ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL COMPLEJO Ndh DE CLOROPLASTOS

El DNA de cloroplastos de la mayoría de las plantas contiene 11 genes *ndh* que codifican para componentes del complejo multipolipeptídico tilacoidal Ndh, homólogo del complejo I de la cadena respiratoria (EC 1.6.5.3), que cataliza la reducción de plastoquinona (PQ) con NADH:

$$NADH + H^{+} + PQ \rightarrow NAD^{+} + H_{2}PQ$$

Suministrando electrones desde NADH, el complejo Ndh forma parte de un sistema regulador del nivel de oxido-reducción de transportadores del flujo cíclico de electrones en el que actúan sustrayendo electrones: la reacción de Mehler:

$$FeSP_{red} + O_2 \rightarrow FeSP_{oxid} + O_2$$
 (radical superóxido)

y la peroxidasa tilacoidal que cataliza la reacción:

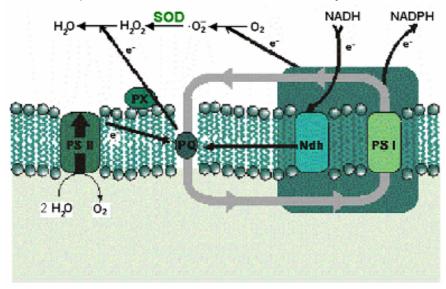
$$H_2PQ + H_2O_2 \rightarrow PQ + H_2O$$

para la que el agua oxigenada se genera por la reacción catalizada por la superóxido dismutasa (SOD):

$$2 \cdot O_2^- + 2 H^+ \rightarrow 2 H_2O + O_2$$

Alternativamente, podría actuar una oxidasa que con oxígeno pase H₂PQ a PQ.

Concertadamente, estas reacciones aseguran que los transportadores del flujo cíclico de electrones no estén ni excesivamente oxidados ni excesivamente reducidos, permitiendo altas tasas de flujo electrónico y, en consecuencia, un adecuado potencial de la membrana tilacoidal y la fotofosforilación.



Los niveles del complejo Ndh aumentan especialmente en situaciones estrés fotooxidativo y senescencia. El aumento de los niveles de complejo Ndh es clave en la senescencia foliar, ya que al no ir acompañado de un aumento de SOD hace subir el nivel de especies reactivas de oxígeno que conducen a la muerte celular. Así, los cloroplastos juegan un papel regulador de la senescencia foliar

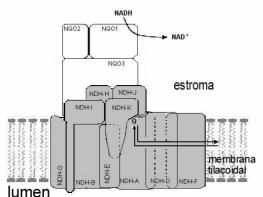




wt ∆ndhF

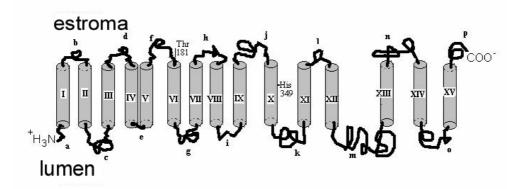
semejante al de mitocondrias en otros casos de muerte celular programada y transgénicas defectivas en el complejo Ndh muestran un retraso considerable en la senescencia foliar como es el caso de tabaco defectivo en el gen *ndhF*.

Dos grandes dificultades en la investigación del complejo Ndh derivan de su poca abundancia (un Ndh por cada 100 a 200 de cada fotosistema) y su poca estabilidad en las fracciones purificadas. Al igual que el complejo I de la cadena respiratoria, el complejo Ndh parece tener una forma en L con una brazo hidrofóbico embebido en la membrana y un brazo hidrofílico. En cloroplastos el brazo hidrofílico se orienta hacia el estroma y hacia esta zona quedaría la subunidad NQO1 a la que se une el NADH. En base a diversos experimentos y la probable analogía con el complejo I respiratorio, una razonable orientación del complejo Ndh en tilacoides se muestra en la figura siguiente.



No están todavía identificados los genes nucleares que probablemente codifican a las subunidades NQO1, NQO2 y NQO3 (en blanco en la figura). Si están identificados los genes del DNA de cloroplastos que codifican a las otras 11 subunidades (en gris en la figura): NDH-A a NDH-K.

La subunidad NDH-F probablemente tiene 15 brazos transmembrana, una treonina-181 altamente conservada y fosforilable y una histidina-349 también altamente conservada y que formaría parte de un canal de protones como muestra la figura siguiente sobre la topología de esta subunidad en la membrana.



La fosforilación de NDH-F determina un más alta actividad catalítica del complejo Ndh. Destaca también en NDH-F la larga región (**m**) hidrofílica orientada hacia el lumen.

Además de buscar las proteínas NQO y los y genes que las codifican, continuamos investigando otros detalles estructurales del complejo Ndh como: la topología transmembrana de otras subunidades hidrofóbicas y las interacciones concretas entre las diversas subunidades. Ante las dificultades, también con el complejo I, de estudios por rayos X, investigaciones convencionales sobre orientación e interacción de proteínas, aproximaciones proteómicas y análisis por mutagénesis puntual nos permiten avanzar en este campo. De particular relevancia funcional, es la investigación la fosforilación y de la posible funcionalidad del canal de protones, para lo que mutantes puntuales en los que se cambian aminoácidos potencialmente críticos pueden proporcionar valiosa información.

La obtención de plantas transgénicas con senescencia foliar retrasada por modificación de componentes del complejo Ndh abre también un campo prometedor en la biotecnología de la post-cosecha vegetal y la productividad vegetal.