

第六章 线粒体和叶绿体

MITOCHONDRION AND CHLOROPLAST



本章内容提要

第一节 线粒体

- 线粒体的形态与结构，氧化磷酸化的分子基础、作用机理，线粒体的发生。

第二节 叶绿体

- 叶绿体的形态与结构，光合磷酸化作用机理，叶绿体的发生。



第一节 线粒体

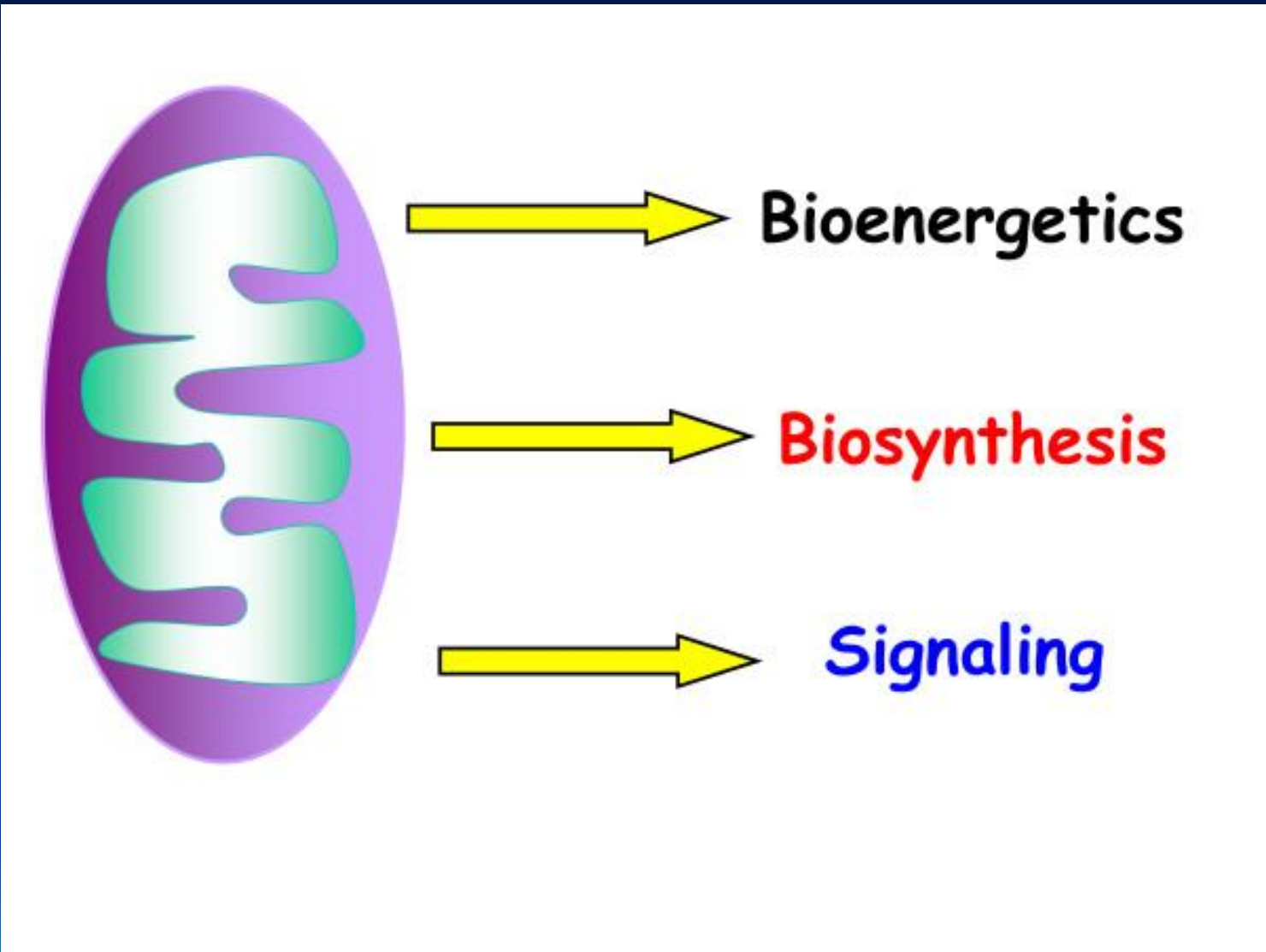
- 1890, Altaman首次发现, 命名为bioblast;
- 1898, von Benda提出mitochondrion;
- 1900, Michaelis发现线粒体具有氧化作用;
- 1948, Green, 1949, Kennedy和Lehninger
分别发现三羧酸循环和脂肪酸氧化是在线粒体内完成的。

Number of Mitochondria per cell

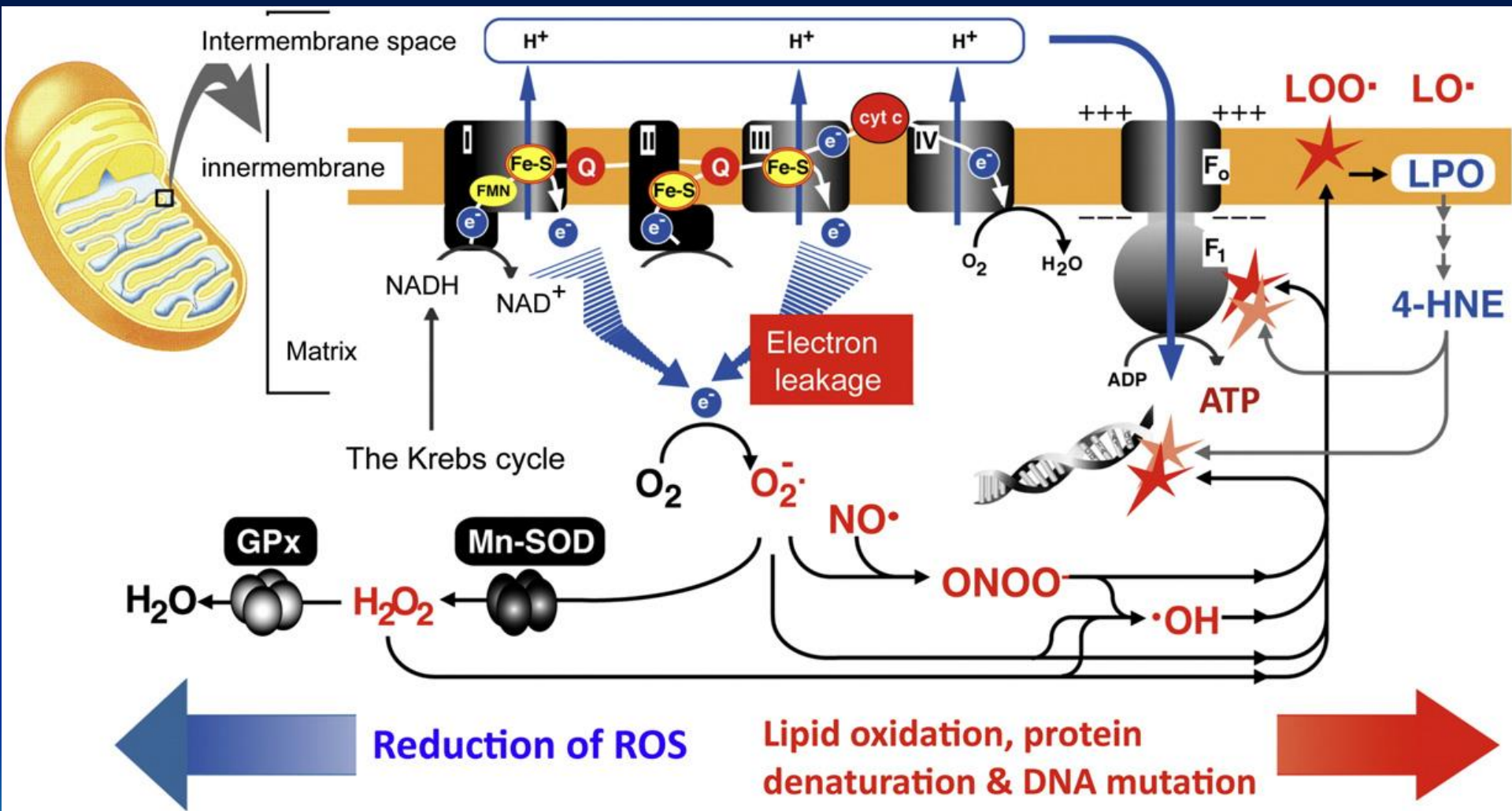
- **Most somatic cells** **100-10,000**
- **Lymphocyte** **1000**
- **Oocytes** **100,000**
- **Sperm** **few hundred**

- **No mitochondria in red cells and some terminally differentiated skin cells**





Three essential functions of mitochondria.

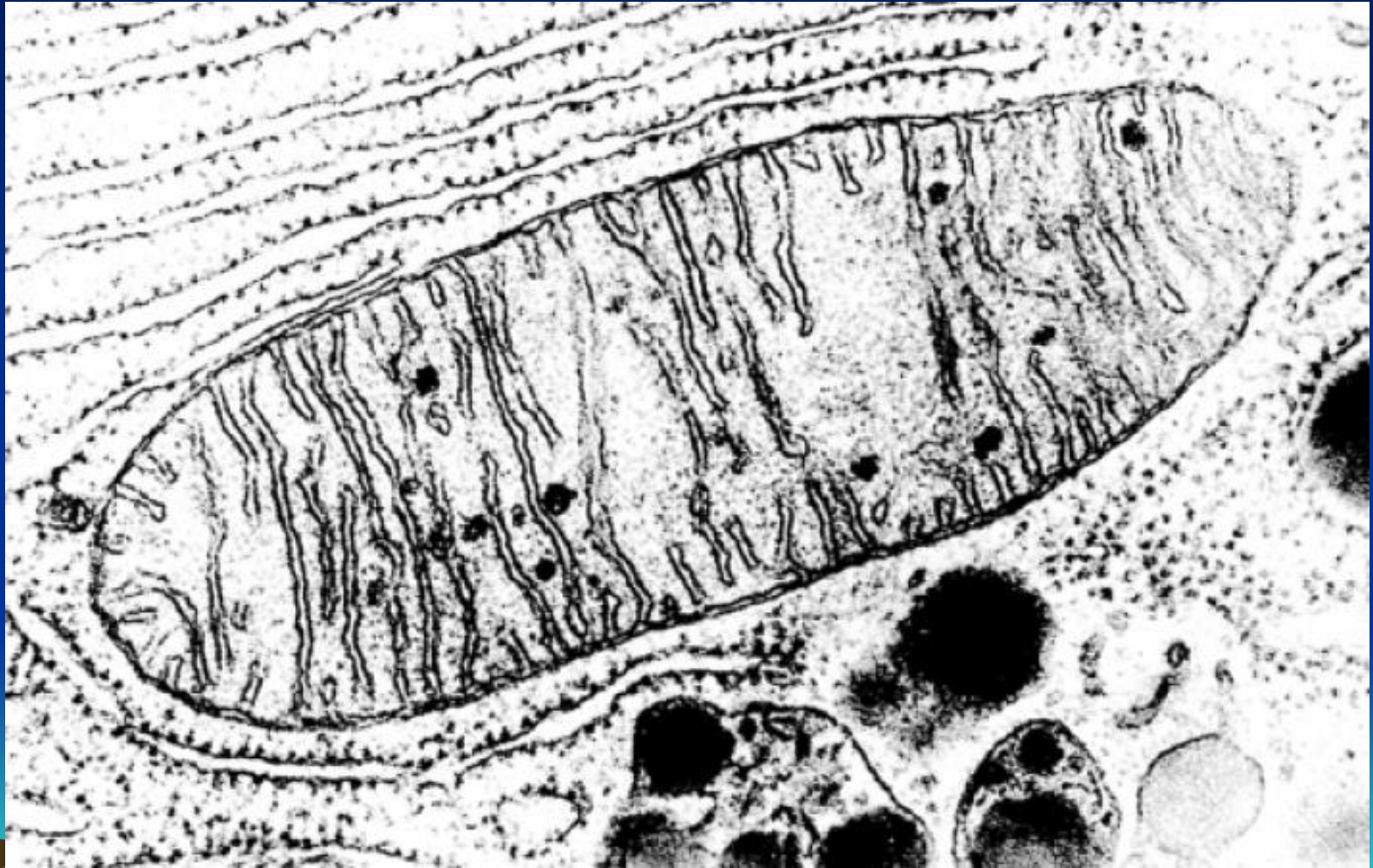


一、结构

(一) 形态

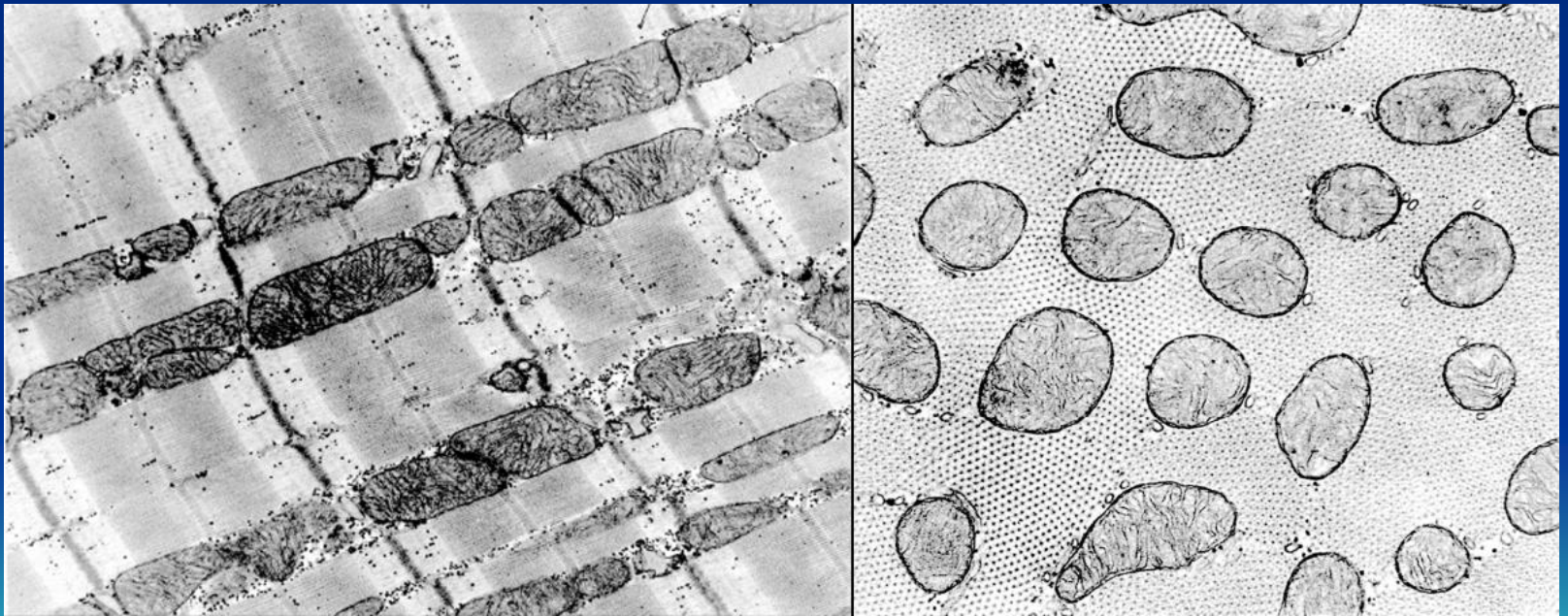
- 粒状或杆状;
- 直径0.5~1，长1.5~3.0 μm ；胰外分泌细胞中可达10~20 μm ，称巨线粒体。
- 肝细胞约1300个线粒体，占细胞体积的20%，人类红细胞无线粒体。

An TEM image of mitochondrion



(二) 分布

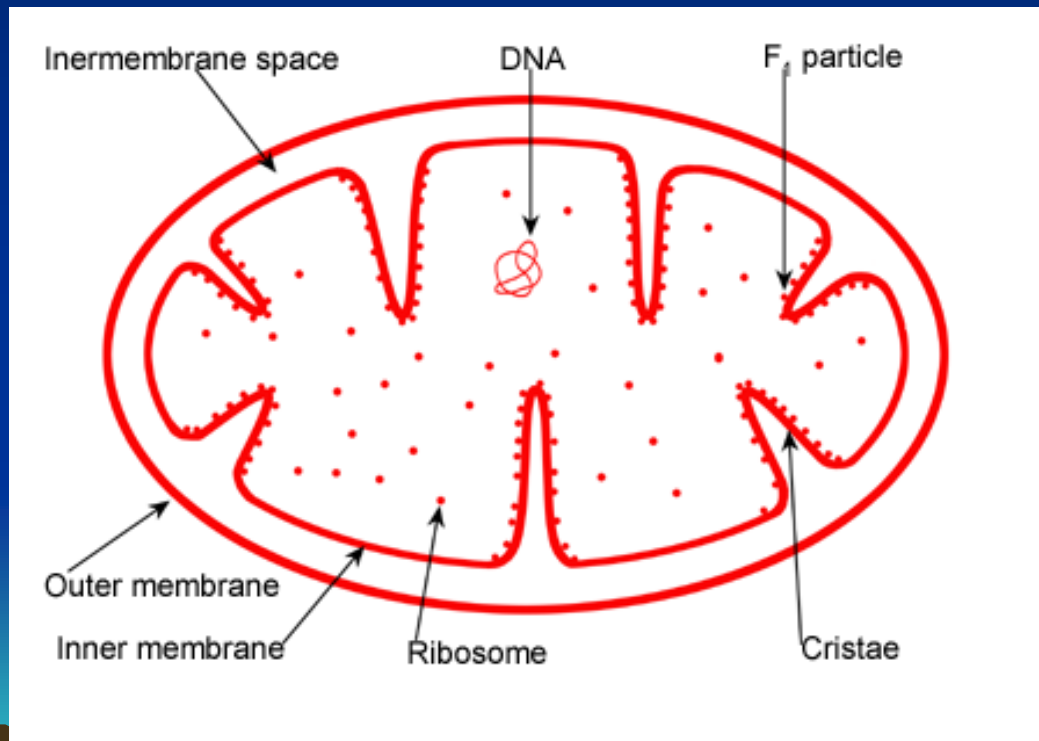
- 多分布在细胞功能旺盛的区域，可向这些区域迁移，微管是其导轨、马达蛋白提供动力。



Mitochondria distributed in skeletal muscle

(三) 功能区隔

- 分为外膜、内膜、膜间隙和基质四部分。



Schematic view of mitochondrion

1、外膜 (out membrane)

- 具有porin构成的亲水通道，允许小分子物质通过，标志酶为单胺氧化酶。

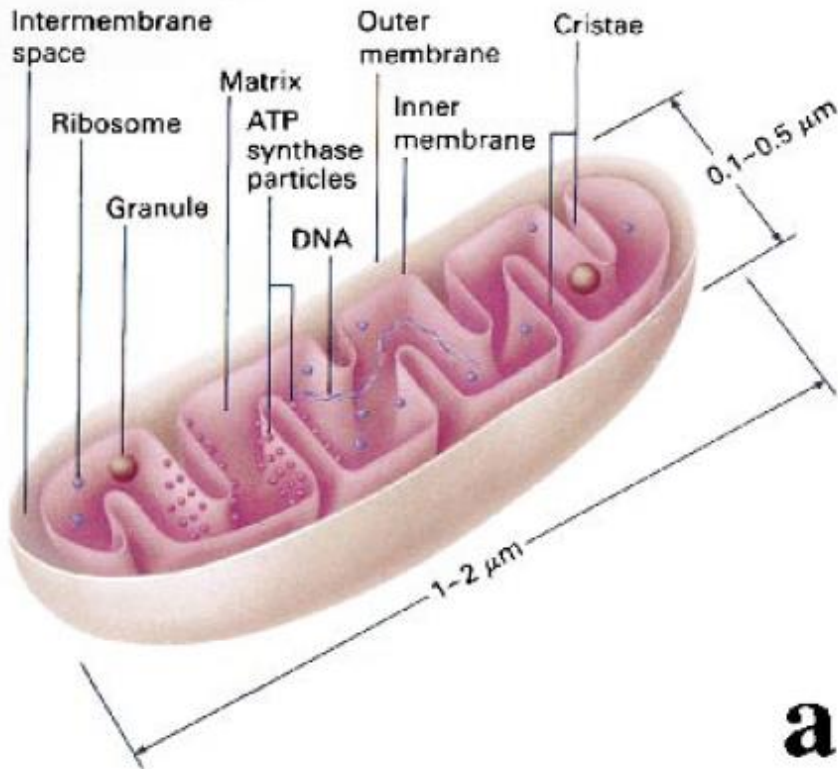
2、内膜 (inner membrane)

- 类似细菌质膜；心磷脂含量高(达20%)、缺乏胆固醇，通透性很低。

- 内膜的标志酶为**细胞色素C氧化酶**。
 - 内膜具有**嵴**，能扩大表面积（5~10倍），分两种：①**板层状**、②**管状**；嵴上有**基粒**。
- 3、**膜间隙**：是内外膜之间的腔隙，宽约6-8nm。标志酶为**腺苷酸激酶**。

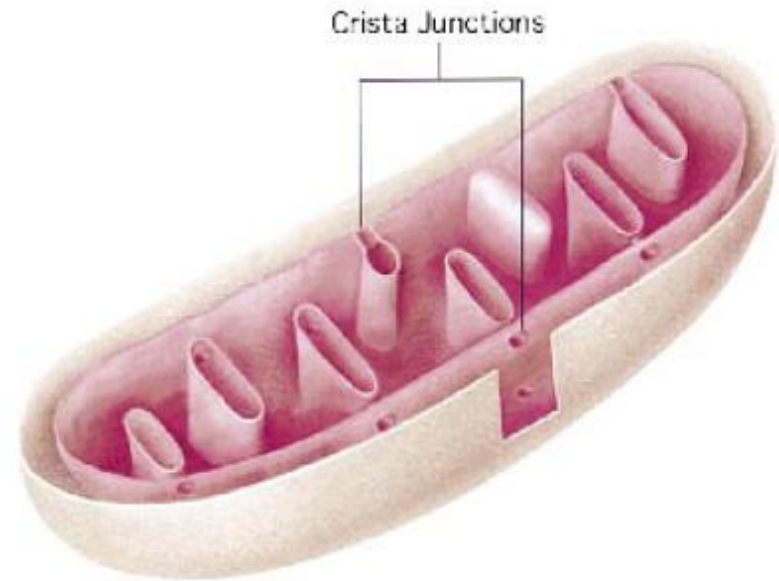
Models of mitochondrial membrane structures

Baffle Model



a

Crista Junction Model

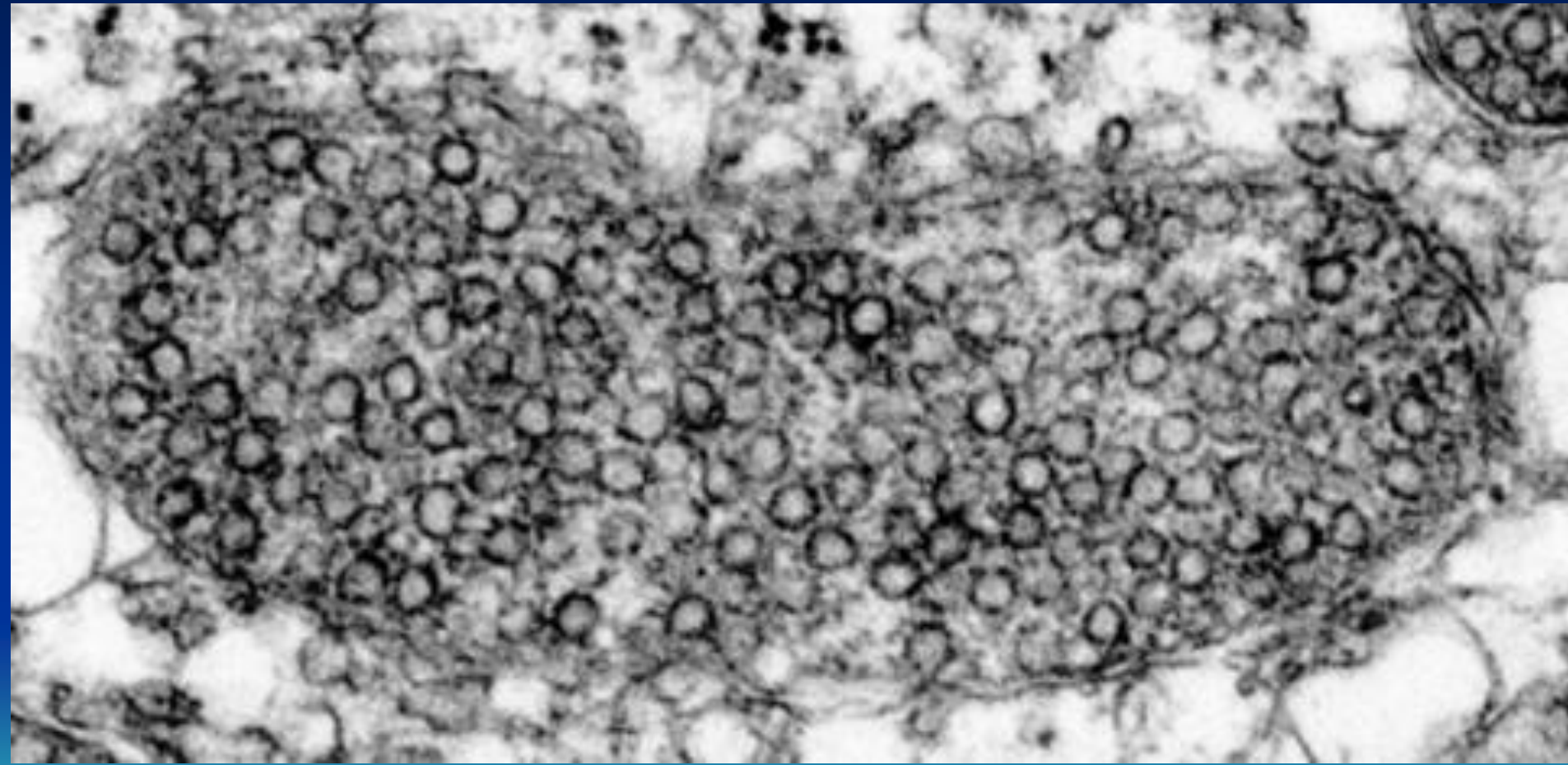


b

Lamellar cristae 层状的嵴



Tubular cristae



4、基质 (matrix)

- 含三羧酸循环、脂肪酸、丙酮酸和氨基酸氧化的酶类； mtDNA及核酸、蛋白合成体系；纤维丝和致密颗粒状物质，内含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 等离子。
- 标志酶为**苹果酸脱氢酶**。

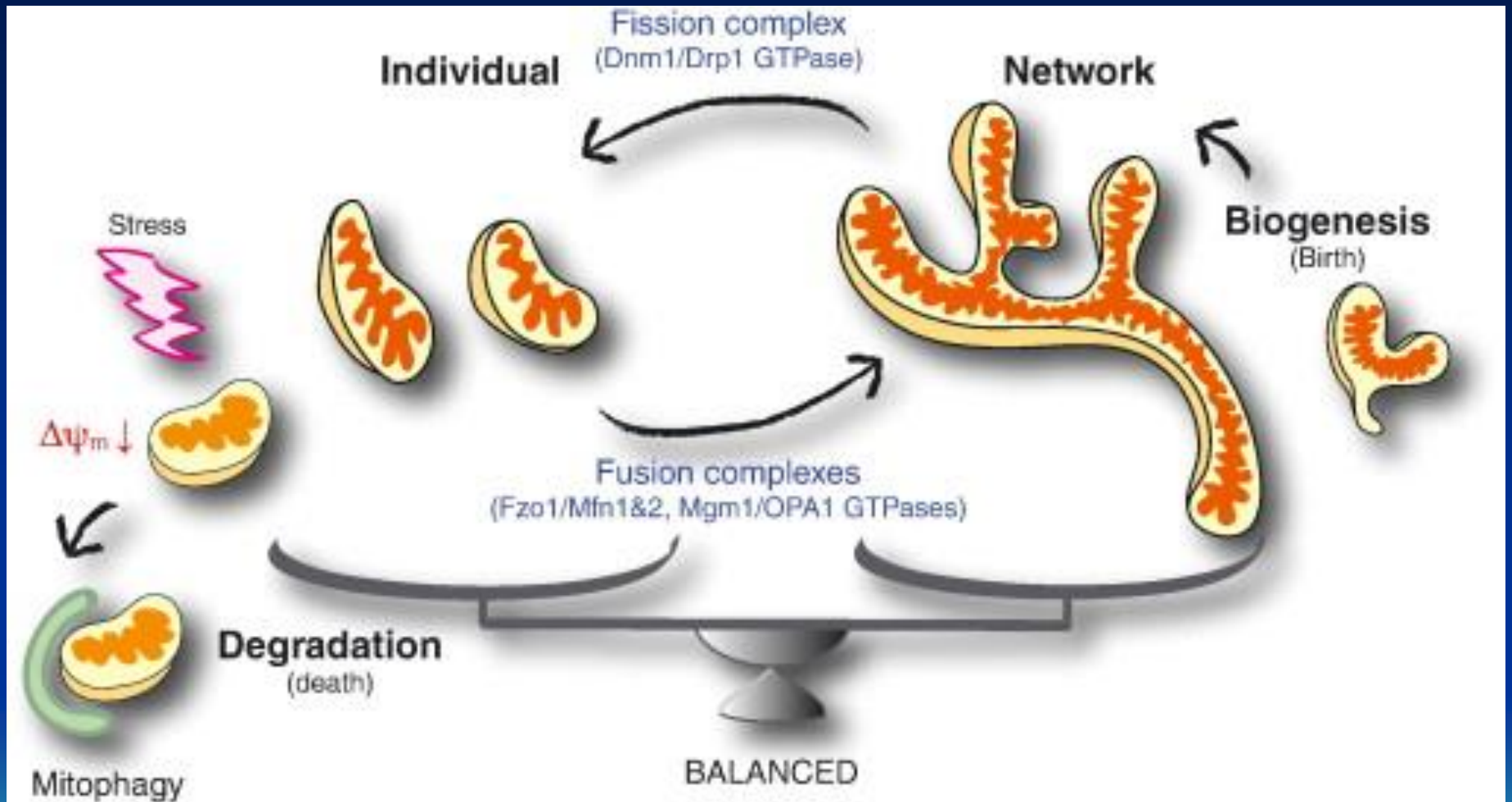
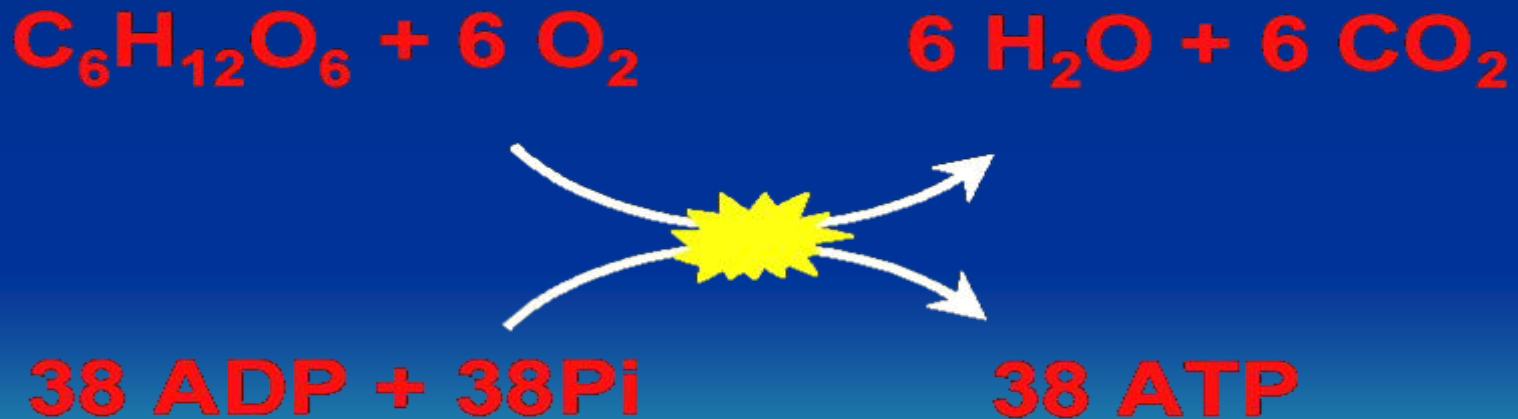


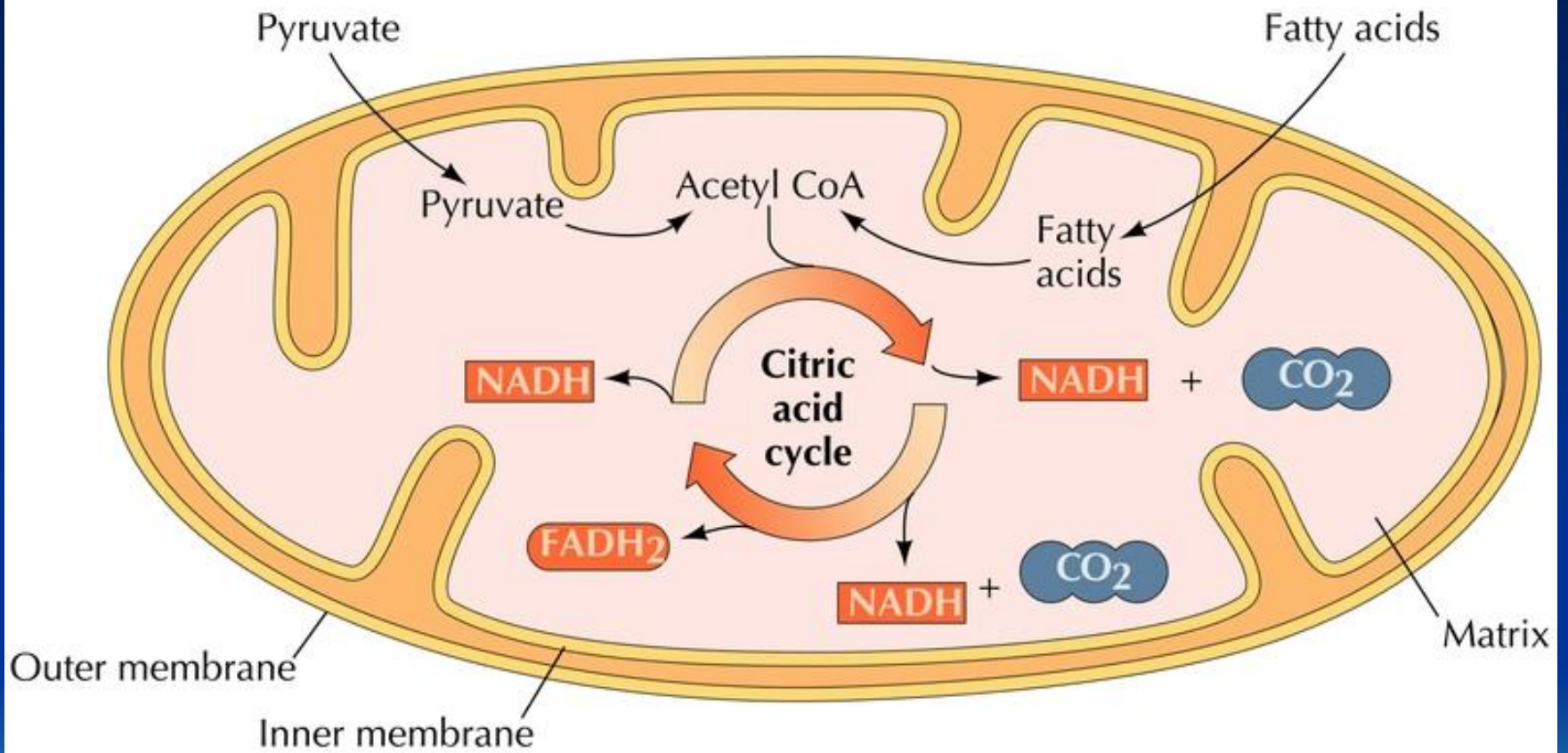
Fig. 1 The mitochondrial life cycle. See text for details.



二、氧化磷酸化的分子基础

- 动物细胞80%的ATP来源于线粒体。

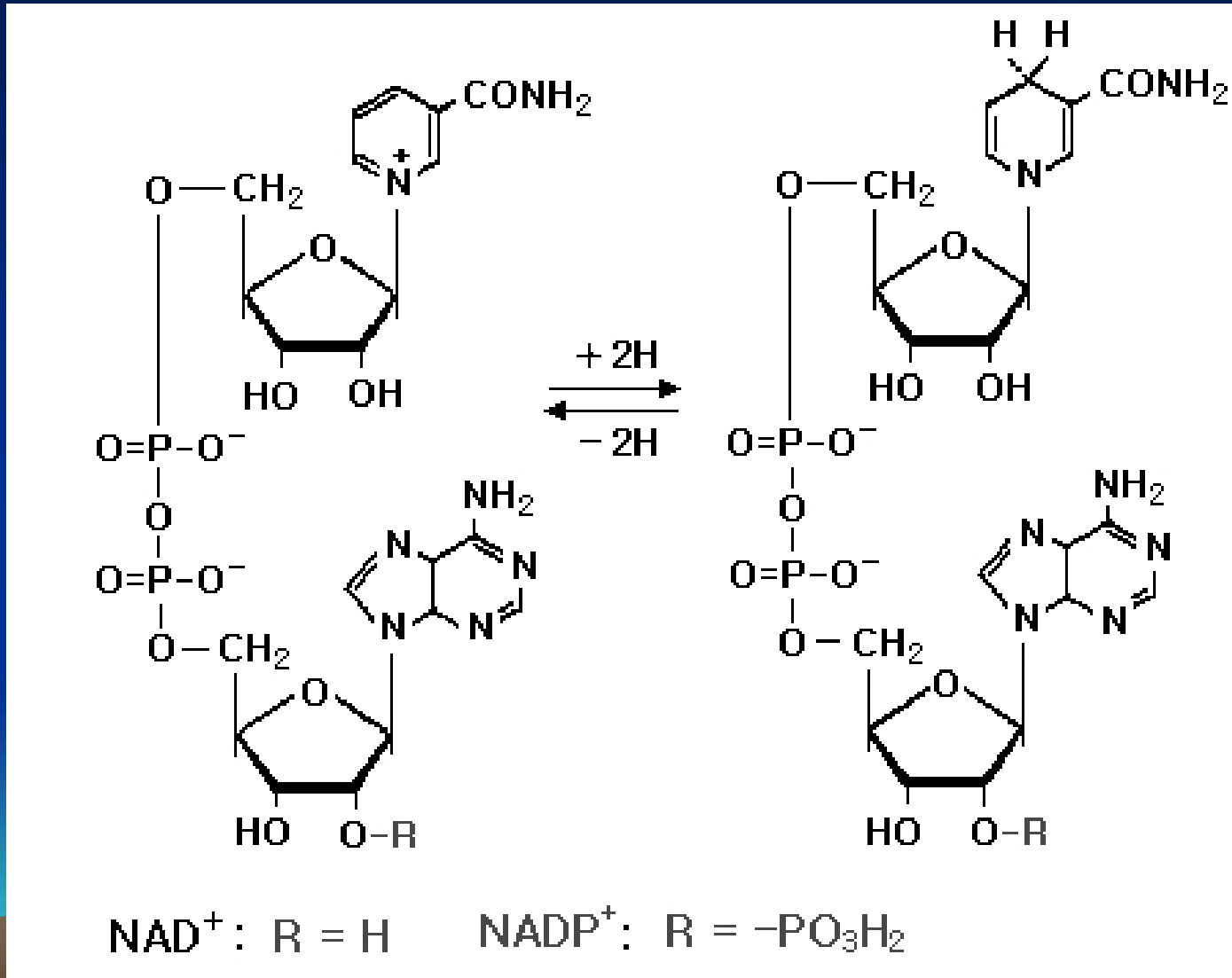




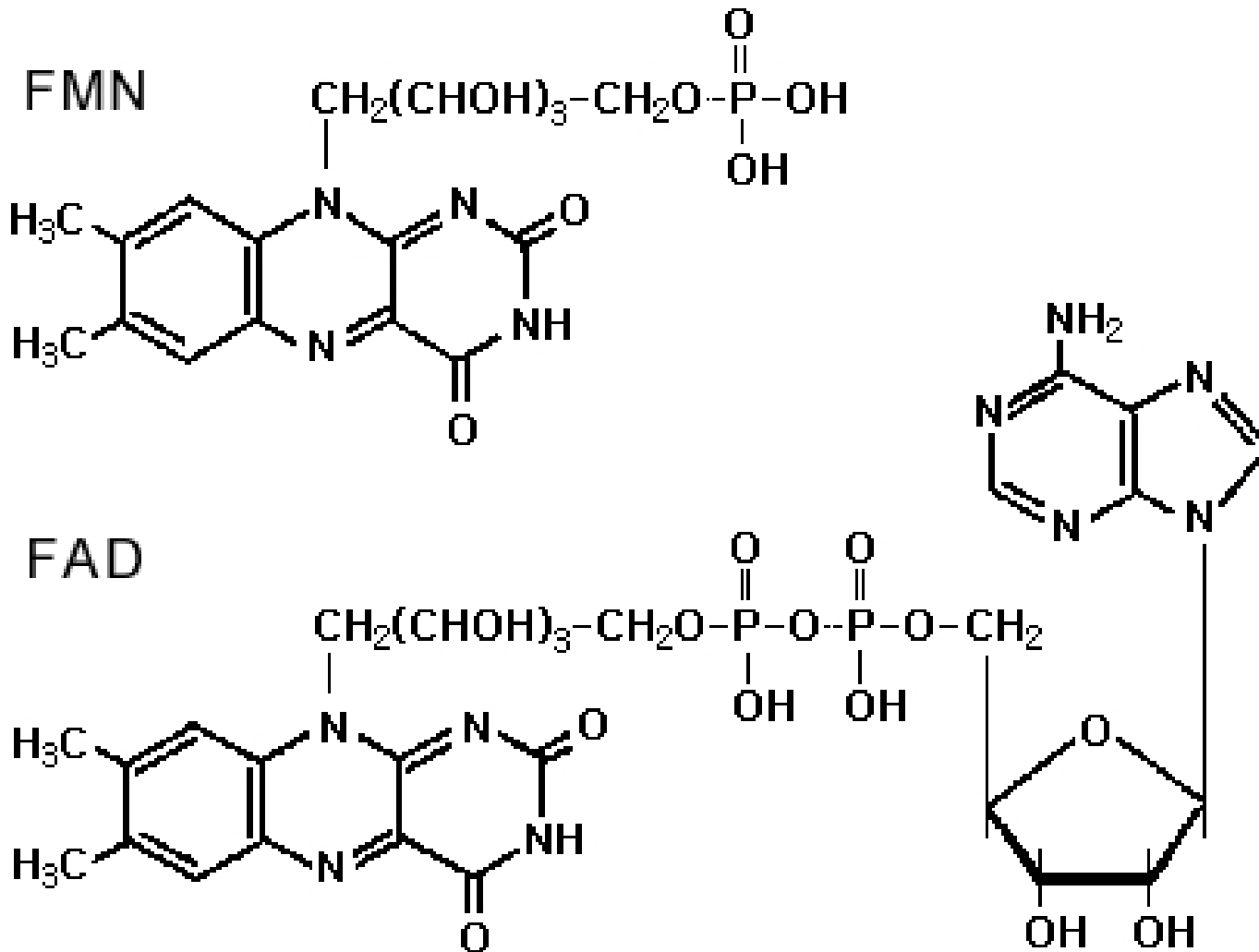
(一) 电子载体

- 1、**NAD**: 连接Kreb循环和呼吸链，将氢交给黄素蛋白。
- 2、**黄素蛋白**: 含**FMN**或**FAD**，可接受2个电子2个质子。相关脱氢酶: ①**NADH脱氢酶(FMN)**; ②**琥珀酸脱氢酶(FAD)**。

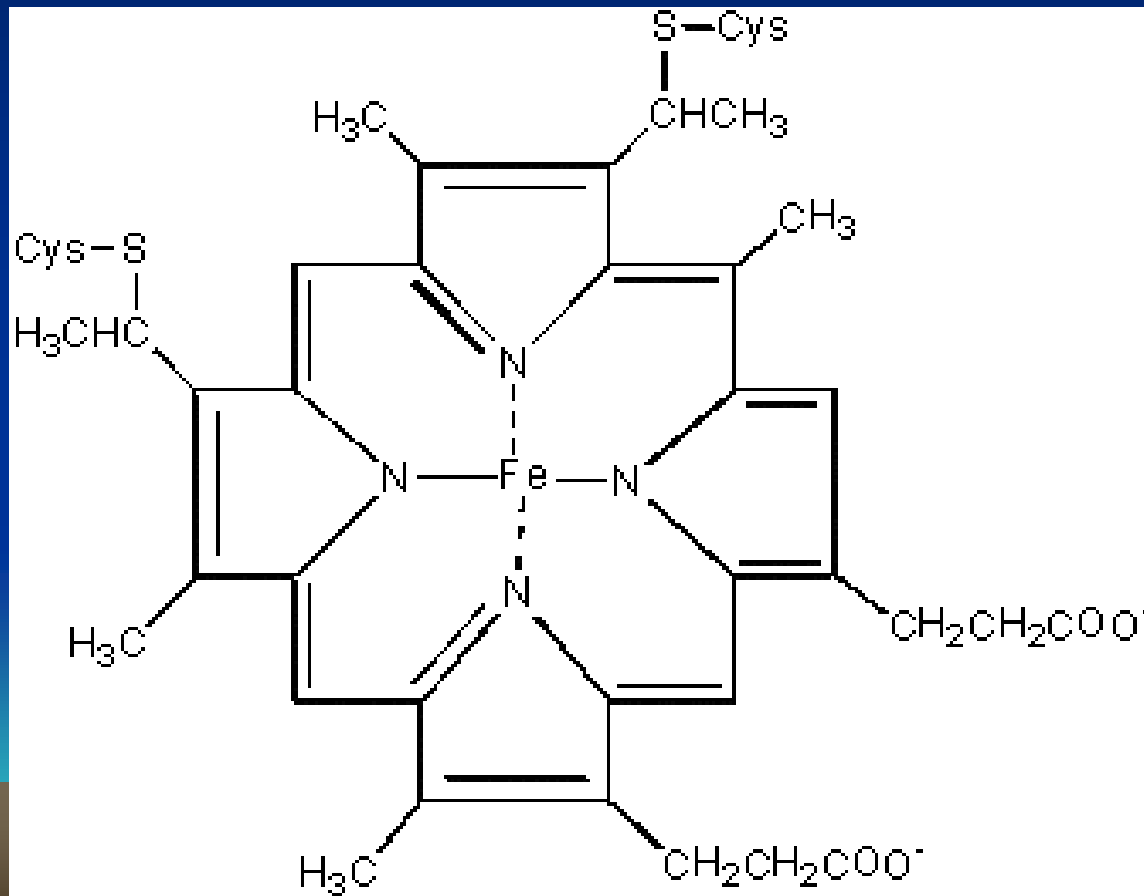
NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) & NADP



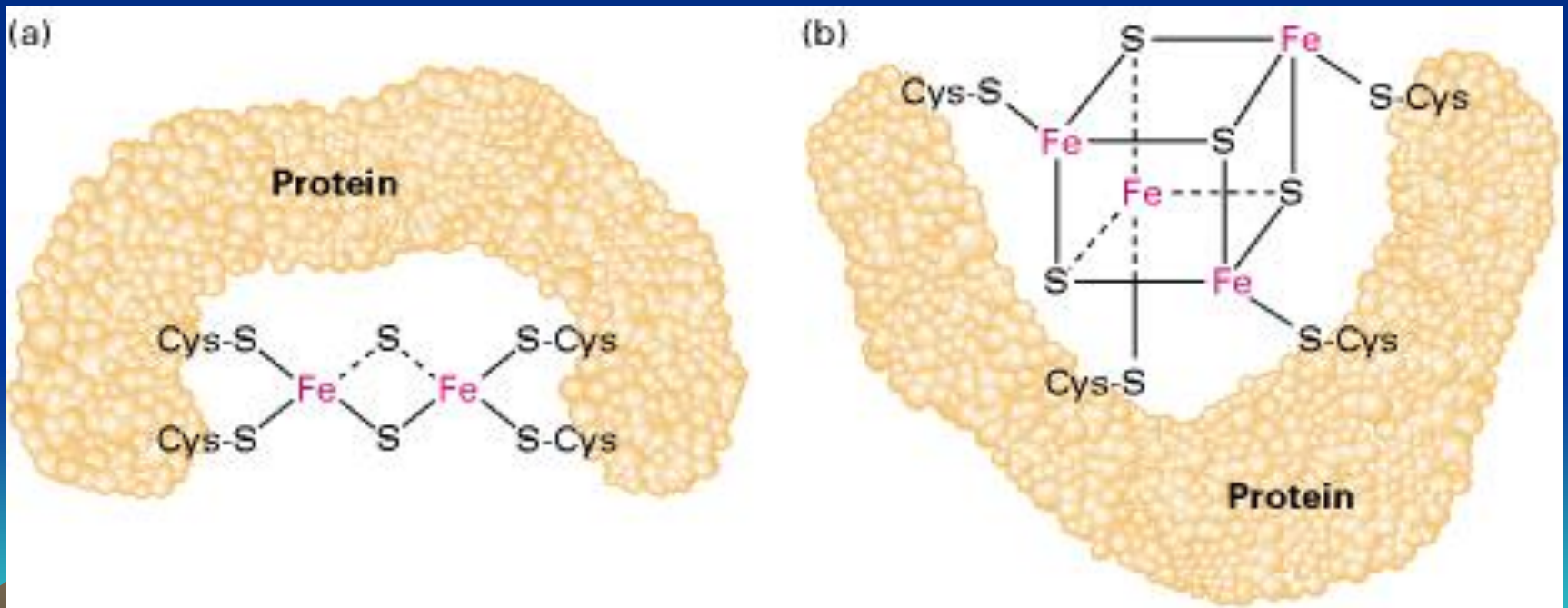
Flavin mononucleotide(FMN)& Flavin adenine dinucleotide



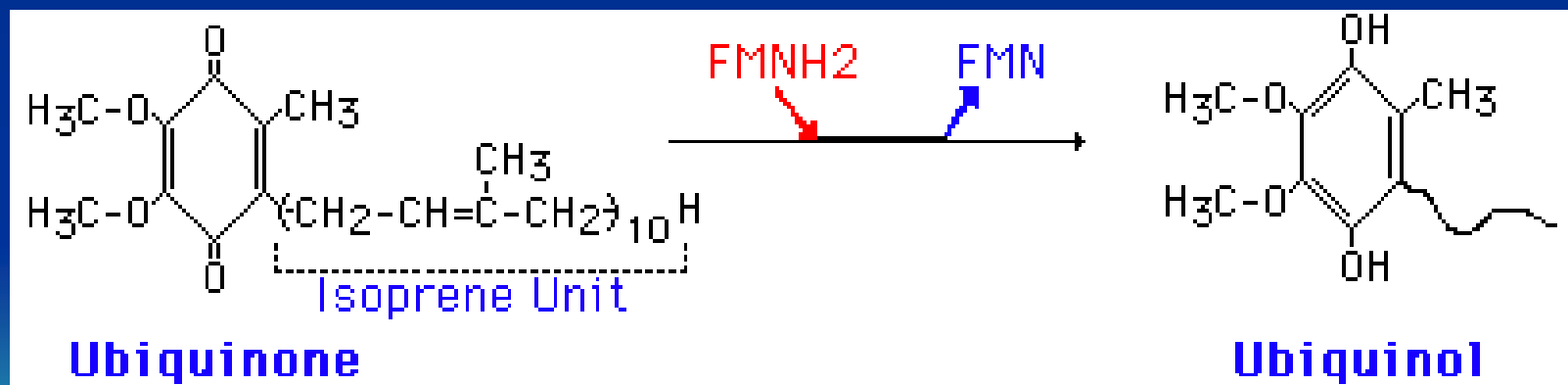
3、细胞色素：含血红素铁，通过 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 变化传递电子，包括细胞色素a、 a_3 、b、 c 、 c_1 ，其中a、 a_3 含有铜原子。



4、铁硫蛋白：分子结构中每个铁原子和4个硫原子结合，通过 $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ 互变进行电子传递，有2Fe-2S和4Fe-4S两种类型。

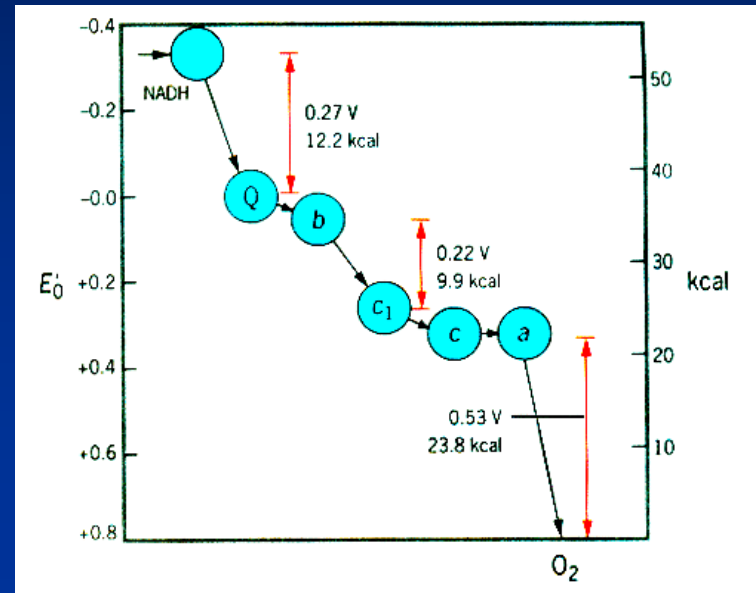


5、辅酶Q：脂溶性小分子醌类化合物，有3种形式，即：氧化型醌Q，还原型氢醌QH₂和自由基半醌QH。



(二) 呼吸链的复合物

- 呼吸链组分按氧化还原电位由低向高排列。
- 用脱氧胆酸处理mt内膜、分离出4种呼吸链复合物。



1、复合物I：NADH脱氢酶。

- 组成：42条肽链，呈L型，含一个FMN和至少6个铁硫蛋白，以二聚体形式存在。
- 作用：催化NADH的2个电子至辅酶Q，同时由M侧转移4个质子至C侧。
- $\text{NADH} \rightarrow \text{FMN} \rightarrow \text{Fe-S} \rightarrow \text{Q}$
- $\text{NADH} + 5\text{H}^+_{\text{M}} + \text{Q} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{QH}_2 + 4\text{H}^+_{\text{C}}$

2、复合物II：琥珀酸脱氢酶

- 组成：至少4条肽链，含1个FAD，2个铁硫蛋白。
- 作用：催化琥珀酸的低能电子至辅酶Q，不转移质子。



3、复合物III：细胞色素c还原酶。

- 组成：至少11条肽链，二聚体，含细胞色素b566、b562、1个铁硫蛋白和1个细胞色素c₁。
- 作用：催化电子从辅酶Q传给细胞色素c，每转移1对电子转移4个H⁺至C侧。
- 2还原态cyt c1 + QH₂ + 2 H⁺_M → 2氧化态cyt c1 + Q +

4H⁺_C

4、复合物IV：细胞色素c氧化酶

- 组成：二聚体，每个单体至少**13**条肽链。
- 作用：将从细胞色素**c**接受的电子传给氧，每转移一对电子，在**M**侧消耗**2**个质子，同时转移**2**个质子至**C**侧。
- $\text{cyt c} \rightarrow \text{CuA} \rightarrow \text{heme a} \rightarrow \text{a}_3 - \text{CuB} \rightarrow \text{O}_2$
- $4\text{还原态cyt c} + 8 \text{H}^+_{\text{M}} + \text{O}_2 \rightarrow 4\text{氧化态cyt c} + 4\text{H}^+_{\text{C}} +$



(三) 两条主要的呼吸链

①复合物I-III-IV组成，催化NADH的脱氢氧化。

②复合物II-III-IV组成，催化琥珀酸的脱氢氧化。

- 对应于每个复合物 I，约需3个复合物III，7个复合物IV，两个复合物之间由辅酶Q或细胞色素c这样的可扩散性分子连接。

BioVisions

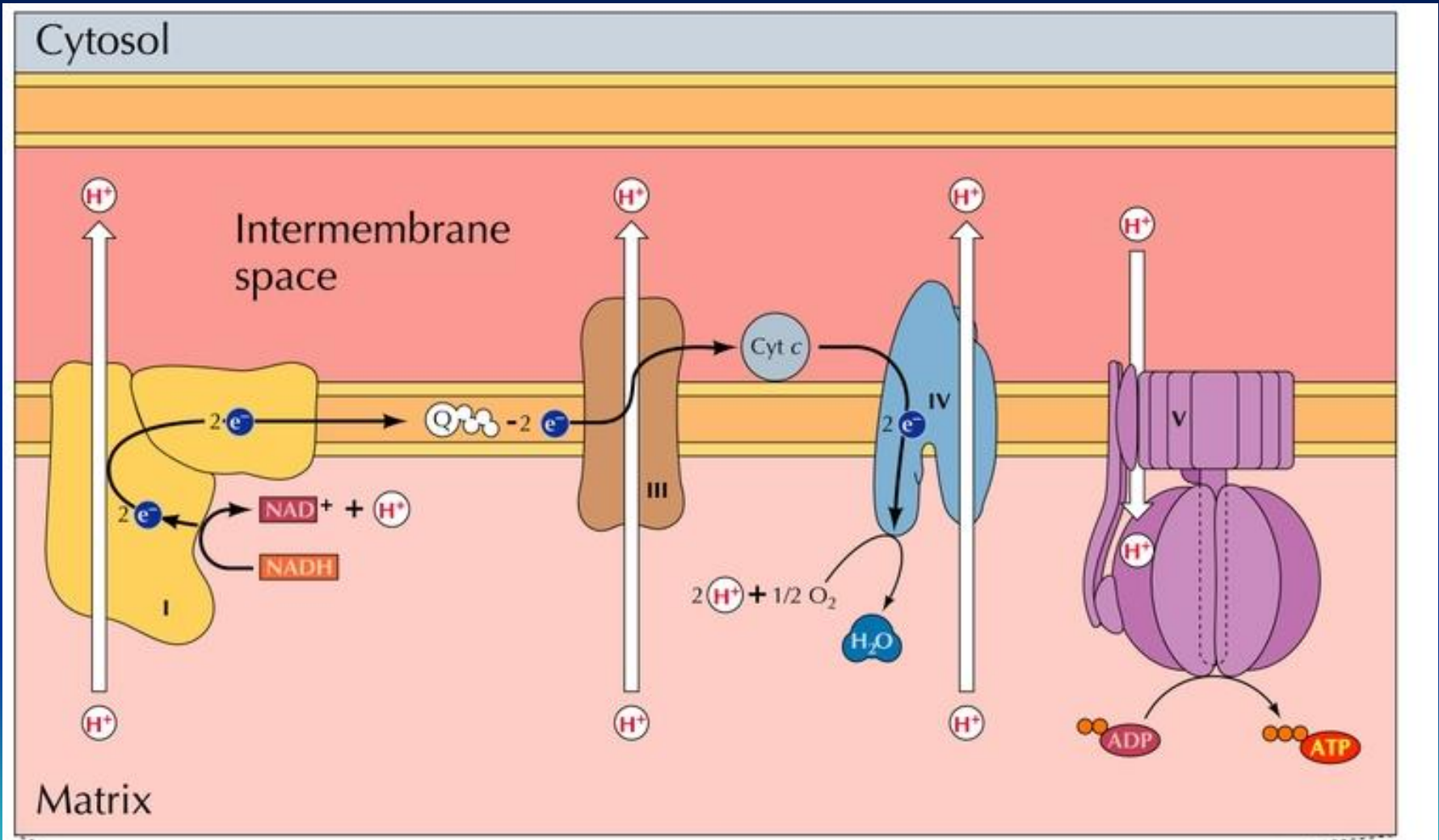
at Harvard University

biovisions.mcb.harvard.edu

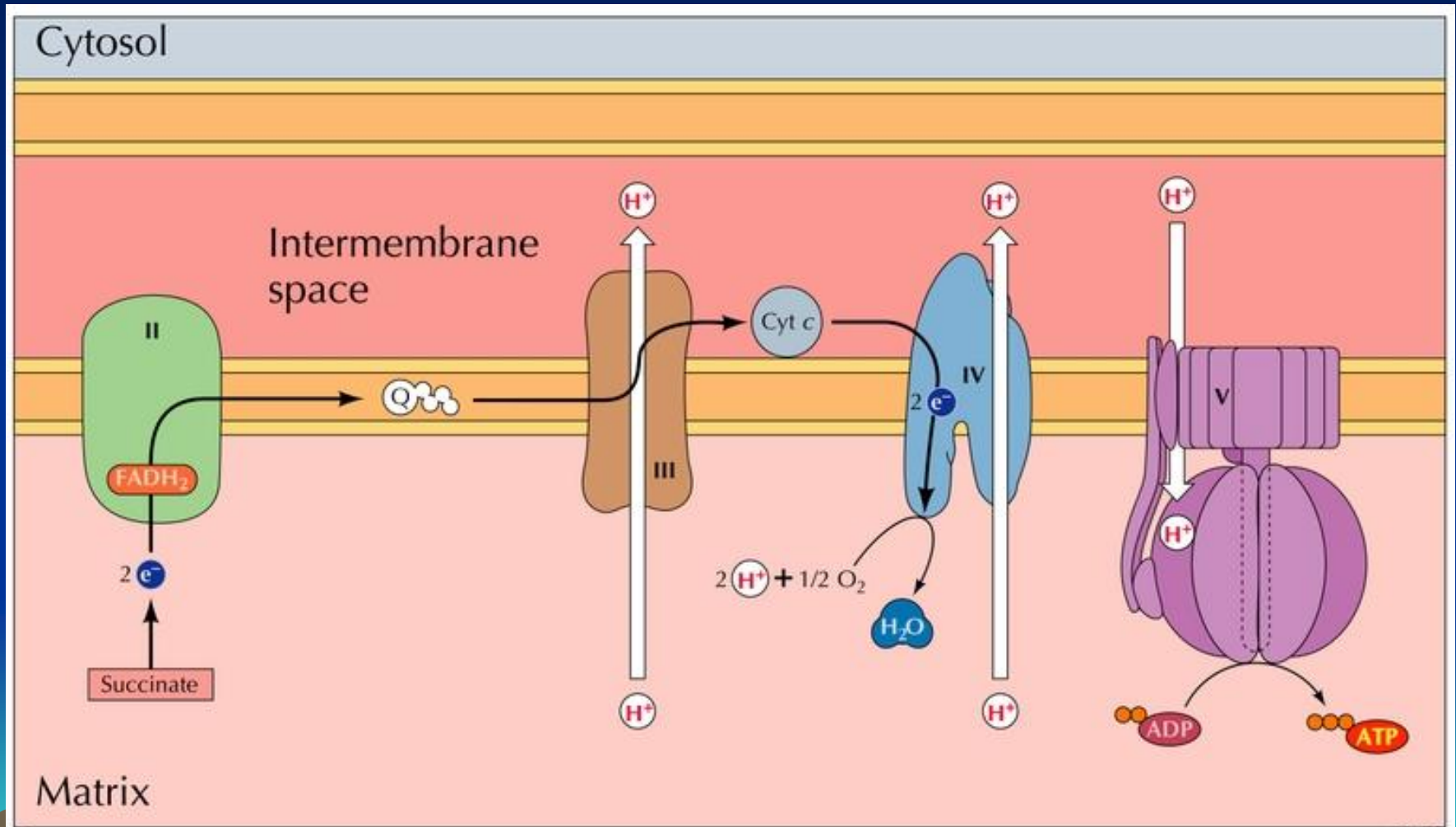
All credits for copyrighted materials are listed at the end of this work.



Transport of electrons from NADH



Transport of electrons from FADH₂



三、氧化磷酸化的作用机理

(一) 质子动力势

- **Mitchell(1961)**提出“化学渗透假说”。认为：
- 电子沿呼吸链传递时，所释放的能量将质子从内
膜基质侧(M侧)泵至膜间隙(C侧)，形成质子动力势
(ΔP)。

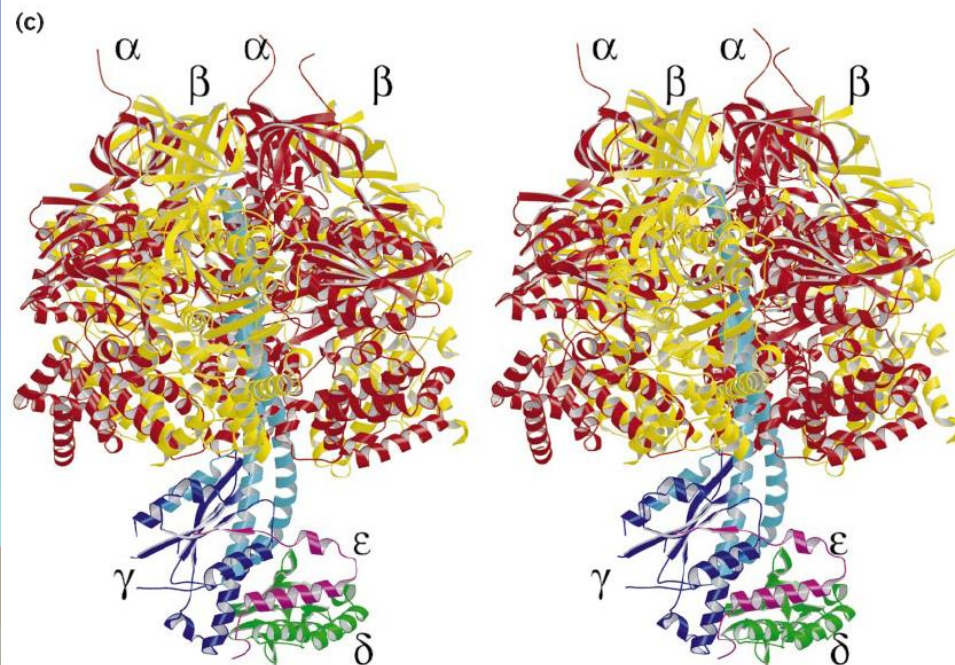
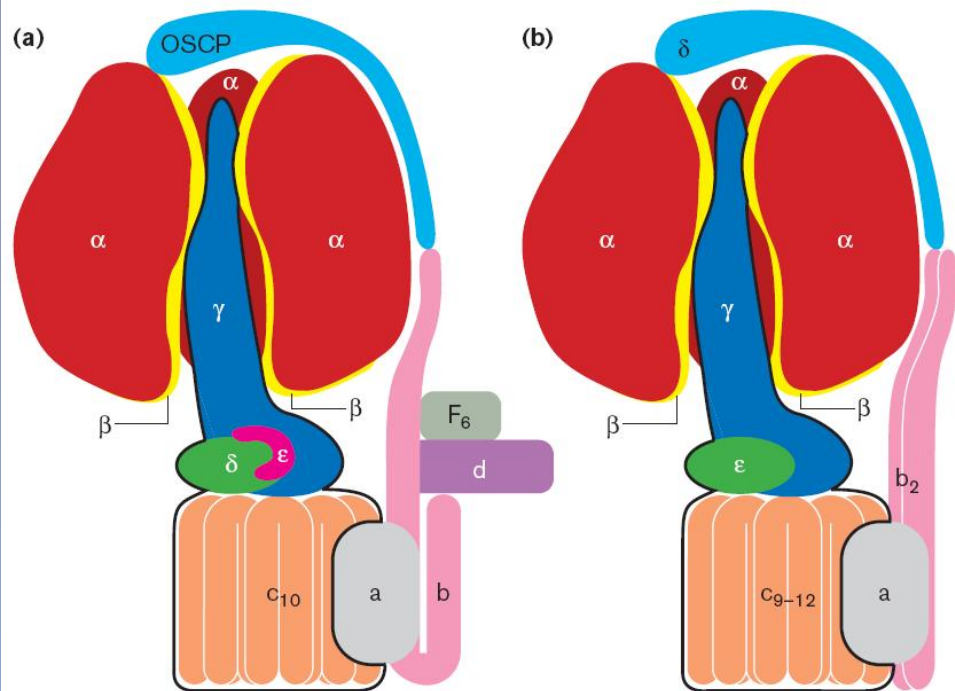
- $$\Delta P = \Psi - (2.3RT/F)\Delta pH$$

- 其中： ΔpH = pH梯度， Ψ =电位梯度， T =绝对温度， R =气体常数， F 为法拉第常数，当温度为25°C时 ΔP 的值为220mV左右。

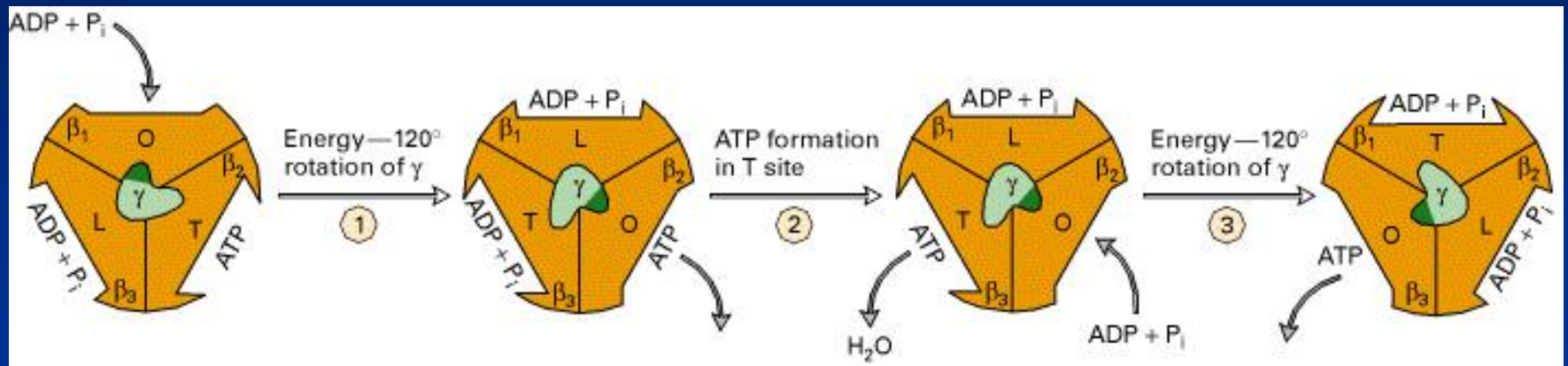
(二) ATP合酶 (ATP synthase)

- **F型质子泵**；分为球形的 F_1 （头部）和嵌入膜中的 F_0 （基部）。
- F_1 ： $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$ 复合体，具有3个ATP合成的催化位点（每个 β 亚基1个）。
- F_0 ： ab_2c_{12} 复合体，嵌入内膜，12个 c 亚基组成一个环形结构，具有质子通道。

ATP synthase

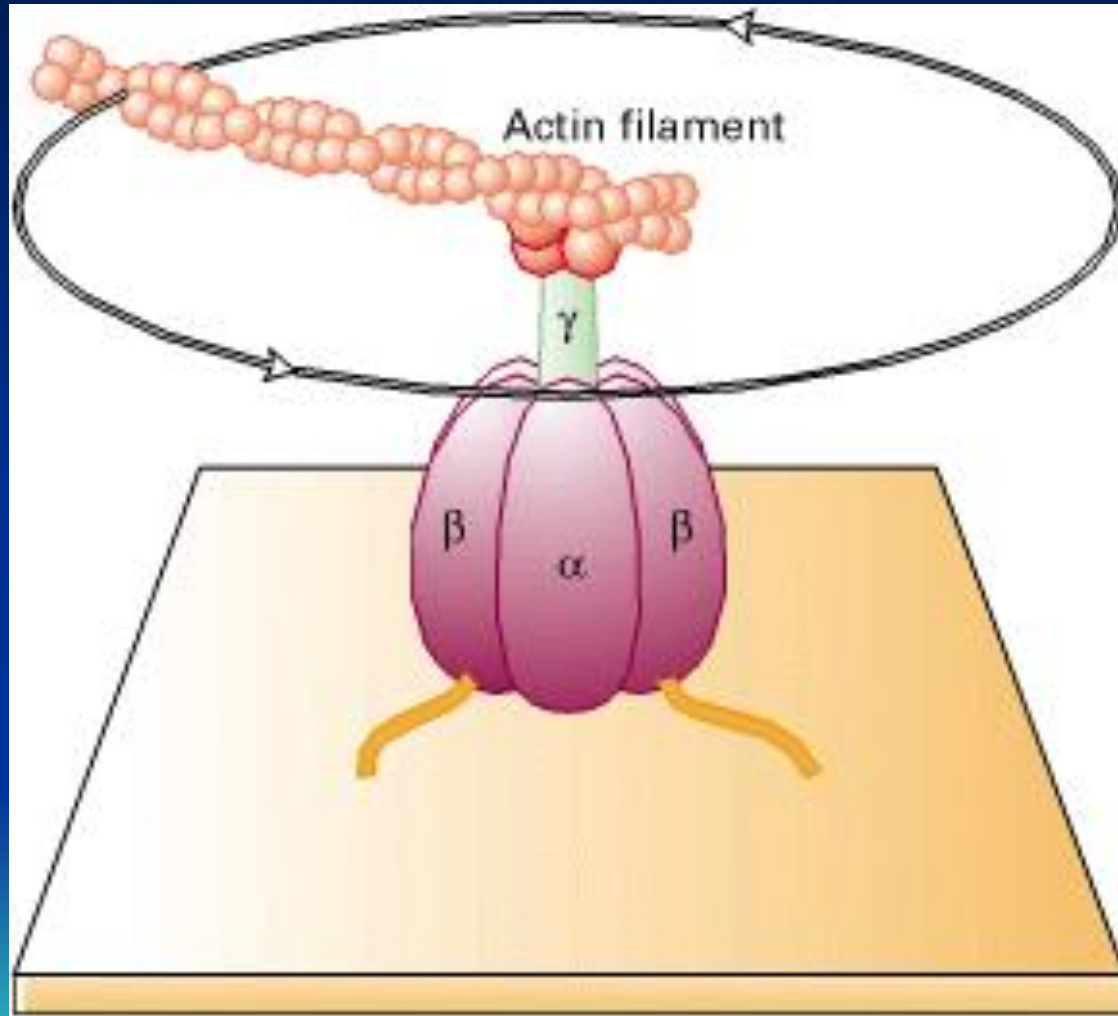


- 1979年Boyer提出构象耦联假说。其要点如下：
 1. ATP酶利用质子动力势，催化ATP合成。
 2. F_1 有3个催化位点，催化位点有3种构象。
 3. 质子通过 F_0 时，引起c亚基构成的环旋转，带动 γ 亚基旋转， γ 亚基端部高度不对称，引起 β 亚基3个催化位点构象的周期性变化（L、T、O），不断将ADP和 P_i 加合在一起，形成ATP。



<http://vcell.ndsu.edu/animations/atpgradient/movie.htm>

- 支持构象耦联假说的实验:



吉田 (Masasuke Yoshida) 等

ATP 形成

ATP Synthase Mechanism

Copyright © W. W. Norton & Company, Inc.

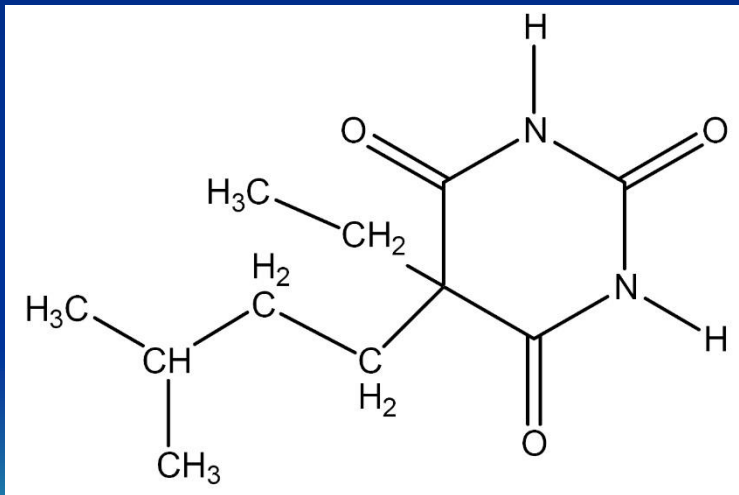
(三) P/O值

- 指每消耗一个氧原子所产生的ATP分子数，它表示氧化磷酸化的效率。
- 通常认为NADH / 3，FADH₂ / 2；也有人认为前者为2.5，后者为1.5。

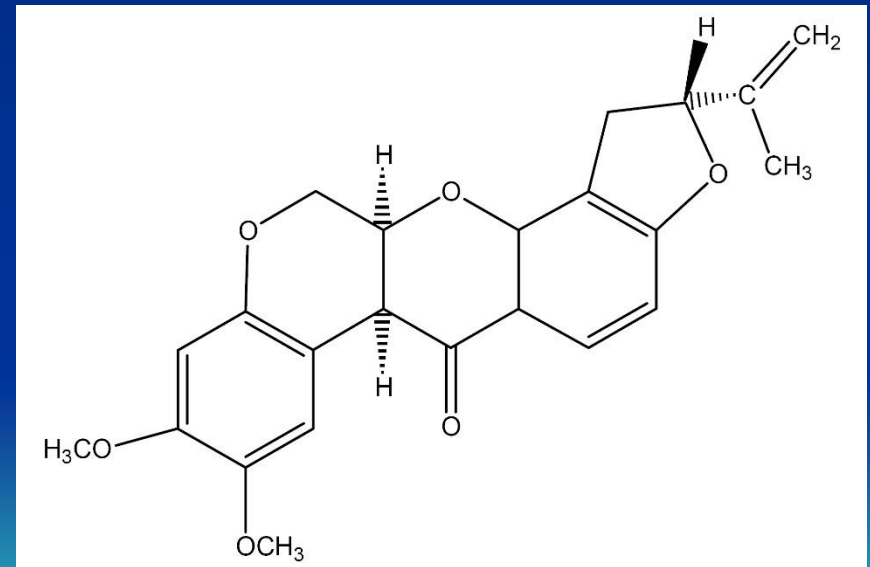
(四) 氧化磷酸化抑制剂

1. 电子传递抑制剂

- 抑制复合物I，如阿米妥、鱼藤酮。

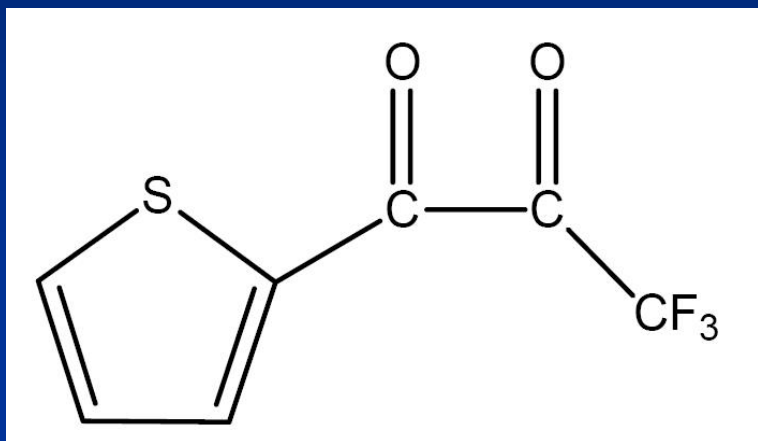


Amytal

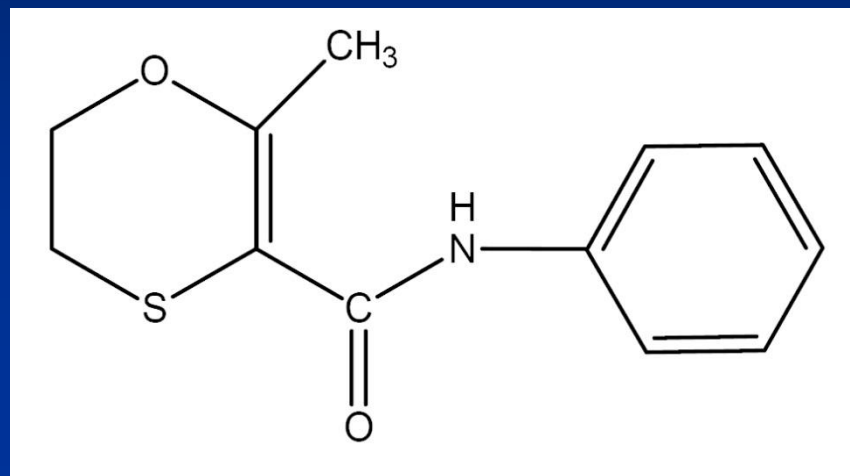


rotenone

- 抑制复合物II，如：2-噻吩甲酰三氟丙酮和萎锈灵。

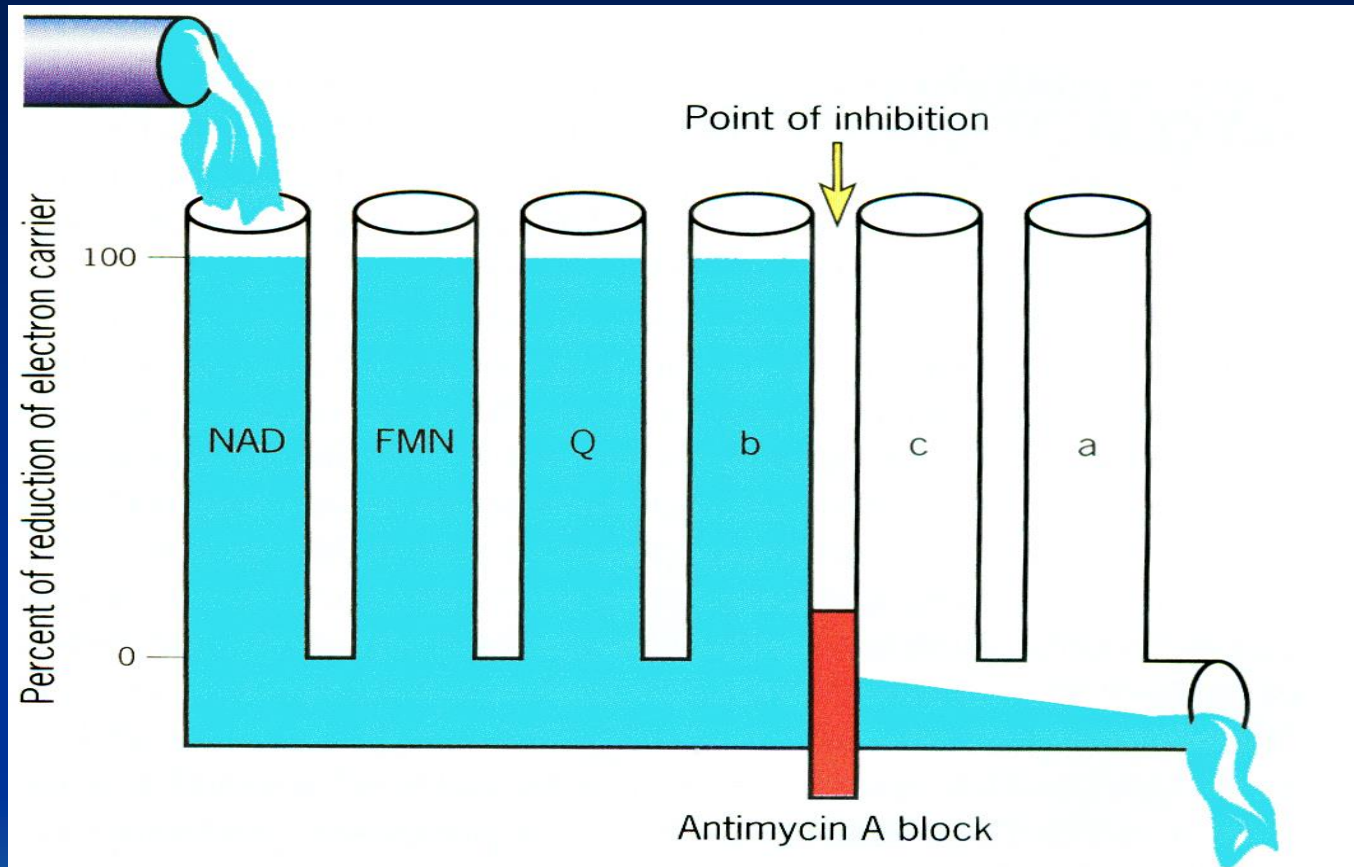


2-Thenoyltrifluoroacetone



carboxin

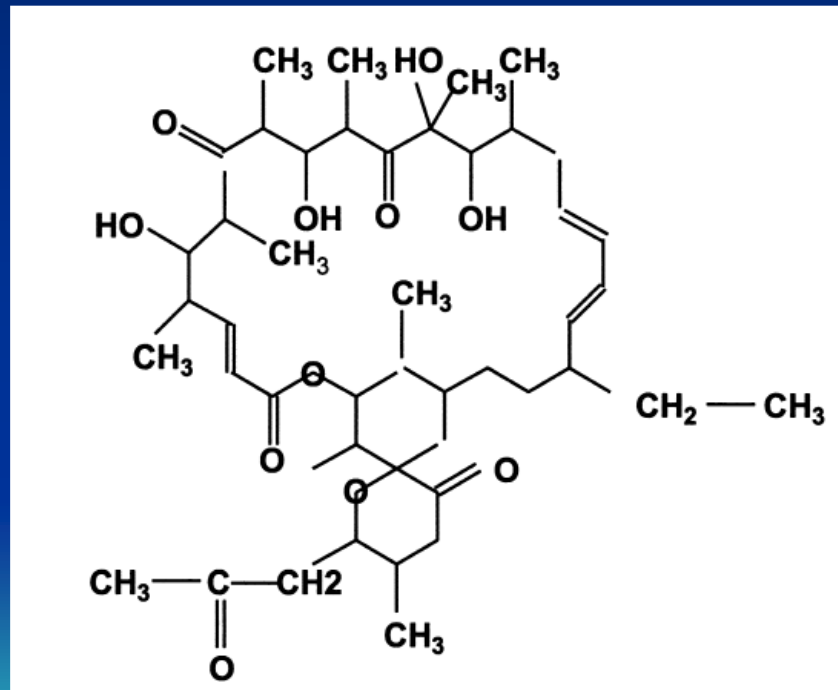
•抑制复合物IV，如CO、CN、NaN₃、H₂S。



电子传递抑制剂可用来研究呼吸链各组分的排列顺序，当呼吸链某一特定部位被抑制后，底物一侧均为还原状态，氧一侧均为氧化态，可用分光光度计检测。

2. 磷酸化抑制剂

- 与F₀结合，阻断H⁺通道。如寡霉素。



oligomycin

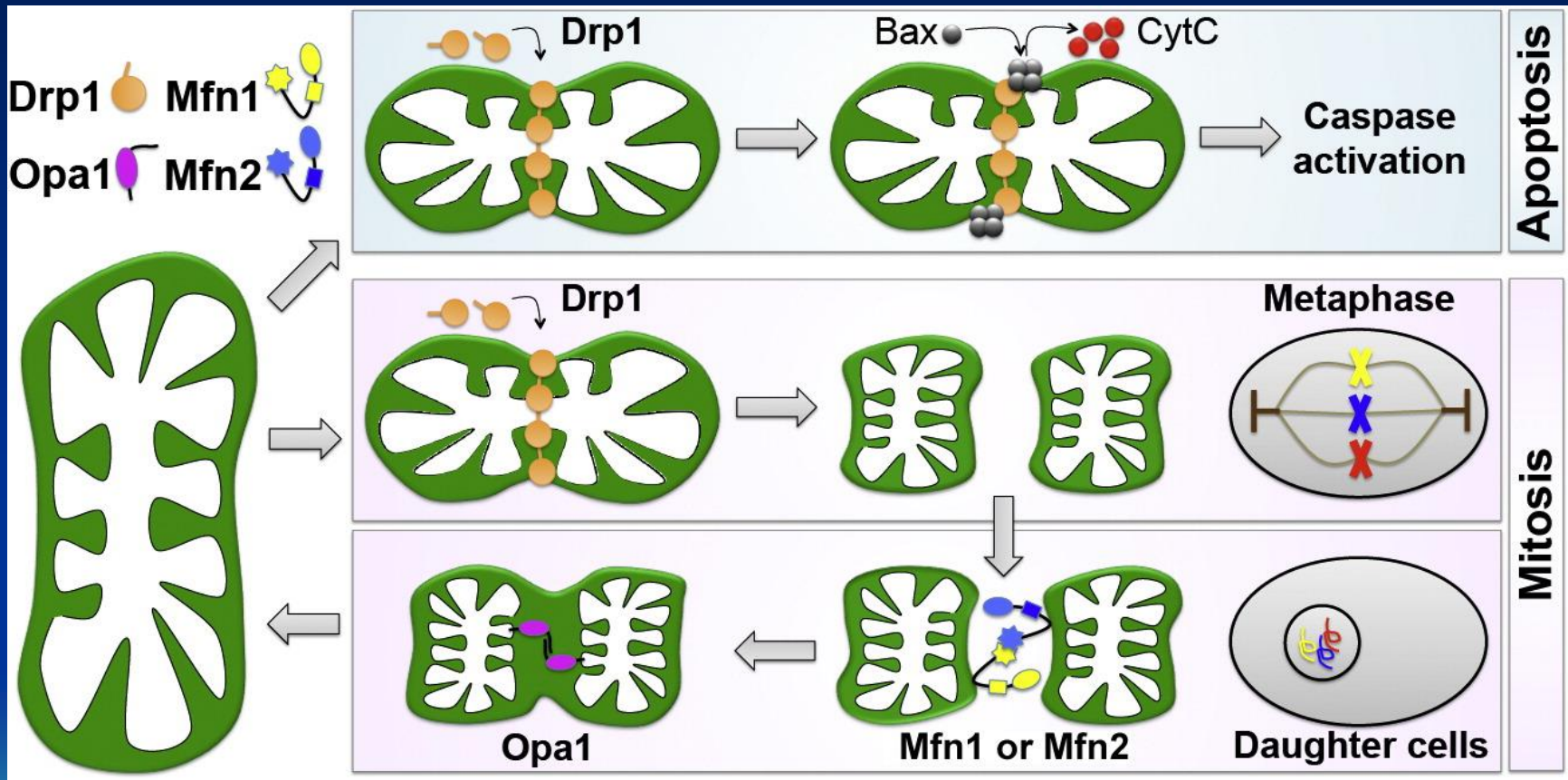
3. 解偶联剂 (uncoupler)

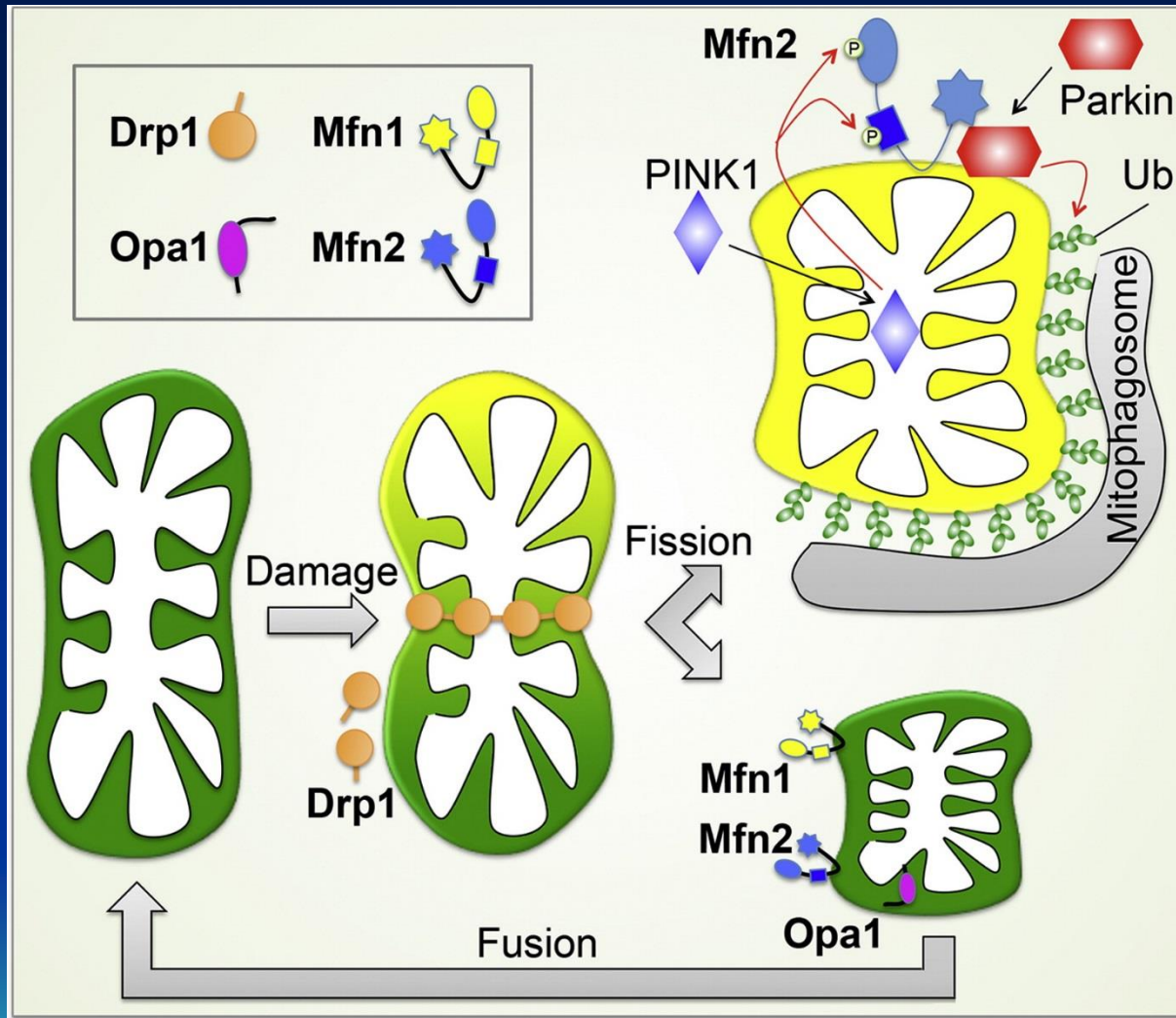
- 解偶联蛋白(UCPs): 位于动物棕色脂肪组织和肌肉线粒体, 与维持体温有关。
- 质子载体: DNP、FCCP。
- 质子通道: 增温素。

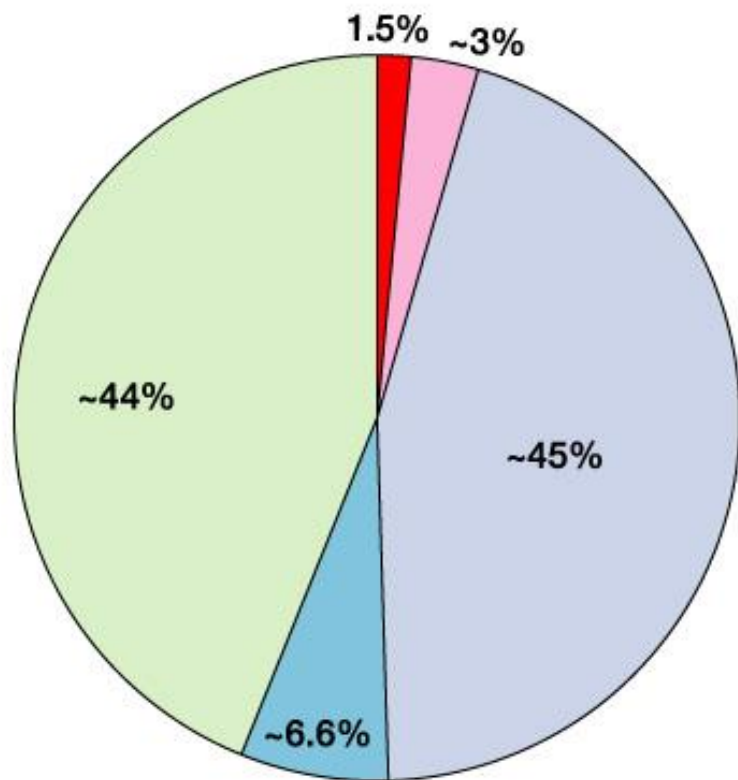


四、线粒体的半自主性

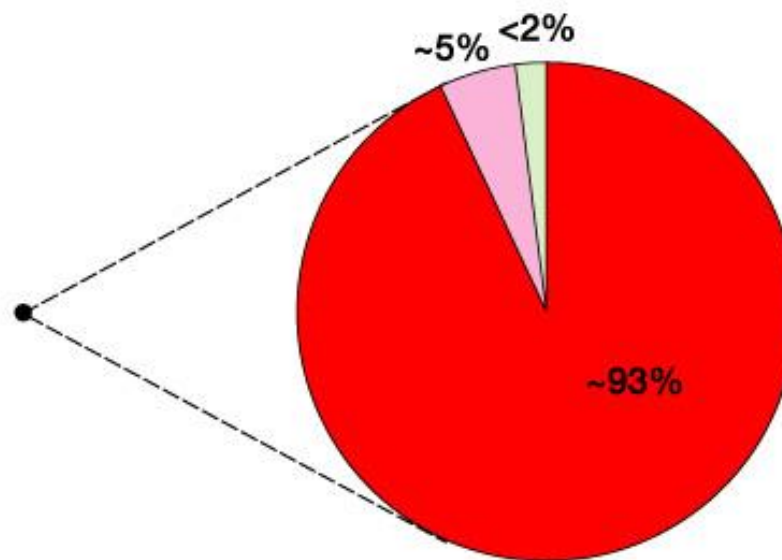
- ①**环形DNA**；② **70S核糖体**，对**氯霉素**敏感，对**放线菌酮**不敏感；③**RNA聚合酶**可被**利福平**、**链霉素**等抑制；④**tRNA**和**氨酰基-tRNA合成酶**不同于细胞质中的；⑤蛋白质合成的**起始氨基酸**为**N-甲酰甲硫氨酸**。







Nuclear genome
 (24 linear double-stranded DNA molecules – 3200 Mb; ~30 000 genes)



Mitochondrial genome
 (1 circular double-stranded DNA 16.6 kb; 37 genes)

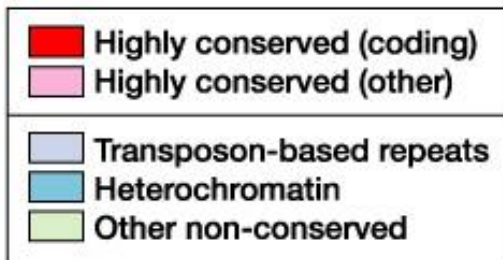


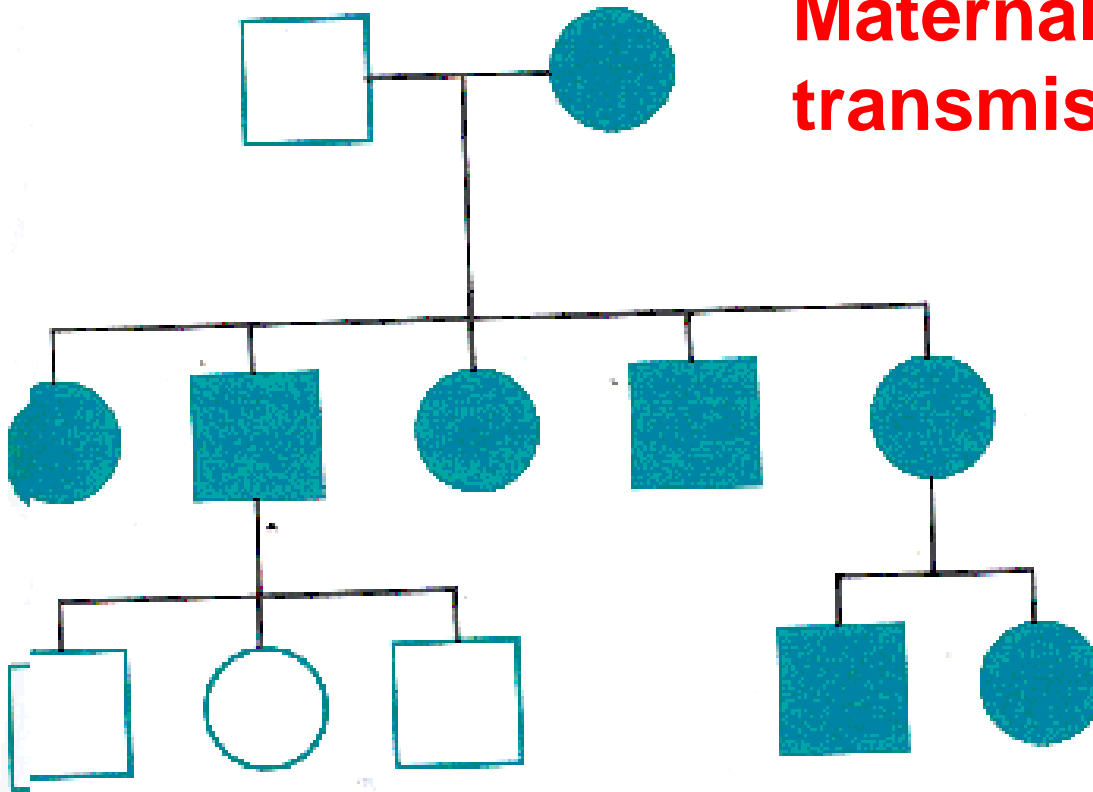
Figure 9-1 Human Molecular Genetics, 3/e. (© Garland Science 2004)

The limited autonomy of the mitochondrial genome

Mitochondrial component	Encoded by Mitochondrial genome	Encoded by nuclear genome
Components of oxidative phosphorylation system	13 subunits	80 subunits
Components of protein synthesis apparatus	24	approx 80

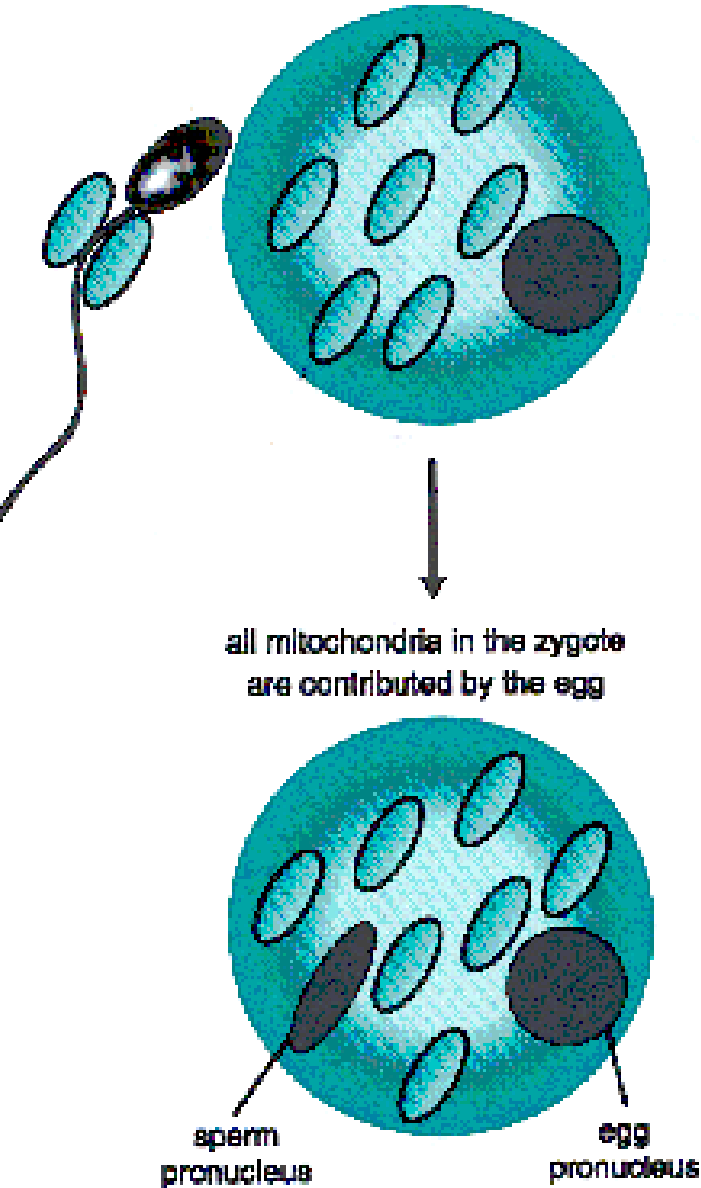


Maternal genetic transmission



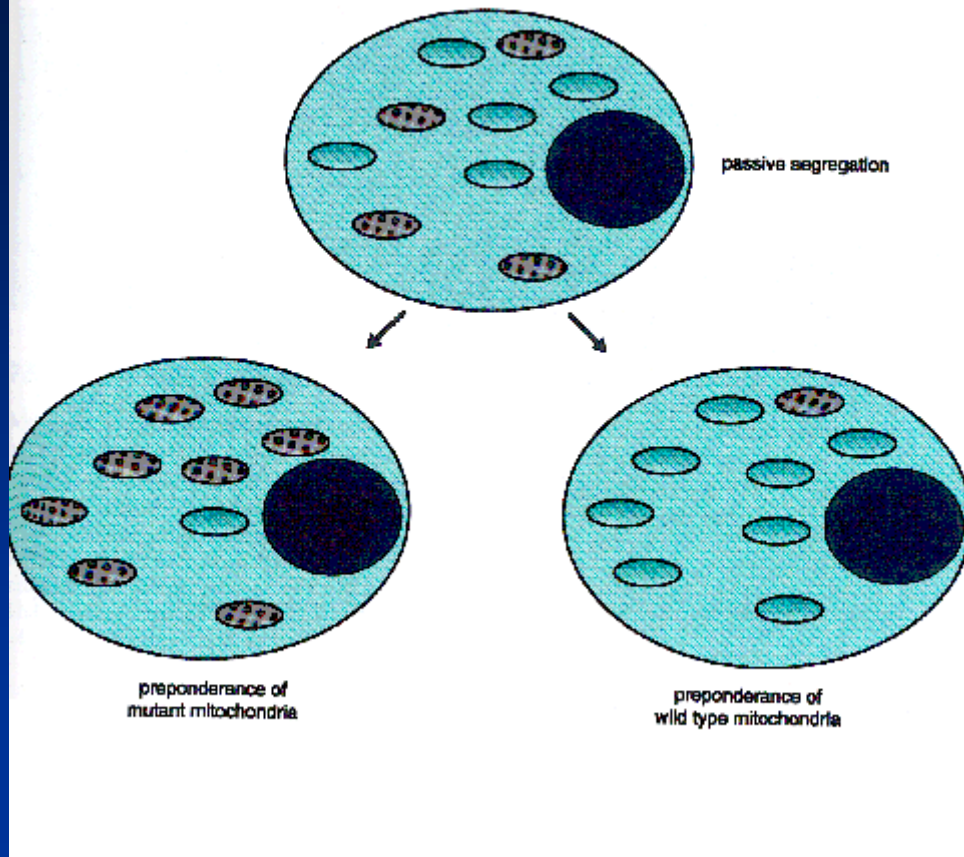
An affected woman transmits the trait to all her children. Affected men (represented by squares) do not pass the trait to any of their offspring

sperm mitochondria are shed
before entry of sperm nucleus into egg



all mitochondria in the zygote
are contributed by the egg

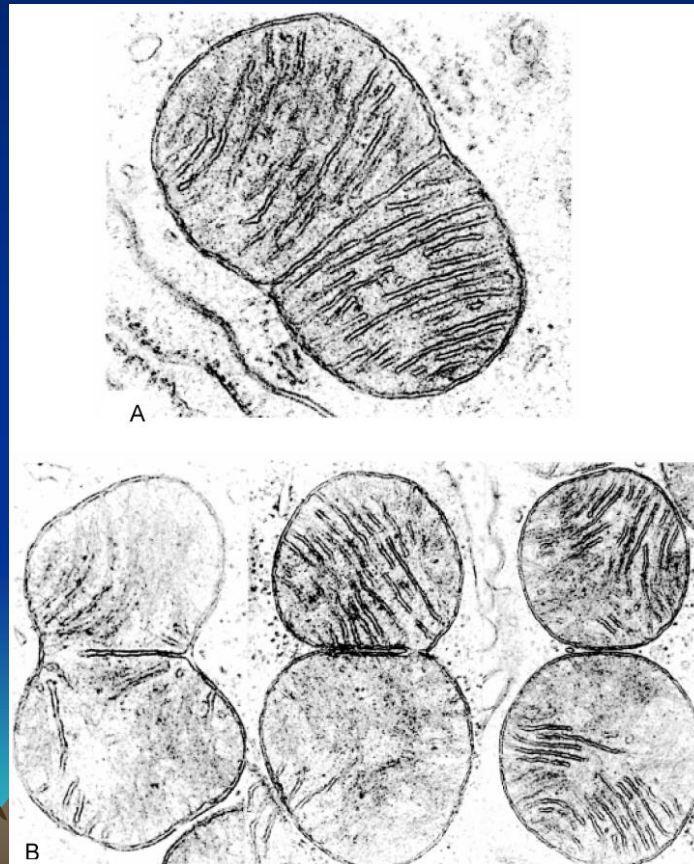
Mitochondrial inheritance. Sperm mitochondria are shed before entry of the sperm nucleus. All mitochondrial in the zygote are contributed by the egg cell



Concept of heteroplasmy. Both wild-type and mutant (gray) mitochondria are included in the hundreds of mitochondria in a cell. These mitochondria segregate passively when the cell divides. This can lead to variation in the proportion of affected mitochondria in different tissues or different individuals in a family

五、线粒体的增殖

- 新线粒体来源于线粒体的分裂。



Some diseases associated with mitochondrial mutations

MERRF (Myoclonic Epilepsy with Ragged Red Fibres)

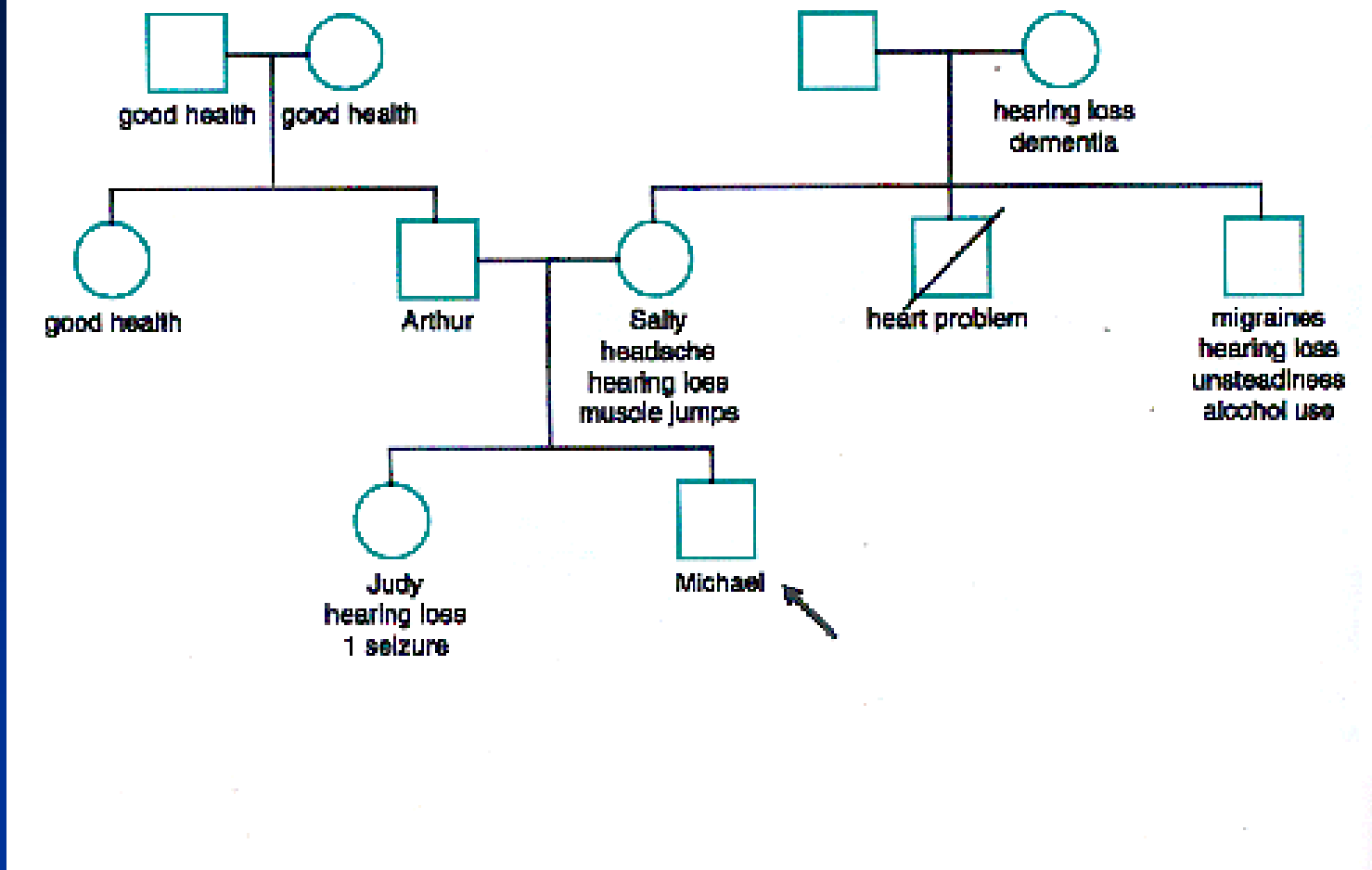
MELAS (Myopathy, Epilepsy , Stroke-like episodes)

LHON (Leber's Hereditary Optic atrophy)

Kearn-Sayre (eye problems, heart block, ataxia i.e. loss of coordination)

Leigh syndrome (rare severe brain disease in infancy, also heart problems)





Michael presented with muscle problems, epilepsy, lack of progress at school, difficulty with vision and hearing.

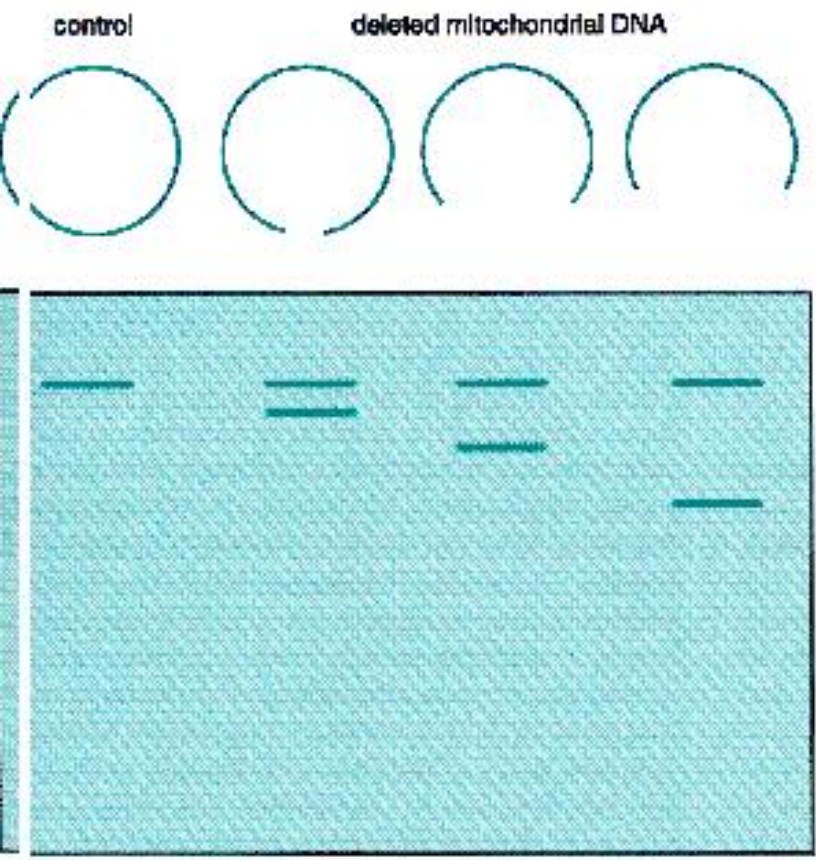
Diagnosed as MERRF aged 12 after muscle biopsy. At position 8344 he has a change from A-G in most of the mitochondrial DNA from muscle and lymphocytes. The other relatives have different proportions of the same mutation, which is in the tRNA for lysine (*MT-TK*)

Another mtDNA synthesis mutation 3243(A>G) in the tRNALeu gene (MT-TL1)

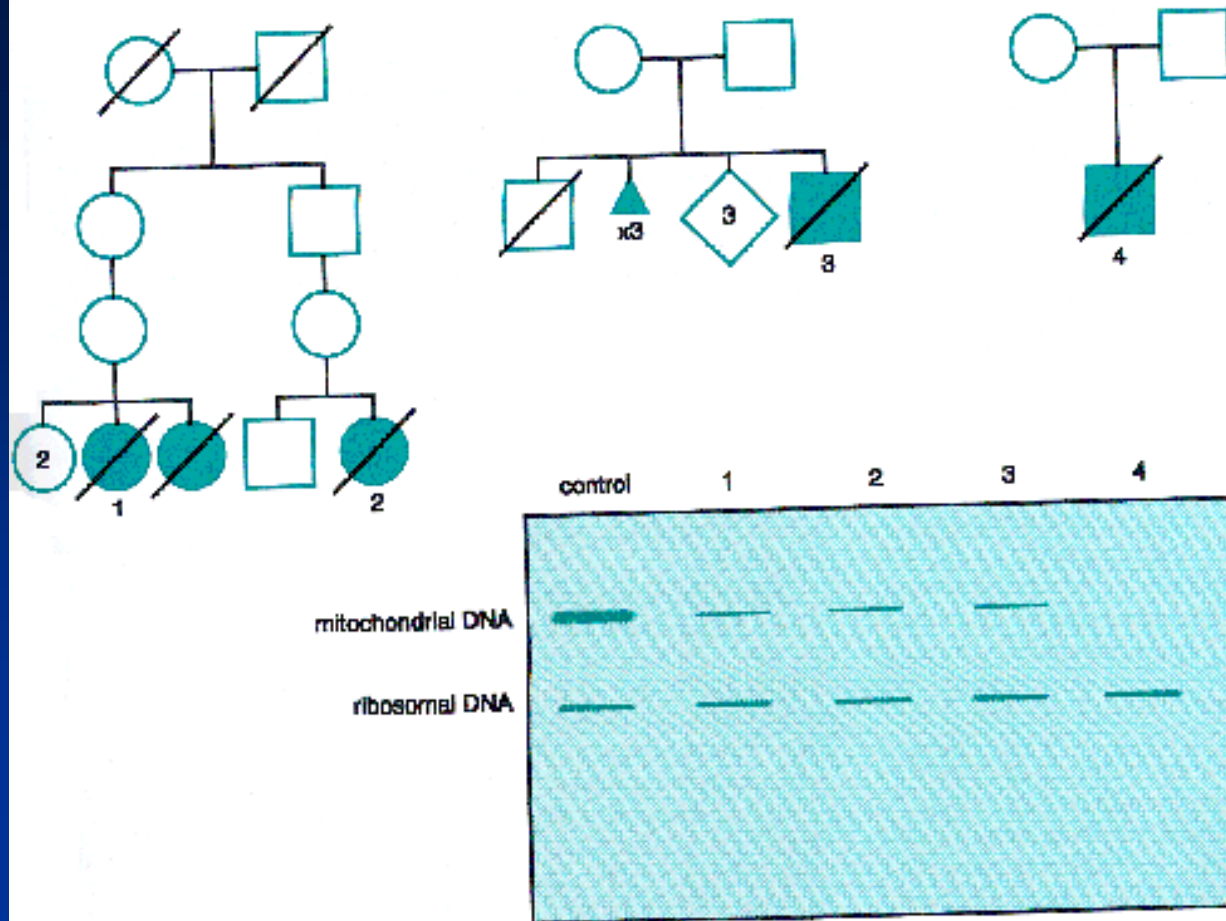
If this mutation is present in 10-30% of the mtDNA in white blood cells the patient may have type II diabetes with or without deafness .

If the same mutation is in more than 70% of the mtDNA the full MELAS syndrome is likely





Deletions of mitochondrial DNA in muscle biopsies from individuals with Kearns-Sayre syndrome. DNA was digested with PvuII, which cuts the mitochondrial genome at one site, resulting in a 16.5-kb fragments that is detected with a probe to the mitochondrial DNA by southern analysis. Each individual with the syndrome has two populations of mitochondrial DNA: one of normal size and one of smaller size form Zeiani M, Moraes CT DiMauro S et al. Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. Neurology 1988; 38: 1339-1346)



Three pedigrees of rare families having infants with fatal mitochondrial disorders showing mtDNA depletion; caused by mutations in nuclear encoded mitochondrial genes eg TK2 encoding mitochondrial Thymidine kinase

第二节 叶绿体

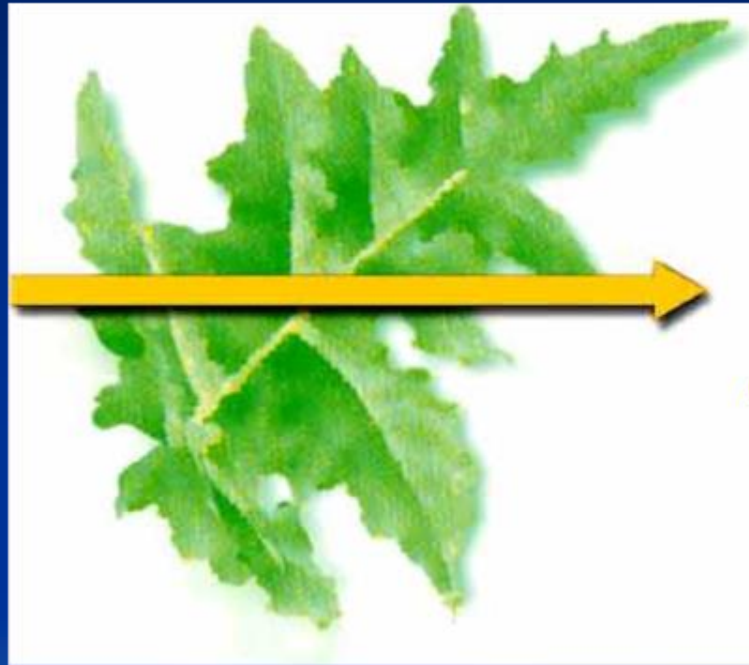
- 光合作用是地球上有机体生存和发展的根本源泉。
- 绿色植物年产干物质达 10^{14} 公斤。





WATER

CARBON
DIOXIDE



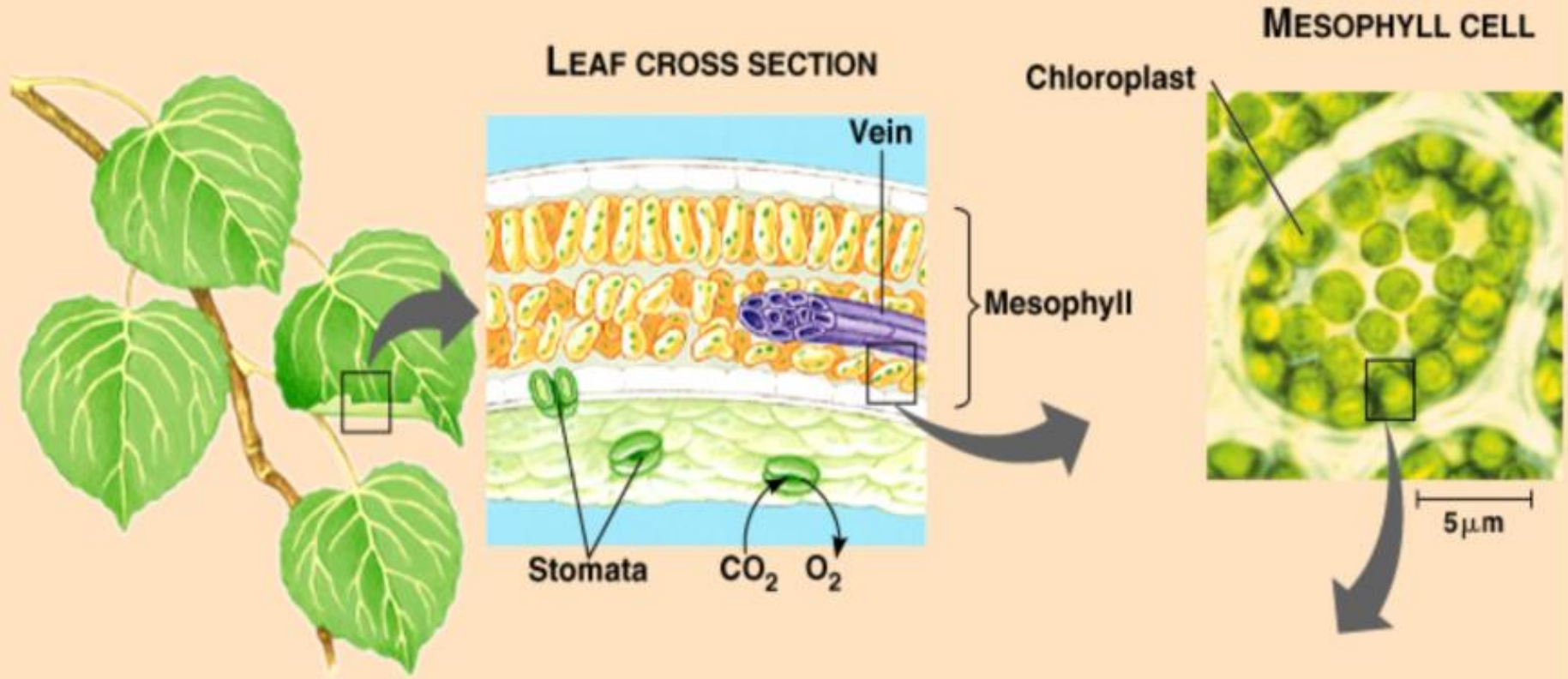
OXYGEN

GLUCOSE

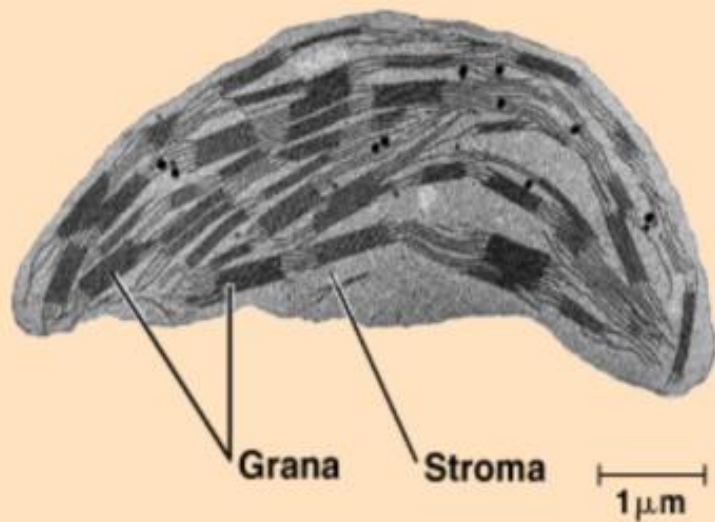
WATER

一、形态与结构

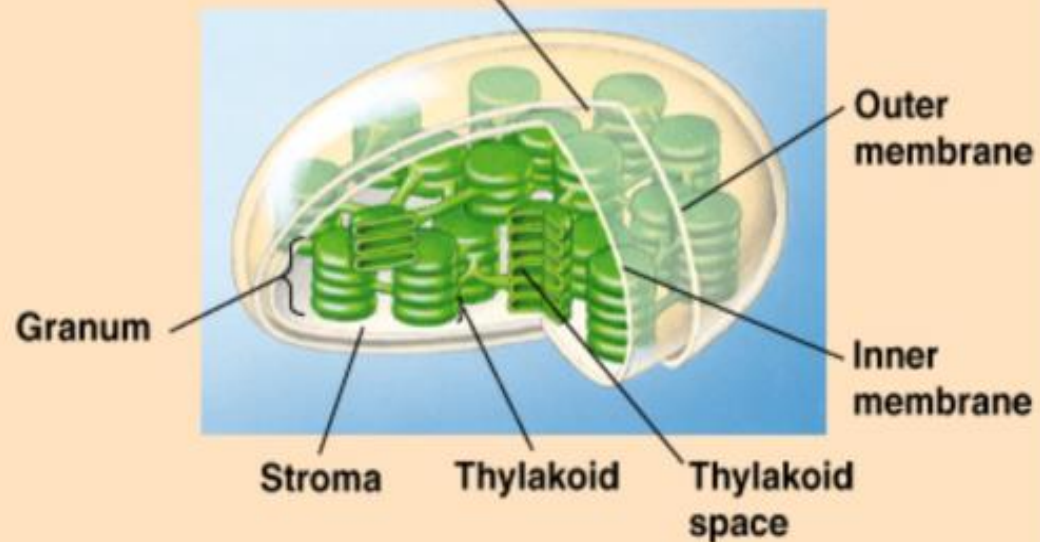
- 状如透镜，长径5~10，短径2~4，厚2~3um。
- 叶肉细胞含50~200个，占细胞质的40%。
- 由外被、类囊体和基质3部分组成。含3种不同的膜：外膜、内膜、类囊体膜；3种彼此分开的腔：膜间隙、基质和类囊体腔。



CHLOROPLAST

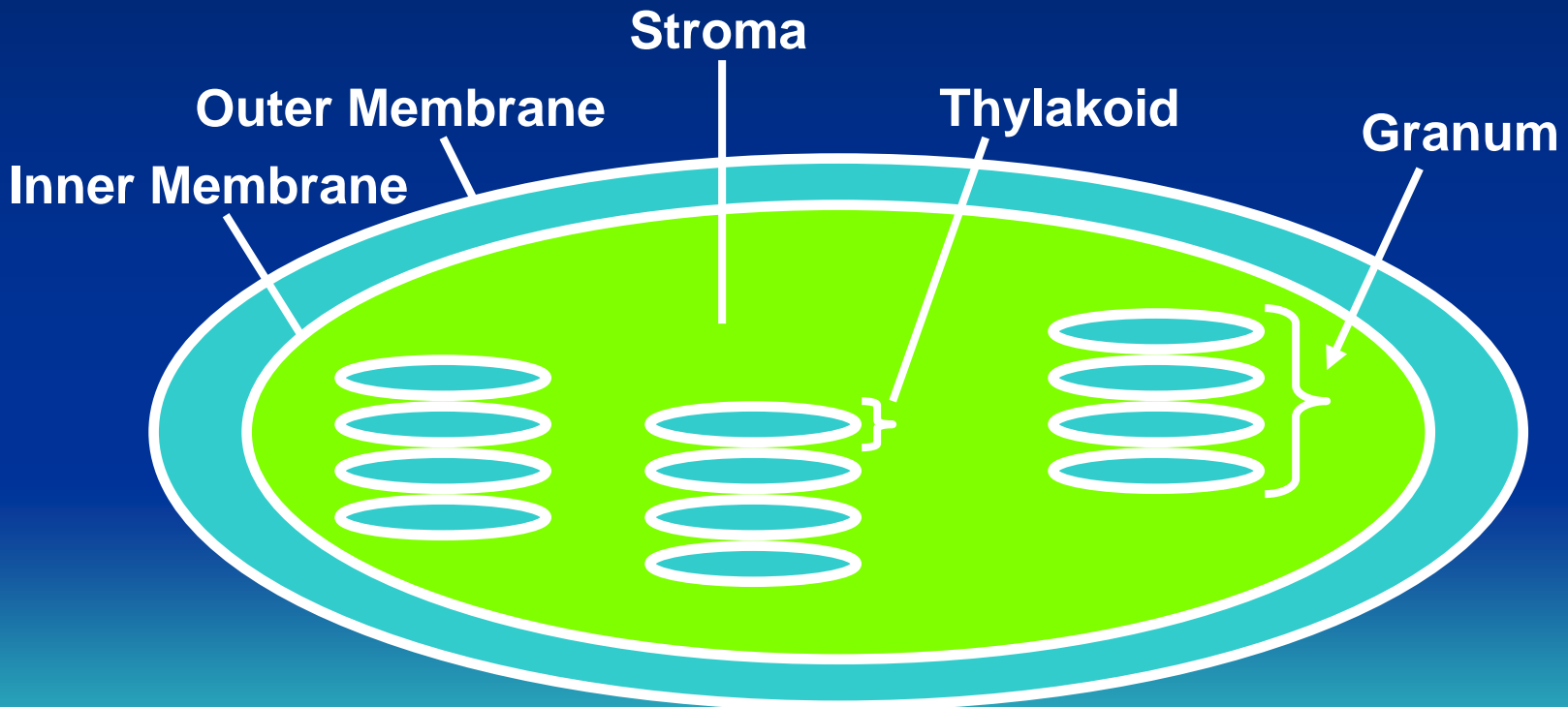


Intermembrane space



Chloroplast

- **Organelle** where **photosynthesis** takes place.

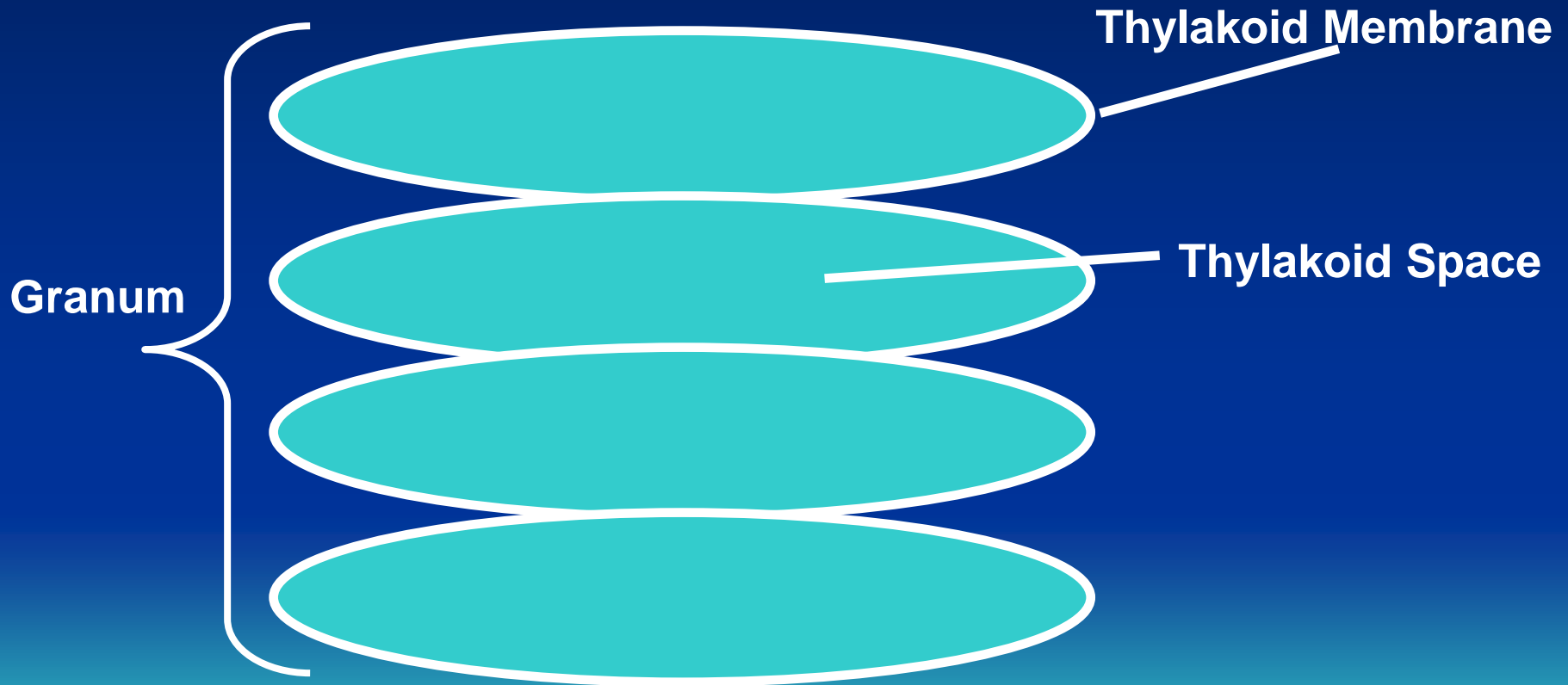


叶绿体结构

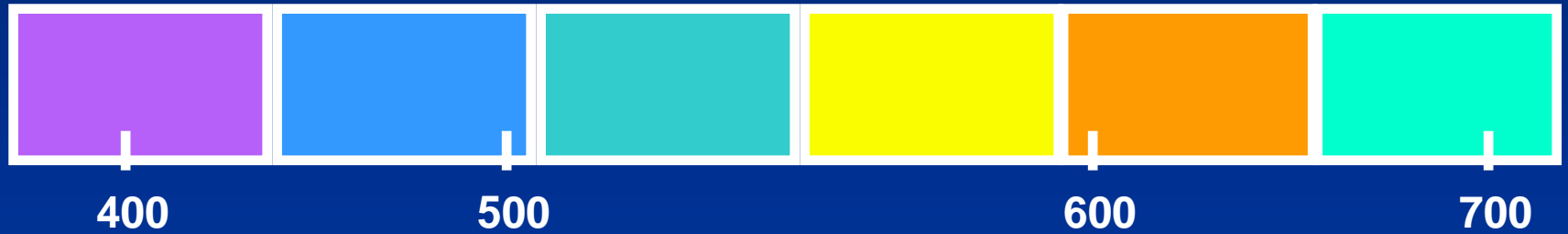
edurite



Thylakoid 类囊体



Wavelength of Light (nm)



Short wave
(more energy)



Long wave
(less energy)

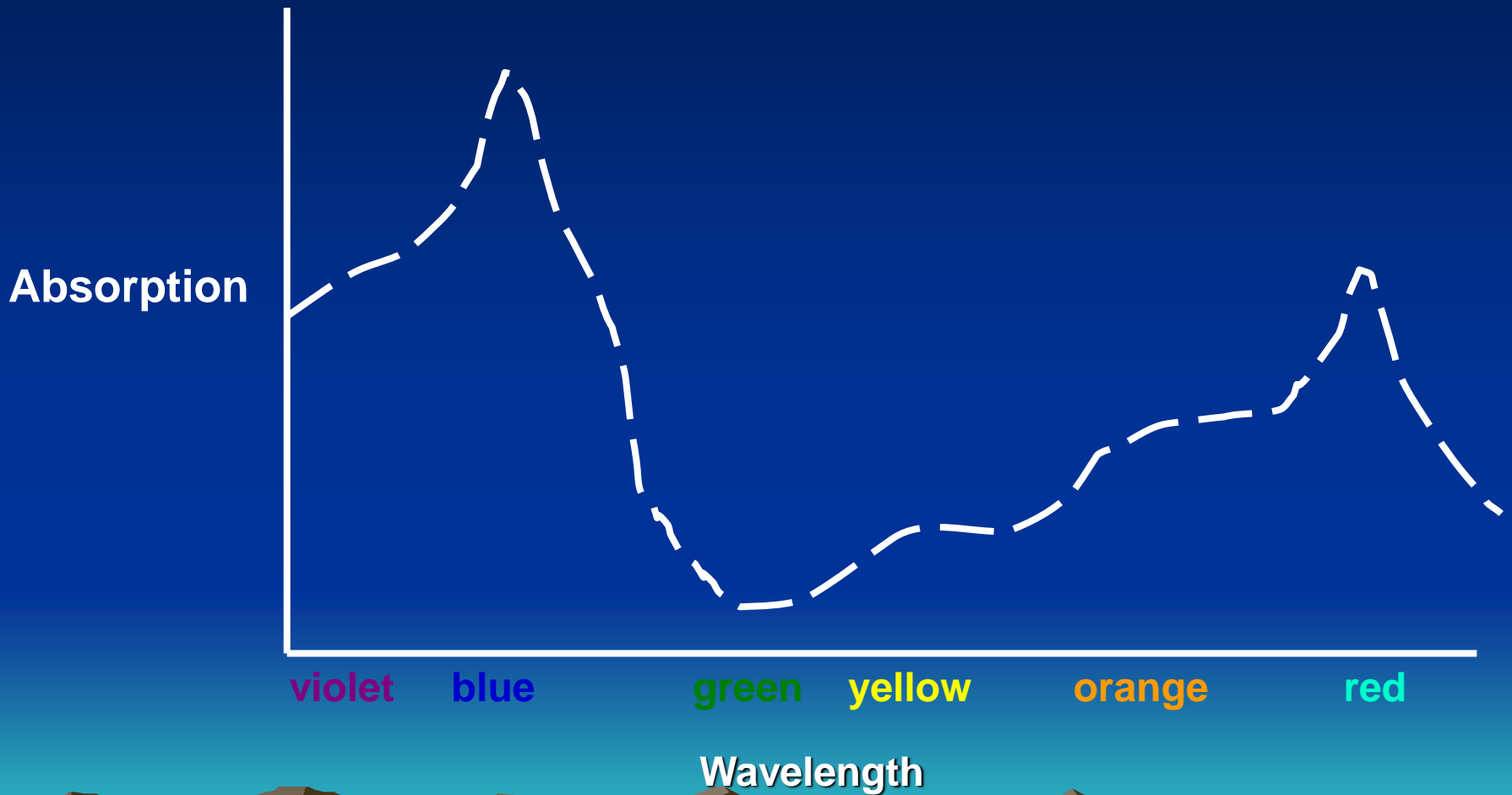


Chlorophyll Molecules

- Located in the **thylakoid membranes**.
- Chlorophyll have **Mg⁺** in the center.
- **Chlorophyll pigments** harvest energy (photons) by **absorbing** certain **wavelengths** (**blue-420 nm** and **red-660 nm** are most important).
- **Plants** are **green** because the **green wavelength** is **reflected**, **not absorbed**.



Absorption of Chlorophyll



(一) 叶绿体外被

- 双层膜组成，膜间为10~20nm的间隙。
- 外膜的通透性大，内膜通透性低；ADP、ATP、NADP⁺、葡萄糖和焦磷酸等需要特殊的转运体才能通过内膜。



(二) 类囊体

- 类囊体膜：流动性高，内在蛋白有：细胞色素 b6 / f 复合体、集光复合体(LHC)、质体醌(PQ)、质体蓝素(PC)、铁氧化还原蛋白(FD)、黄素蛋白、光系统I、II复合物。
- 基粒：扁平小囊堆叠而成，含40~60个。
- 基质类囊体：连接基粒的没有堆叠的类囊体。

(三) 基质

- 内膜与类囊体之间的空间，主要成分包括：
- 碳同化相关的酶类：如RuBP羧化酶。
- 叶绿体DNA、蛋白质合成体系。
- 一些颗粒成分：如淀粉粒、质体小球和植物铁蛋白等。

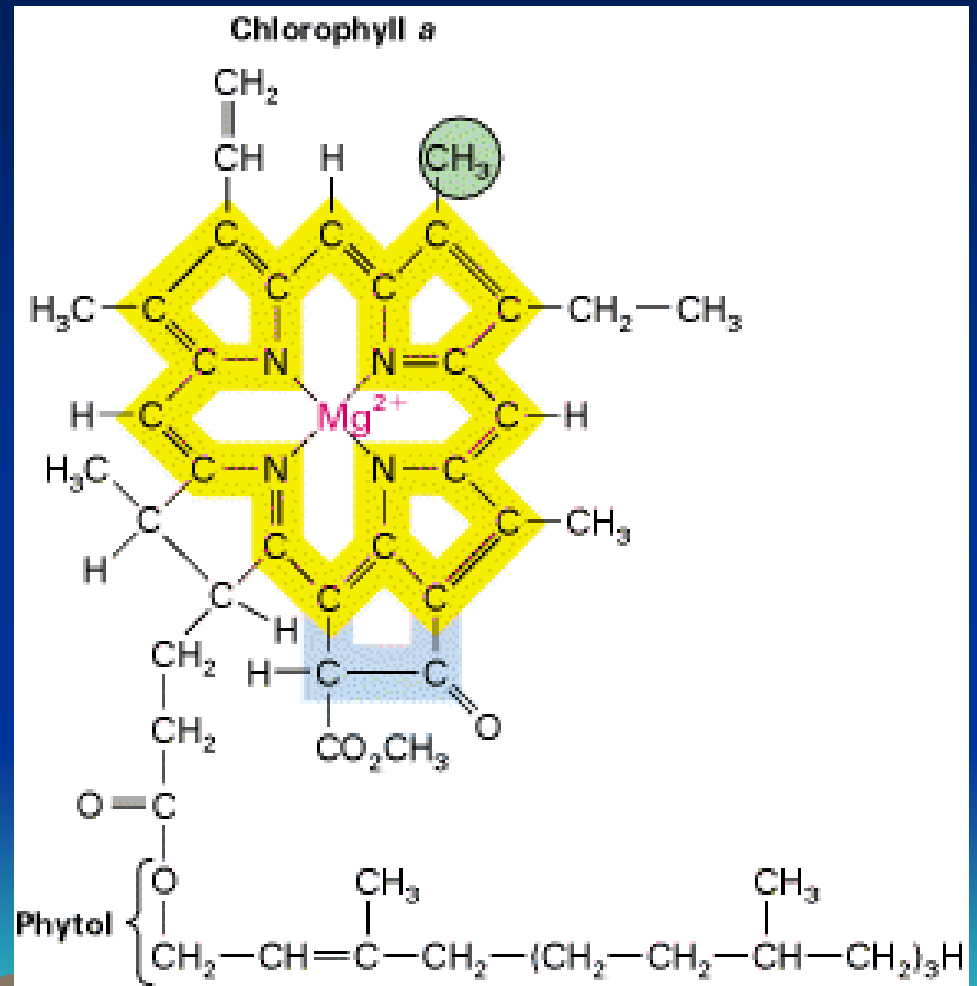
二、光合磷酸化作用机理

- 光合作用分为**光反应**和**暗反应**；
- 光反应需要光，涉及水的光解和光合磷酸化；
- 暗反应不需要光，涉及 CO_2 的固定，分为**C3**和**C4**两类。

(一) 光合色素和电子传递链组分

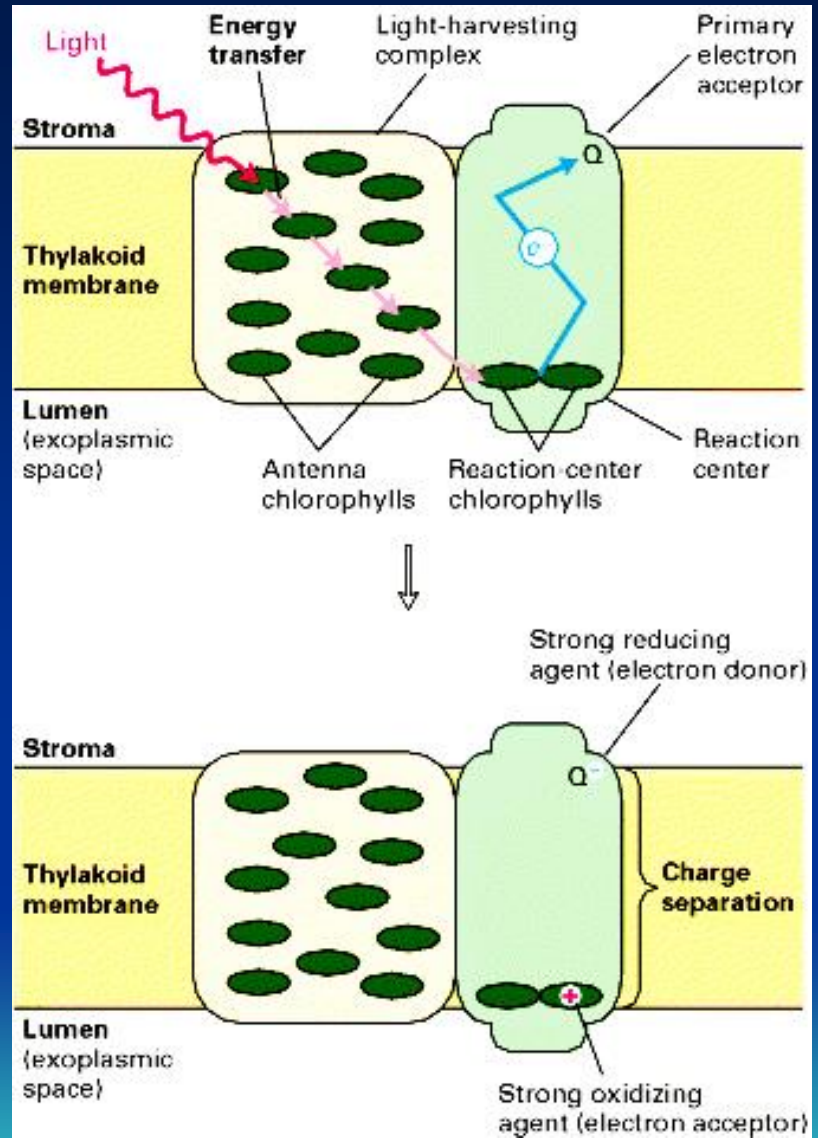
1. 光合色素

- 包括：叶绿素、类胡萝卜素，比例约3:1。
- 叶绿素分为a、b，比例约3:1。



2. 集光复合体

- 约200个叶绿素分子和一些肽链构成。
- 全部叶绿素b和大部分叶绿素a都是天线色素。



3. 光系统II (PSII) : P680

- 至少包括12条肽链，位于基粒与基质非接触区域的类囊体膜上。包括一个集光复合体II、一个反应中心和一个含锰原子的放氧复合体。



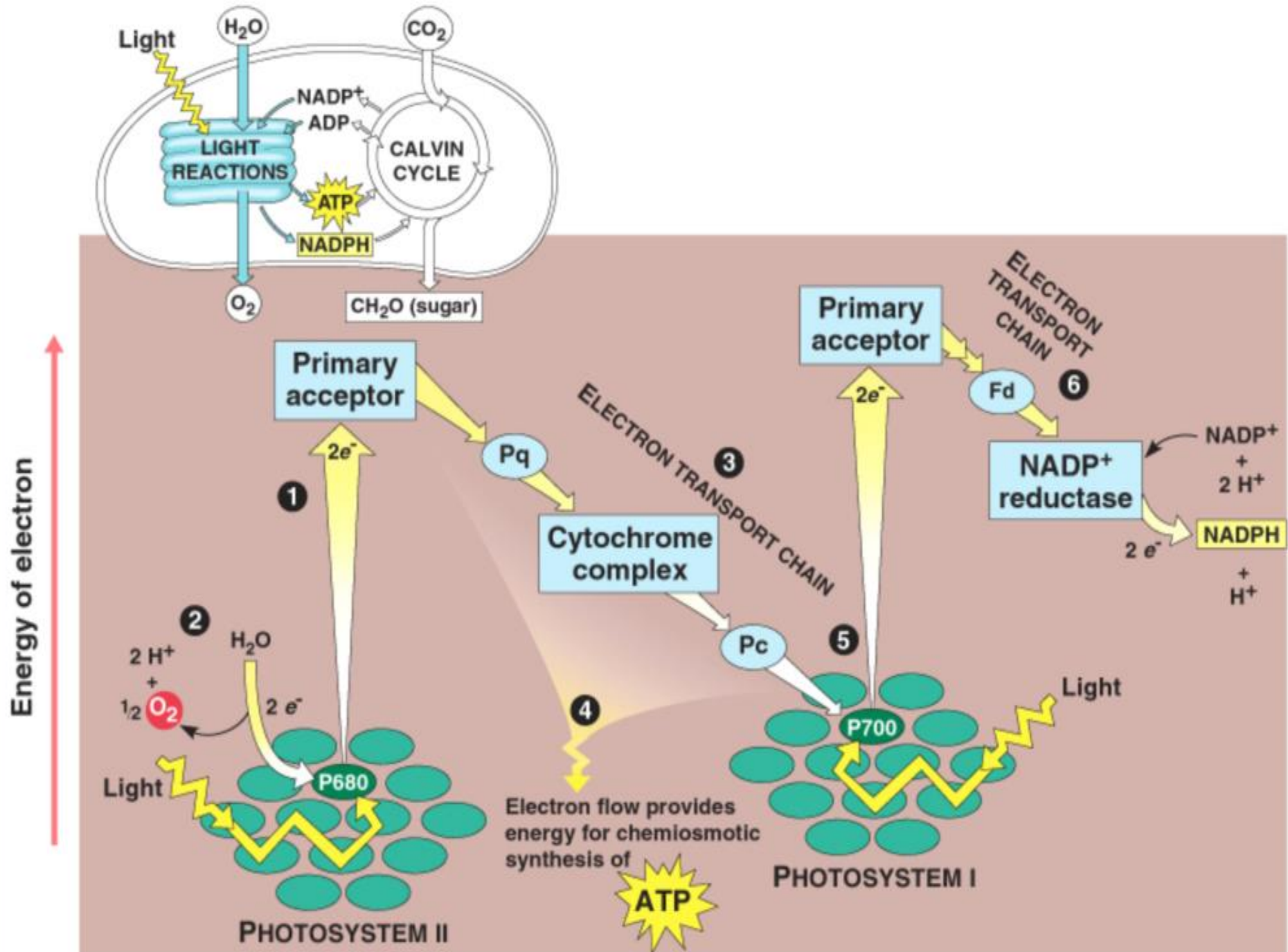
4. 细胞色素b6/f复合体

- 可能以二聚体形式存在，每个单体含有四个不同的亚基。

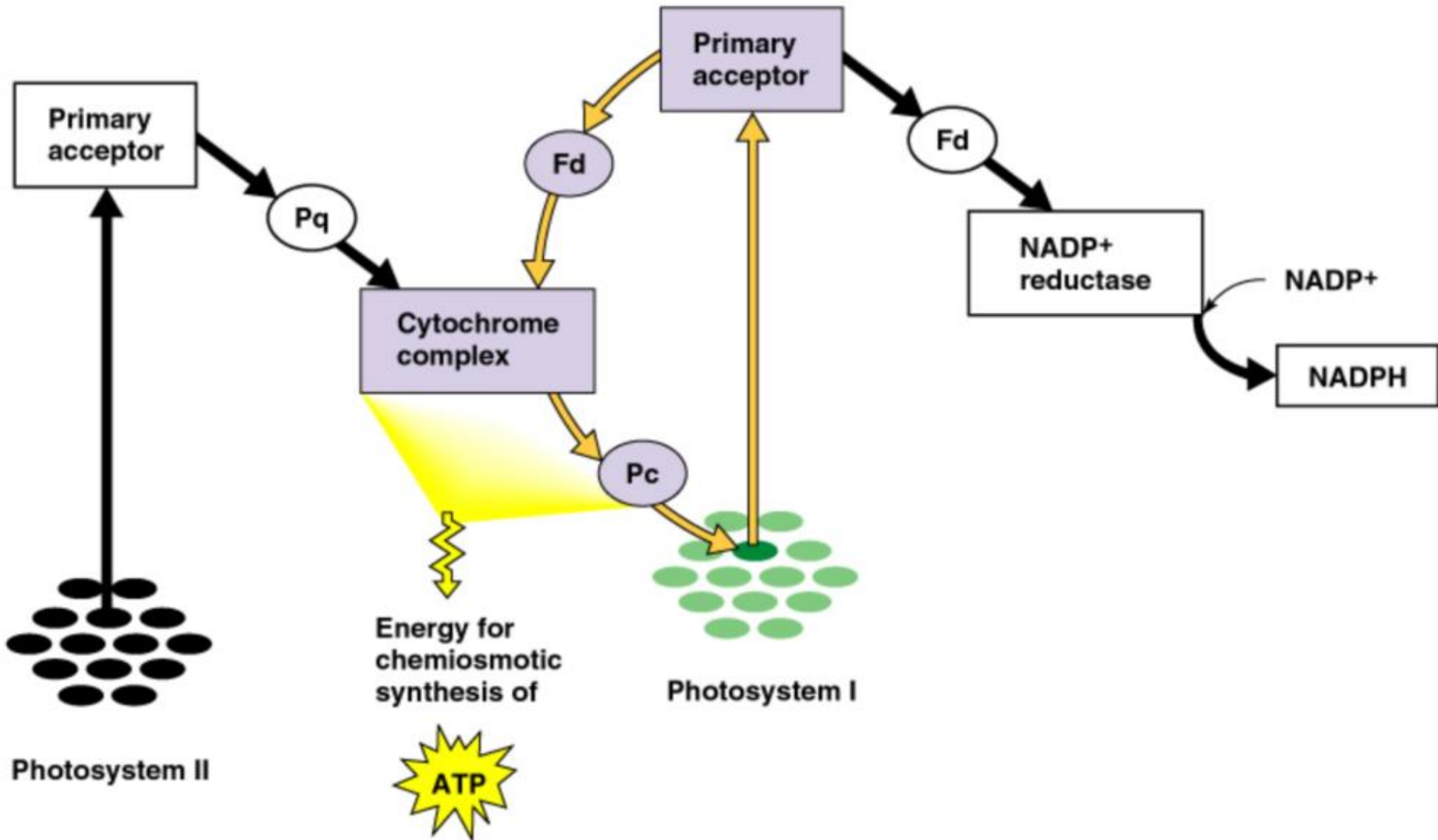
5. 光系统 I (PSI) : P700

- 位于基粒与基质接触区和基质类囊体膜中，由集光复合体I和作用中心构成。

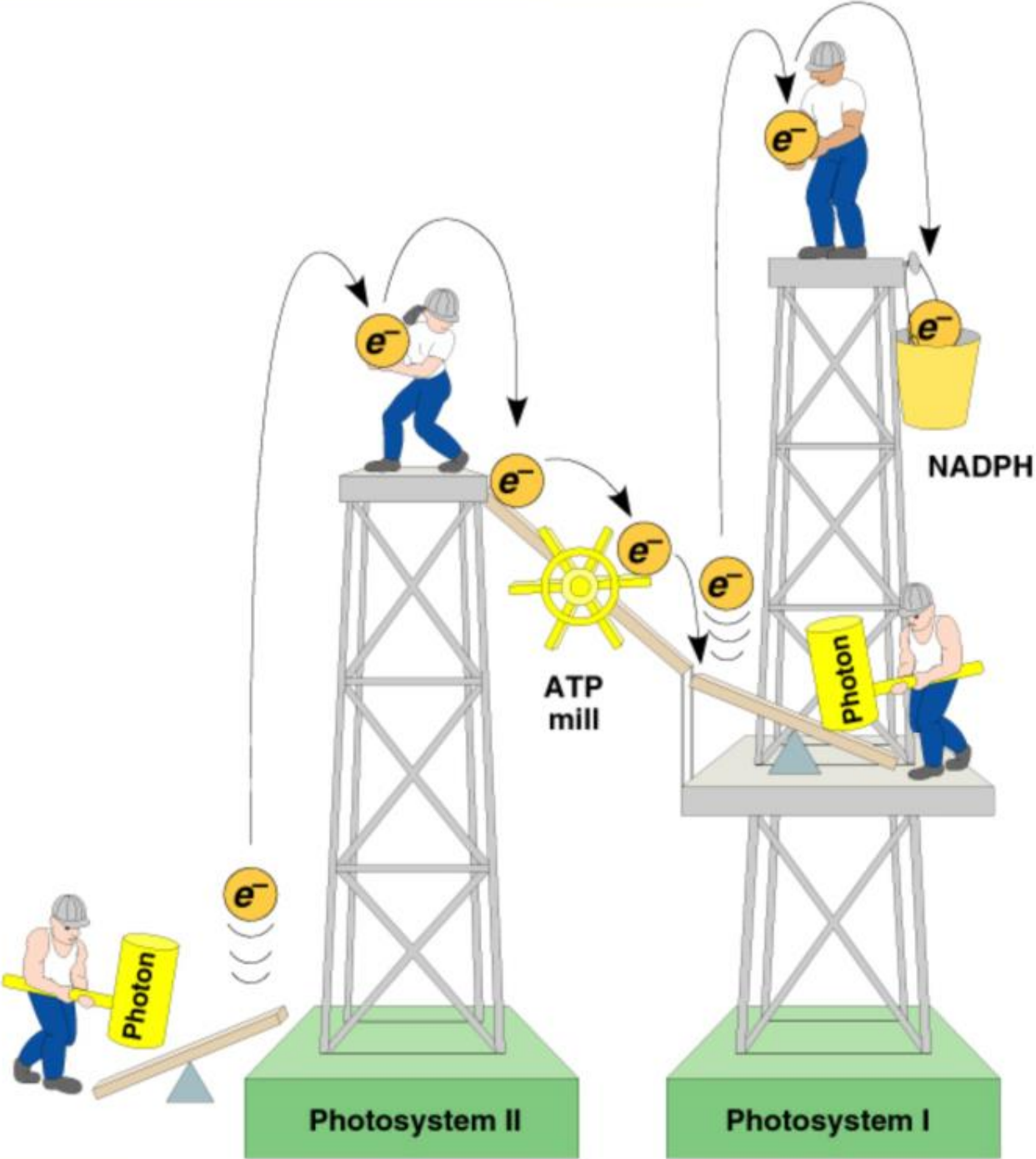




Cyclic photophosphorylation

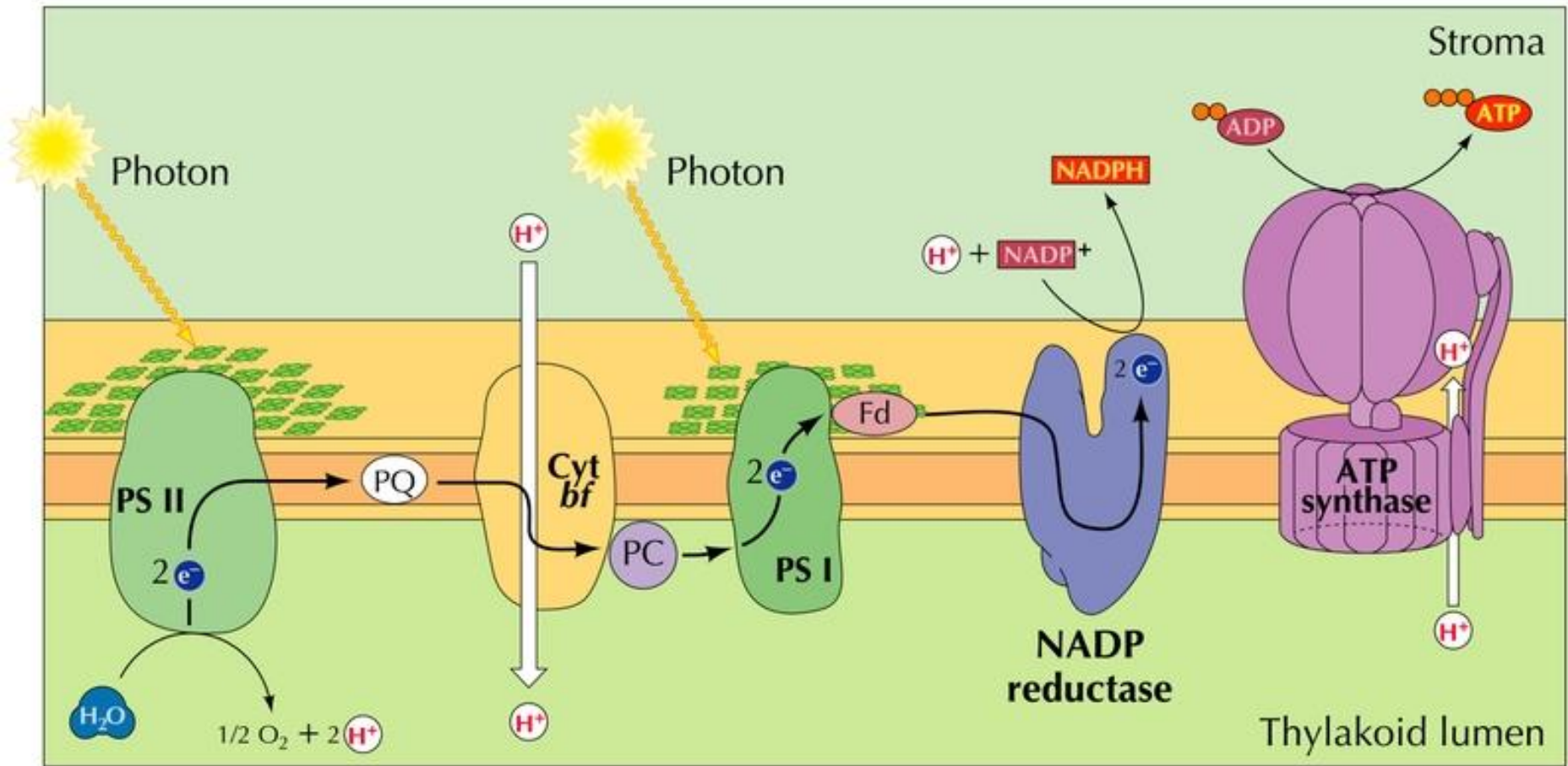


PSI and PSII

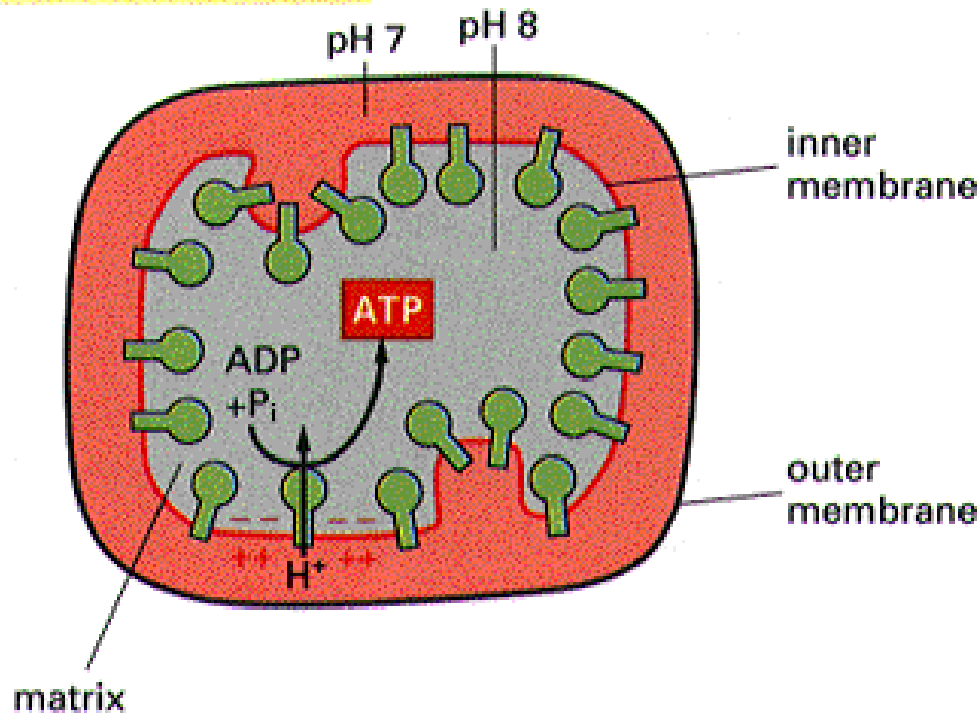


(二) 光合磷酸化

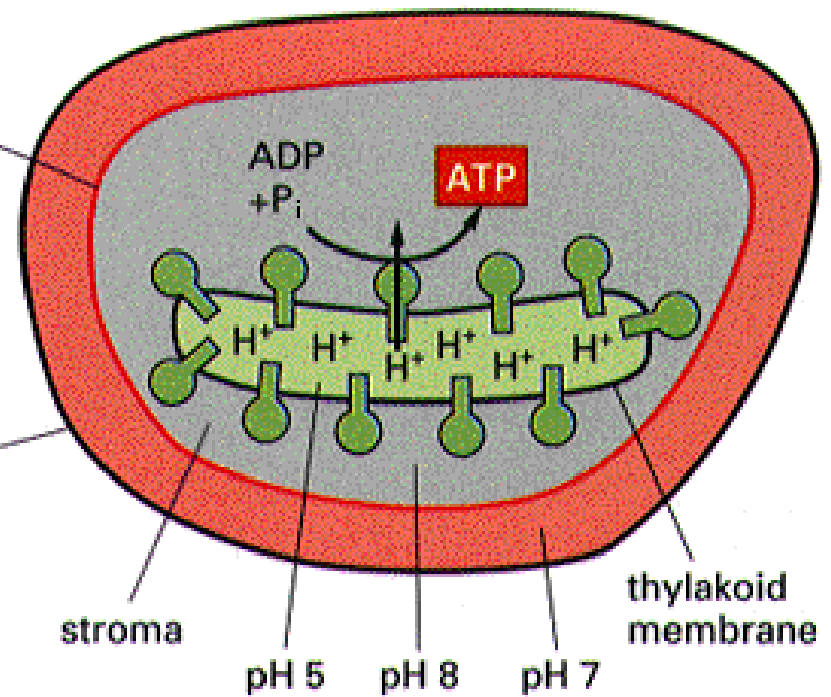
- 一对电子从P680经P700传至NADP⁺，在类囊体腔增加4个H⁺，在基质中1个H⁺被用于还原NADP⁺，使类囊体腔有较高的H⁺（pH≈5），形成质子动力势。
- H⁺经ATP合酶（CF₁-F₀ 偶联因子）渗入基质、推动ATP合成。



MITOCHONDRION



CHLOROPLAST



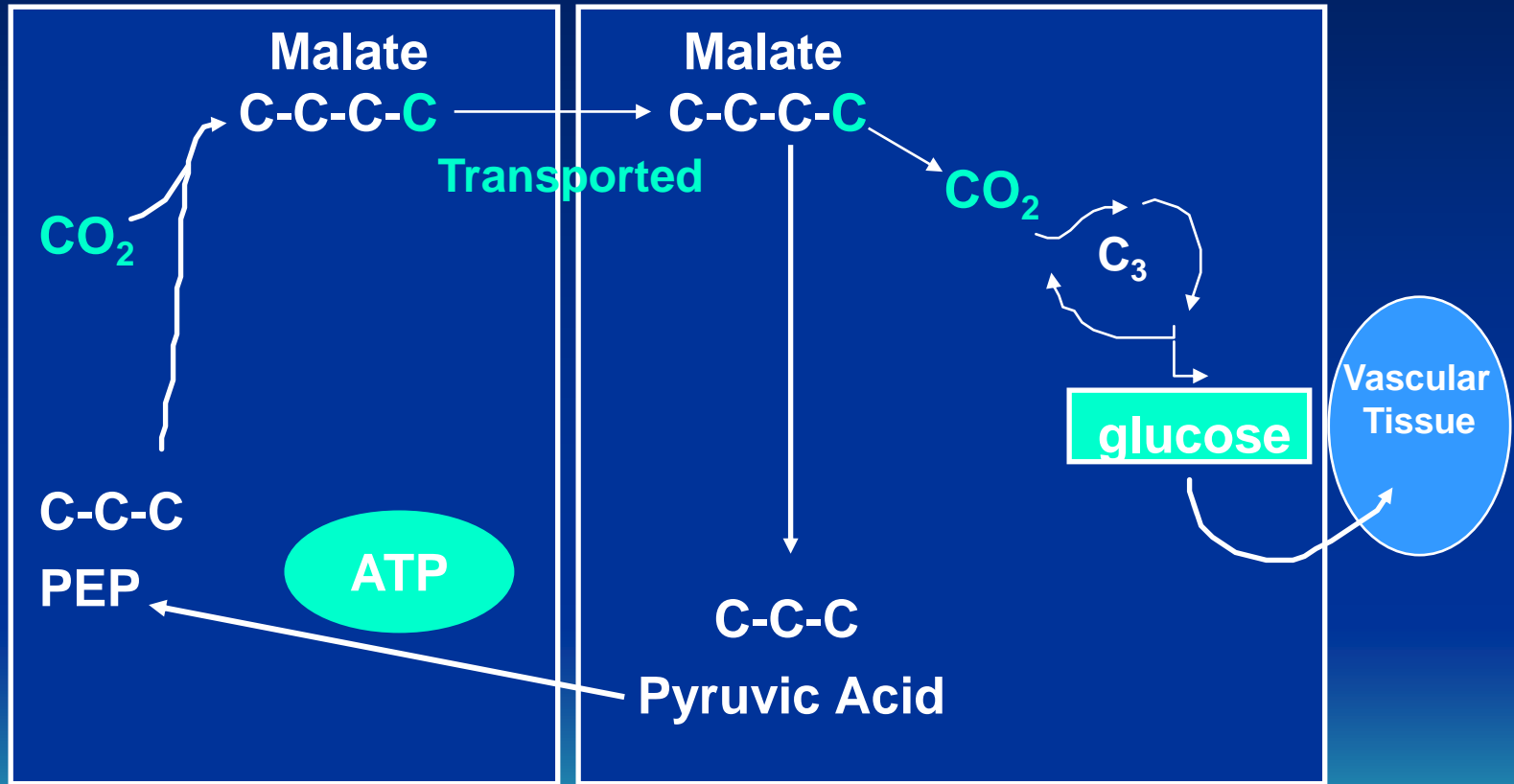
 = ATP synthase

C4 Plants

- **Hot, moist environments.**
- **15% of plants (grasses, corn, sugarcane).**
- **Divides photosynthesis spatially.**
- Light rxn - mesophyll cells.
- Calvin cycle - bundle sheath cells.



C4 Plants



Mesophyll Cell

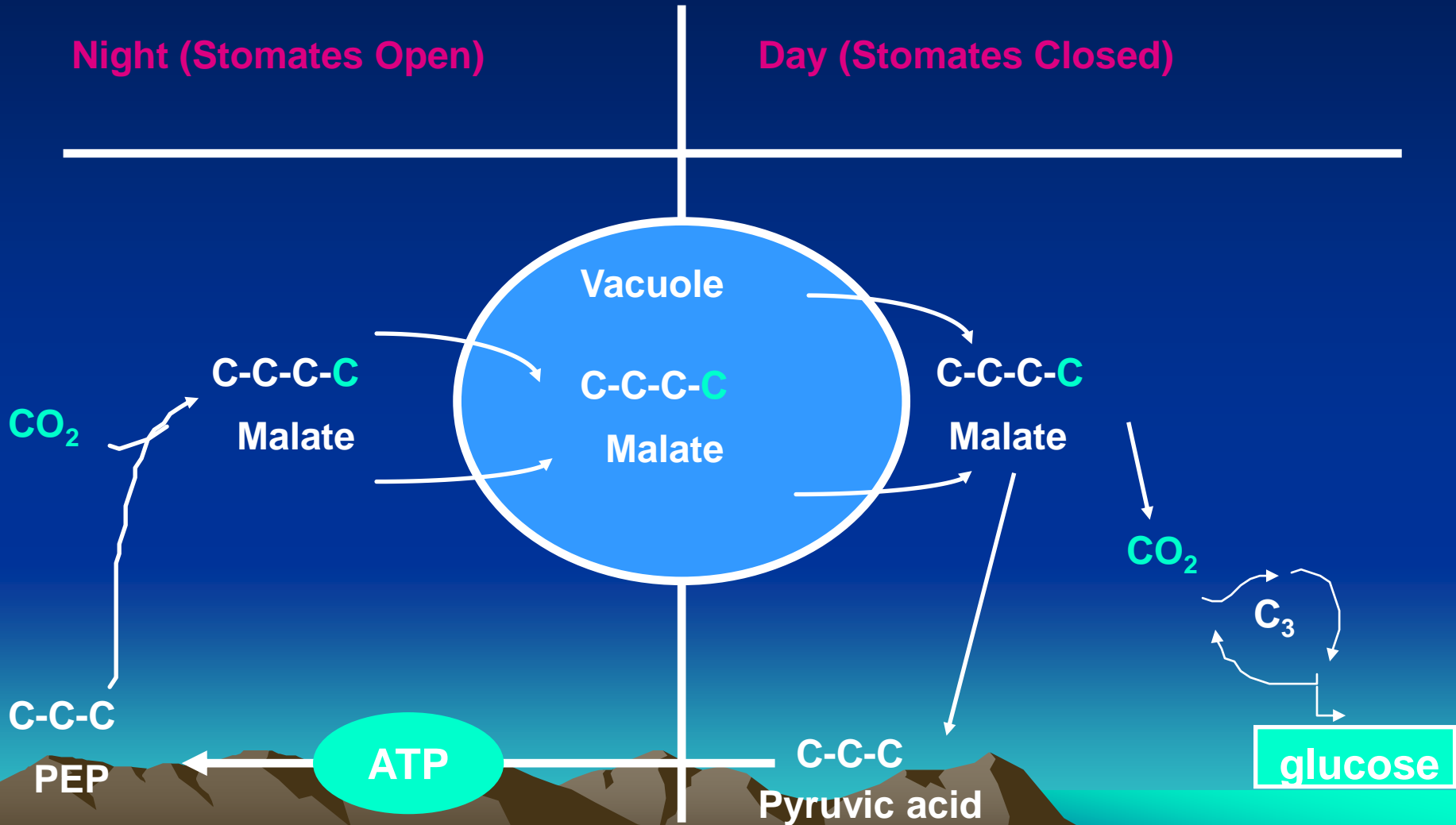
Bundle Sheath Cell

磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)

CAM Plants Crassulaceae Acid Metabolism, 景天酸代谢

- Hot, dry environments.
- 5% of plants (cactus and ice plants).
- Stomates closed during day.
- Stomates open during the night.
- Light rxn - occurs during the **day**.
- Calvin Cycle - occurs when CO₂ is present.

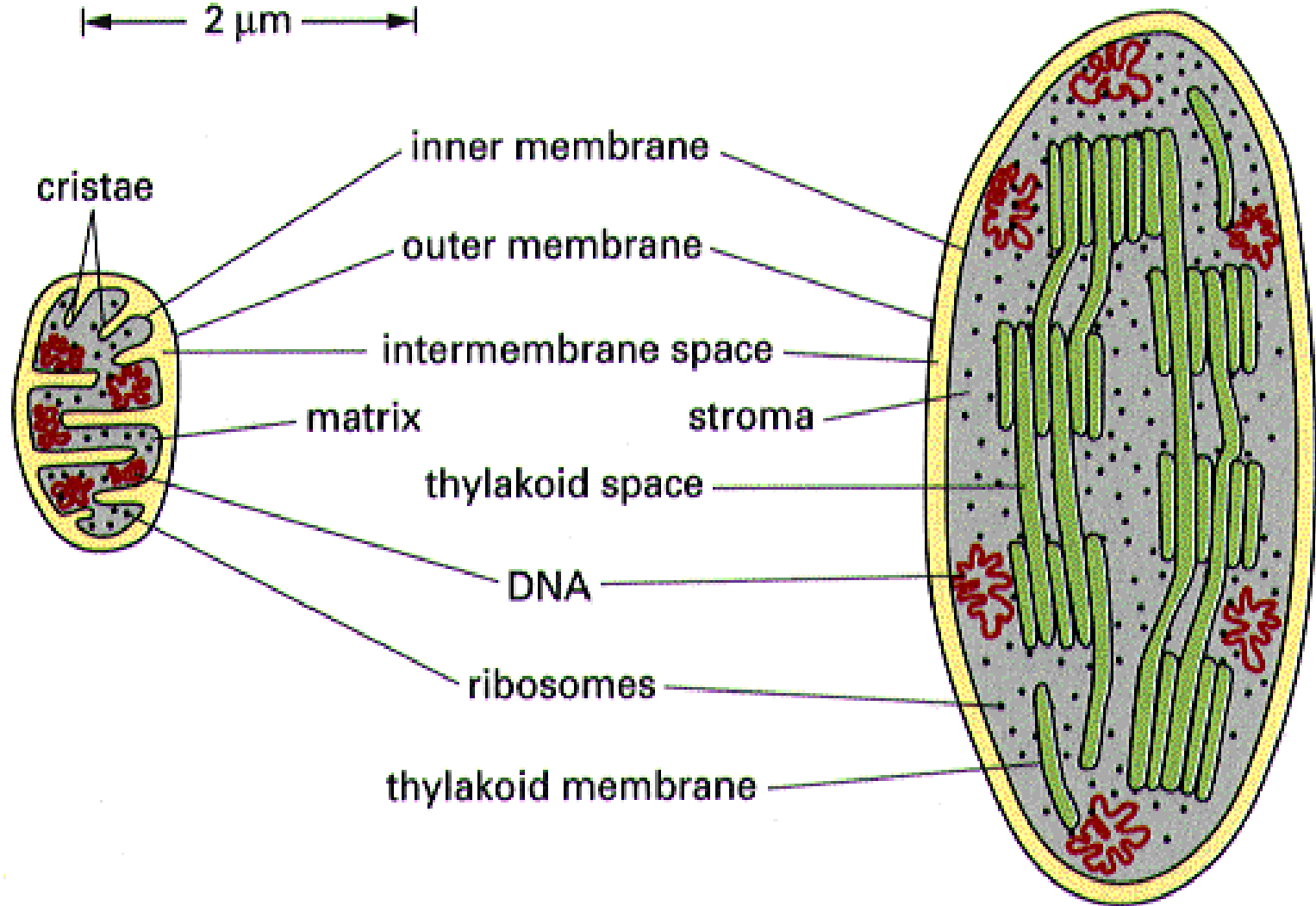
CAM Plants



三、叶绿体的半自主性

- 线粒体与叶绿体结构的相似性：
 - ①两层膜包被，内外膜结构和性质不同。
 - ②为半自主性细胞器，绿色植物细胞具有**3个遗传系统**。
 - ③具有蛋白质后转译现象。

2 μm



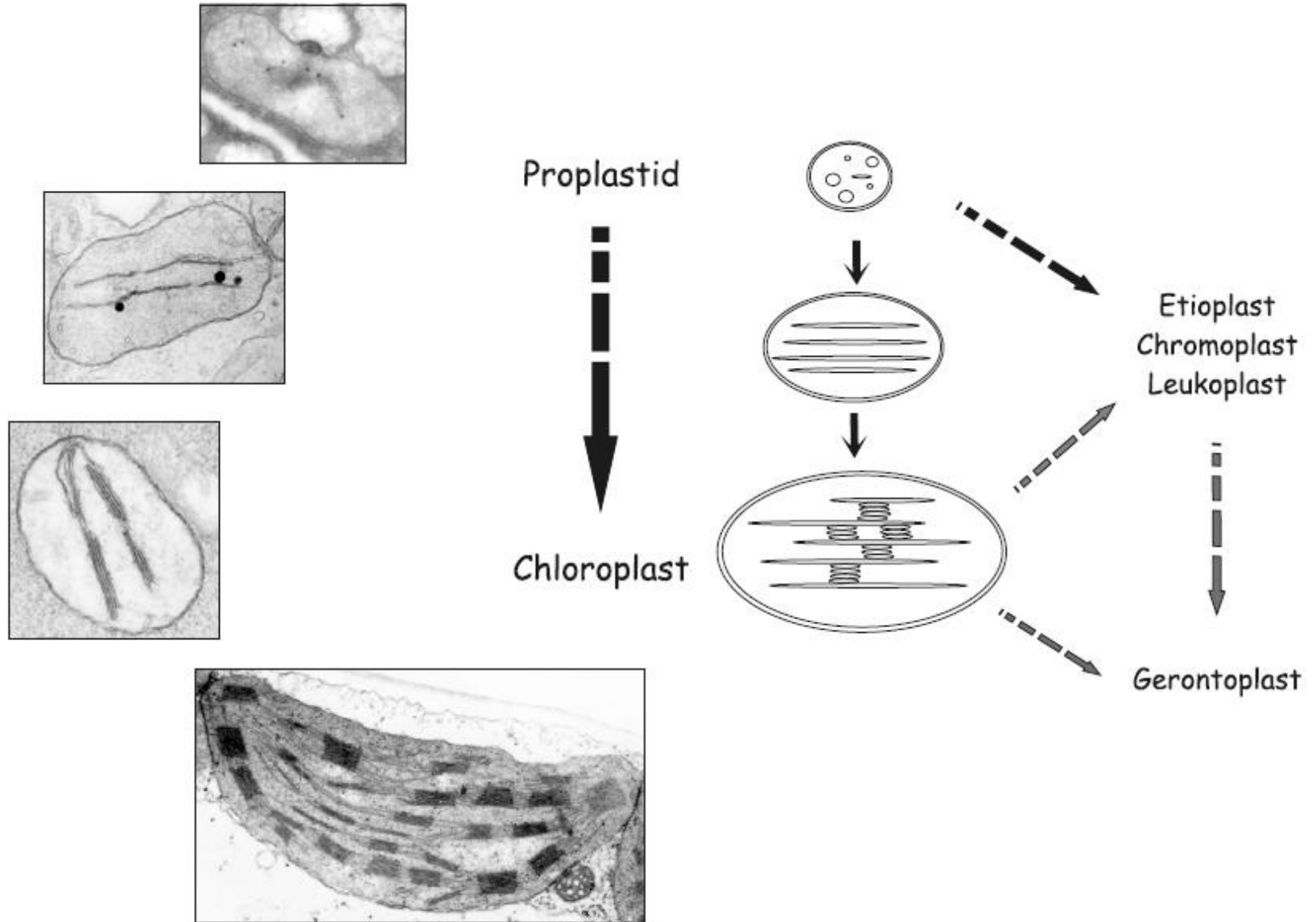
MITOCHONDRION

CHLOROPLAST

四、叶绿体的增殖

- 在个体发育中叶绿体由**原质体**发育而来。
- 有光条件下原质体的小泡增加并融合成片层，发育为基粒。
- 幼小叶绿体能靠**分裂**而增殖，成熟叶绿体一般不再分裂。

叶绿体的发生



第三节 线粒体与叶绿体的 蛋白质定向转运



一、线粒体蛋白质的转运

- 用标记氨基酸培养细胞，用氯霉素和放线菌酮分别抑制线粒体和细胞质的蛋白合成，发现人mtDNA仅编码13条多肽：
 - 细胞色素c氧化酶的3个亚基， F_0 的2个亚基，NADH脱氢酶的7个亚基和细胞色素b。

- 线粒体含**1000**多种蛋白，绝大多数由核基因编码，在细胞质中合成，定向转运至线粒体。
- 前体蛋白在运输前，以未折叠形式存在，N端的一段信号序列称为导肽或引肽，完成转运后被酶切除，成为成熟蛋白，这种现象称后转译。



➤ 信号肽特点：

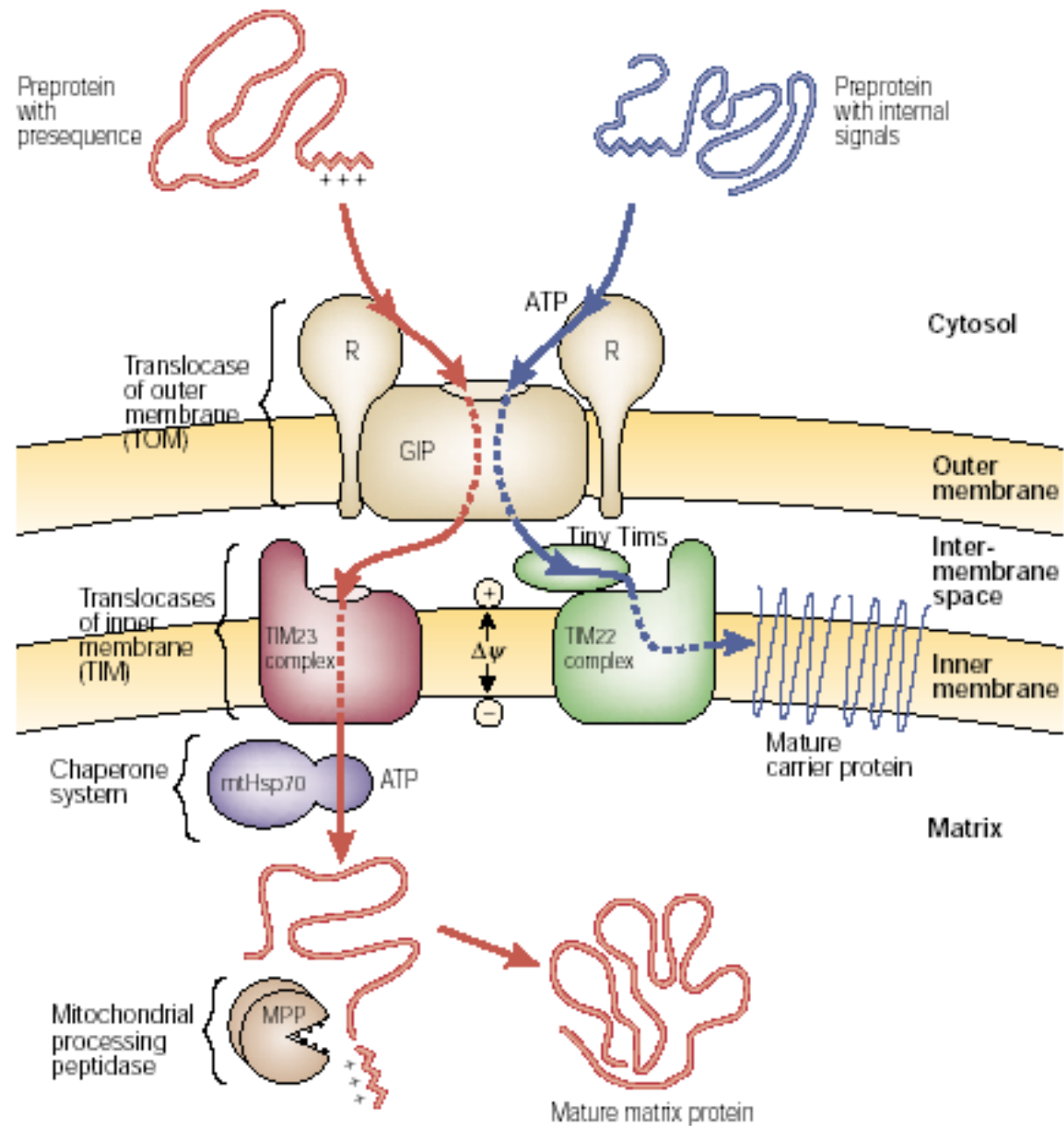
- 多位于肽链N端，约20个氨基酸构成；
- 形成两性 α 螺旋，带正电荷的氨基酸残基和不带电荷的疏水氨基酸残基分别位于螺旋两侧；
- 对所牵引的蛋白质没有特异性要求。



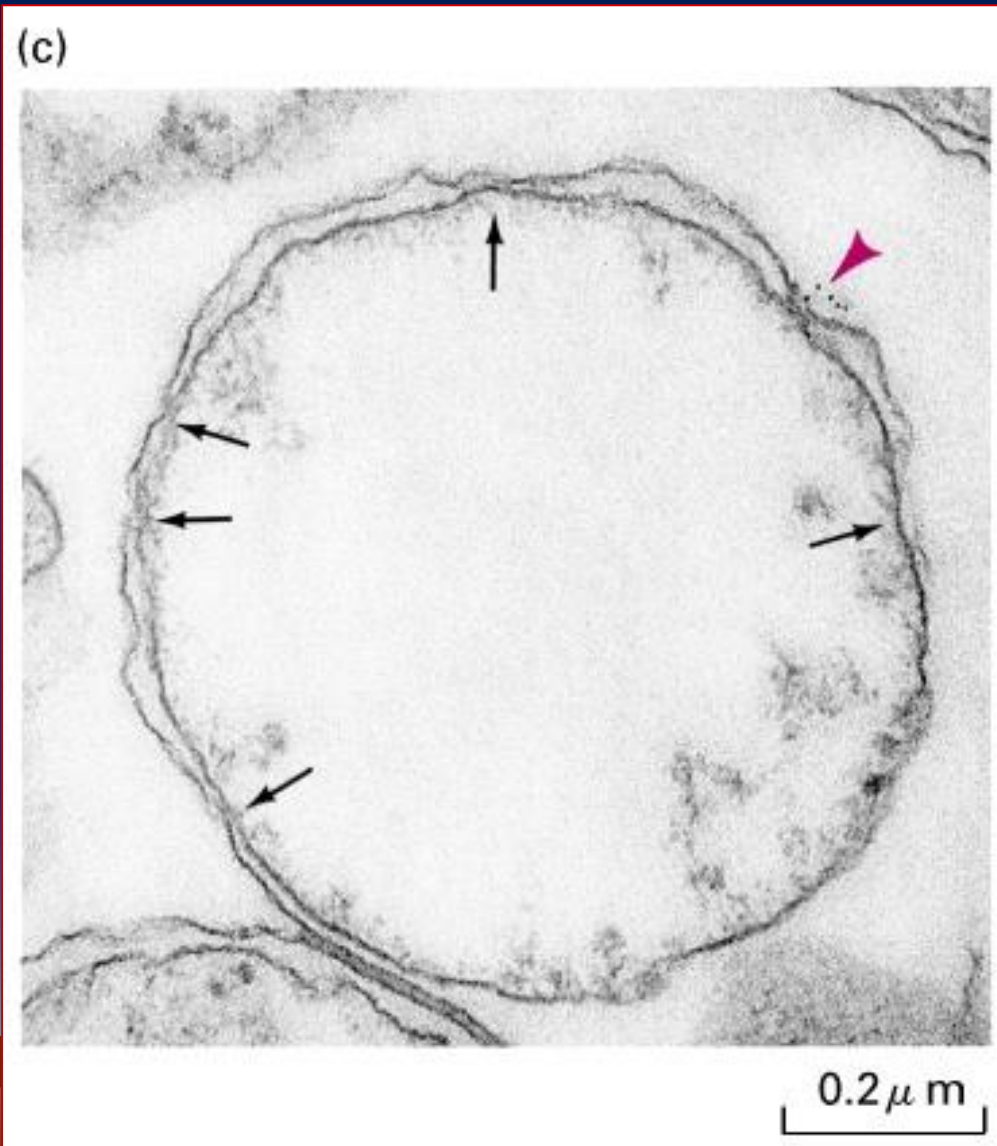
➤ 蛋白质的转运涉及转位因子:

- **TOM**复合体: 通过外膜, 进入膜间隙。
- **TIM**复合体: 进入基质(**TIM23**)或内膜(**TIM22**)。
- **OXA**复合体: 将线粒体合成的蛋白和某些进入基质的蛋白插到内膜上。
- 线粒体内外膜之间存在接触点, 蛋白通过此处的**TOM**和**TIM**复合体, 一步进入基质。

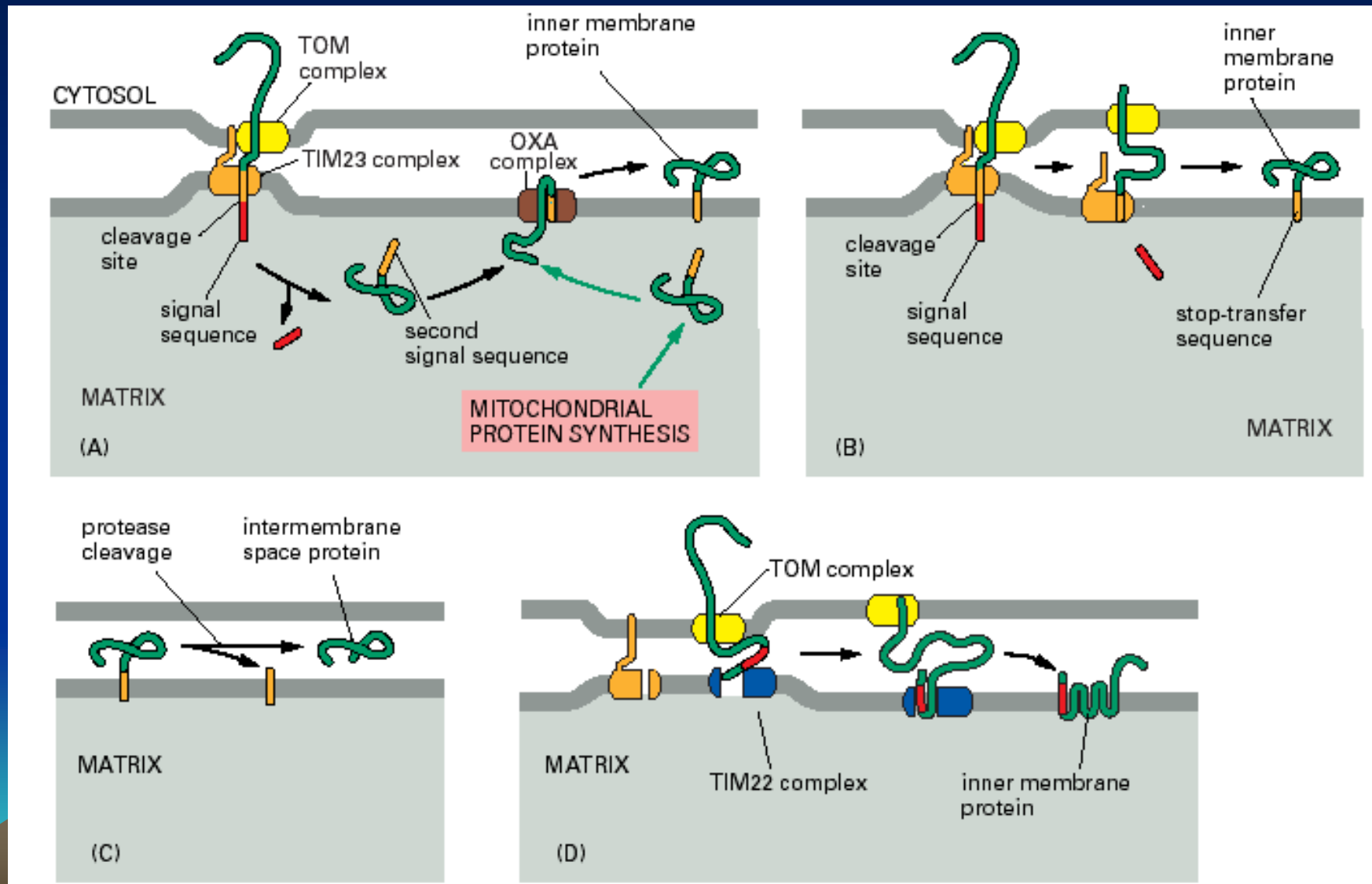
mitochondrial protein import machinery.



Contact Sites of Mitochondria



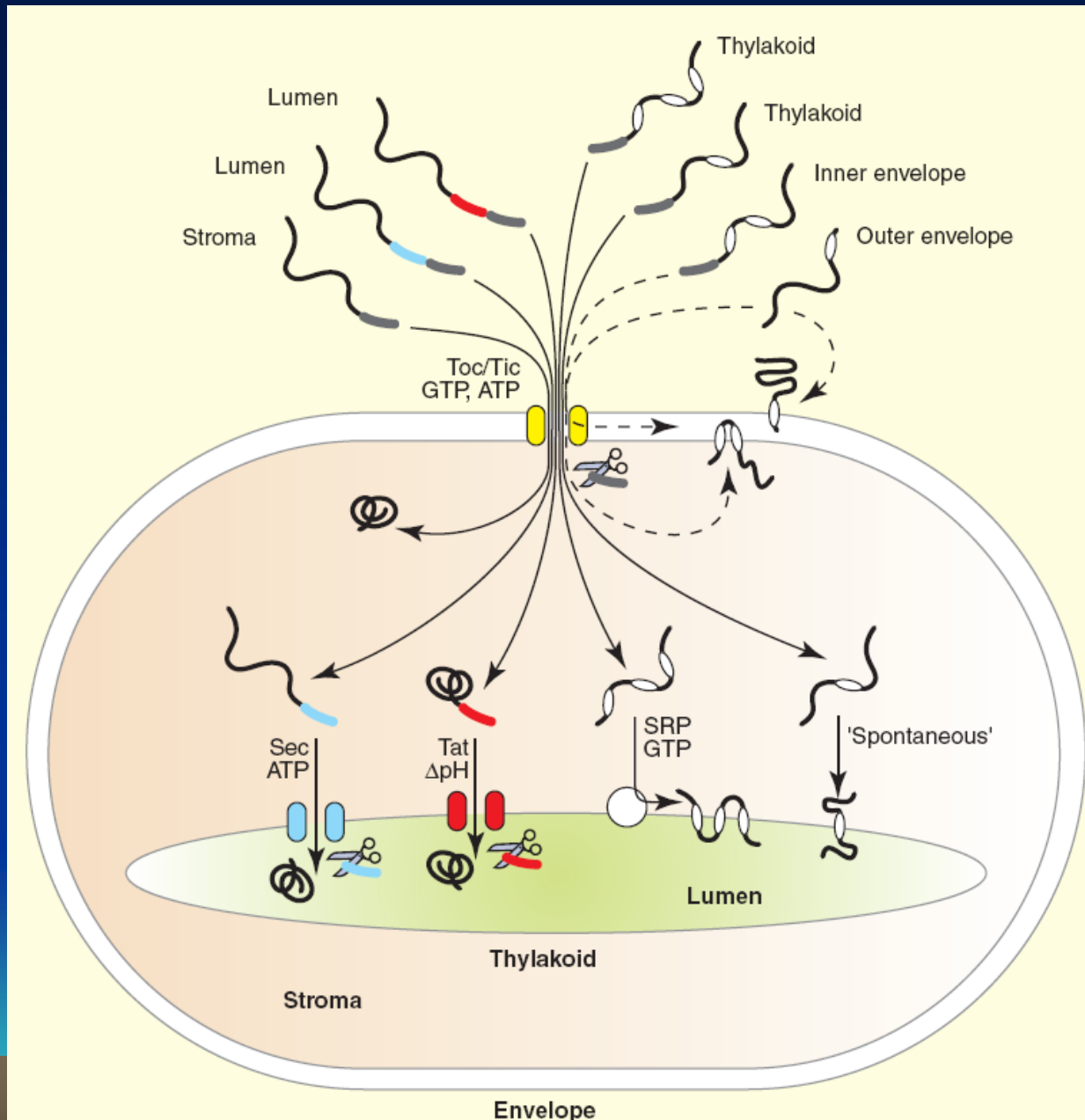
Protein Transport into Inner Membrane and Intermembrane Space Requires Two Signal Sequences



- 蛋白质的输入是一个**耗能过程**：
 1. 在线粒体外解除与前体蛋白质结合的分子伴侣，需要通过水解**ATP**获得能量。
 2. 在通过**TIM**复合体时利用质子动力势作为动力。
 3. 前体蛋白进入线粒体基质后，线粒体**hsp70**依次结合在蛋白质线性分子上，将蛋白质“铰进”基质，需要消耗**ATP**，然后**hsp70**将蛋白质交给**hsp60**，完成折叠。

二、叶绿体的蛋白质转运

- 叶绿体蛋白转运与线粒体的相似。 如：
- 都发生后转译；
- 每一种膜上有特定的转位因子；
- 内外膜具有接触点；
- 需要能量，利用**ATP**和质子动力势；
- 前体蛋白**N**端有信号序列，使用后被信号肽酶切除。



Translocation of proteins into chloroplasts

