

Semichinon sprzężony z klastrem żelazowo-siarkowym jako nowy element w mechanizmie działania i regulacji białek z rodziny cytochromów *bc*

Łukasz Bujnowicz

Cytochrom bc_1 obecny w układach oddechowych wraz z cytochromem b_{6f} obecnym w roślinnych układach fotosyntetycznych tworzą rodzinę kompleksów *bc*. Kompleksy te są istotną częścią układów przekształcających energię. Główną rolą tych enzymów jest budowanie siły protonomotorycznej w poprzek błon bioenergetycznych dzięki sprzęgnięciu translokacji protonów z transferem elektronów z puli rozpuszczalnych w błonie chinonów (pula Q) z pulą białkowych przenośników elektronów rozpuszczalnych w wodzie. W celu zwiększenia wydajności tego procesu cytochromy bc_1 oraz b_{6f} umożliwiają recyrkulację jednego z dwóch elektronów pochodzących z utleniania chinolu z powrotem do puli Q. Mechanizm ten wymaga obecności dwóch dróg transportu elektronów wewnątrz enzymu w miejscu utleniania chinolu zwanym Q_o . Jeden ze szlaków elektronów prowadzi przez kofaktory o niskim potencjale redoks (hem b_L oraz hem b_H) do miejsca redukcji chinonu zwanego Q_i . Drugi szlak przez klastre żelazowo-siarkowy Rieske'go oraz hem c_1 do cytochromu *c* (cytochrom bc_1) albo przez hem *f* do plastocyjaniny (cytochrom b_{6f}). Pomimo wielu lat badań nie jest znany mechanizm, który zabezpiecza przed transferem elektronów z gałęzi niskopotencjałowej do gałęzi wysokopotencjałowej, co w konsekwencji prowadziłoby do dyssypacji energii. Nie jest również znany dokładny mechanizm utleniania chinolu w miejscu Q_o . Zakłada się, że proces ten przebiega przez niestabilną formę częściowo utlenionego chinolu – semichinon, który jest potencjalnym donorem elektronu dla tlenu cząsteczkowego w ubocznej reakcji powstawania anionorodnika ponadtlenkowego. Rodnik ten jest jednak nieuchwytny eksperymentalnie. Niedawno zidentyfikowano w miejscu Q_o semichinon oddziałujący z klastrem żelazowo-siarkowym będący potencjalnym stanem przejściowym utleniania chinolu.

W pracy doktorskiej badano semichinon w miejscu Q_o cytochromów bc_1 i b_{6f} sprzężony z klastrem żelazowo-siarkowym w celu poznania dokładnych mechanizmów prowadzących do jego powstania oraz w celu poznania właściwości tego stanu. W pracy doświadczalnej wykorzystano spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego, spektroskopię optyczną, metodę zatrzymanego przepływu (*stopped-flow*), metodę zatrzymania reakcji przez zamrożenie roztworu (*freeze-quench*) oraz autorskie rozwiązania łączące wszystkie wspomniane wcześniej podejścia eksperymentalne. Uzyskane dane posłużyły do weryfikacji proponowanego w pracy modelu teoretycznego funkcjonowania dimeru cytochromu bc_1 poprzez porównanie z przeprowadzonymi symulacjami stochastycznymi.

Wyniki eksperymentalne wskazują, że semichinon sprzężony z klastrem żelazowo-siarkowym jest dodatkowym stanem enzymu mogącym zapobiegać niepożądanym reakcjom ubocznym w tym produkcji anionorodnika ponadtlenkowego. Powstawanie tego stanu jest natomiast najprawdopodobniej kontrolowane poprzez stan redoks hemu b_H w gałęzi niskopotencjałowej.