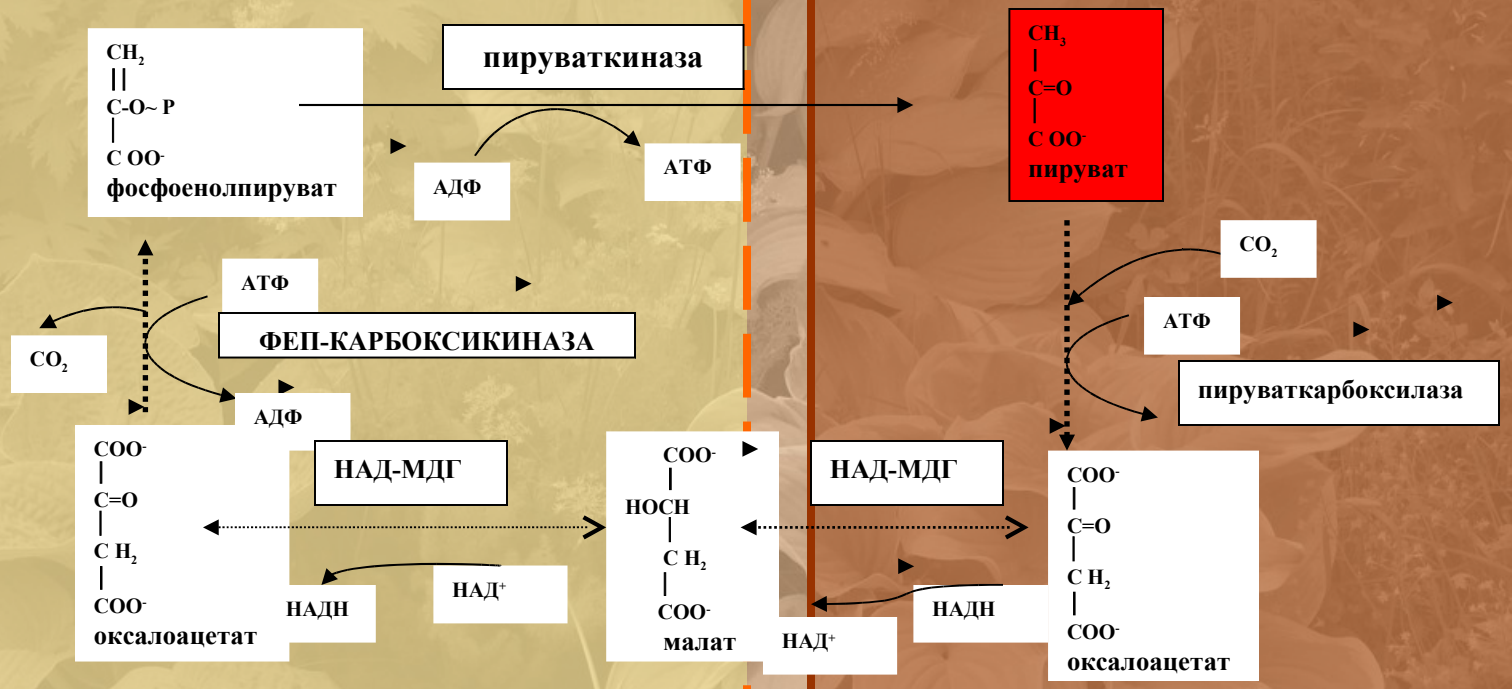


Fig. 1. Effects of ethanol on rice and oat seedlings. Rice and oat seedlings were treated with ethanol in air for 48 h. 1: non-treated, 2: 100 m ethanol, 3: 300 m ethanol.

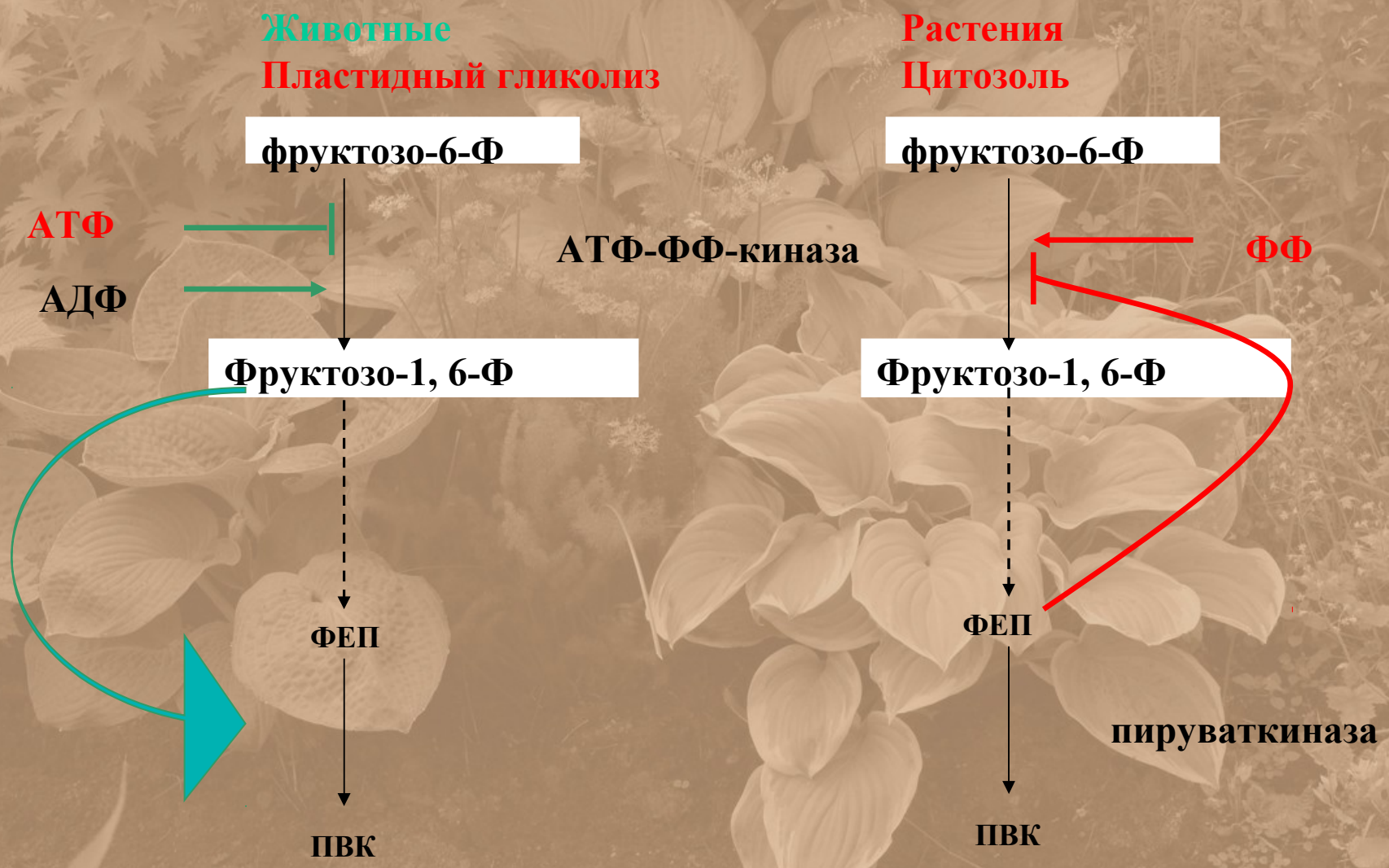
Обращение реакции, катализируемой пируваткиназой



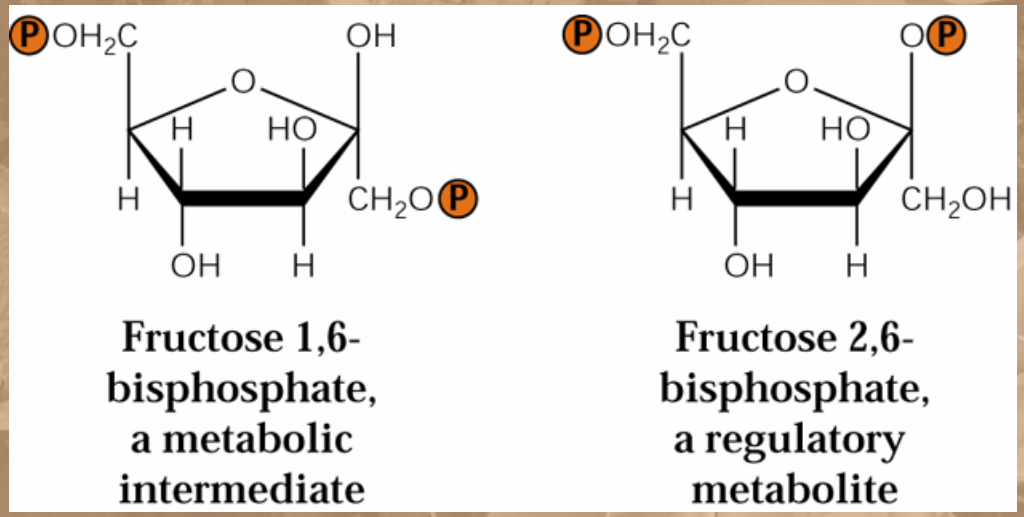
цитозоль

митохондрии

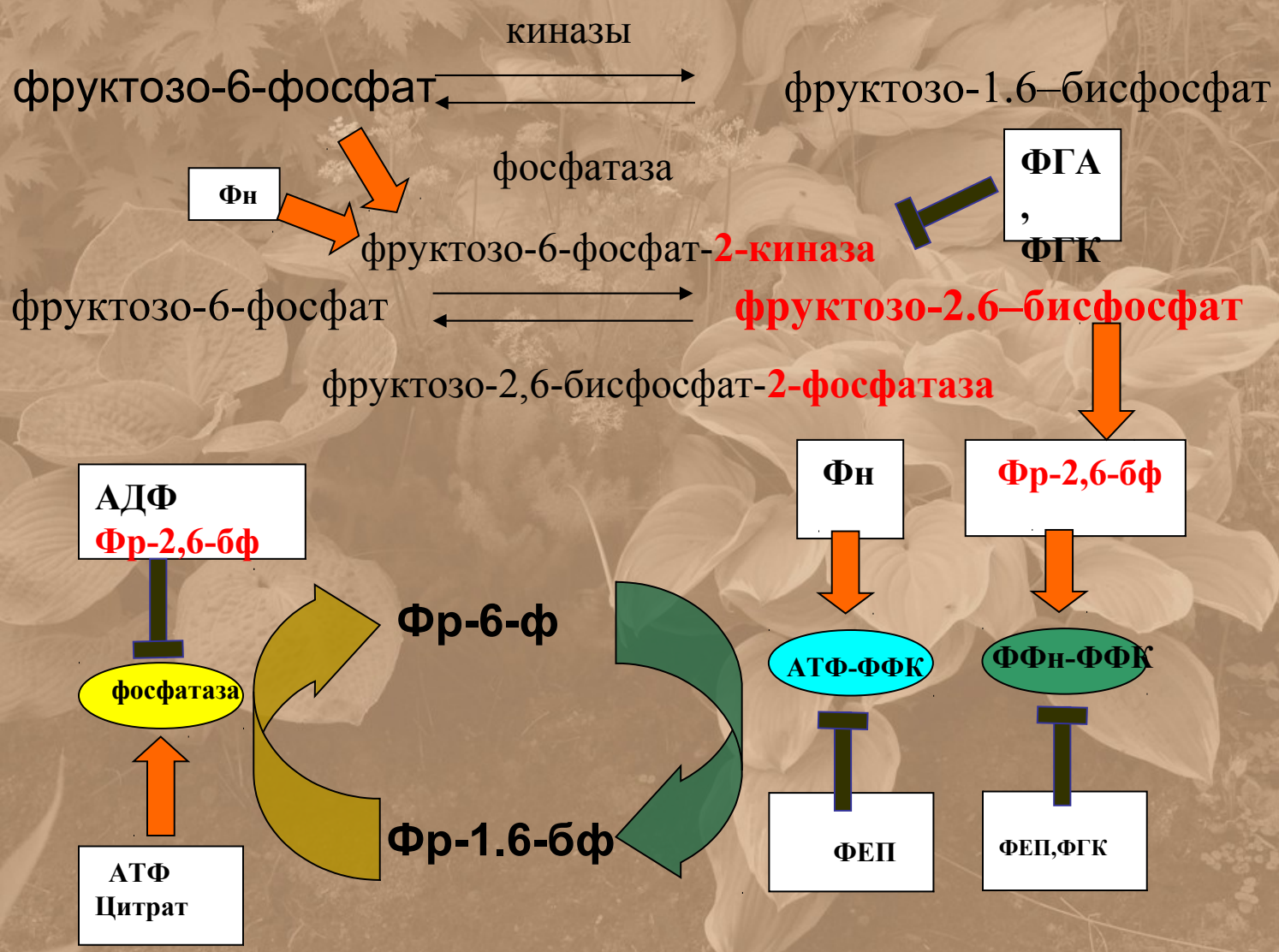
Регуляция гликолиза



Фруктозо 2,6-бисфосфат – регуляторная молекула у всех эукариот

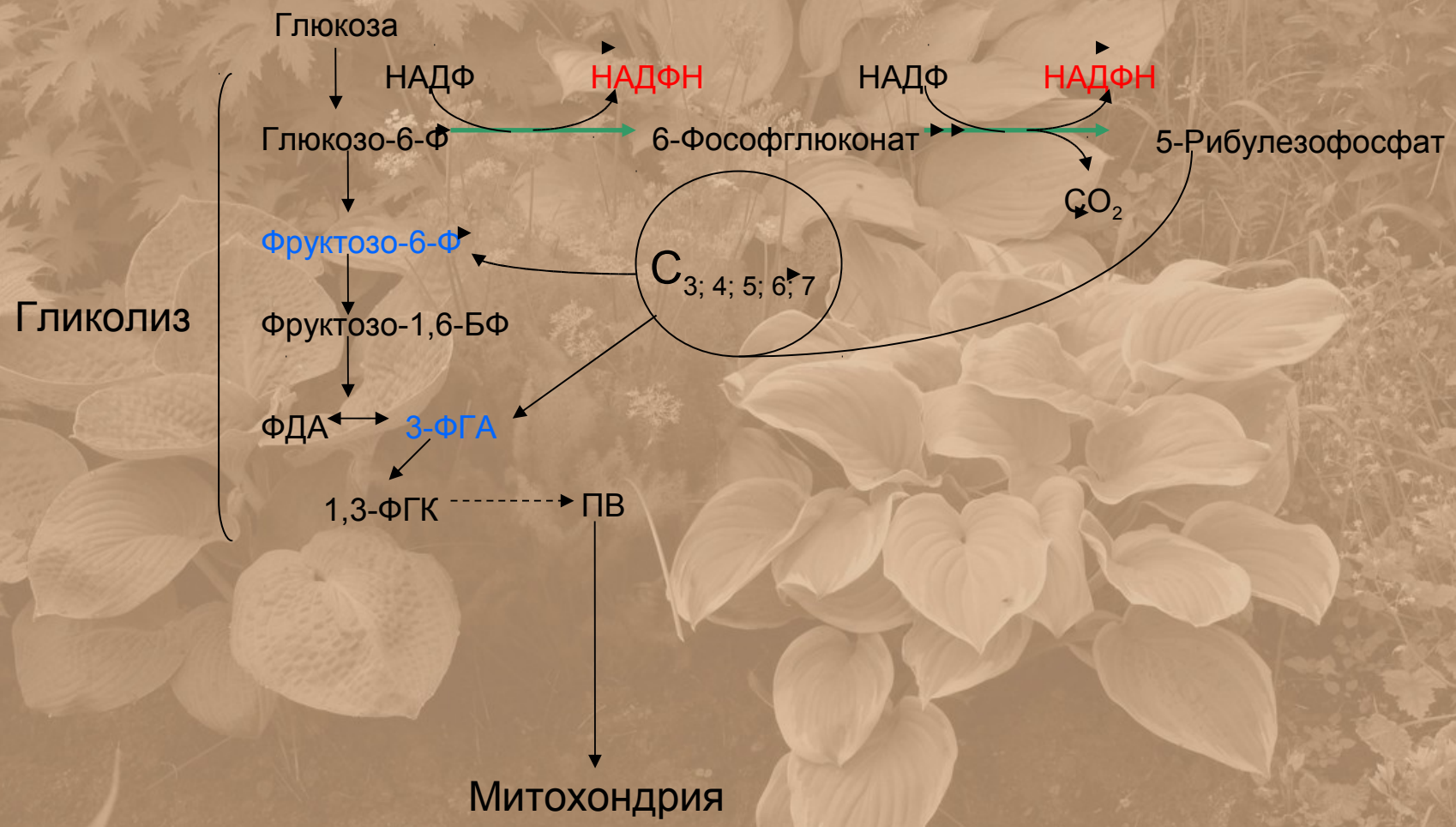


Ключевое место регуляции гликолиза: отношение C_6 / C_3

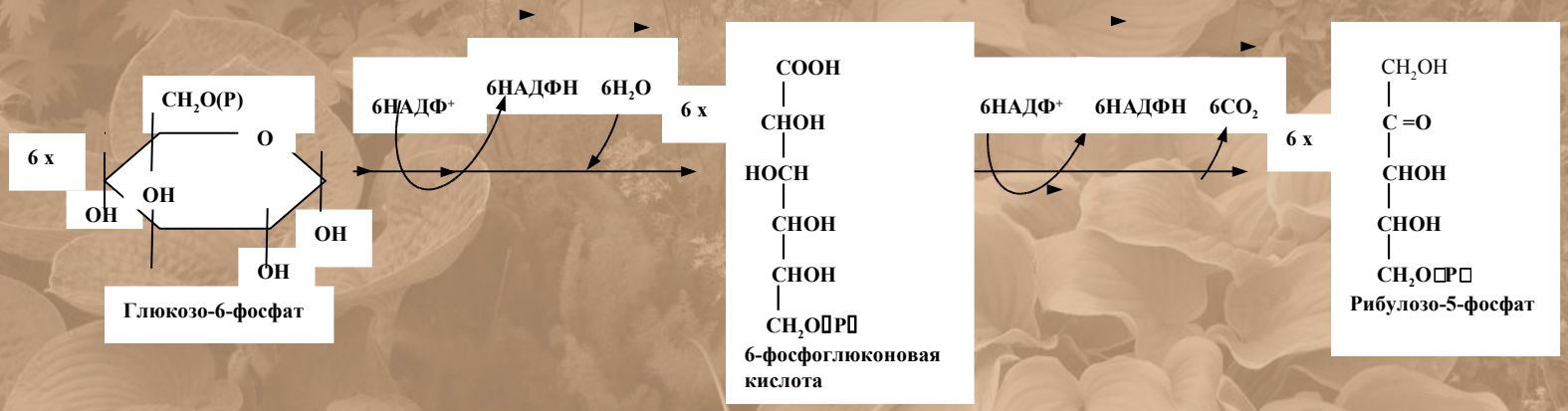


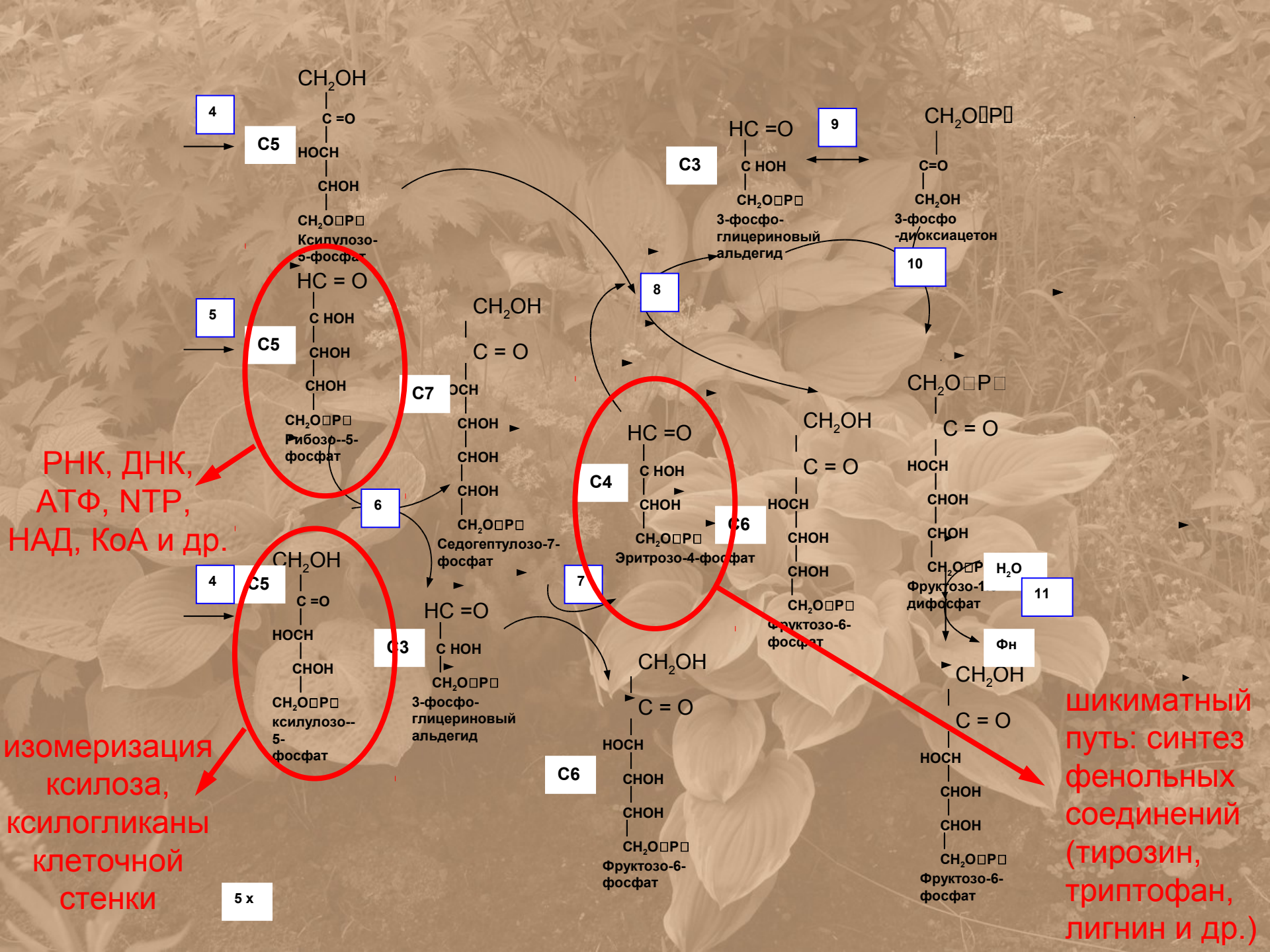
Окислительный пентозофосфатный цикл (шунт)

Окислительный пентозофосфатный шунт



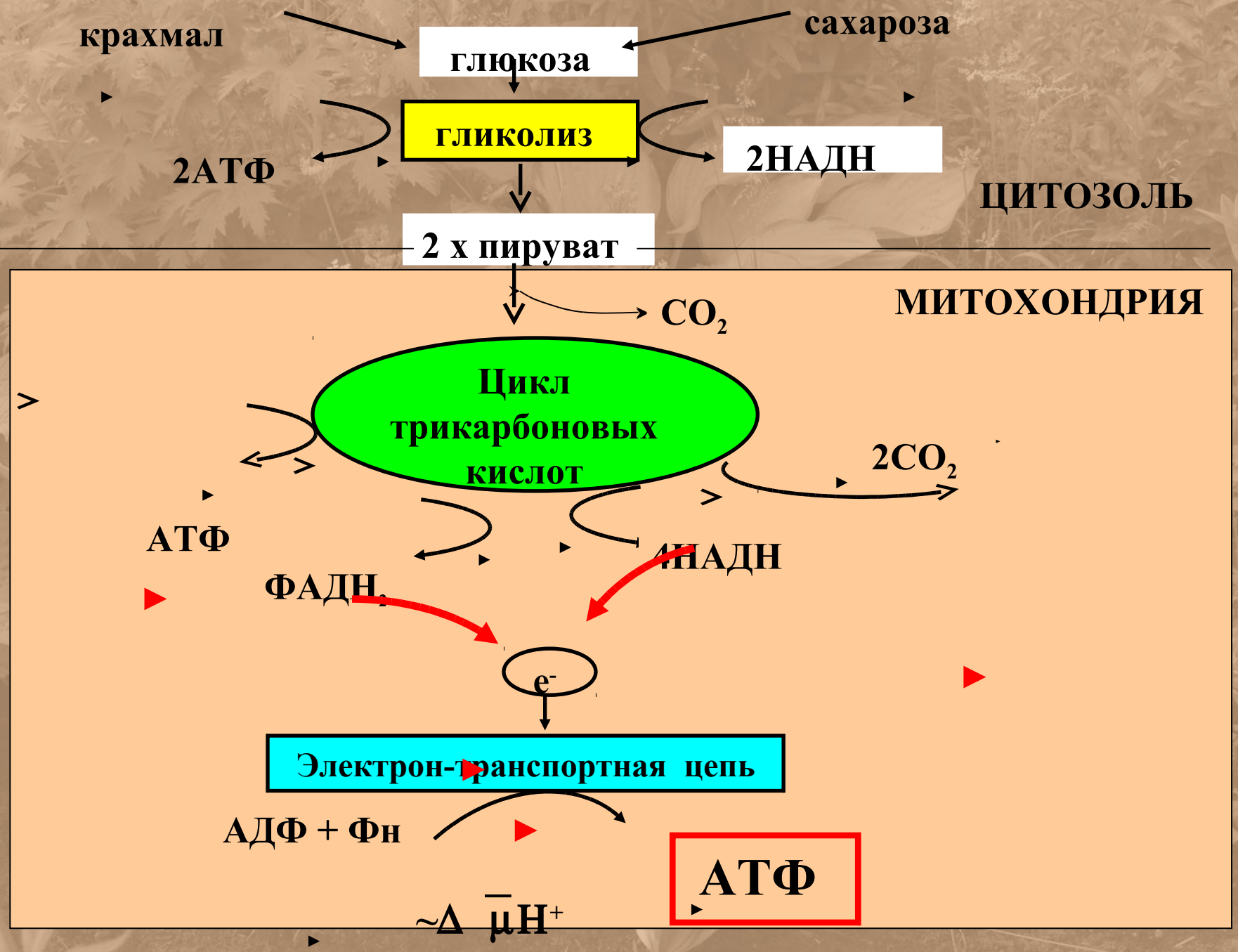
Первые две реакции пентозофосфатного цикла необратимы и сопровождаются образованием НАДФН и рибулозо-5-фосфата.



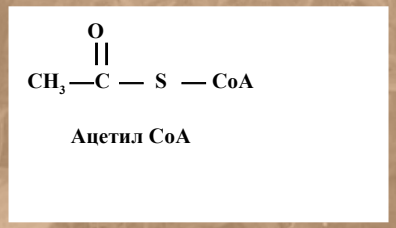

4
C5
CH2OH
C =O
HOCH
CHOH
CH2O□P□
Ксилулозо-5-фосфат
5
C5
HC = O
C HOH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Рибозо--5-фосфат
C7
CH2OH
C = O
OCH
CHOH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Седогептулозо-7-фосфат
6
4
C5
CH2OH
C =O
HOCH
CHOH
CH2O□P□
ксилулозо--5-фосфат
C3
HC =O
C HOH
CH2O□P□
3-фосфо-глицериновый альдегид
7
C3
HC =O
C HOH
CH2O□P□
3-фосфо-глицериновый альдегид
9
CH2O□P□
C=O
CH2OH
3-фосфо-диоксиацетон
8
10
C4
HC =O
C HOH
CHOH
CH2O□P□
Эритрозо-4-фосфат
C6
CH2OH
C = O
HOCH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Фруктозо-6-фосфат
CH2O□P□
C = O
HOCH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Фруктозо-1,6-дифосфат
H2O
11
Фн
CH2OH
C = O
HOCH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Фруктозо-6-фосфат
C6
CH2OH
C = O
HOCH
CHOH
CHOH
CH2O□P□
Фруктозо-6-фосфат
РНК, ДНК, АТФ, NTP, НАД, КоА и др.
изомеризация ксилоза, ксилогликаны клеточной стенки
шикиматный путь: синтез фенольных соединений (тирозин, триптофан, лигнин и др.)
5 x

Цикл Кребса

Растительные митохондрии имеют разнообразный размер и форму


крахмал
сахароза
глюкоза
гликолиз
2АТФ
2НАДН
ЦИТОЗОЛЬ
2 х пируват
МИТОХОНДРИЯ
CO_2
Цикл трикарбоновых кислот
$2CO_2$
АТФ
ФАДН$_2$
4НАДН
e^-
Электрон-транспортная цепь
АДФ + Фн
АТФ
~Δ $\bar{\mu}H^+$

Пируватдегидрогеназный комплекс

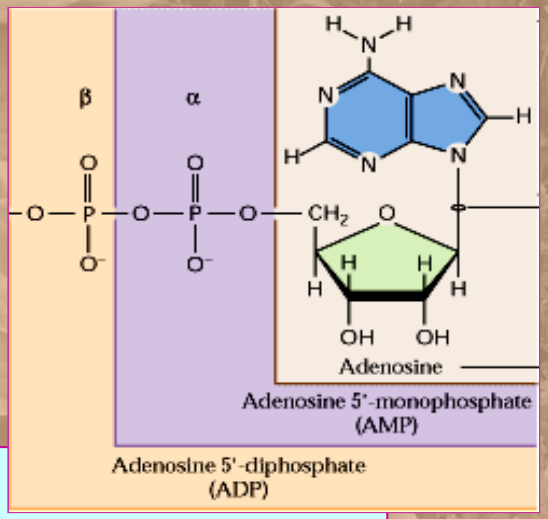


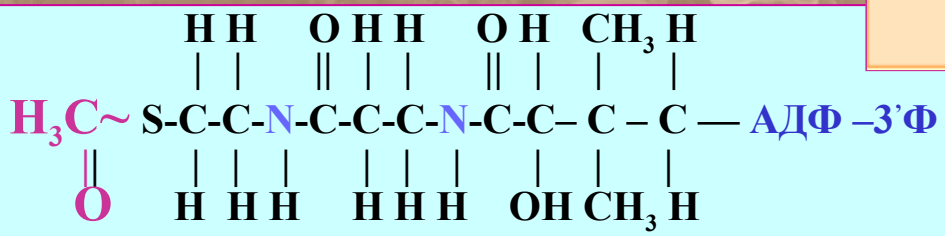
- E1 – пируватдегидрогеназа
- E2 –дигидролипоилацетил трансфераза
- E3 –дигидролипоил дегидрогеназа
- Тиаминпирофосфат
- Липоевая кислота
  НАД+, ФАД, CoA

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

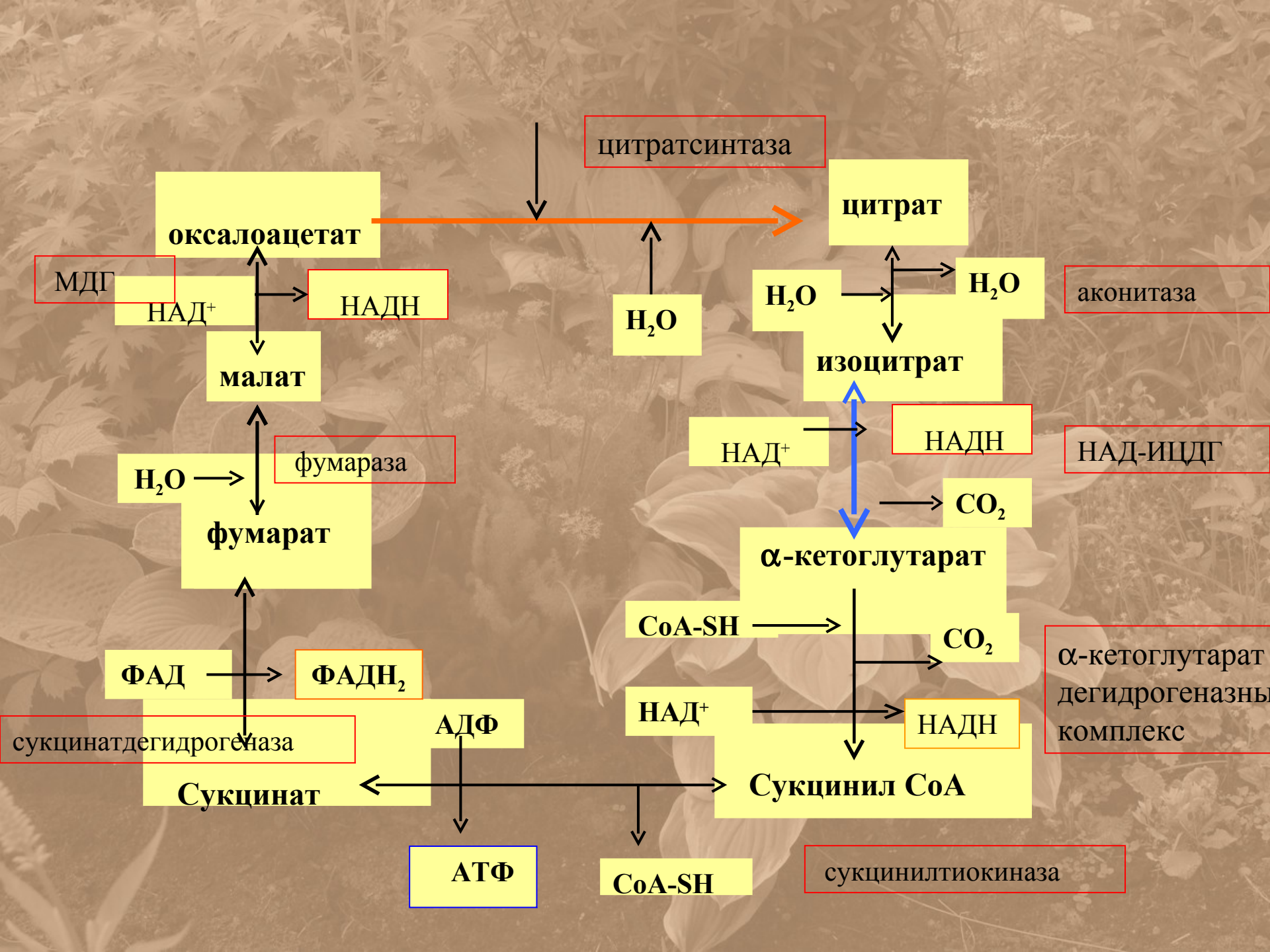
Кофермент А - универсальный переносчик и “активатор” ацильных (жирнокислотных) групп

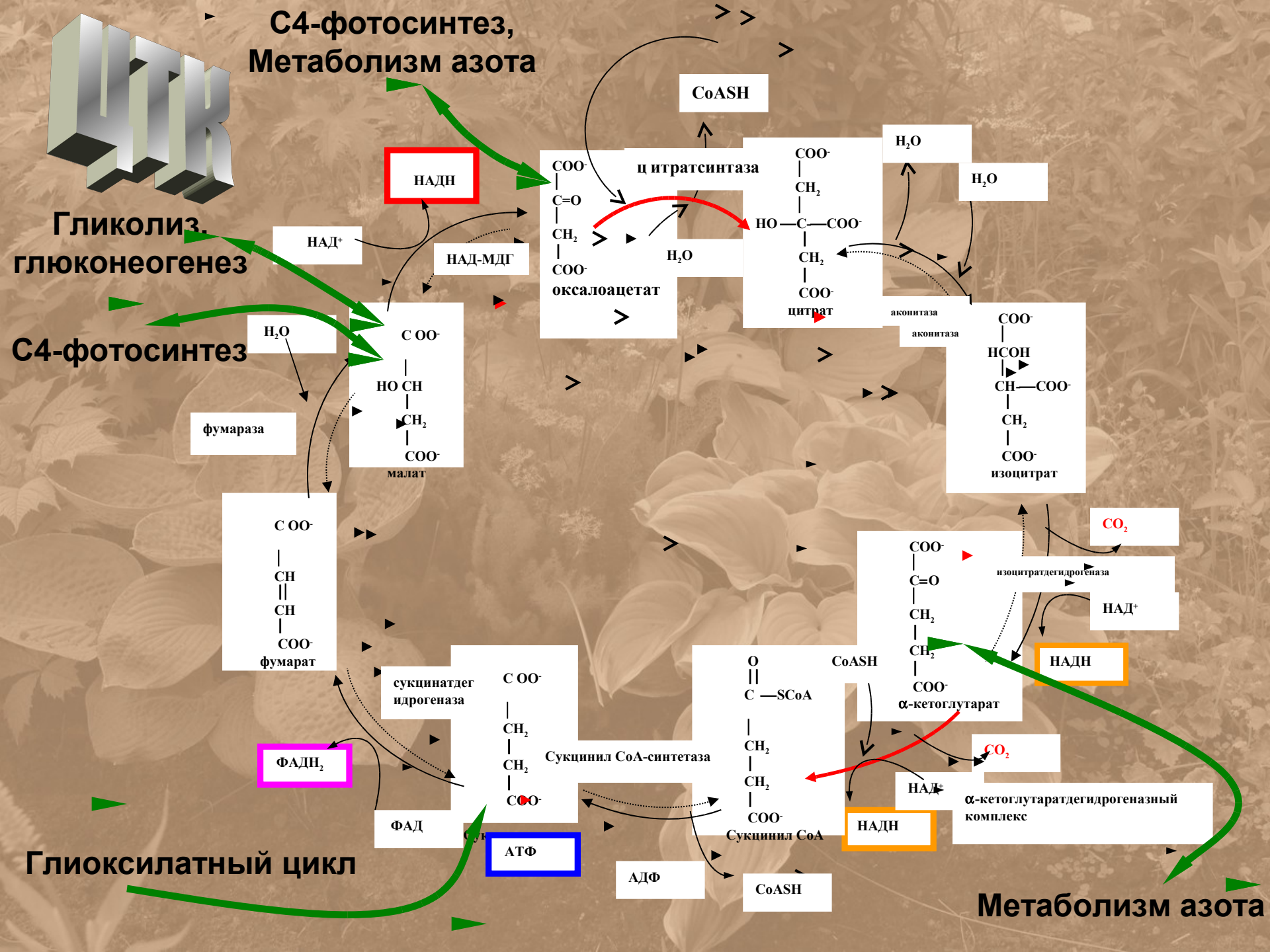
$$CoA\text{-}SH + CH_3\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}OOH \leftrightarrow CoA\text{-}S\sim C\text{-}CH_3 + H_2O.$$



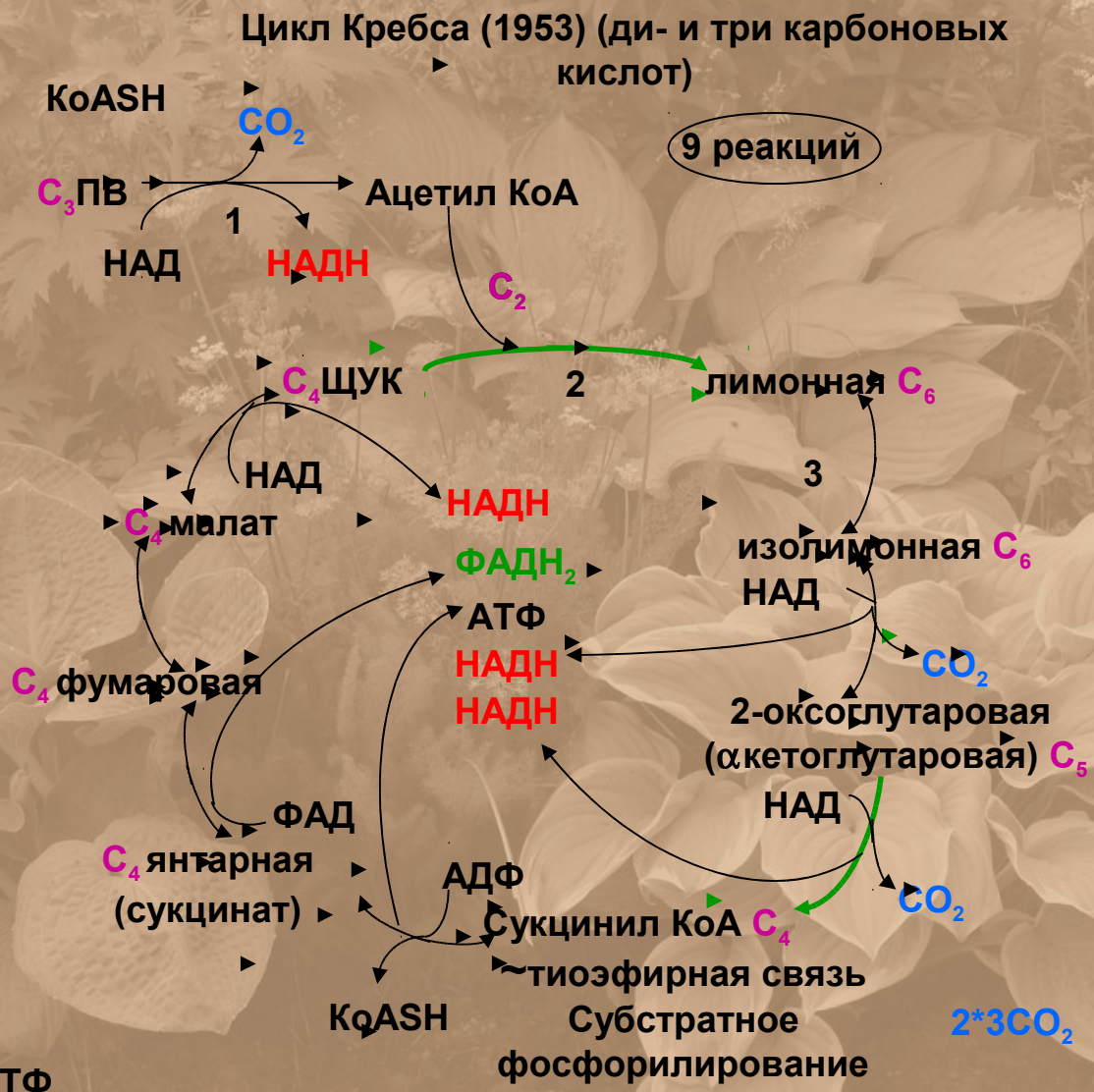


пантетеин: пантоевая к-та + β-аланин + цистеамин


цитратсинтаза
оксалоацетат
цитрат
МДГ
НАД+
НАДН
H2O
H2O
H2O
аконитаза
малат
изоцитрат
НАД+
НАДН
НАД-ИЦДГ
H2O
фумараза
CO2
фумарат
α-кетоглутарат
CoA-SH
CO2
α-кетоглутарат дегидрогеназный комплекс
ФАД
ФАДН2
НАД+
НАДН
АДФ
сукцинатдегидрогеназа
Сукцинат
Сукцинил CoA
АТФ
CoA-SH
сукцинилтиокиназа


ЦТК
С4-фотосинтез,
Метаболизм азота
Гликолиз,
глюконеогенез
С4-фотосинтез
Глиоксилатный цикл
Метаболизм азота
CoASH
НАДН
НАД+
НАД-МДГ
ц итратсинтаза
H2O
оксалоацетат
цитрат
аконитаза
изоцитрат
CO2
изоцитратдегидрогеназа
НАД+
НАДН
α-кетоглутарат
α-кетоглутаратдегидрогеназный комплекс
НАДН
НАД+
CO2
CoASH
Сукцинил CoA
Сукцинил CoA-синтетаза
АДФ
CoASH
АТФ
ФАД
сукцинатдегидрогеназа
ФАДН2
фумарат
фумараза
H2O
малат

Митохондрия



2* { 1мол АТФ
3 мол НАДН +1 мол НАДН
1 мол $ФАДН_2$ }

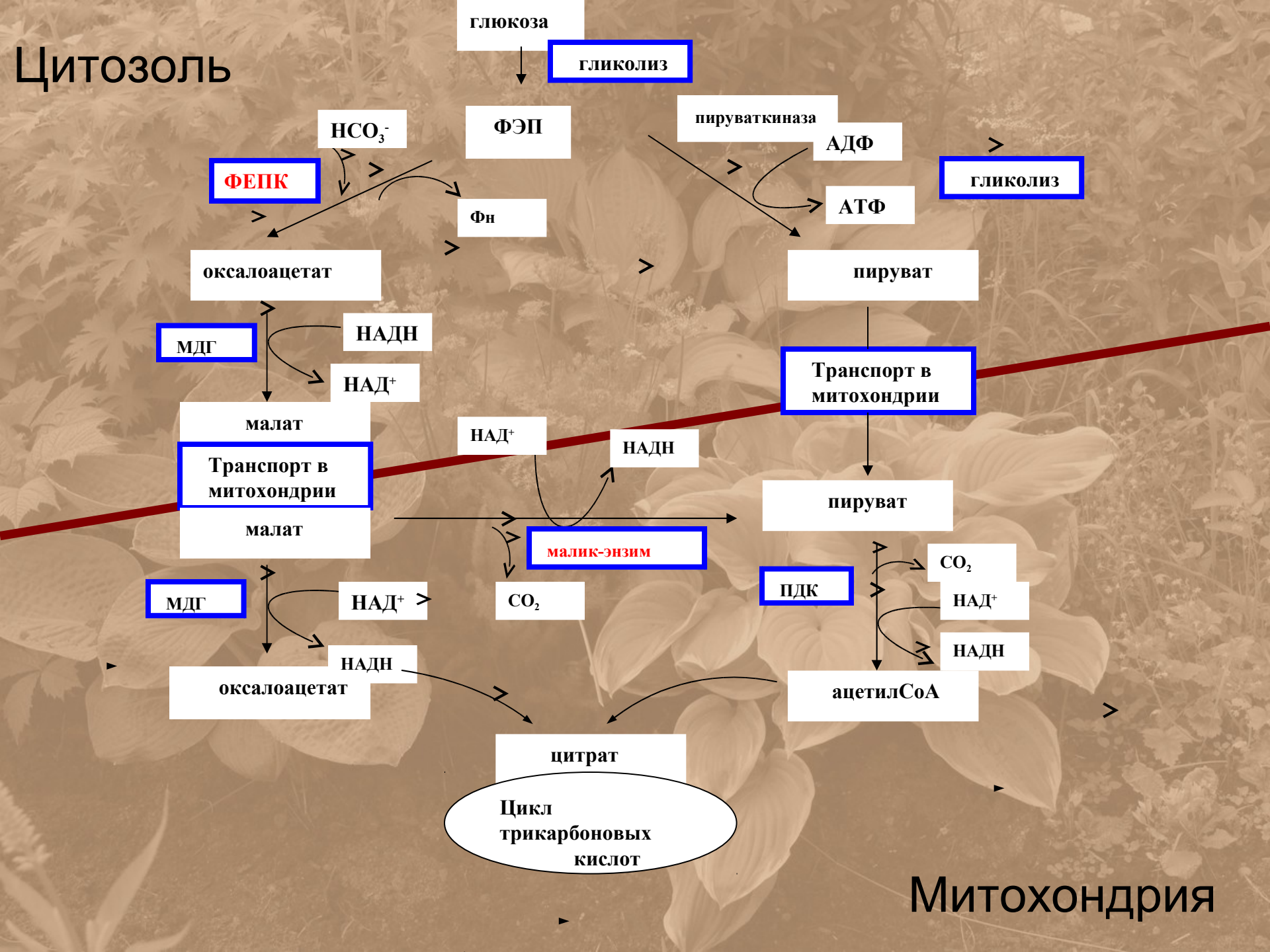
Реакции обращения реакци ФЕП -----ПВК

Особенностью растительных Мх является присутствие малик-энзима

малатдегидрогеназа декарбоксилирующая

НАД-зависимый малик-энзим (цитозоль, Мх)

НАДФ-зависимый малик-энзим (Хл)


Цитозоль
глюкоза
гликолиз
ФЭП
HCO_3^-
ФЕПК
Фн
оксалоацетат
пируваткиназа
АДФ
АТФ
гликолиз
пируват
МДГ
НАДН
НАД+
малат
Транспорт в митохондрии
НАД+
НАДН
малат
малик-энзим
CO_2
МДГ
НАД+
НАДН
оксалоацетат
Транспорт в митохондрии
пируват
ПДК
CO_2
НАД+
НАДН
ацетилСоА
цитрат
Цикл трикарбоновых кислот
Митохондрия

Глиоксилатный цикл

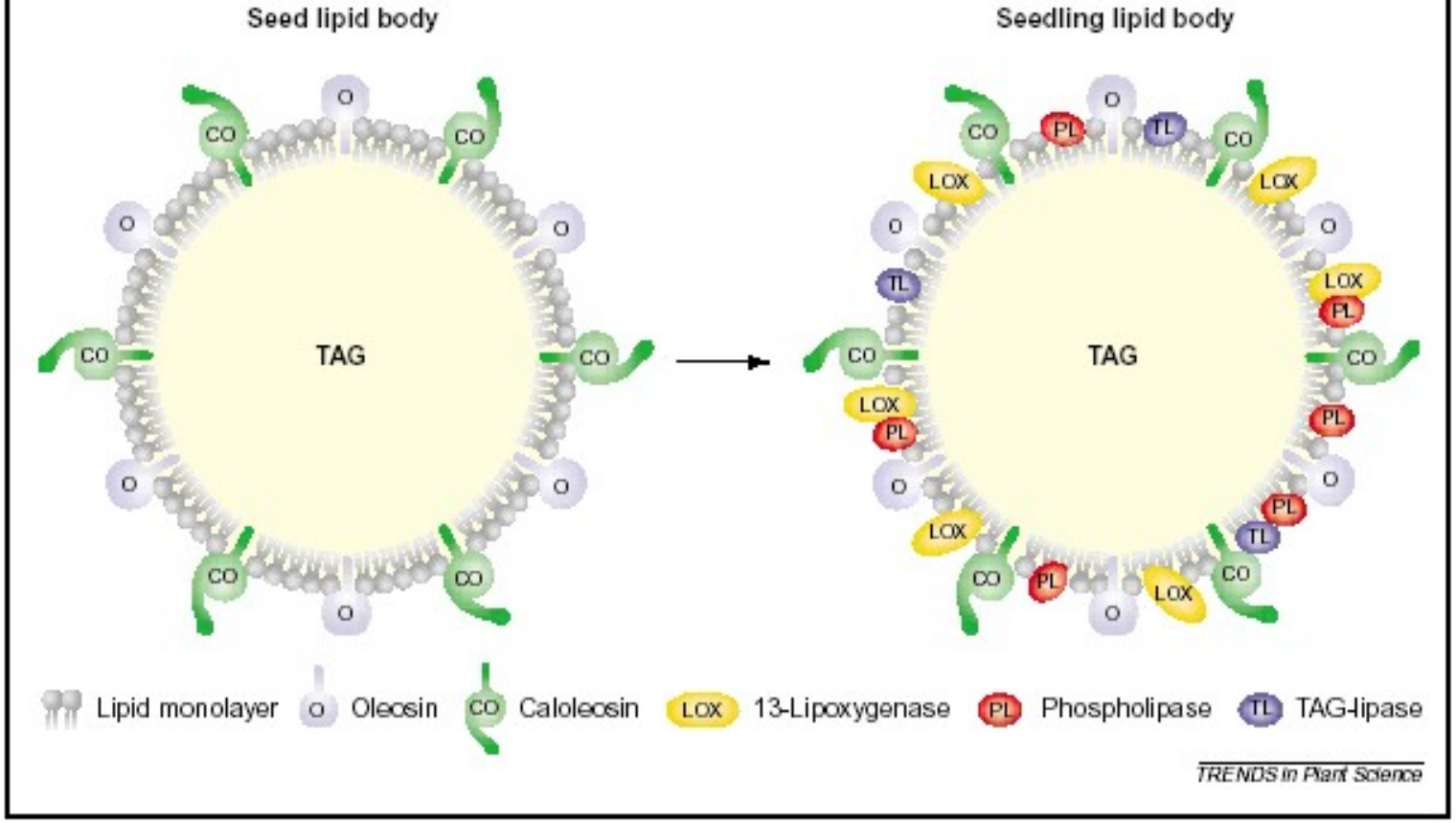
Конверсия жиров в углеводы включает три этапа:

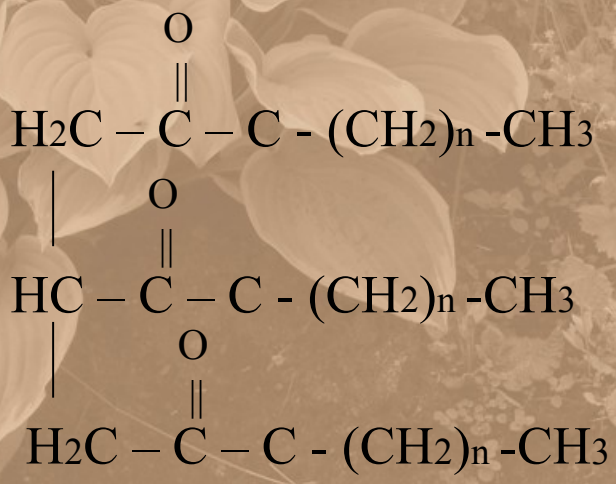
Распад жиров и β-окисление жирных кислот

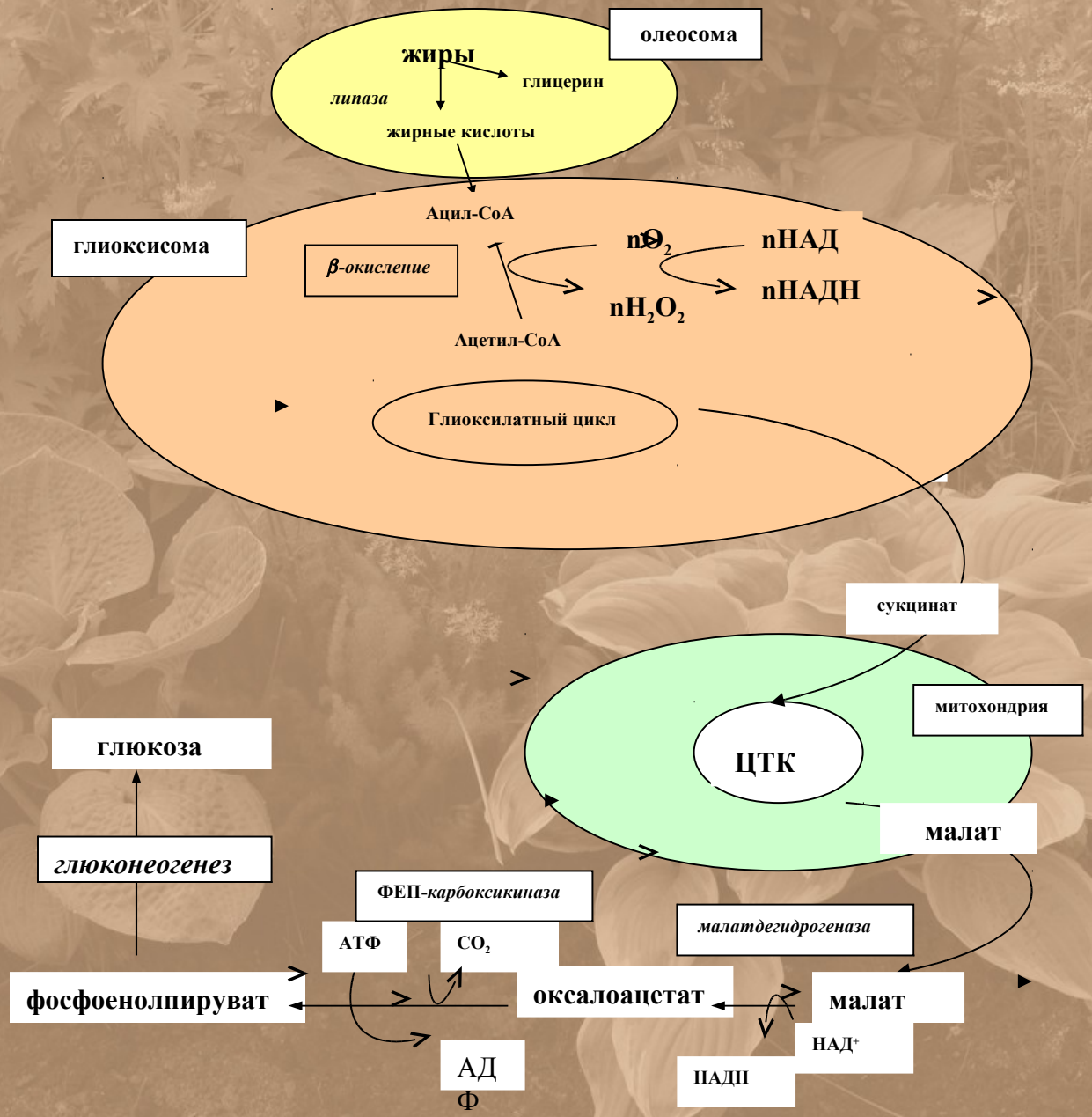
Глиоксилатный цикл в глиоксисомах

Глюконеогенез

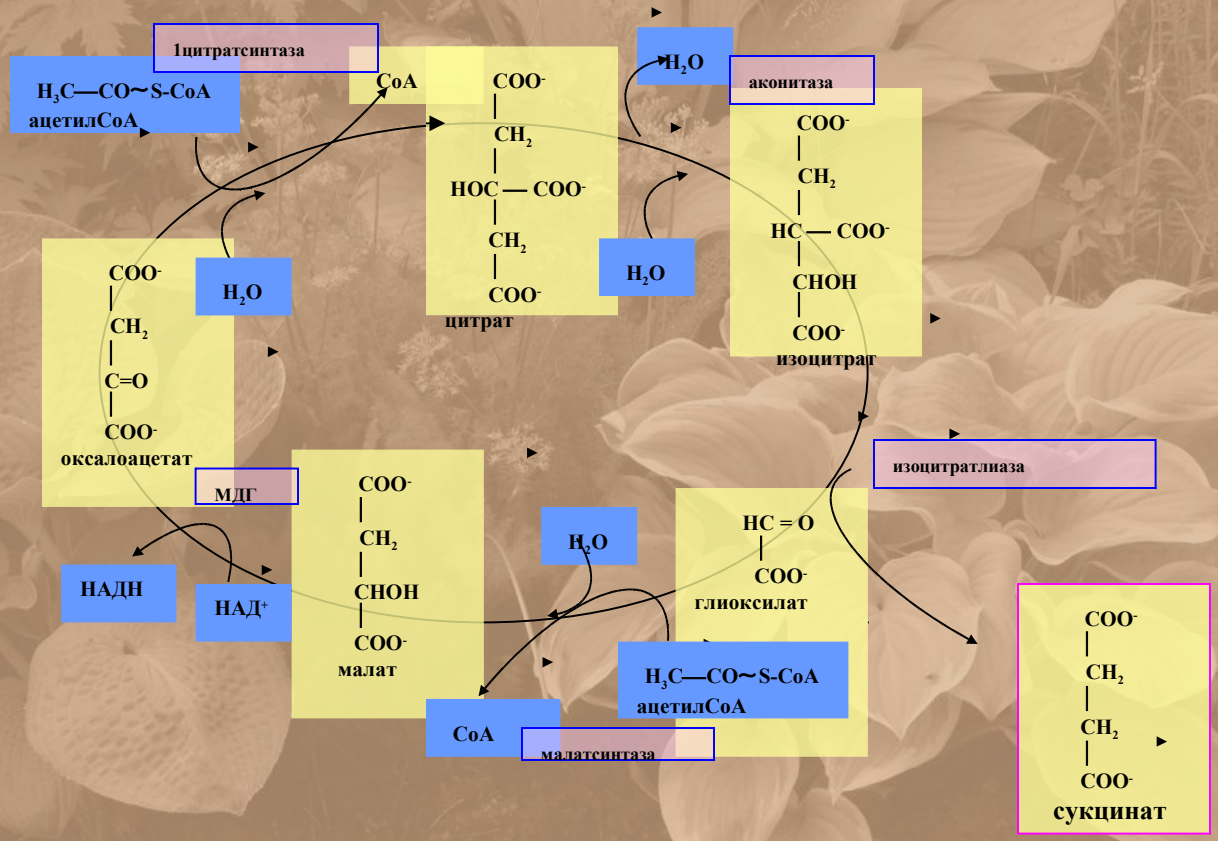
- В клетках животных жирные кислоты подвергаются β-окислению в митохондриях
- В клетках растений жирные кислоты подвергаются β-окислению в глиоксисомах, которые являются разновидностью пероксисом. Глиоксисомы впервые были выделены Биверсом в 1967 г. (Beevers)

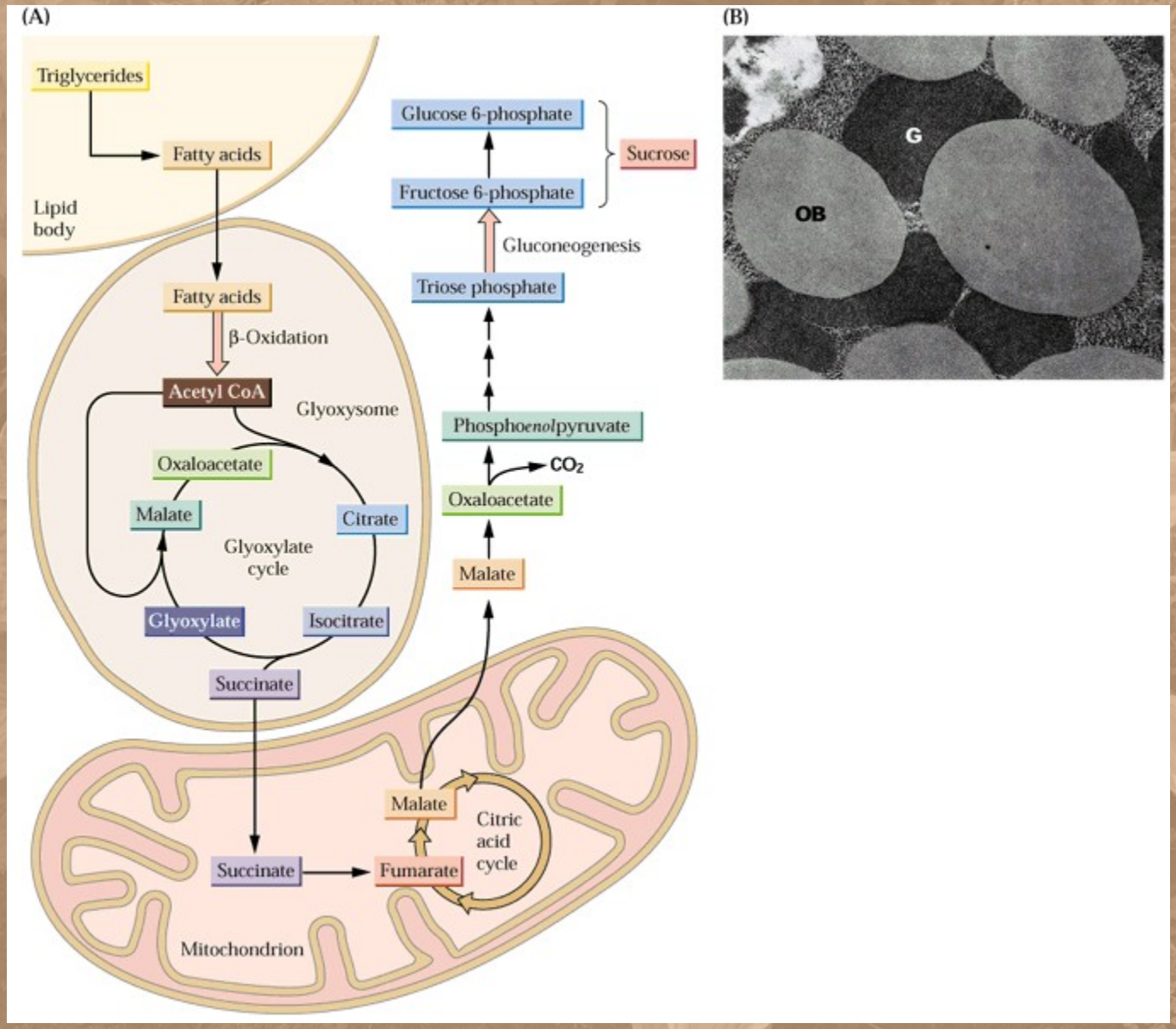

Seed lipid body
Seedling lipid body
TAG
TAG
O
CO
LOX
PL
TL
Lipid monolayer
Oleosin
Caloleosin
13-Lipoxygenase
Phospholipase
TAG-lipase
TRENDS in Plant Science


O
H2C – C – C - (CH2)n -CH3
O
HC – C – C - (CH2)n -CH3
O
H2C – C – C - (CH2)n -CH3


олеосома
жиры
глицерин
липаза
жирные кислоты
Ацил-СоА
глиоксисома
β-окисление
nO2
nНАД
nH2O2
nНАДН
Ацетил-СоА
Глиоксилатный цикл
сукцинат
митохондрия
ЦТК
малат
глюкоза
глюконеогенез
ФЕП-карбоксикиназа
АТФ
CO2
малатдегидрогеназа
фосфоенолпируват
оксалоацетат
малат
НАД+
НАДН
АДФ

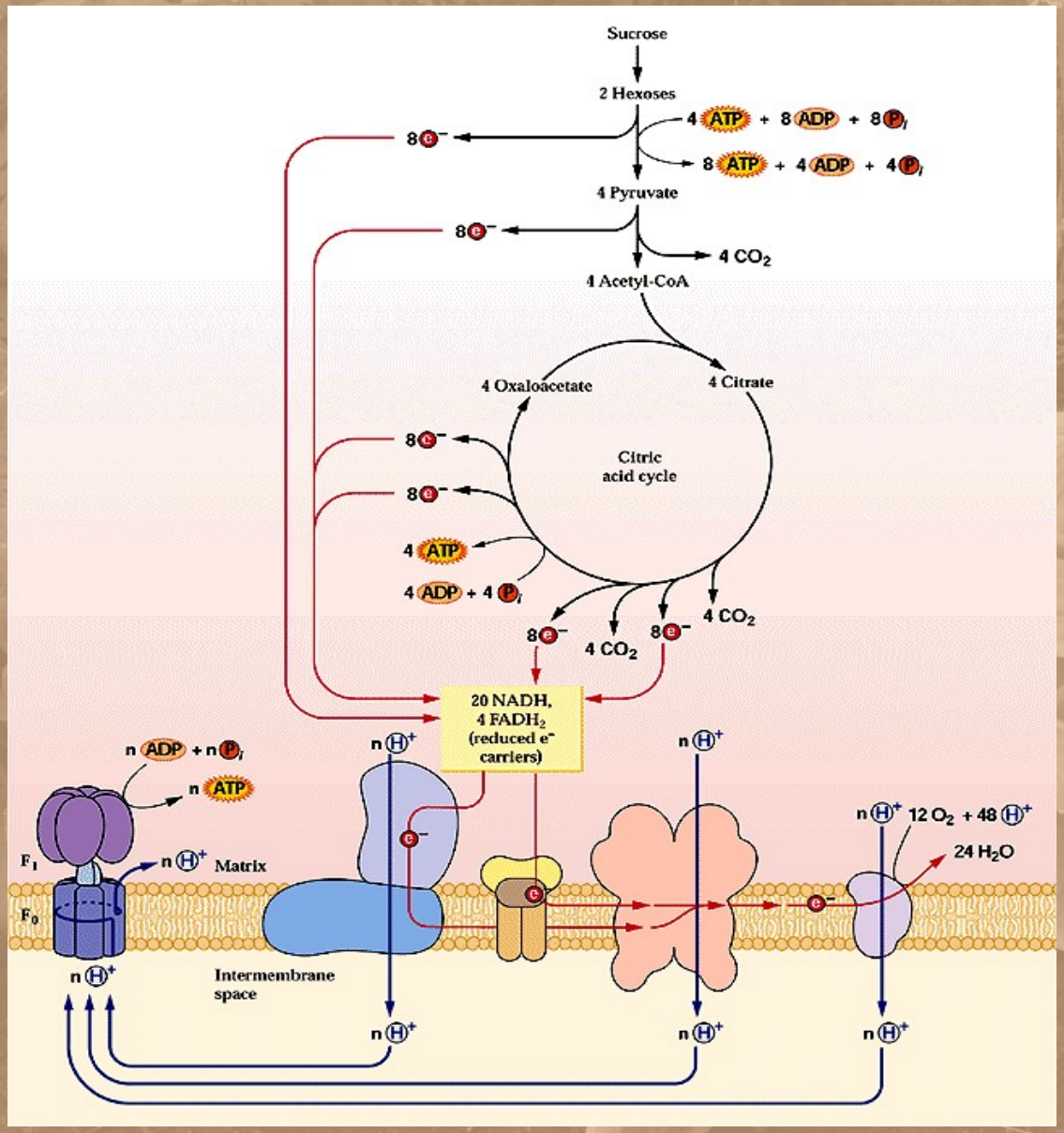
Глиоксилатный цикл



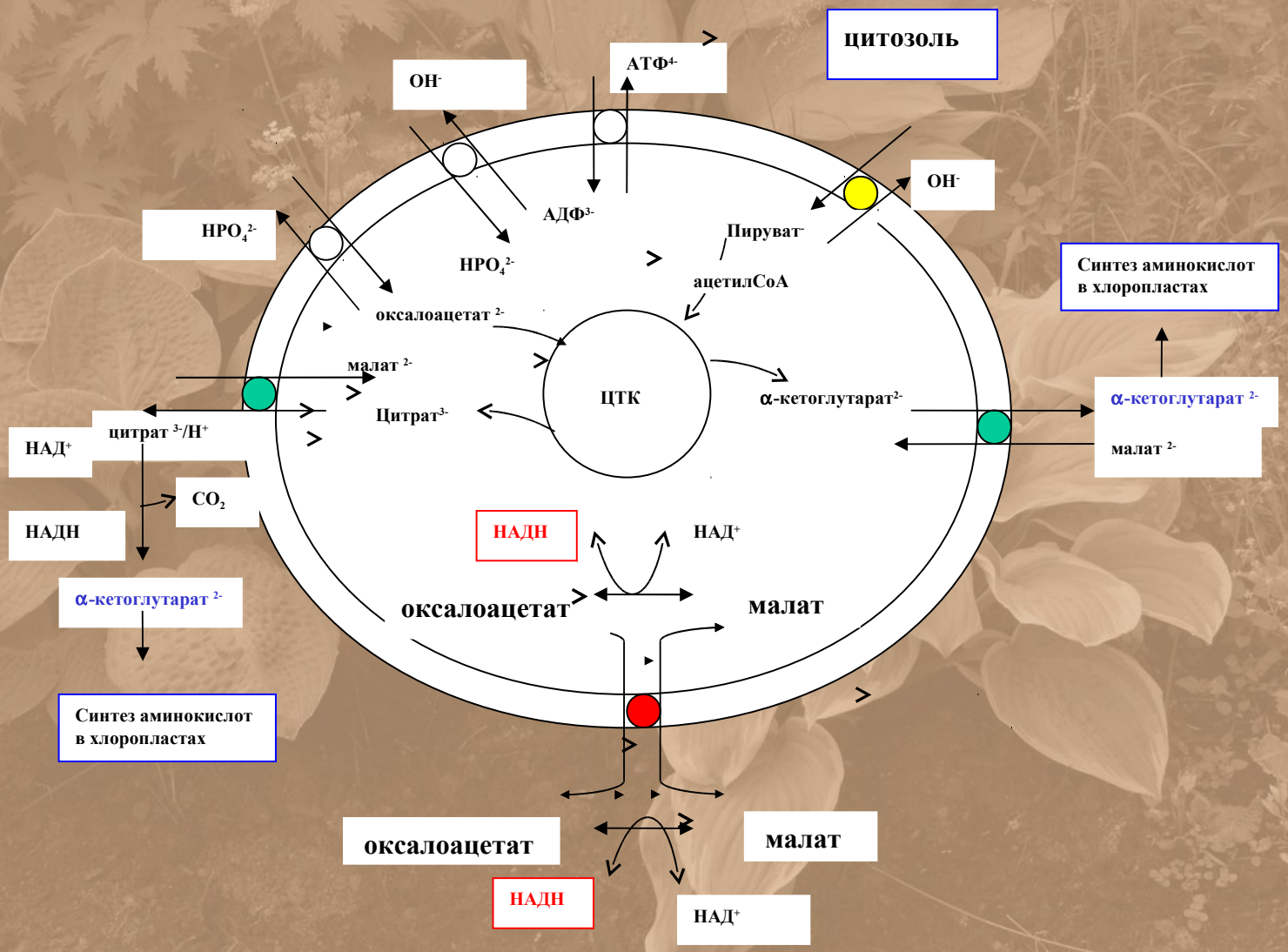

(A)
Triglycerides
Fatty acids
Lipid body
Fatty acids
β-Oxidation
Acetyl CoA
Glyoxysome
Oxaloacetate
Malate
Citrate
Glyoxylate cycle
Glyoxylate
Isocitrate
Succinate
Glucose 6-phosphate
Fructose 6-phosphate
Sucrose
Gluconeogenesis
Triose phosphate
Phosphoenolpyruvate
CO2
Oxaloacetate
Malate
Malate
Citric acid cycle
Succinate
Fumarate
Mitochondrion
(B)
G
OB

Между митохондриями и цитозолем существует обмен восстановительными эквивалентами и метаболитами ЦТК. В митохондриях пересекается обмен углеводов, белков и жиров.

Результат: энергетическая система клетки - дыхание

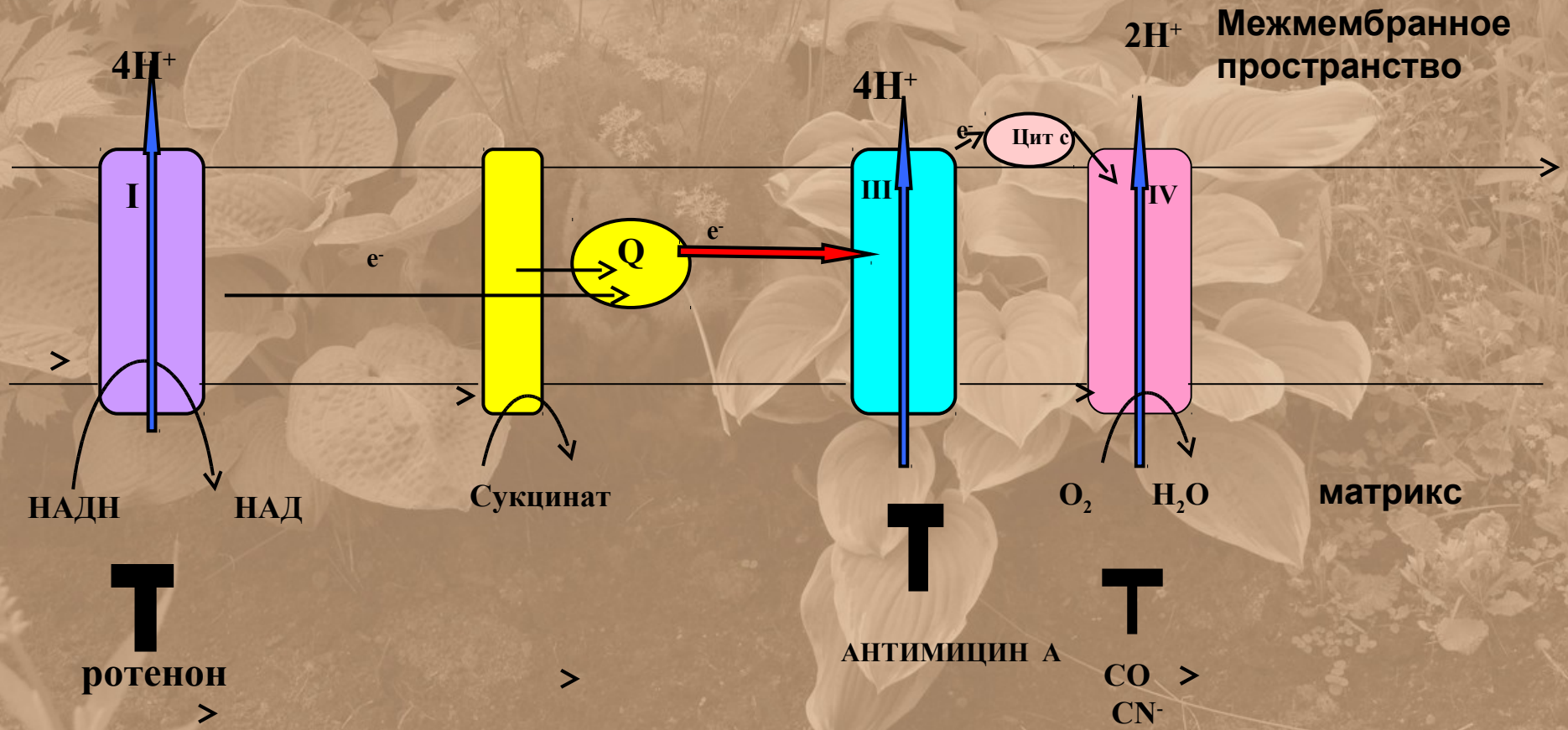


Обмен метаболитами между матриксом и цитозолем осуществляется с помощью белков-транспортеров

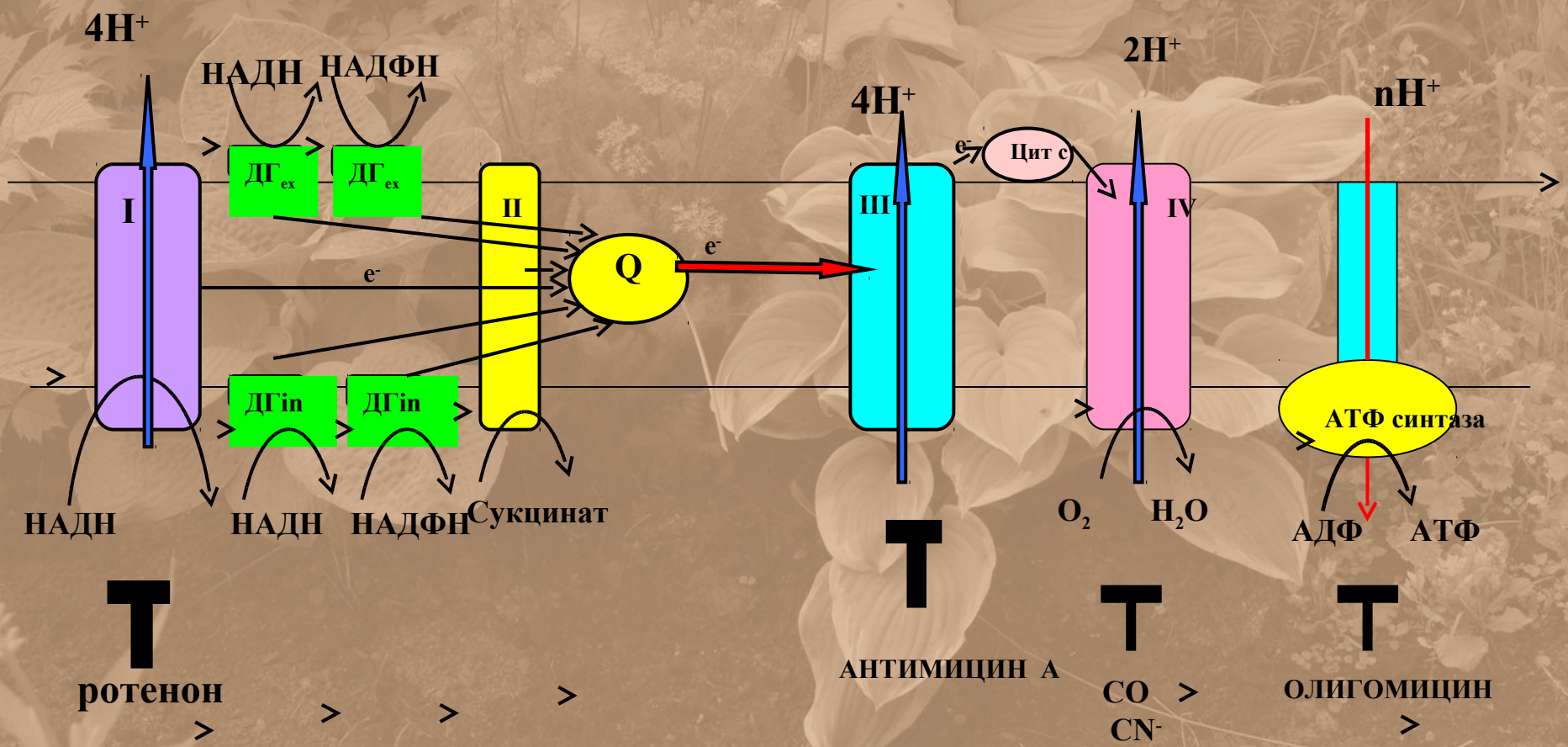


Электрон-транспортная цепь митохондрий (ЭТЦ)

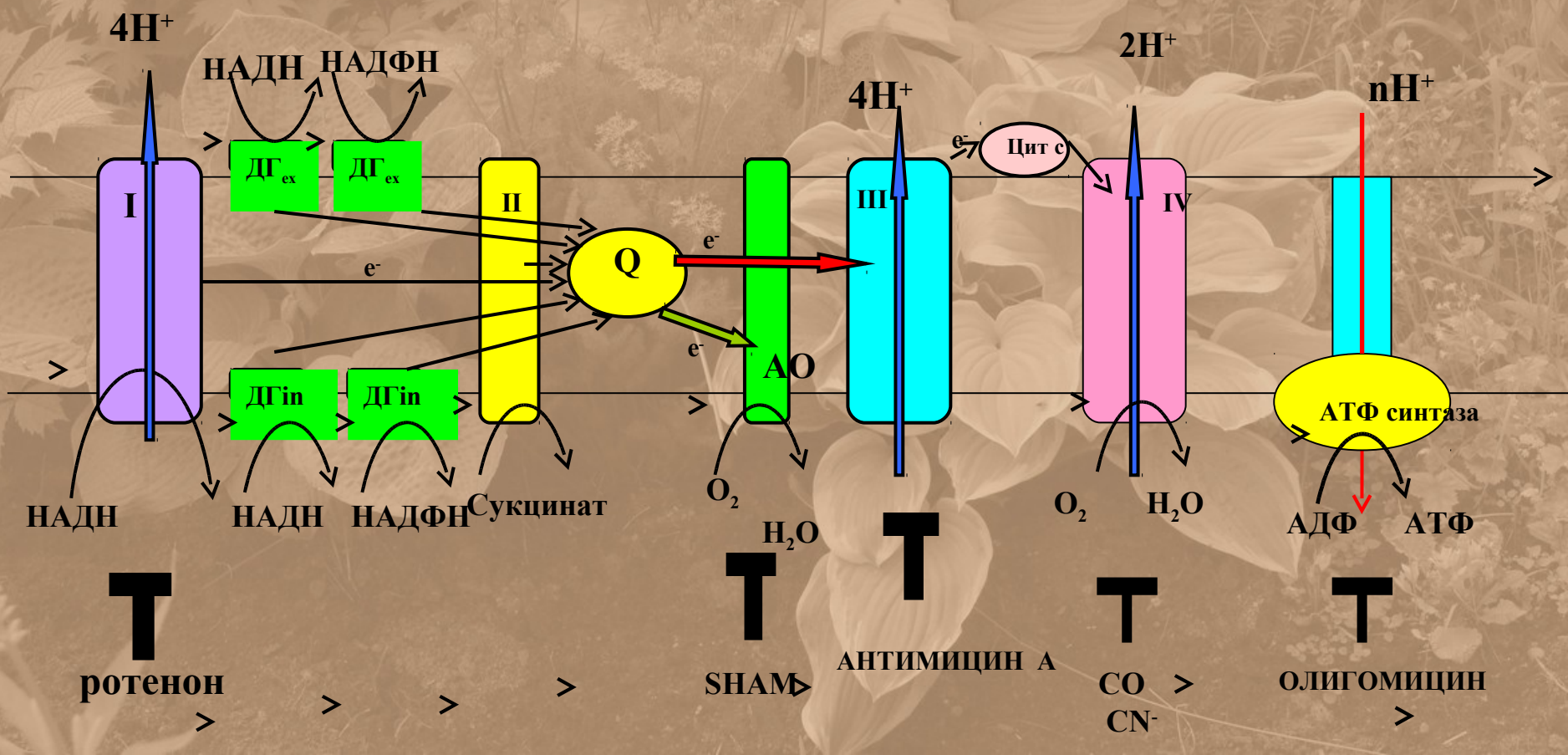
Мх-ЭТЦ
основные компоненты



У растений работают дополнительно 4 НАД(Ф)Н-редуктазы

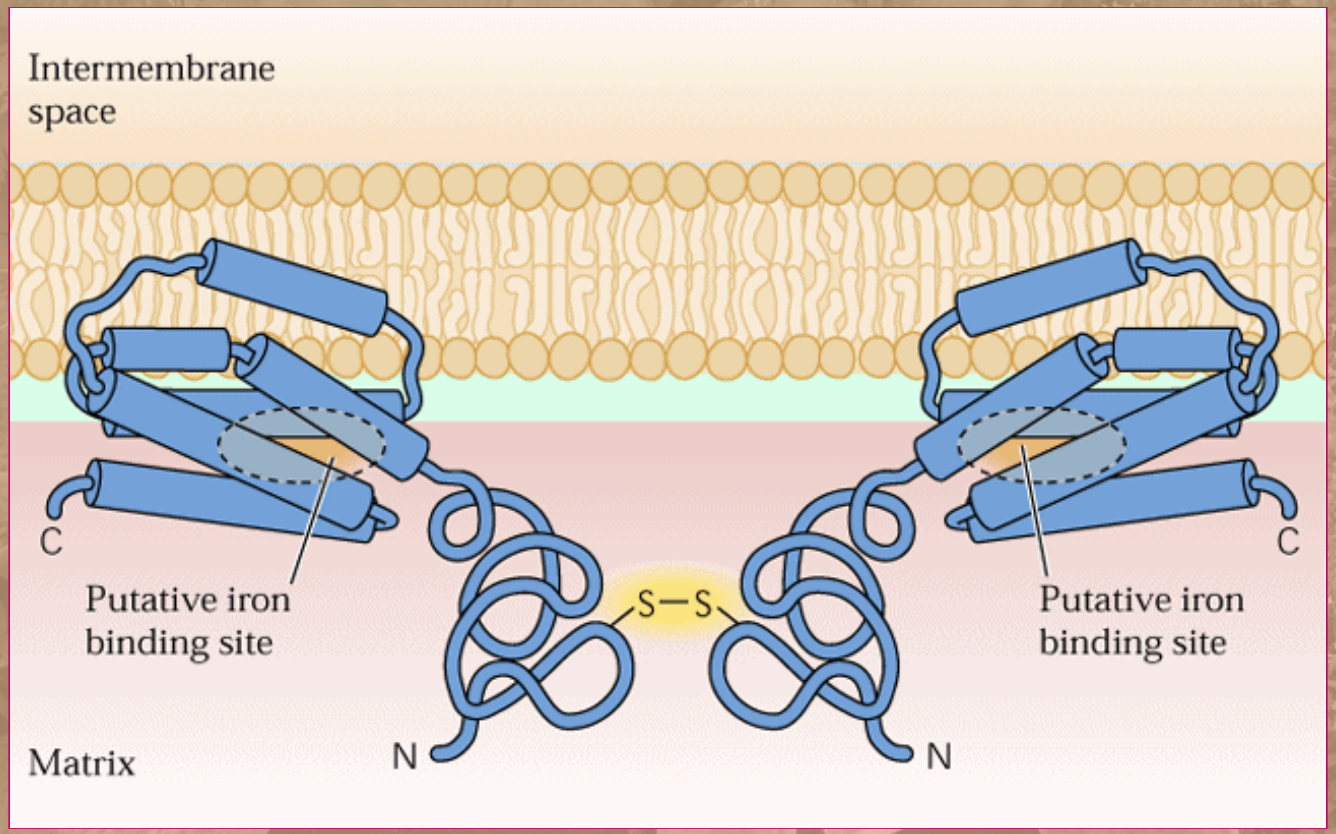


Мх-ЭТЦ у растений



Альтернативная оксидаза

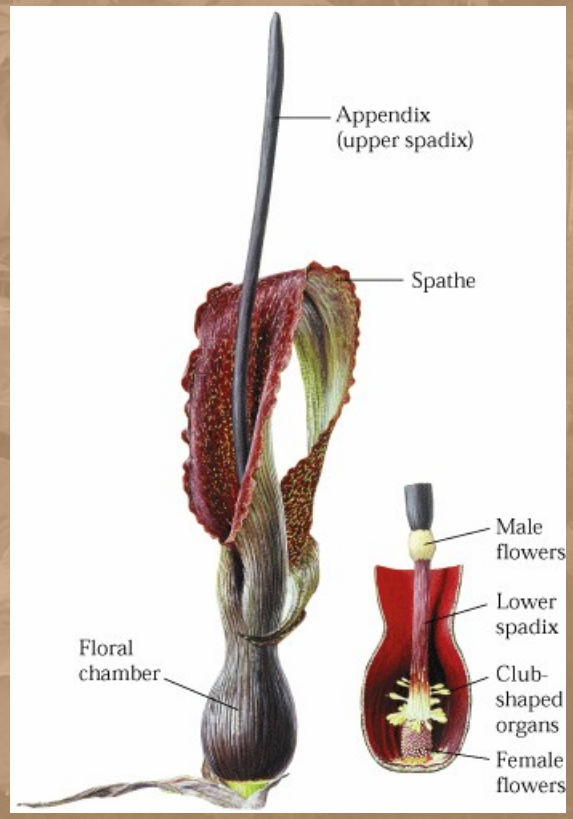
Особенности ЭТЦ-дыхания растений:
Альтернативная оксидаза (цианид-резистентное дыхание)



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 мтх *Sauromatum guttatum*

Цианидрезистентное дыхание



Термогенез ароидных растений

Arum maculatum, Symplocarpus foetidis, Sauromatum guttatum, Philodendron selloum.

Альтернативная оксидаза

один полипептид (М.В.~ 32 кДа)

один ядерный ген AOX1

В мембране Мх: мономерная или димерная форма

Впервые белок АО был получен из мтх *Sauromatum guttatum*

$$2QH_2 + O_2 \rightarrow 2Q + 2H_2O$$

- Термогенез в цветках некоторых растений 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*
- *Symplocarpus foetidis +3 -+24^0 +16 -+ 26^0*
- *Philodendron selloum +4 -+39^0 +39 -+ 44^0*

- *Существуют точки, (switchig temperature) за пределами которых «терморегуляция» не действует*

Sauromatum guttatum

Symplocarpus foetidus

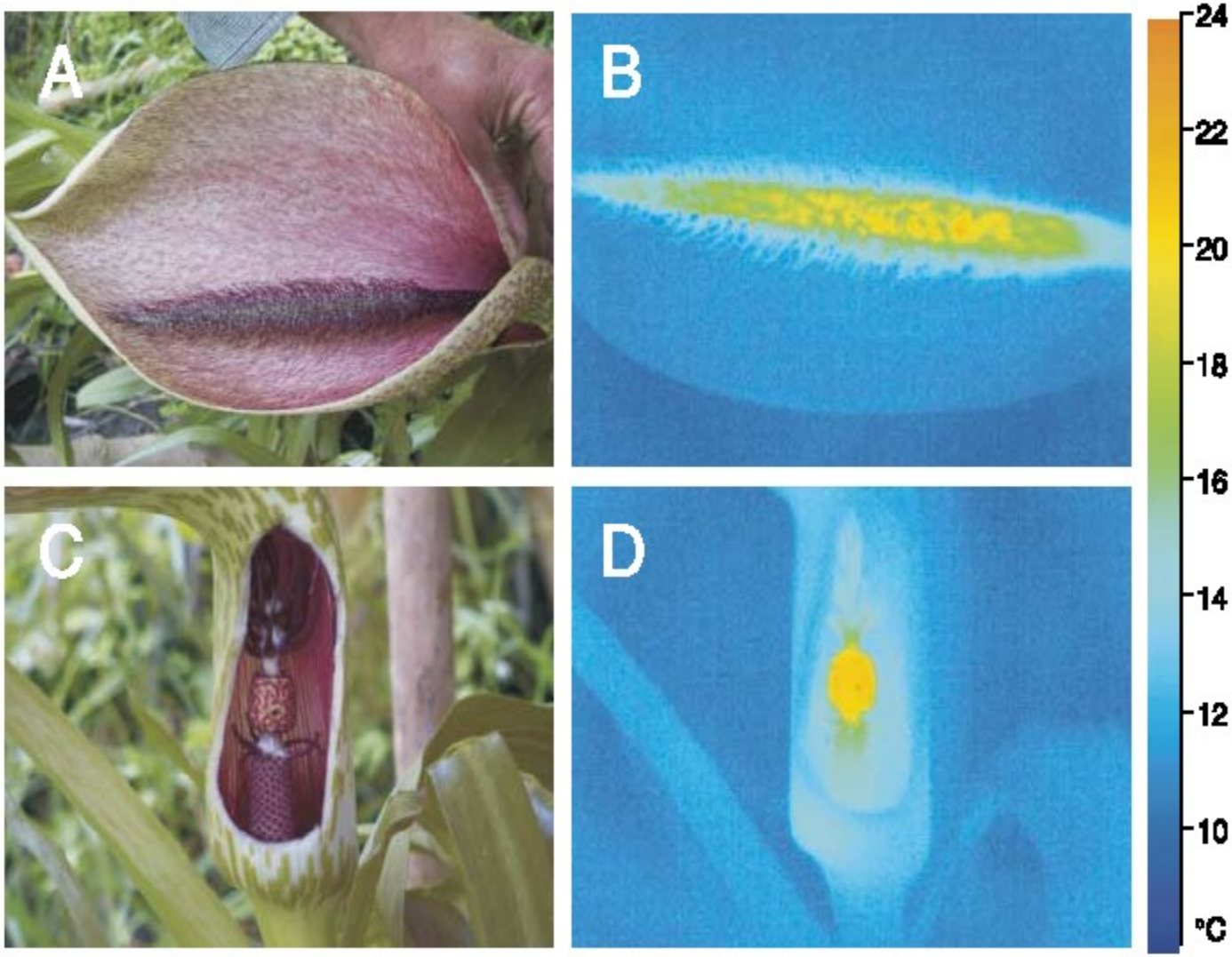
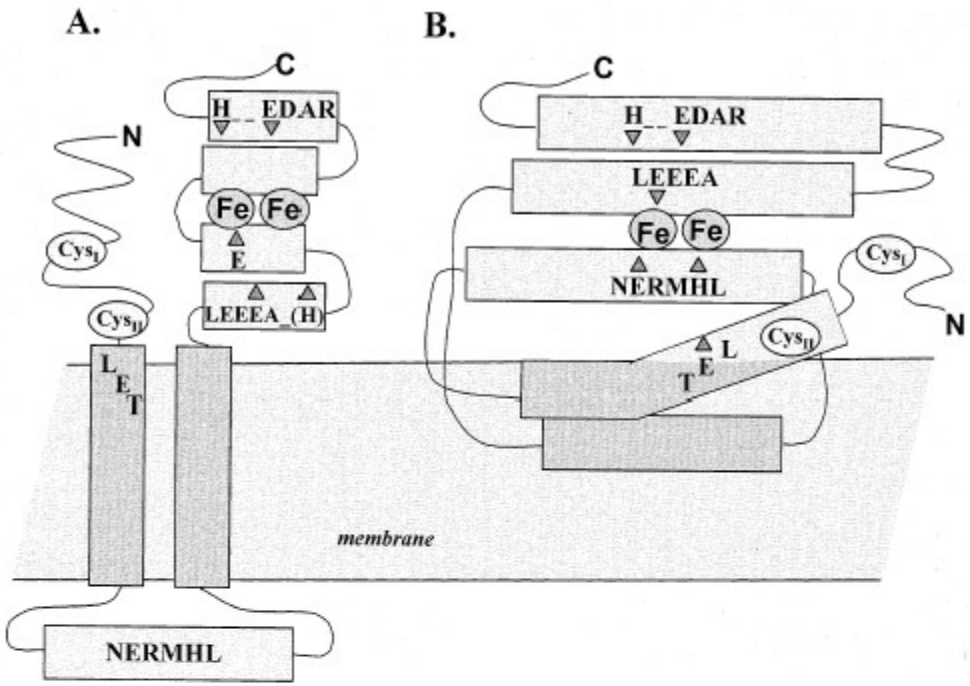
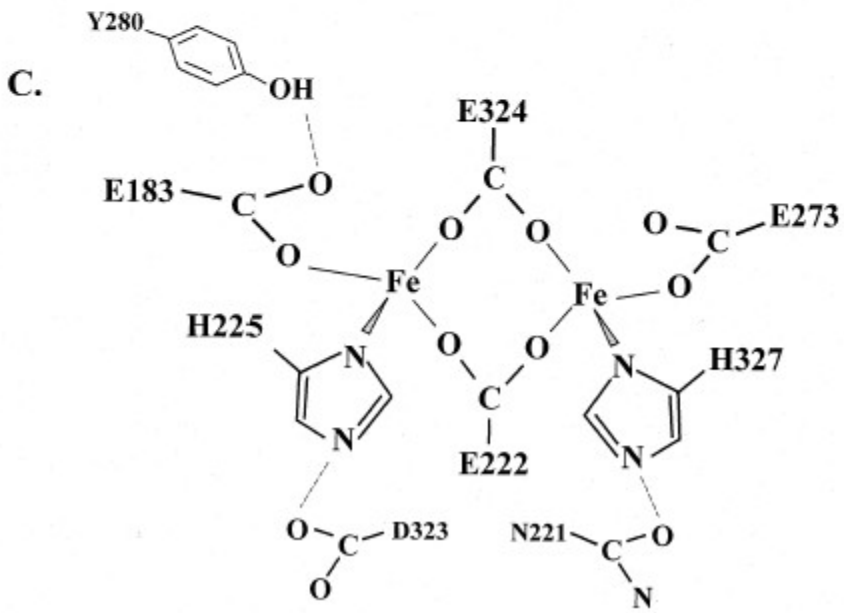
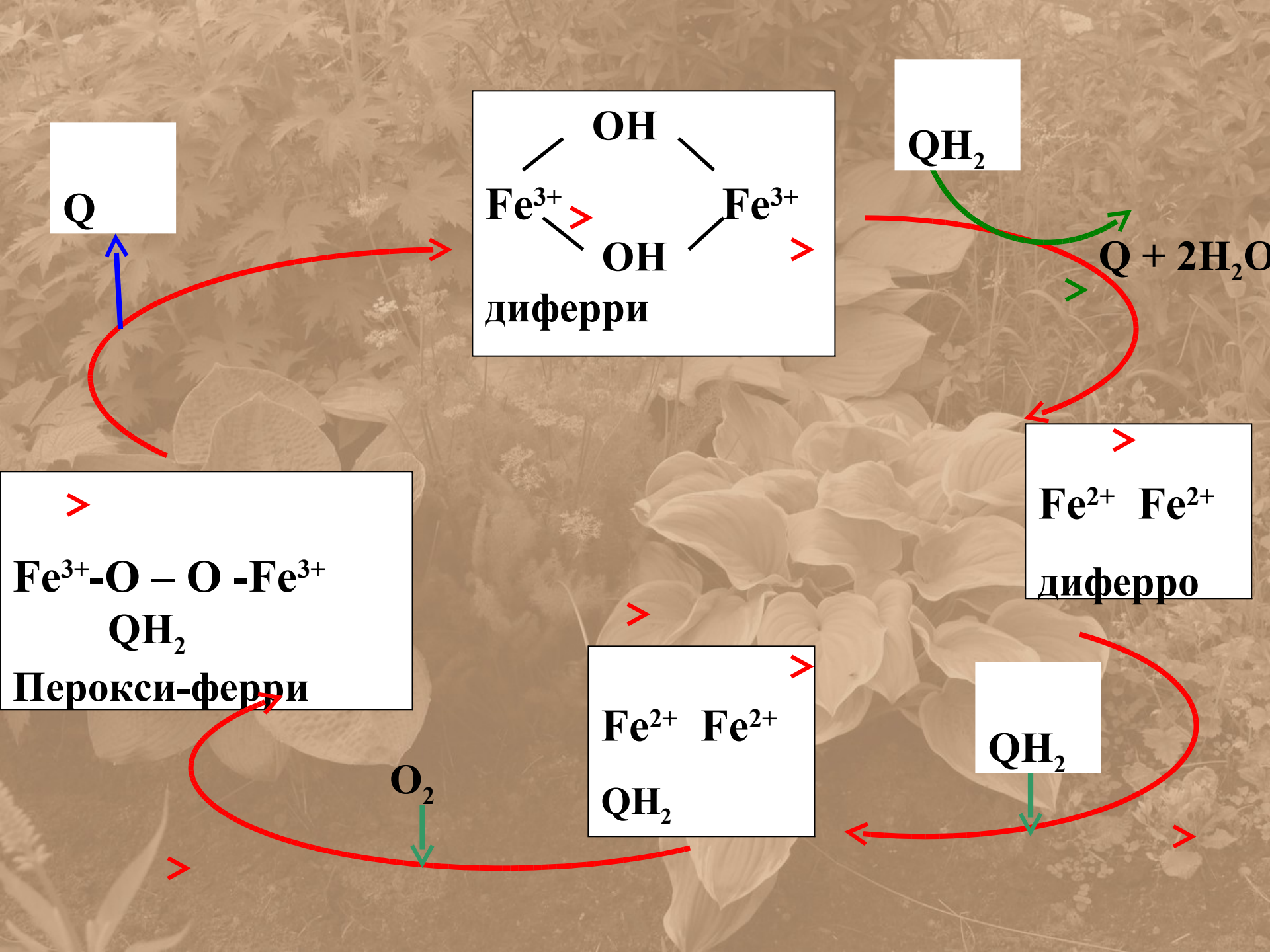


Fig. 1. Photographs of *Helicodiceros muscivorus* on the morning of the first day of anthesis, showing the appendix on the hairy spathe (a) and the male florets above the female florets in the opened floral chamber (c). Thermal images show intense heating of the appendix (b) and male florets (d). Surface 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.

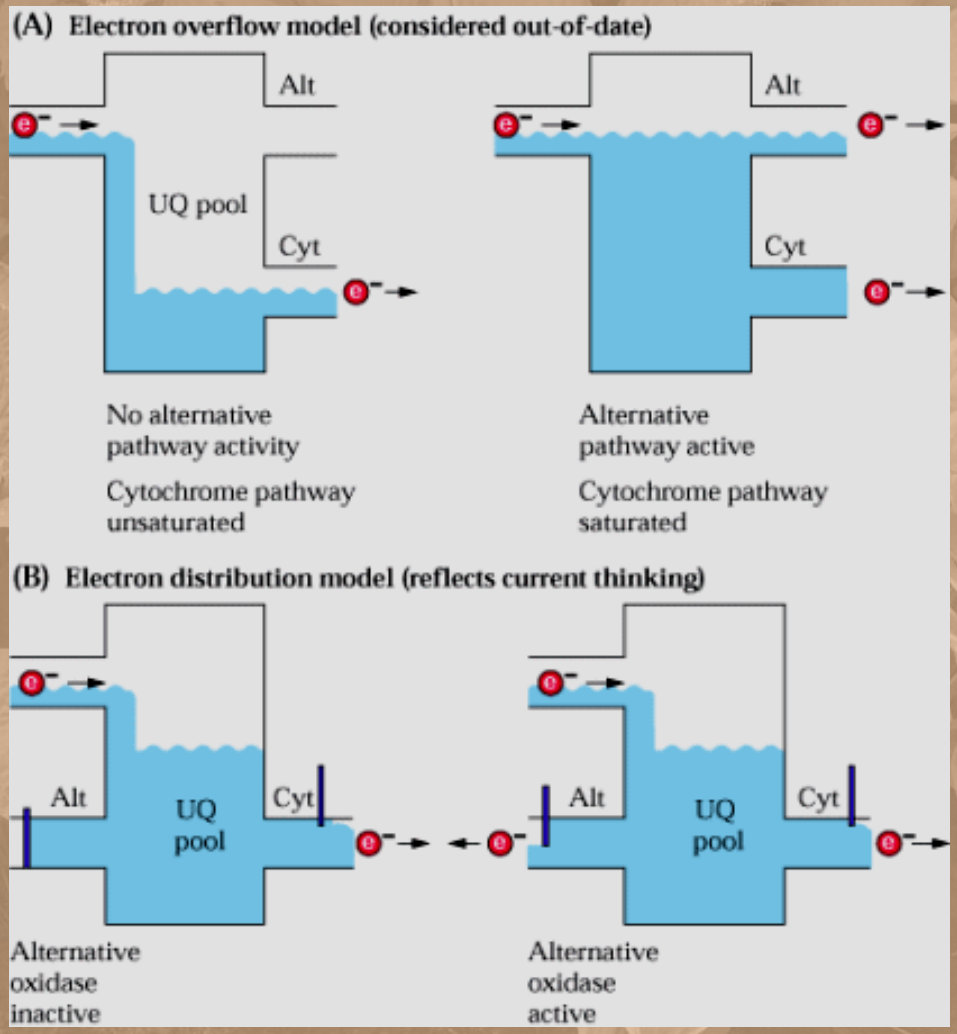
Helicodeceros muscivorus


A.
B.
C
N
H
EDAR
Fe
Fe
E
LEEEA
(H)
Cys$_I$
Cys$_{II}$
L
E
T
NERMHL
membrane
LEEEA
NERMHL
Cys$_I$
Cys$_{II}$
N

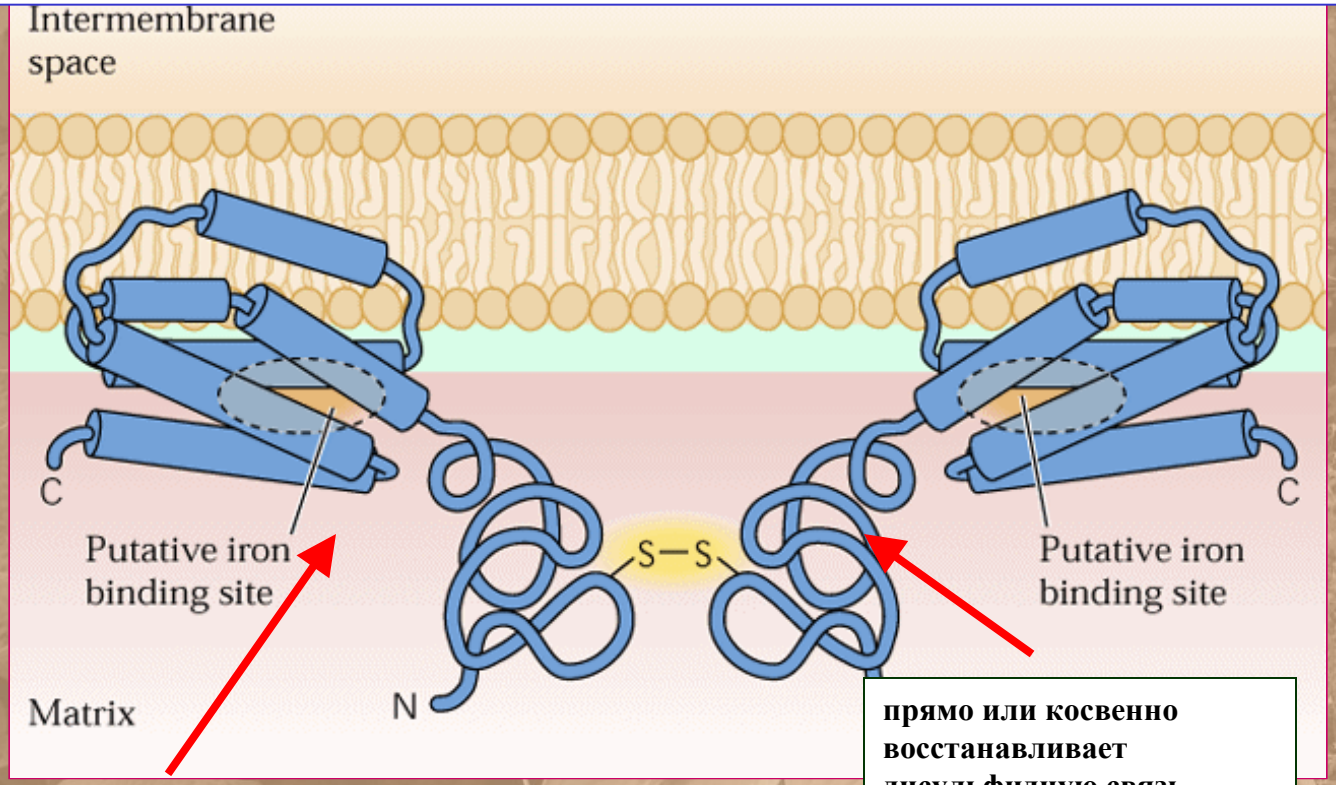

C.
Y280
OH
E324
E183
E273
H225
H327
E222
D323
N221
Fe
Fe


Q
OH
Fe3+
Fe3+
OH
диферри
QH2
Q + 2H2O
Fe2+ Fe2+
диферро
Fe3+-O – O -Fe3+
QH2
Перокси-ферри
Fe2+ Fe2+
QH2
QH2
O2

Гипотеза свехпотока через АОХ



Особенности ЭТЦ-дыхания растений:
Альтернативная оксидаза (цианид-резистентное дыхание)



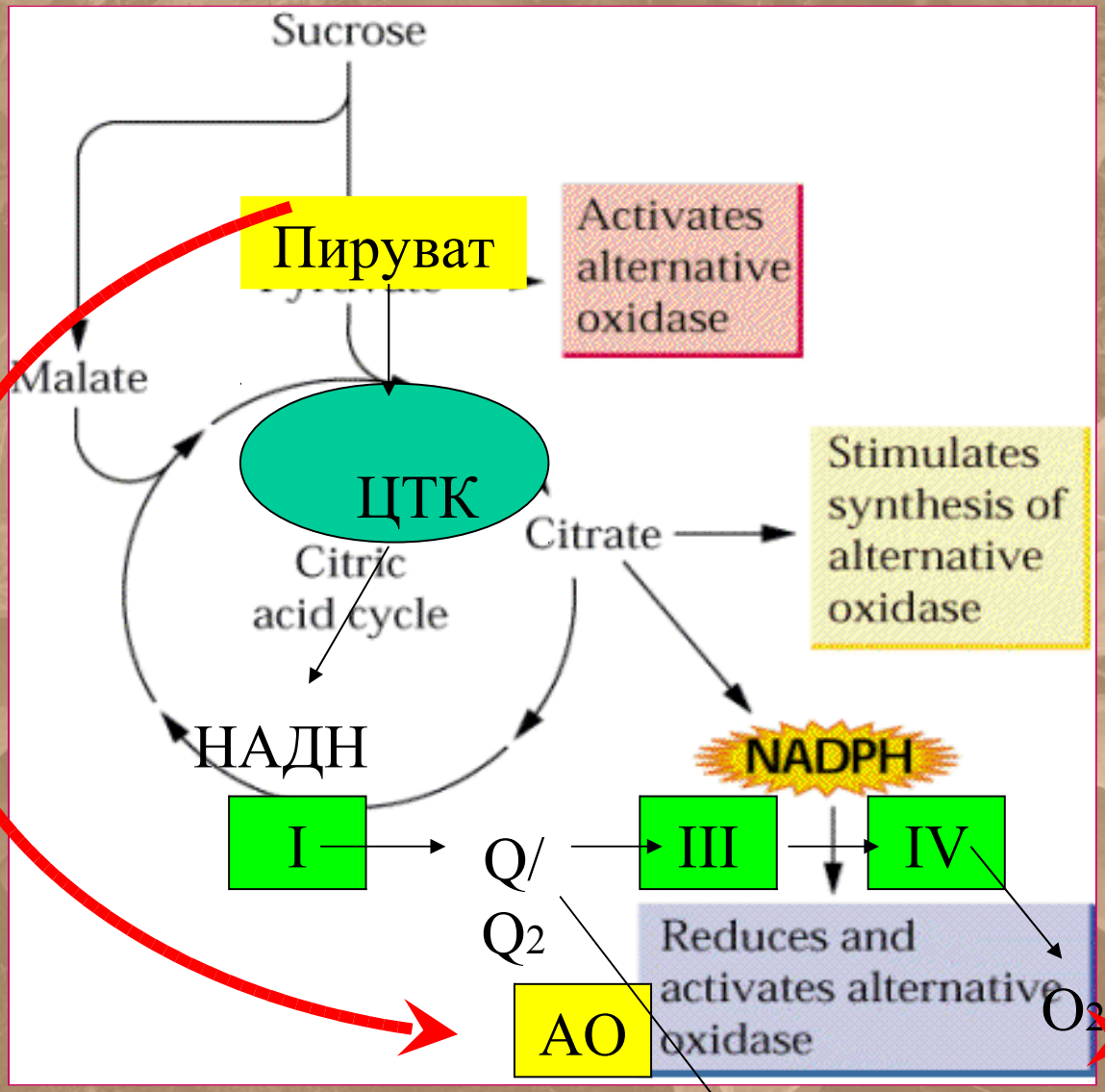
прямо или косвенно восстанавливает дисульфидную связь

Аллостерически активирует АО

НАДФН

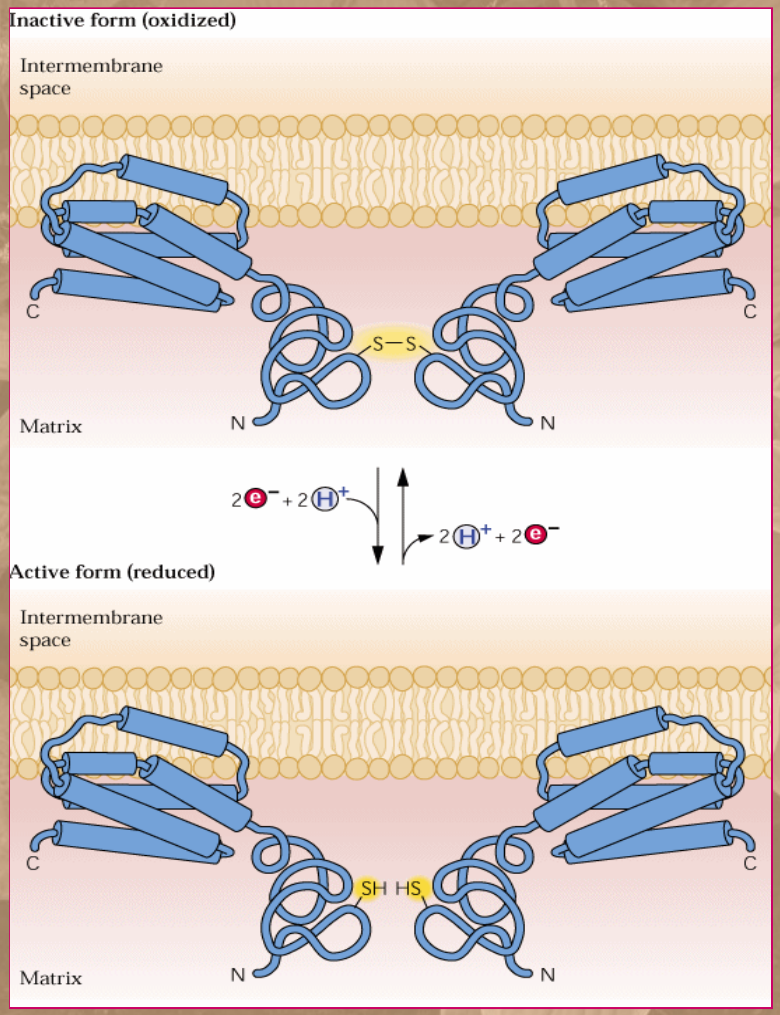
пируват → **цтк** → **цитрат**

Регулирование синтеза и активности альтернативной оксидазы



Активация альтернативной оксидазы

Red-Ox!



Инактивация

Активация

АКТИВАЦИЯ СИНТЕЗА Альтернативной Оксидазы

DE NOVO ПРИ ДЕЙСТВИИ СТРЕССОВ

НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЙ СТРЕСС

ВНЕДРЕНИЕ ПАТОГЕНА

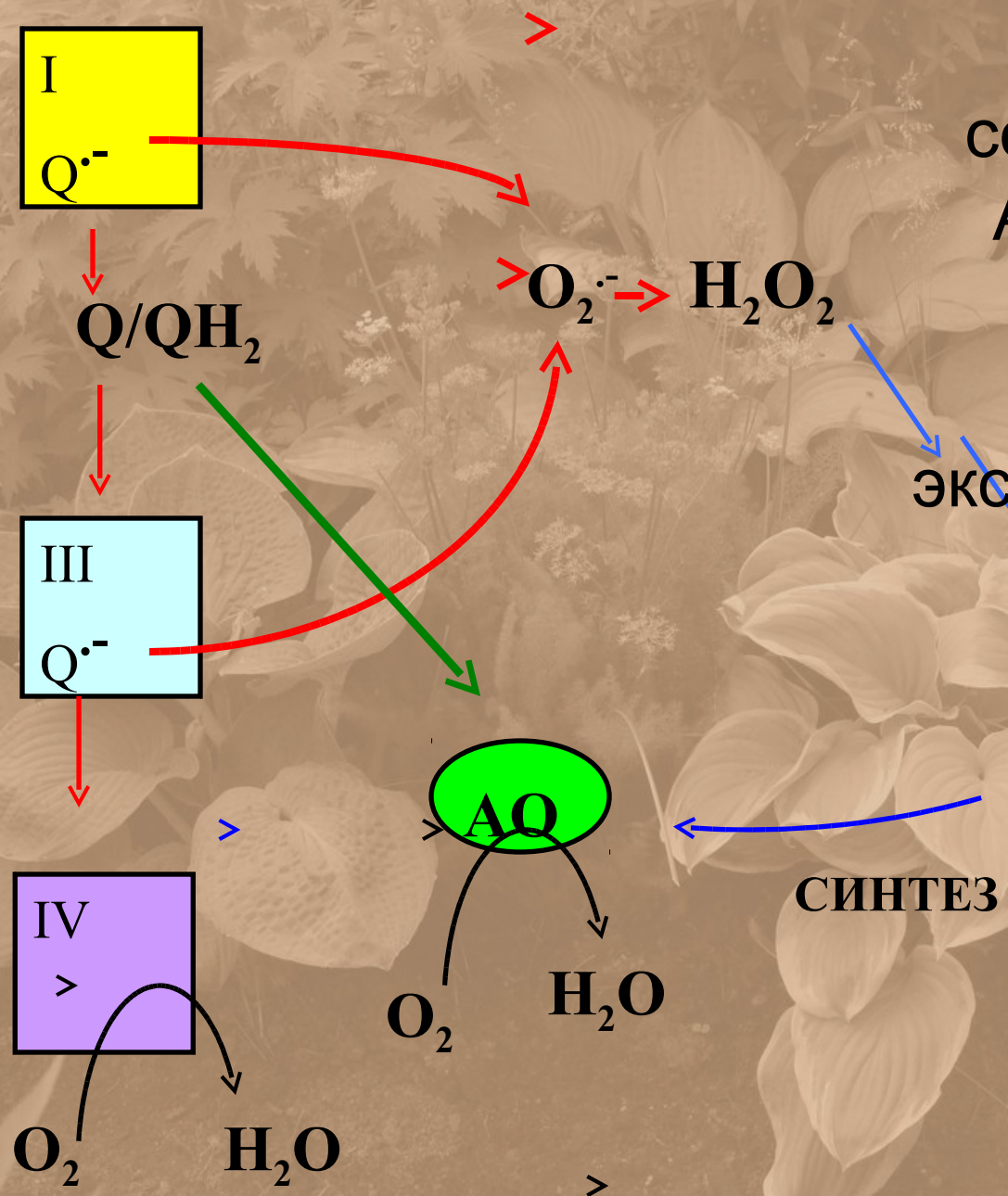
ПОРАНЕНИЕ

ЗАСОЛЕНИЕ
ДЕФИЦИТ ФОСФОРА, АЗОТА

ПРИ ВОДНОМ ДЕФИЦИТЕ ЗАСУХА

ПРИ ЗАСОЛЕНИИ

ПРИ ДЕЙСТВИИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ГЕРБИЦИДОВ



- Интенсивность АД
- зависит от содержания белка АО в мембране,
- т.е. от интенсивности экспресии гена *Aox1.*

КЛЕТКИ ТАБАКА

АНТИМИЦИН А
KCN

САЛИЦИЛОВАЯ К-ТА

НАКОПЛЕНИЕ H_2O_2

НАКОПЛЕНИЕ H_2O_2

СИНТЕЗ АО

СИНТЕЗ АО

+SHAM

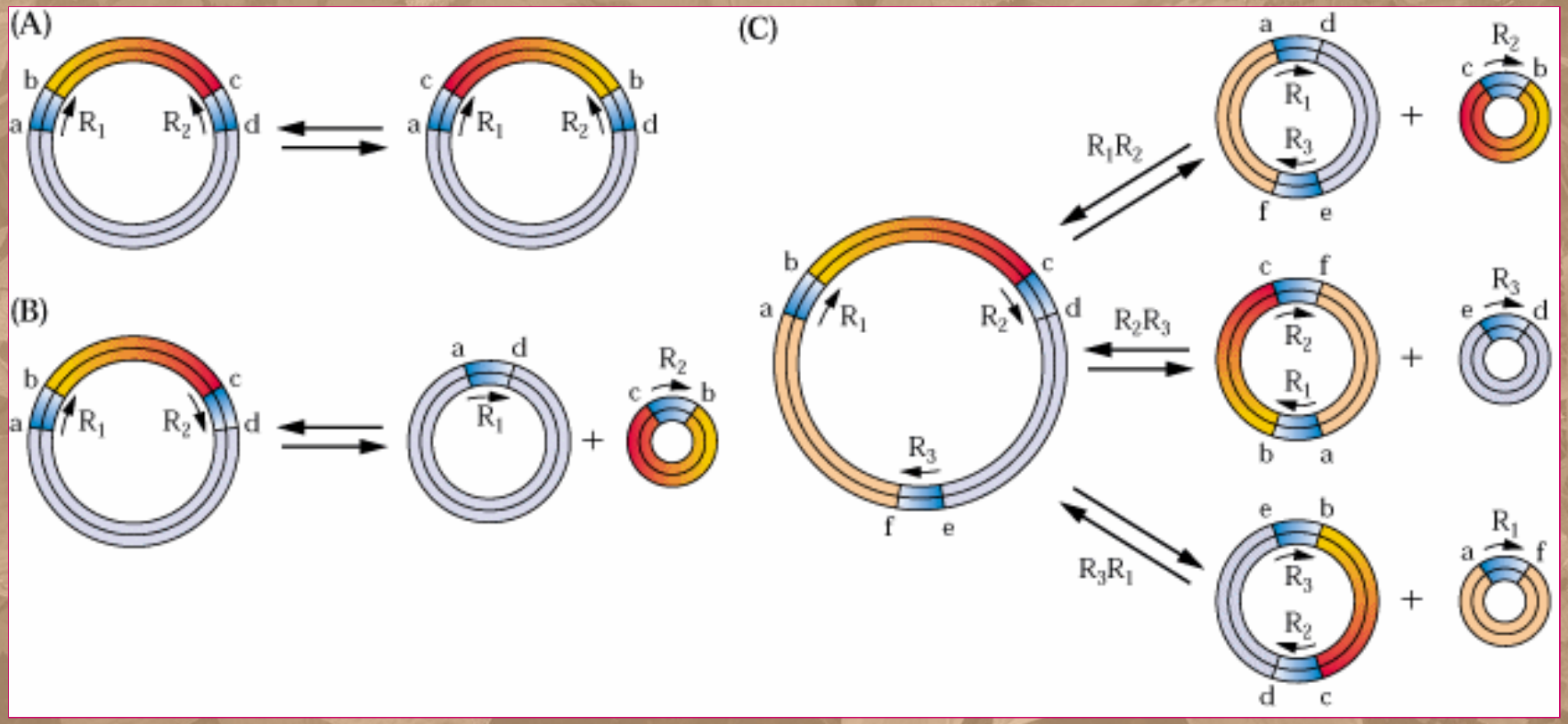
УСТОЙЧИВОСТЬ
К ВТМ

УСТОЙЧИВОСТЬ
К ВТМ

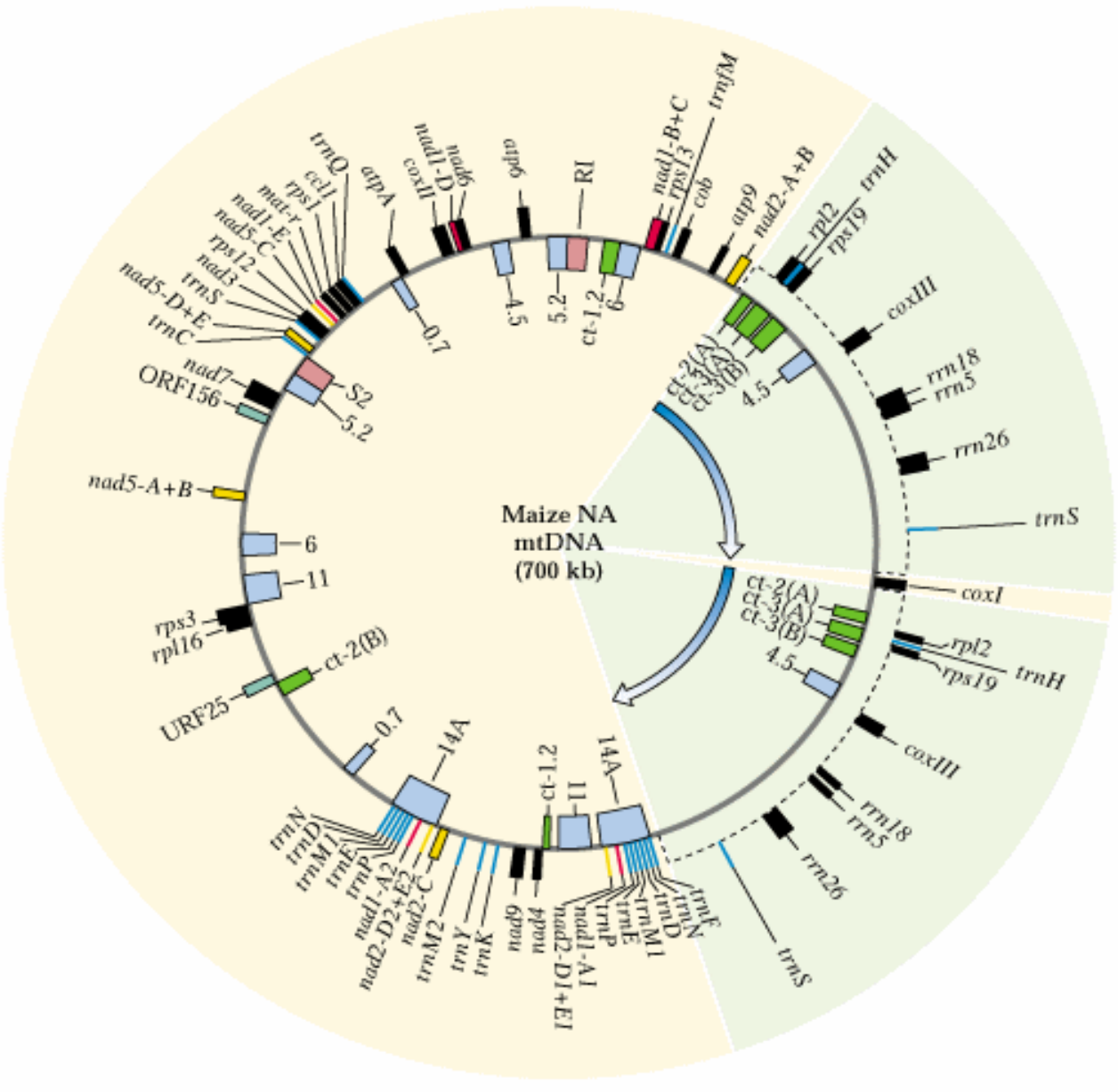
НЕТ
УСТОЙЧИВОСТИ

Генетическая функция митохондрий

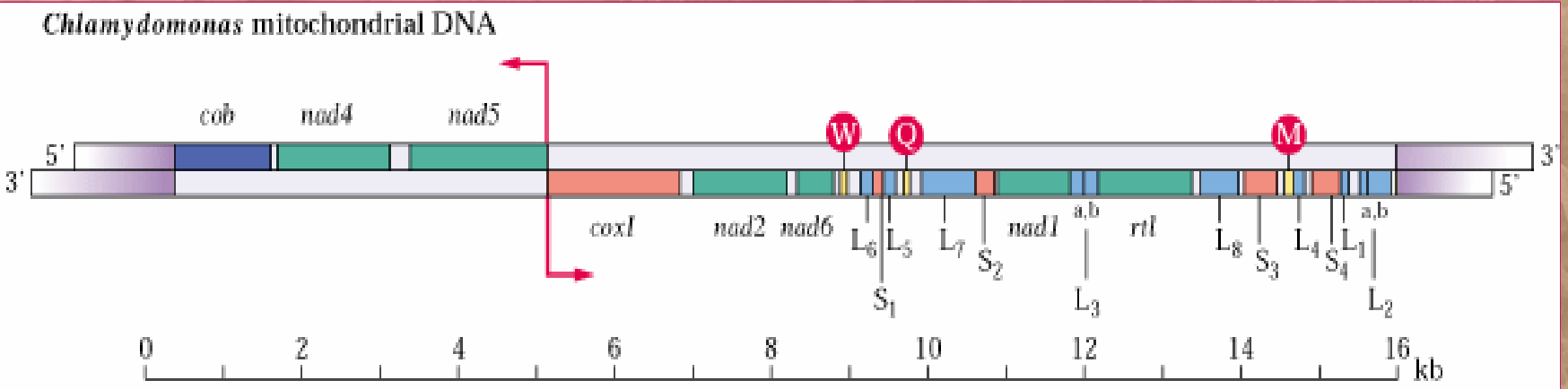
Множество кольцевых молекул митохондриальной ДНК растений – результат гомологичных рекомбинаций по повторам.



Предполагаемая структура «мастер-хромосомы» митохондрий кукурузы



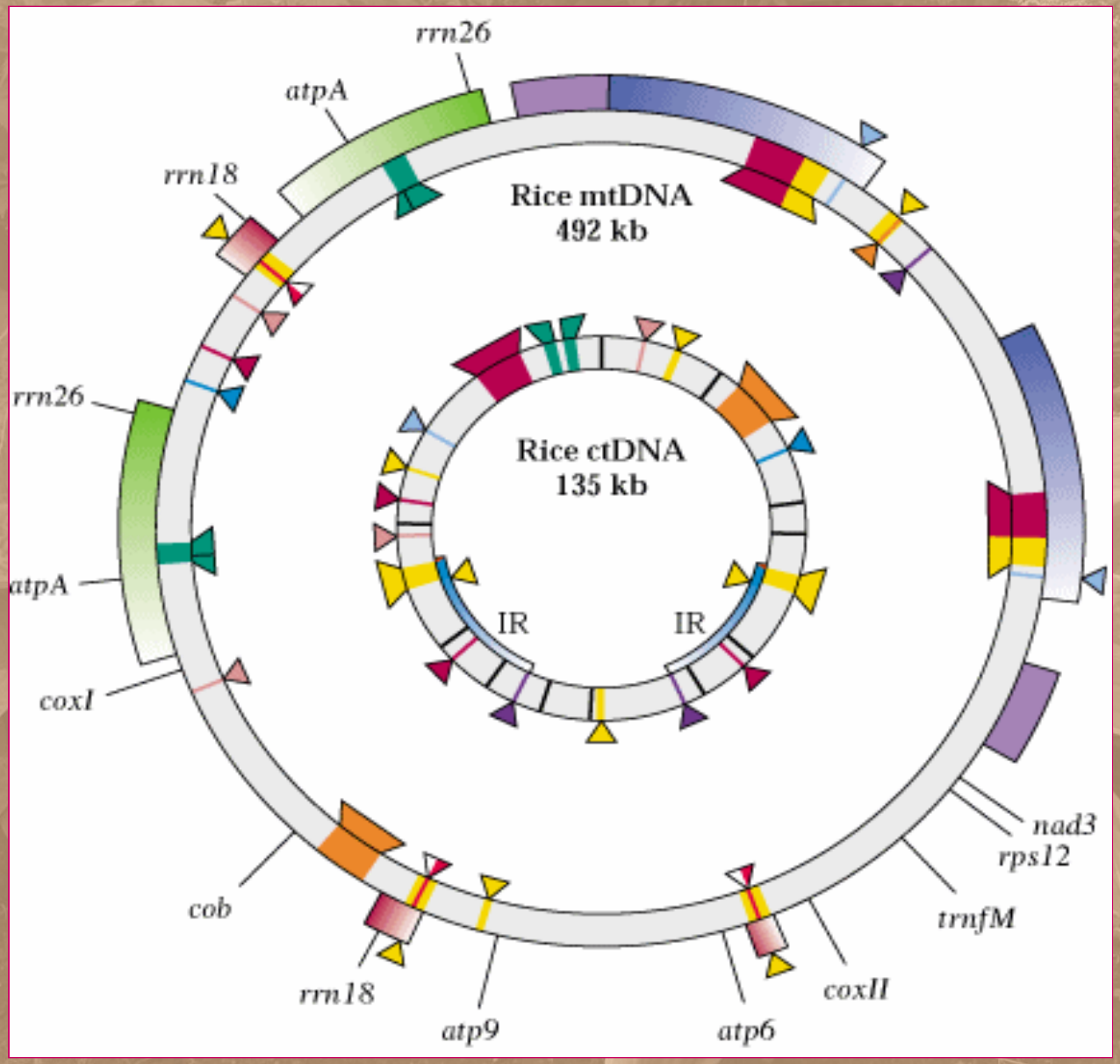
Линейная ДНК митохондрий хламидомонады



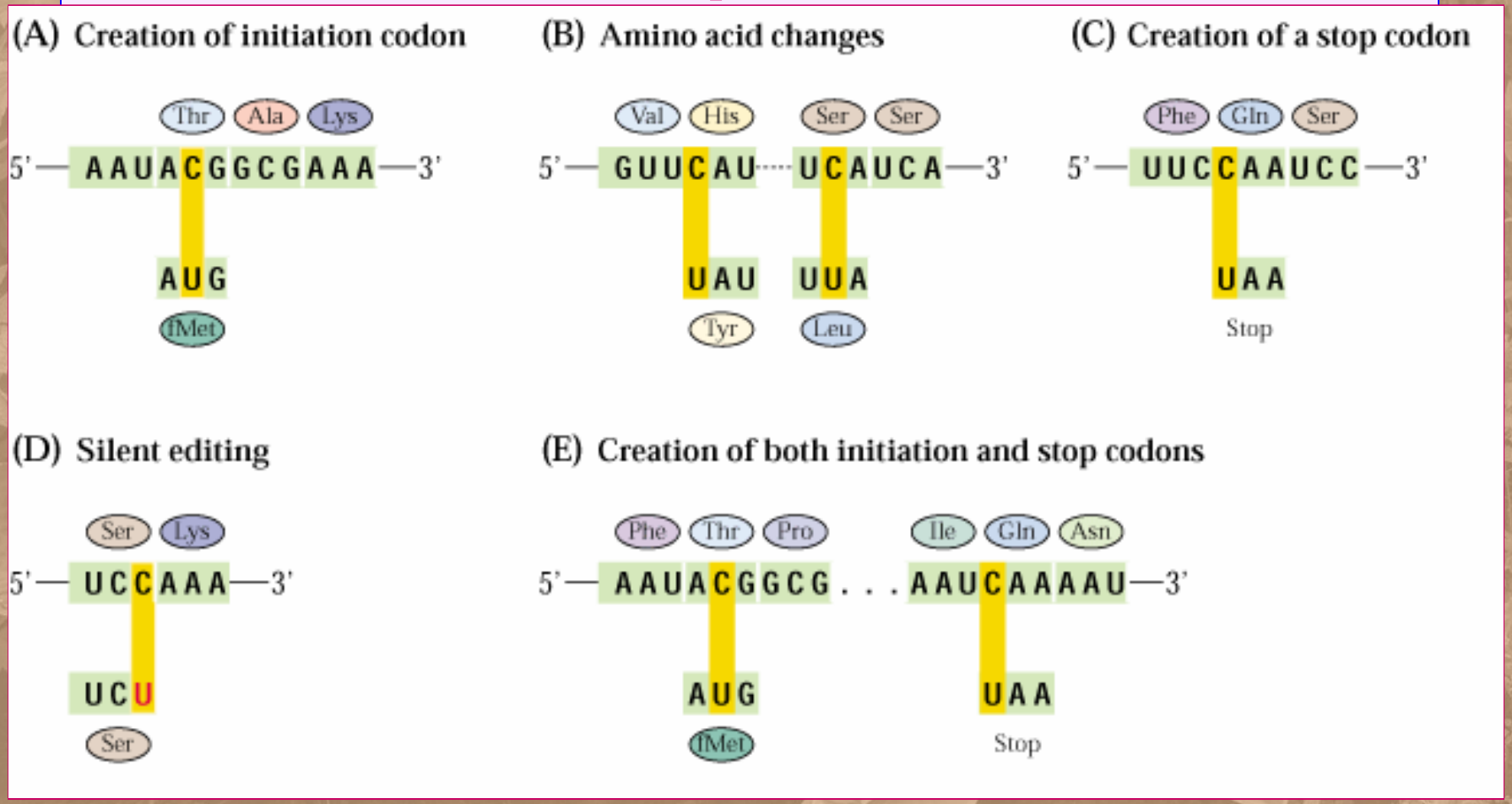
Gene content of *Chlamydomonas* mitochondrial DNA

	Gene	Gene product
Protein-coding genes	*cob*	Apocytochrome
	coxI	Cytochrome oxidase subunit I
	nad1, *nad2*, *nad4*, *nad5*, *nad6*	Subunits of NADH dehydrogenase
	rtl	Reverse transcriptase-like reading frame
rRNA genes	$L_1 - L_8$	Segments encoding large subunit of rRNA
	$S_1 - S_4$	Segments encoding small subunit of rRNA
tRNA genes	W	Tryptophan tRNA
	Q	Glutamine tRNA
	M	Methionine tRNA (elongator, not initiator)

Сопоставление хлоропластного и митохондриального геномов риса.



Варианты редактирования хлоропластных и митохондриальных РНК растений



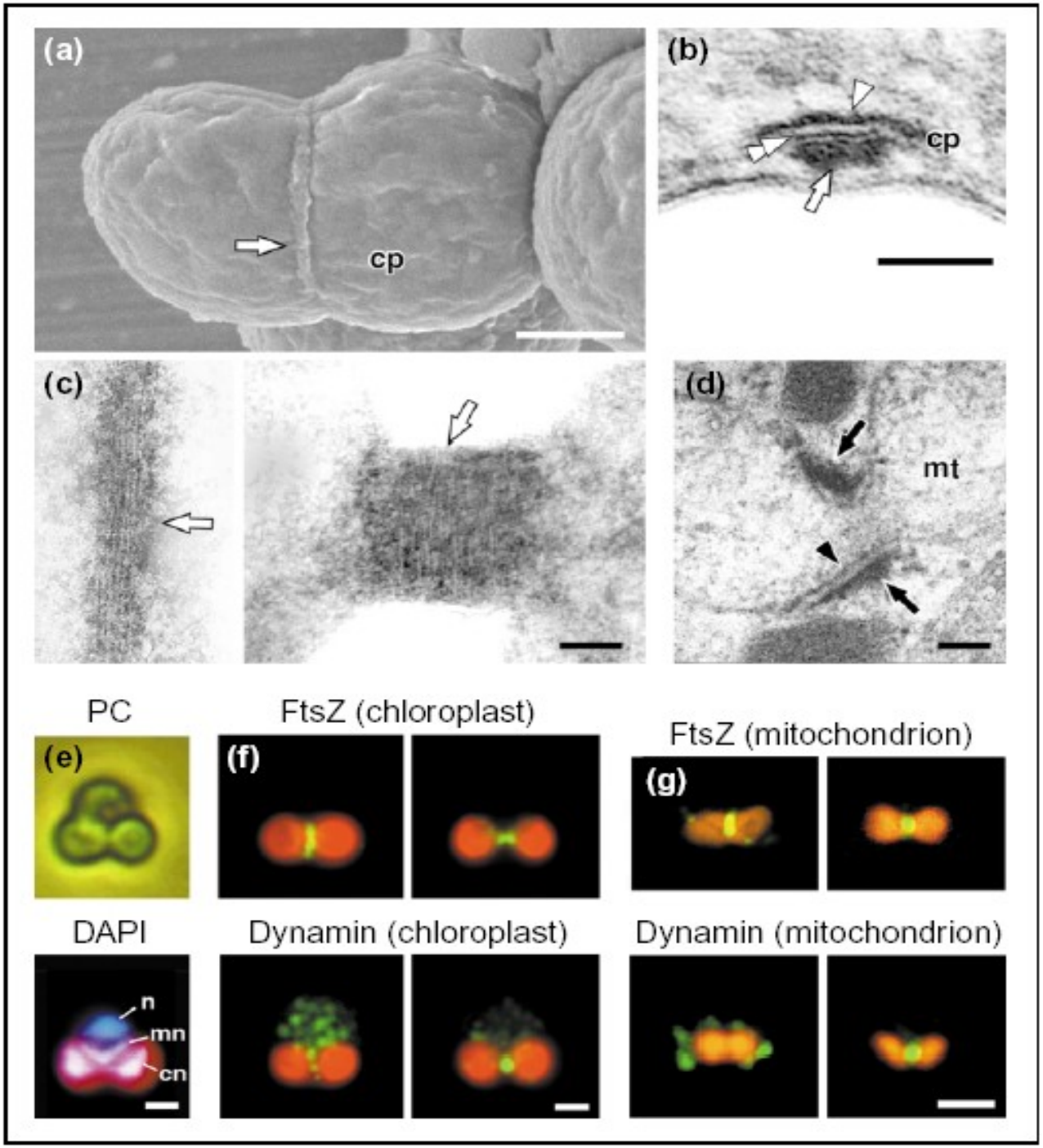
Гены митохондрий

1. **Синтез белка**. - 3 гена рРНК (оперон rrn)
   - 10 генов белков пластидных рибосом (rpl/rps)
   - 16 генов тРНК (trn) – **не хватает! – импорт!**

2. **Дыхание** - 9 генов белков НАД Н дегидрогеназы (nad)
   - ген апоцитохрома b (cob);
   - 5 генов белков биосинтеза цитохрома с (ccb)
   - 3 гена субъединиц цитохромоксидазы (гены cox).
   - 3 гена субъединиц сукцинатдегидрогеназы (sdh) у печеночников
   - 4 гена АТФ-синтазы (atp)

Всего: около 50 генов (у печеночных мхов – более 100) ,
из них около 20 - «рабочих» и около 30 - «домашнего хозяйства».

- **Ядерный генов контролирует :**
- некоторые т РНК
- ДНК – полимеразу
- РНК – полимеразу
- Некоторые рибосомальные белки
- Синтез белков, входящие в состав комплексов электрон – транспортной цепи дыхания
- Синтез ферментов ЦТК


(a)
cp
(b)
cp
(c)
(d)
mt
PC
(e)
FtsZ (chloroplast)
(f)
FtsZ (mitochondrion)
(g)
DAPI
n
mn
cn
Dynamin (chloroplast)
Dynamin (mitochondrion)

- Fzo – это гигантские ГТФ-азы, расположенные во внешней мембране митохондрий

- Fzo (fuzzy onion)

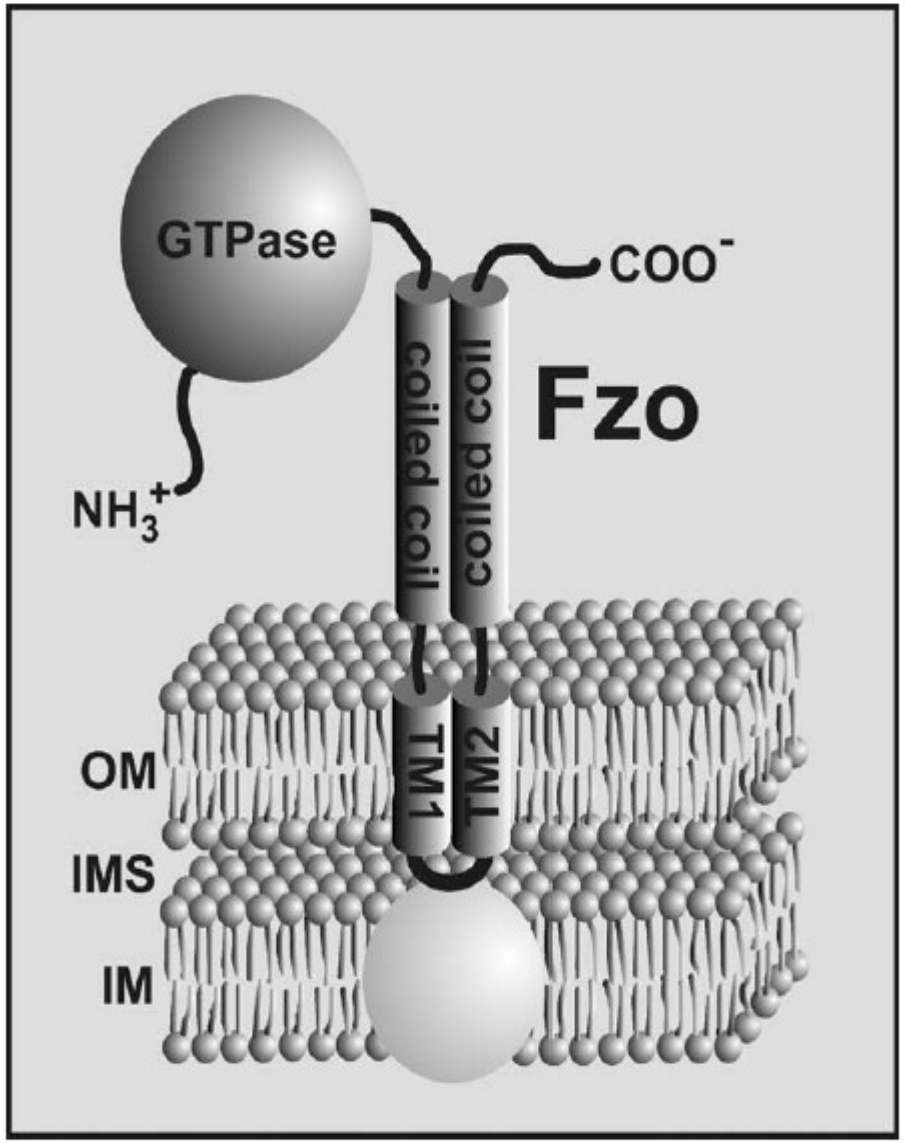


Fig. 3. Domain structure and topology of Fzo proteins. Intramolecular

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС)

«Техасская» - Т-ЦМС

Ядерный ген Restorer of Fertility = = *Rf*

стерильность

восстановление фертильности

«USDA»-тип - S-ЦМС

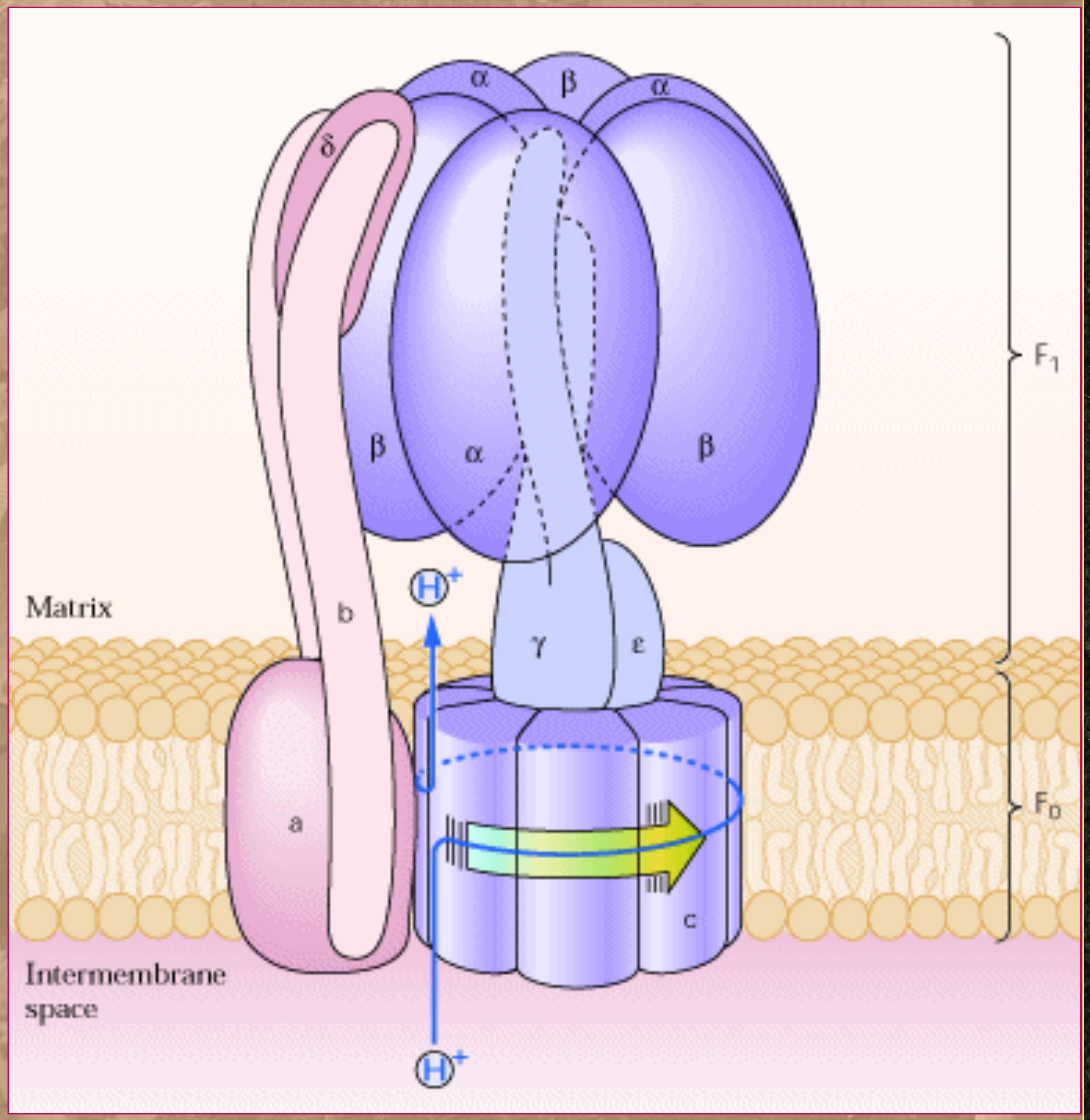
Ядерный ген Rf_3

«Молдавская» - М-ЦМС

«Парагвайская» (Charrua-тип) - С-ЦМС

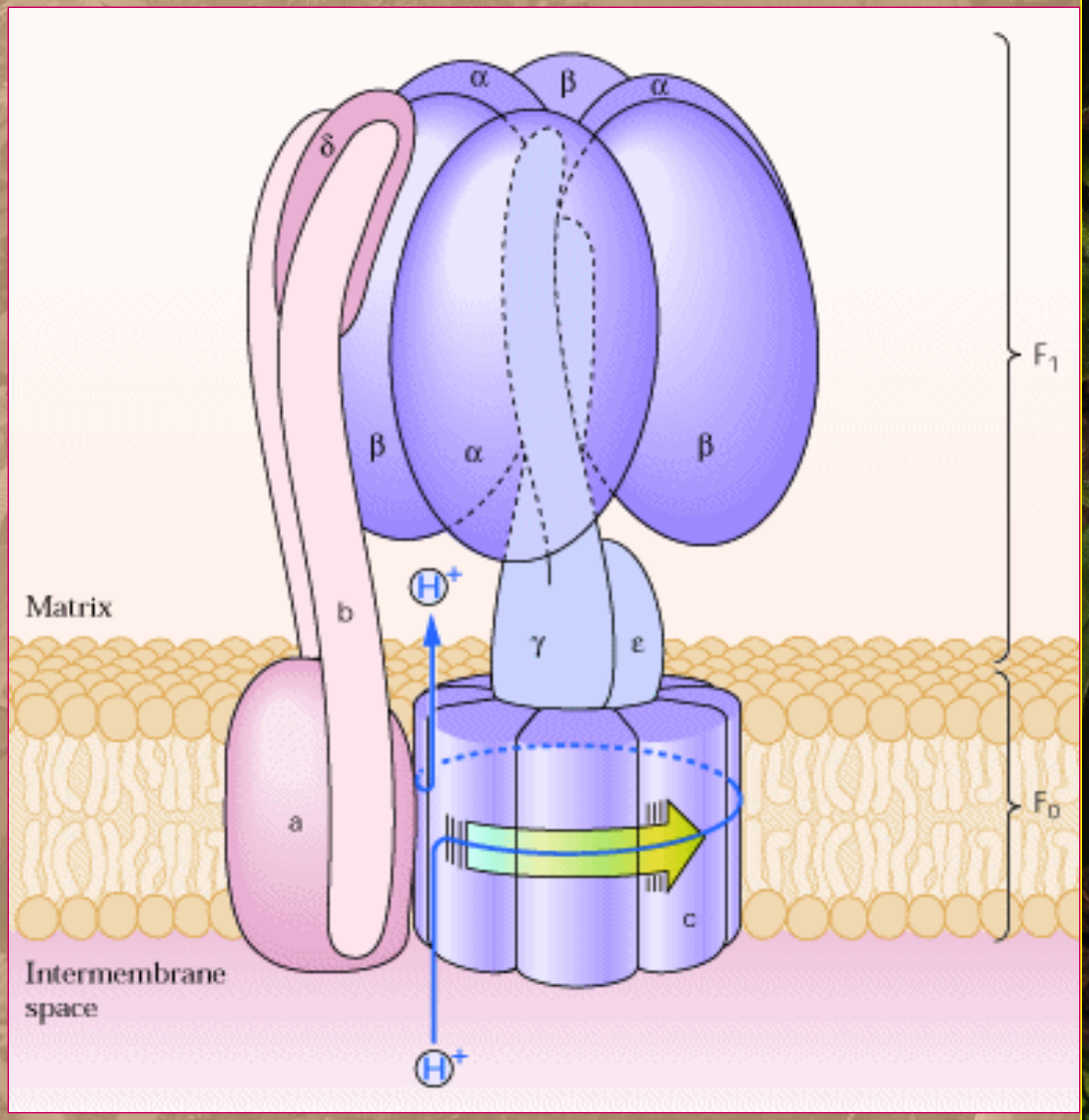
Ядерный ген Rf_4

АТФ-синтаза: ключевой фермент «Техасской» ЦМС



13 kDa-белок появляется в митохондриях как результат незаконной рекомбинации с геном *atp6* и встраивается в АТФ-синтазу, вызывая ЦМС

АТФ-синтаза: ключевой фермент ЦМС у петунии



У петунии незаконная рекомбинация происходит с участием гена *atp9.* Изменения в АТФ-синтазном комплексе вызывают ЦМС

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС)

«USDA»-тип - S-ЦМС
«Молдавская» - T-ЦМС

При S-ЦМС(=M-ЦМС) появляются линейные фрагменты в митохондриальном геноме: S1 и S2 – эписомы. Возможно, более крупные кольцевые молекулы мт-ДНК за счет рекомбинации могут линеаризоваться.

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС): спорофитный и гаметофитный контроль

«USDA»-тип - S-ЦМС
«Молдавская» - M-ЦМС

Ядерный

Спорофитный (2n) контроль

S-мх rf_3rf_3 → Стерильность

S-мх Rf_3rf_3 → Полное (!) восстановление фертильности

S-мх Rf_3Rf_3 → Восстановление фертильности

Цитоплазматическая мужская стерильность (ЦМС): спорофитный и гаметофитный контроль

«Техасская» - Т-ЦМС

Ядерные ген

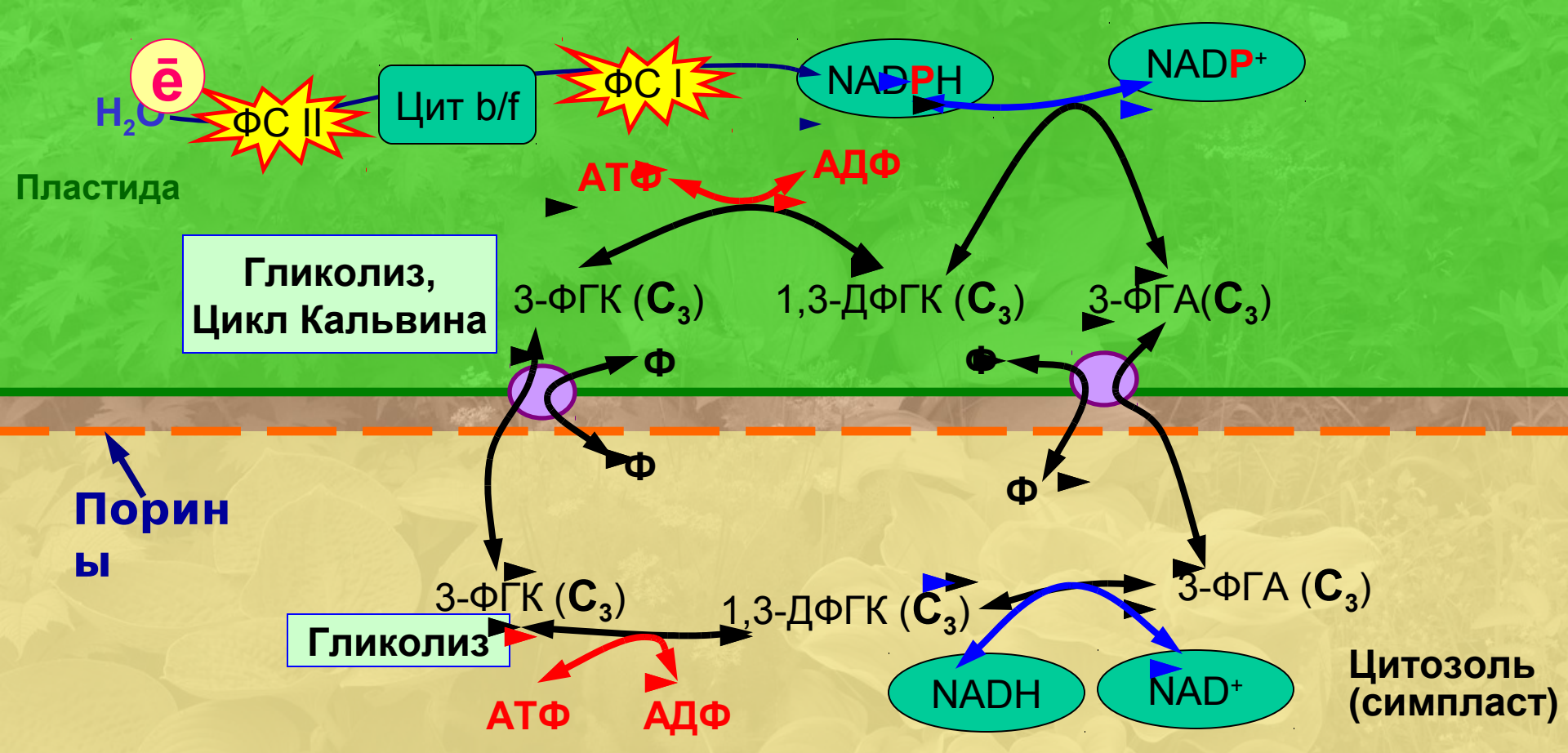
Гаметофитный (1n) контроль

Стерильность

Половина (!) пыльцевых зерен фертильна

Восстановление фертильности

Rf_2-ген – доминантная гомозигота


ē
H_2O
ФС II
Цит b/f
ФС I
NADPH
NADP+
Пластида
АТФ
АДФ
Гликолиз,
Цикл Кальвина
3-ФГК (C_3)
1,3-ДФГК (C_3)
3-ФГА(C_3)
Ф
Ф
Ф
Ф
Порины
3-ФГК (C_3)
1,3-ДФГК (C_3)
3-ФГА (C_3)
Гликолиз
АТФ
АДФ
NADH
NAD+
Цитозоль
(симпласт)

$4H^+$ НАДН НАДФН

$ДГ_{ex}$ $ДГ_{ex}$

I

II

Q

e^-

e^-

e^-

ДГin ДГin

АО

$4H^+$

III

e^- Цит с

$2H^+$

IV

nH^+

АТФ синтаза

НАДН НАДН НАДФН Сукцинат

O_2 H_2O

O_2 H_2O

АДФ АТФ

ротенон

SHAM

АНТИМИЦИН А

CO

CN^-

ОЛИГОМИЦИН