

Panu Profesorowi Lechowi Wojtczakowi dedykują

MAŁGORZATA JEMIOŁA-RZEMIŃSKA, KAZIMIERZ STRZAŁKA, JERZY KRUK Zakład Fizjologii i Biochemii Roślin, Instytut Biologii Molekularnej, Uniwersytet Jagielloński Al. Mickiewicza 3, 31-120 Kraków

## ODDZIAŁYWANIE PRENYLOCHINONÓW Z LIPIDAMI BŁON MODELOWYCH

Prenylochinony są pochodnymi benzo- lub naftochinonów posiadającymi lipofilowy, izoprenoidowy łańcuch boczny, utworzony przez 1 do 12 reszt izoprenu (LICHTENTHALER 1977). Do prenylochinonów należą między innymi: plastochinon (PQ), ubichinon (UQ),  $\alpha$ -tokoferylochinon ( $\alpha$ -TQ), fyllochinon oraz menachinon (MQ) (rys. 1). Poszczególne rodzaje prenylochinonów, różniące się jedynie długością łańcuch bocznego, określa się mianem homologów.

Plastochinon A odkryty przez Koflera w 1946 roku jest pochodną p-benzochinonu, w którym dwa atomy wodoru są podstawione grupami metylowymi, a trzeci łańcuchem prenylowym, złożonym z 9-ciu reszt izoprenu. Plastochinon jest chinonem typowo roślinnym i występuje u wszystkich zbadanych organizmów prowadzących oksygeniczną fotosyntezę (z wydzieleniem tlenu): sinic, glonów i roślin wyższych; nie został natomiast wykryty u bakterii fotosyntetyzujących (REDFEARN 1965). Związek ten występuje głównie w chloroplastach, przede wszystkim w błonach tylakoidów, gdzie pełni rolę przenośnika elektronów i protonów, w osłonce chloroplastu oraz w osmofilnych plastoglobulach (ARNON i CRANE 1965). Dwie ostatnie pule plastochinonu są nieaktywne fotosyntetycznie. Zawartość PQ w roślinach zmienia się w szerokim zakresie od 7 (u sinicy Anabaena variabilis) do 40 (u sinicy Anacystis nidulans) cząsteczek PQ na jedno centrum reakcji fotosystemu I (P700) (HAUSKA i HURT 1982, REDFEARN 1965). Stwierdzono, że w chloroplastach plastochinon występuje w stanie równowagi ze swoją formą zredukowaną – plastohydrochinonem PQH<sub>2</sub>, a ustalenie się tej równowagi zależy od stopnia oświetlenia chloroplastów. Obecnie przyjmuje się, że PQ pełni w

łańcuchu transporu elektronów funkcje przenośnika jedno- i dwuelektronowego oraz przenośnika protonów (CRAMER i współaut. 1991).

Niezależnie od PQ9 wyizolowano z materiału roślinnego również PQ z krótszymi bocznymi łańcuchami zawierającymi 3, 4, lub 8 reszt izoprenu (REDFEARN 1965). W chloroplastach zwłaszcza roślin starszych znaleźć można także PQ grupy C z jedną grupą OH w prenylowym łańcuchu bocznym oraz PQ grupy B, które są estrami kwasu tłuszczowego i plastochinonu C (LIU i współaut. 1991).

Ubichinon, zwany także koenzymem Q (CoQ), wykryty w 1920 przez Greena i Mortona jest 2,3-dwumetoksy-5-metylo-6-poliprenylobenzochinonem z bocznym łańcuchem zawierającym od 1 do 10 jednostek izoprenu (RAMASAR-MA 1985). Związek ten jest szeroko rozpowszechniony w królestwie zwierząt, roślin i bakterii (CRANE 1965). W materiale roślinnym wykryto homologi UQ6 do UQ10 i wyjątkowo UQ11. Oprócz UQ9 i UQ10 jako głównych składników, rośliny wytwarzają jeden lub więcej dodatkowych ubichinonów w mniejszych ilościach. Zawartość UQ w komórkach jest zmienna w zależności od typu tkanki i warunków rozwoju. Całkowita zawartość UQ w mitochondriach roślin wynosi od 1,4 do 5 nmol/mg białek mitochondrialnych i jest porównywalna z koncentracją tego związku w mitochondriach zwierzęcych. Z mikroorganizmów izolowano również krótsze homologi UQ, to jest zawierające mniej niż 5 reszt izoprenowych, a u niektórych gatunków wykazano istnienie całego "spektrum" ubichinonów (UQ1 do UQ10). Dane na temat dystrybucji różnych homologów UQ wraz z ich zawartością znaleźć można w pracy CRANE (1965). UQ odgrywają istotną rolę w oddycha-

Praca finansowana przez Komitet Badań Naukowych. Numer projektu badawczego 6PO4A 009 10.







Ubichinon



α-Tokoferylochinon







Rys. 1. Wzory strukturalne prenylochinonów.

niu mitochondrialnym, w metabolizmie bakterii gram ujemnych oraz w fotosyntezie bakterii purpurowych. Sugeruje się także ich udział w oddychaniu sinic (GREEN i BRIERLEY 1965).

α-Tokoferylochinon różni się od PQ9 dodatkową grupą metylową w pierścieniu chinonowym, krótszym łańcuchem bocznym, złożonym z czterech jednostek izoprenu, który jest całkowicie nasycony oraz dodatkową grupą OH przy trzecim węglu pierwszej reszty izoprenowej. Podobnie jak plastochinon, α-TQ jest związany z aparatem fotosyntetycznym (KRUK i STRZAŁKA 1994). Wykryto go u wszystkich przebadanych gatunków roślin. Lokalizuje się wyłącznie w chloroplastach i to głównie w błonach tylakoidów (GREEN i McHALE 1965). Oprócz α-TQ w tkankach fotosyntetyzujących zidentyfikowano również inne rodzaje tokoferylochinonów: β-, δ-, γ-, które różnią się liczbą i rozmieszczeniem grup metylowych w pierścieniu chinonowym i występują w znacznie mniejszych ilościach (LI-CHTENTHALER 1977). α-TQ, podobnie jak PQ, występuje w równowadze ze swoją formą zredukowaną oraz cykliczną formą chromanolową α-tokoferolem. Rola tokoferylochinonów nie została zadowalająco wyjaśniona, przypuszcza się jednak, że mogą uczestniczyć w fotosyntetycznym transporcie elektronów (KRUK i STRZAŁKA 1994).

Do chinonów prenylowych należą także związki zaliczane do grupy witamin K, które są pochodnymi prenylowymi dwumetylo-1,4-naftochinonu (HEMMING i PENNOCK 1965). Jednym z nich jest fyllochinon, czyli witamina K<sub>1</sub>, która bierze udział w transporcie elektronów po stronie akceptorowej fotosystemu I (GOODWIN 1977).

Z kolei menachinon, czyli witamina K<sub>2</sub>, występuje u bakterii fotosyntetyzujących, u których jest włączony w system oddechowy i fotosyntetyczny transport elektronów. Liczba jednostek izoprenu w łańcuchu bocznym MQ zmienia się od 6 do 10. MQ występują także w organizmach zwierzęcych, na przykład w plazmie ludzkiej zidentyfikowano homologi zawierające od 4 do 8 reszt izoprenowych (BARR i współaut. 1967).

Prenylochinony, a wśród nich te najbardziej rozpowszechnione, na których głównie skoncentrowano się w niniejszym artykule, to jest UQ i PQ, są ważnymi składnikami błon mitochondriów i chloroplastów. Oprócz zasadniczej roli, jaką odgrywają w procesie przekazu elektronów i protonów w oddechowym (UQ) (GRE-EN i BRIERLEY 1965, LENAZ i współaut. 1985) i fotosyntetycznym (PQ) (ARNON i CRANE 1965, TREBST 1985, VELTHUYS 1982, RICH i MOSS 1987) łańcuchu transportu elektronów, związki te pełnią kilka dodatkowych funkcji. Stwierdzono, że wzbogacenie komponenty lipidowej błon o prenylochinony wywołuje zmiany płynności błon zarówno biologicznych, jak i modelowych (SCHNEIDER i współaut. 1985, JEMIOŁA-RZEMIŃ-SKA i współaut. 1996, SKOWRONEK i współaut. 1996). Zmiany te są wynikiem interakcji związków chinonowych z łańcuchami kwasów tłuszczowych dwuwarstw lipidowych (LENAZ i współaut. 1982). W ten sposób chinony stanowiąc kluczowe ogniwo łańcucha transportu elektronów wpływałyby jednocześnie na warunki jego funkcjonowania.

W ostatnim czasie wiele uwagi poświęca się również antyutleniającym własnościom chinonów (Ozawa 1985). Badania modelowe na liposomach wykazały, że ubichinon i inne chinony prenylowe w stanie zredukowanym są zdolne do usuwania wolnych rodników równie efektywnie co  $\alpha$ -tokoferol (KRUK i współaut. 1994). W związku z dużą zawartością ubichinonów i plastochinonów w błonach mitochondrialnych i fotosyntetycznych wydaje się, że mogą one odgrywać ważną rolę w tym procesie. Aktywność antyutleniająca zredukowanych chinonów spowodowała ogromne zainteresowanie tymi związkami w aspekcie zastosowań klinicznych (YAMA-MURA 1985).

Dogłębne zrozumienie mechanizmu redukcji i utleniania chinonów w błonach fotosyntetycznych i mitochondrialnych wymaga precyzyjnego określenia fizycznej organizacji i orientacji chinonów w błonie. Ważnych danych dotyczących usytuowania cząsteczek chinonów w dwuwarstwach lipidowych dostarcza badanie wpływu tych związków na fizyczne własności błon modelowych, jakimi są liposomy, a następnie ekstrapolowanie uzyskanych wniosków na układy naturalne. Podstawowym założeniem przyjmowanym w takich badaniach jest to, że chinony ulegają wbudowaniu w dwuwarstwę oraz że monitorowanie zmian fizycznych własności lipidów dostarcza informacji o oddziaływaniach chinon — lipid. Takie podejście było już wcześniej stosowane do określenia lokalizacji cholesterolu, jak również tokoferoli, karotenoidów oraz witaminy A i D (ALBERTS i współaut. 1989). W stosunku do chinonów po raz pierwszy zastosował je Cain, który stwierdził na podstawie pomiarów dyfrakcji promieni X, że zredukowany UQ3 podwyższa regularność struktury badanej dwuwarstwy (CAIN 1972). W kolejnych latach podejmowano liczne próby precyzyjnego zdefiniowania lokalizacji cząsteczek chinonów w błonach modelowych, z wykorzystaniem różnych technik fizykochemicznych, takich jak spektroskopia w ultrafiolecie, magnetyczny rezonans jądrowy (NMR), elektronowy rezonans paramagnetyczny (EPR), skaningowa kalorymetria różnicowa (DSC), dyfrakcja promieni X, dichroizm liniowy i znaczniki fluorescencyjne. Jednak wyniki tych badań nie zaowocowały jak dotychczas jednoznaczną konkluzja (rys. 2).

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań można stwierdzić, że istnieje ogólna zgodność co do usytuowania w błonie krótkołańcuchowych homologów chinonów, to jest posiadających w łańcuchu bocznym mniej niż 5 reszt izoprenowych. Przyjmuje się, że homologi te są zlokalizowane pomiędzy cząsteczkami lipidowej dwuwarstwy równolegle do ich długiej osi (CORNELL i współaut. 1987). Koncepcję tę potwierdzają pomiary polaryzacji fluorescencji perylenu, w których wykazano, że wraz z ros-

nącą zawartością chinonów (badano kolejno UQ1, UQ2, UQ3) obniża się płynność błon (SPIS-NI i współaut. 1981). Podobnych wyników dostarczają pomiary anizotropii fluorescencji innej sondy --- difenyloheksatrienu (DPH) wprowadzonej do liposomów wykonanych z lecytyny dwupalmitynowej (DPL) oraz lecytyny z żółtka jaja (EYL) (JEMIOŁA-RZEMIŃSKA i współaut. 1996). Zaobserwowano również dużą efektywność krótkołańcuchowych chinonów w wygaszaniu fluorescencji pochodnych antryloksowych kwasów tłuszczowych (stearynowego lub palmitynowego) (FATO i współaut. 1986), świadczącą o interakcji chinonów z tymi związkami, a zatem i o lokalizacji chinonów krótkołańcuchowych pomiędzy cząsteczkami lipidowej dwuwarstwy. Wreszcie badania przeprowadzone z użyciem znaczników spinowych (pochodne kwasu stearynowego z grupą nitroksylową przyłączoną do węgla ω3 lub ω14) wykazują porządkujący wpływ UQ3 na dwuwarstwę lipidową (SPISNI i współaut. 1978), co jest kolejnym potwierdzeniem usytuowania chinonów z krótkim łańcuchem bocznym wzdłuż węglowodorowych łańcuchów błony.

Można przypuszczać, że jeśli chinon jest ulokowany pomiędzy cząsteczkami lipidowej dwuwarstwy w błonie, to powinien zakłócać przejścia fazowe fosfolipidu. Badania kalorymetryczne potwierdzają taką hipotezę. Obecność UQ3 w liposomach DPL powoduje poszerzenie i spłaszczenie głównego przejścia fazowego błony fosfolipidowej (KATSIKAS i QUINN 1981) oraz jego przesunięcie w stronę niższych temperatur (Tc obniża się z 41,3°C dla czystego DPL do 36,4°C dla stosunku molowego DPL: UQ3 wynoszącego 15:1). Ponadto już przy stosunku molowym DPL: UQ3 rzędu 300:1 znika przedprzejście (ALONSO i współaut. 1981). Pomiary entalpii głównego przejścia fazowego pokazują natomiast, że dla stosunku molowego DPL:UQ3 zmieniającego się w zakresie od 600:1 do 15:1 większość cząsteczek fosfolipidu (> 92%) bierze



Rys. 2. Schemat lokalizacji ubichinonów o różnej długości łańcucha bocznego wewnątrz dwuwarstwy lipidowej: a— UQ0, b— ubichinony krótkołańcuchowe, c — ubichinony długołańcuchowe, d — UQ10 (według: LENAZ i współaut. 1991).

udział w przejściu stanu ciekłokrystalicznego w żel. Co więcej, tworzenie fazy żelu zostało potwierdzone w badaniach dyfrakcji promieni X obecnościa pojedynczego ostrego odbicia przy 0,42 nm, które generalnie jest przypisywane heksagonalnie upakowanym węglowodorowym łańcuchom fosfolipidów (KATSIKAS i QUINN 1982). Wyniki te są zgodne z modelem, w którym chinony ulegają fazowej separacji od cząsteczek fosfolipidu przechodzących w stan żelu po ochłodzeniu poniżej temperatury głównego przejścia fazowego. Należy zwrócić uwagę na fakt, że fazowa separacja UQ w centrum dwuwarstwy DPL w stanie żelu implikuje możliwość przekazu elektronów i protonów w poprzek błony jedynie wówczas, gdy jest ona w stanie ciekłokrystalicznym.

Lokalizacja długołańcuchowych homologów chinonów, w tym pełniącego ważne funkcje biologiczne UQ10, pomimo rozległych i systematycznych badań prowadzonych w wielu ośrodkach na całym świecie jest wciąż jeszcze przedmiotem kontrowersji. Z racji rozmiarów cząsteczki UQ10 (ma ona długość 56Å) przewyższających grubość lipidowej dwuwarstwy, można z całą pewnością wykluczyć taką orientację, że cząsteczka ta jest maksymalnie rozciągnięta i ustawiona prostopadle do powierzchni błony (FATO i współaut. 1986).

Opracowano kilka modeli możliwego ułożenia UQ10 wewnątrz dwuwarstwy. Jedna z koncepcji sugeruje, że UQ10 występuje w postaci agregatów lub klastrów utworzonych przez kilkanaście cząsteczek UQ i posiadających kształt zbliżony do elipsoidalnego. Podkreśla się, że takie formy musiałyby być dostatecznie duże i zorientowane w taki sposób, aby mieć dostęp do obu powierzchni błony. Przekaz elektronów zachodziłby w wyniku przeskoków z jednego podstawnika w pierścieniu benzochinonowym na drugi (FUTAMI i współaut. 1979). Agregaty ubichinonu posiadając średnicę zbliżoną do grubości dwuwarstwy, powinny oddziaływać z mniejszą ilością lipidów, dzięki czemu możliwa byłaby ich izotropowa rotacja we wnętrzu błony, zaś w dwuwarstwach w stanie ciekłokrystalicznym powinna mieć miejsce ich wysoka dyfuzja boczna. Dowodów na występowanie zagregowanych form UQ dostarczają badania NMR (KINGSLEY i FEIGENSON 1981), w których stwierdzono dla UQ9 i UQ10, wbudowanych w liposomy, dwa sygnały przypisywane protonom z grup metoksylowych pierścienia benzochinonowego. Jeden z tych sygnałów rósł wraz ze wzrostem stosunku UQ do lipidu (dolna granica wykrywalności 1 mol%). Autorzy sugerują, że pochodzi on właśnie od form zagregowanych UQ10. Podobnie Castresana wykorzystując spektro-

skopię w podczerwieni stwierdził, że UQ10 po wbudowaniu w dwuwarstwy lipidowe lokalizuje się w obszarze odległym od interfazy lipid -woda i w zakresie temperatur 4–70°C występuje w izotropowej ciekłej fazie w postaci małych agregatów (CASTRESANA i współaut. 1992). Badania DSC (KATSIKAS i QUINN 1981, 1982) wskazują natomiast, że UQ10 lokalizuje się między monowarstwami w postaci cienkiego filmu i posiada wysoką izotropową ruchliwość, nie skrępowaną przez uporządkowane łańcuchy lipidów błony. Koncentracje chinonu 5-50 mol%, przy których pojawiają się fazy bogate w UQ, są jednak wyższe niż naturalna zawartość UQ w błonie mitochondrialnej wynosząca 1-2 mol%. Występowanie wyodrębnionych faz bogatych w chinon w błonach biologicznych wydaje się więc mało prawdopodobne, a to z kilku powodów:1) stosunek chinonu do lipidu w błonach biologicznych odpowiada zaledwie dolnej granicy stężeń, przy których następuje agregacja, 2) nie zaobserwowano charakterystycznego dla zagregowanych form chinonów efektu hipochromowego w widmach UV liposomów, dla stosunków UQ do lipidu w zakresie od 1–5 mol% (HAUSKA i HURT 1982), 3) obecność nienasyconych łańcuchów bocznych powinna zwiększać rozpuszczalność izoprenoidów, 4) występowanie białek w błonach naturalnych może mieć dodatkowe działanie rozpraszające lub nawet powodować specyficzne wiazanie UQ.

W fizjologicznych stężeniach UQ10 występuje więc najprawdopodobniej w formie monomerycznej (FATO i współaut. 1986). Akceptując taką koncepcję dość zgodnie przyjmuje się również, że hydrofobowy łańcuch cząsteczki UQ10 znajduje się w środowisku niepolarnym, dalekim od interfazy lipid — woda, a więc w najbardziej płynnym, centralnym obszarze błony (rys. 3), czego potwierdzenie znaleźć można śledząc wyniki badań anizotropii fluorescencji DPH (JE-MIOŁA-RZEMIŃSKA i współaut. 1996) oraz wygaszania sond fluorescencyjnych przez UQ10 (KA-TSIKAS i QUINN 1983).

Nie osiągnięto natomiast zgodności w sprawie lokalizacji pierścienia benzochinonowego. Chinonowa grupa głowowa może być umiesz-



Rys. 3. Schemat lokalizacji UQ10 w dwuwarstwie fosfolipidowej a — w stanie żelu. b — w stanie ciekłokrystalicznym (według: KATSIKAS i QUINN 1981).

czona w hydrofobowym wnętrzu dwuwarstwy lub też sąsiadować z polarnymi głowami fosfolipidu (SAMORI i współaut. 1992). Potwierdzeniem tej ostatniej opinii są eksperymenty, w których wykazano redukcje żelazicjanku zamkniętego wewnątrz liposomów zawierających UQ przez zewnętrznie dodany ditionian (ULRICH i współaut. 1985). Wykazano ponadto, że benzochinon z długim łańcuchem bocznym jest bardziej wydajny jako przenośnik elektronów i protonów niż UQ1 (HAUSKA 1977). Również wyniki <sup>13</sup>CNMR przedstawione przez Stidhama i współpracowników 1984, które pokazują znaczny wpływ chinonów, między innymi UQ10 na czas relaksacji spinowo-sieciowej atomów węgla zlokalizowanych w łańcuchu węglowodorowym blisko rejonu głów polarnych i prawie brak wpływu na węgle położone blisko środka błony, wydają się popierać koncepcję lokalizacji głów chinonowych w bliskim sąsiedztwie interfazy lipid — woda.

Z kolei model Lenaza (rys. 4) zakłada, że większość cząsteczek UQ jest zlokalizowana w obszarze środkowym błony. Według tej koncepcji UQ10 ma możliwość dyfuzji lateralnej w dwuwarstwie w dwóch wymiarach, natomiast chinonowy pierścień oscyluje między dwoma połówkami dwuwarstwy (nie wychodząc jednak poza glicerolowy obszar błony), w wyniku czego następuje przenoszenie elektronów i protonów (LENAZ i współaut. 1991, LENAZ 1988). Istotnie KINGSLEY i FEIGENSON (1981) na podstawie badań <sup>1</sup>H NMR stwierdzają, że UQ10 w błonach fosfatydylocholinowych podlega znacznemu lokalnemu ruchowi, a benzochinonowy pierścień z łatwością przemieszcza się z jednej połówki błony na drugą. Transmembranowe szybkości dla UQ mierzone NMR wynoszą 20-30 obrotów s<sup>-1</sup> (HAUSKA i HURT 1982) w zależności od homologu. Pomiary dichroizmu liniowego (SAMORI i współaut. 1992) wykazały natomiast wielopozy-



Rys. 4. Model ruchu transmembranowego UQ10 w błonie, proponowany przez Lenaza (według: LENAZ 1988).

cyjną dystrybucję chinonów, co dobrze odpowiada modelowi oscylujących pierścieni. Oznacza to, że chinon jest wysoce mobilny zarówno transwersalnie, jak i lateralnie w ciekłym obszarze dwuwarstwy fosfolipidowej.

Należy jednak zwrócić uwagę na fakt, że tak rozległa penetracja cząsteczek długołańcuchowych homologów chinonu pomiędzy cząsteczki fosfolipidów powinna manifestować się zaburzeniem struktury błony, podobnie jak to ma miejsce w przypadku homologów krótkołańcuchowych. Pomiary kalorymetryczne świadczą jednak o niewielkim wpływie długołańcuchowych chinonów na główne przejście fazowe (ALONSO i współaut. 1981, ARANDA i GÓMEZ-FER-NANDEZ 1985, KATSIKAS i QUINN 1981). Również badania dostępności utlenionego UQ w liposomach zbudowanych z DPL i lecytyny dwumirystynowej dla borowodorku sodu przeprowadzone z wykorzystaniem spektroskopii w ultrafiolecie (ULRICH i współaut. 1985) zaprzeczaja występowaniu szybkiego ruchu typu flip-flop i sugerują, że duża frakcja UQ10 znajduje się raczej w mobilnej puli blisko centrum błony.

Dyskutując zagadnienia dotyczące wpływu chinonów na dynamikę molekularną błon biologicznych najwięcej uwagi należałoby poświecić rzeczywistym przenośnikom wodoru w chloroplastach i mitochondriach, a mianowicie formom zredukowanych chinonów — chinolom; (odpowiednio plastochinole i ubichinole), które powstają przez przyłączenie dwóch atomów wodoru do odpowiednich podstawników pierścienia benzochinonowego. Niestety, być może dlatego, że sa to zwiazki bardzo niestabilne (łatwo ulegają utlenianiu) i stąd trudne do badania, ich lokalizacja i orientacja w błonie nie została dotychczas jednoznacznie określona. Pewnych informacji o względnej polarności i ewentualnych różnicach w lokalizacji PQ9 i PQH2-9 dostarczają pomiary rozpuszczalności tych związków w heksanie, który dobrze odzwierciedla polarność hydrofobowej warstwy błony i w acetonie, będącym odpowiednikiem jej polarnego rejonu. Dane te (KRUK 1988) sugeruja, że PQ9 w błonie może być równomiernie rozmieszczony zarówno w hydrofobowym rdzeniu, jak i bliżej powierzchni błony, natomiast PQH2-9 lokalizuje się głównie w warstwie przypowierzchniowej. Wykazano ponadto, że zawartość PQH<sub>2</sub>-9 w warstwie polarnej liposomów utworzonych z EYL i DPL rośnie wraz ze zmniejszającą się zawartością chinolu (KRUK i STRZAŁKA 1993), które to wyniki są zgodne z danymi uzyskanymi w badaniach na monowarstwach (KRUK i współaut. 1992).

Zredukowana oraz utleniona forma PQ9 w różnym stopniu wpływają na uporządkowanie

łańcuchów węglowodorowych w dwuwarstwie, mierzone poprzez zmiany anizotropii fluorescencji sond DPH, znacznika lokalizującego się w warstwie hydrofobowej błony, oraz trójmetylo-amono-difenyloheksatrienu (TMA-DPH) usytuowanego bliżej interfazy lipid --- woda. Wraz ze wzrostem zawartości PQ9 w liposomach EYL i DPL od 1 do 10 mol% obserwowano wzrost uporzadkowania łańcuchów lipidowych w obszarze monitorowanym przez DPH, jak również choć w nieco mniejszym stopniu w rejonie lokalizacji TMA-DPH. Natomiast wpływ PQH<sub>2</sub>-9 na anizotropię fluorescencji obu tych sond był wyraźnie mniejszy. Efekt ten jest o tyle zagadkowy, że PQH2-9, który dla tego samego stężenia wyjściowego w błonie co PQ9 powinien występować w większości w fazie polarnej (rejon TMA-DPH), a zatem powinien wywierać większy wpływ na uporządkowanie dwuwarstwy lipidowej. Jeszcze większe różnice w zaburzeniu uporządkowania węglowodorowych łańcuchów przez utlenione i zredukowane formy chinonów zauważyć można w przypadku homologów UQ szczególnie z krótkim łańcuchem bocznym (SKOWRONEK i współaut. 1996).

Teze, że chinony wywierają odmienny efekt na płynność dwuwarstwy lipidowej w zależności od tego czy występują w formie utlenionej czy zredukowanej, potwierdzają badania z zastosowaniem znaczników spinowych (SPISNI i współaut. 1978). Jedną z możliwych przyczyn zaobserwowanych różnic jest zwiększona polarność form zredukowanych. Prawdopodobnym jest, że UQH2-3, którego cząsteczka ma długość odpowiadającą długości cząsteczki fosfolipidu, ulega wstawieniu pomiędzy acylowe łańcuchy kwasów tłuszczowych, a oddziaływania z nimi mogą być dodatkowo wzmocnione przez wiązania wodorowe między pierścieniem hydrochinonowym, a polarnymi głowami lipidów (CAIN i współaut. 1972). W przypadku UQH2-9 taka lokalizacja byłaby jednak niemożliwa z powodu zbyt dużych rozmiarów cząsteczki.

Badania porównawcze interakcji UQ10 i UQH<sub>2</sub>-10 z lipidami w liposomach utworzonych z DPL, wykonane metodą spektroskopii w podczerwieni z transformatą Fouriera (ARANDA i współaut. 1986) wykazały natomiast, że przy tych samych koncentracjach UQH<sub>2</sub>-10 wykazuje znacznie większy wpływ na przejście fazowe DPL poszerzając je i obniżając T<sub>c</sub> o kilka stopni. Autorzy wnioskują, że badane związki posiadają odmienną lokalizację w błonie. UQH<sub>2</sub>-10 mógłby oddziaływać z polarnymi grupami lipidów tworząc wiązania wodorowe. Nie znaleziono jednak dowodów na takie oddziaływania, jako że pasma absorpcyjne grup fosforanowych nie ulegają zmianie w wyniku obe-

cności UQH2-10, a zaburzenie pasma związanego z C = O nie są wystarczająco duże, aby upoważniać do takiego wniosku. Wydaje się jednak, że cząsteczki UQH2-10 mogą lokalizować się w rejonie zbliżonym do głów polarnych wpływając na ich uporządkowanie. Świadczy o tym wpływ UQH2-10 na zmianę profili kalorymetrycznych zarówno głównego przejścia fazowego, jak i przedprzejścia, które to zmiany są znacznie wyraźniejsze w przypadku liposomów z lecytyny dwustearynowej niż z DPL (ARANDA i GÓMEZ-FERNANDEZ 1985). Należy stąd wnioskować, że w odróżnieniu od UQ10, cząsteczki UQH2-10 oddzielone od rejonu głów polarnych lipidu nie znajdują się w centrum dwuwarstwy, lecz oddziaływują z glicerolowym rdzeniem fosfolipidów, co jest możliwe dzięki własnościom polarnym, jakie posiadają. Taki pogląd potwierdzają też badania NMR (KINGSLEY i FEIGENSON 1981) wykonane na błonach w stanie ciekłokrystalicznym, z których wynika, że pierścień chinolowy znajduje się bliżej powierzchni błony niż jego forma utleniona.

O odmiennej lokalizacji UQ i UQH<sub>2</sub>-10 wydają się również świadczyć pomiary relaksacji spinowo-sieciowej dla kąta magicznego w spetroskopii <sup>13</sup>C NMR (SALGADO i współaut. 1993). Autorzy tej pracy zwracają uwagę, że zmieniona równowaga pomiędzy hydrofilowością a lipofilowością może mieć znaczenie fizjologiczne, jako że może pozwalać na ruch typu flip-flop UQ10 i UQH<sub>2</sub>-10, umożliwiając tym samym przeniesienie elektronów i protonów w poprzek błony.

Pomiary współczynnika podziału (RICH i HARPER 1990) pochodnych ubi(hydro)chinonu pokazują, że obecność grup metoksylowych w tych cząsteczkach sprawia, że współczynniki podziału formy utlenionej i zredukowanej w rozpuszczalnikach zbliżonych w swoich właściwościach do wnętrza błony mitochondrialnej są zbliżone. Natomiast w przypadku pochodnych plasto(hydro)chinonu współczynniki podziału dla PQ9 i PQH<sub>2</sub>-9 znacznie się różnią, z czego należy wnioskować, że grupy głowowe PQ wykazują tendencję do zajmowania różnych mikrośrodowisk w błonie, gdy są w formie utlenionej oraz zredukowanej. Takie zachowanie najwyraźniej odzwierciedla różnice we własnościach fizycznych między UQ i PQ, na temat których niewiele dotychczas było wiadomo.

Powstaje jednak pytanie, w jaki sposób zredukowane chinony, a więc rzeczywiste przenośniki elektronów i protonów, wykazujące tendencję do umiejscawiania się w warstwach bliższych powierzchni błony, pokonują hydrofobową barierę wnętrza błony, aby przedyfundować na stronę przeciwną, gdzie ulegają *in vivo* reoksydacji. Czynnikiem ułatwiającym pokonanie

tej bariery mogłoby być oddziaływanie chinolu z cząsteczką chinonu zwiększające rozpuszczalność chinoli w warstwie hydrofobowej i poprzez to ułatwiające ich dyfuzję. Podłożem powyższych zmian rozpuszczalności może być częściowe osłonięcie grup OH w cząsteczce chinolu (rys. 5), co ma miejsce podczas tworzenia kompleksów typu "charge-transfer" (z przeniesieniem ładunku) pomiędzy tymi dwoma związkami (KRUK i współaut. 1992). Możliwość tworzenia takich kompleksów przez utlenione i zredukowane formy chinonów wykazano w różnych rozpuszczalnikach organicznych (KRUK 1988), nienasyconych kwasach tłuszczowych (KRUK i STRZAŁKA 1994) i odwodnionej lecytynie dipalmitynowej (KRUK i STRZAŁKA 1991), a więc układach, które mogą w pewnym stopniu symulować układy naturalne.

Faktem powszechnie akceptowanym jest kluczowa rola ubichinonów i plastochinonów w mitochondrialnym i fotosyntetycznym transporcie elektronów. Związki te, aby wydajnie przenosić elektony pomiędzy oddzielonymi przestrzennie kompleksami białkowymi w obrębie błony (odległość między fotosystemami I i II może być rzędu 300 nm) (MITCHELL i współaut. 1990), powinny charakteryzować się znaczną ruchliwością lateralną i transwersalną (SCHNEI-DER i współaut. 1982).

Dane na temat dyfuzji lateralnej chinonów w błonach naturalnych i modelowych są otrzymywane głównie dwoma technikami 1) odzysk fluorescencji po fotouszkodzeniu – FRAP (ang. fluorescence recovery after photobleaching), która dostarcza wartości D<sub>L</sub> =  $3 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ (RAJARATHNAM i współaut. 1989), 2) zderzeniowe wygaszanie znaczników fluorescencyjnych (FQ) (ang. fluorescence quenching) przez naturalne homologi UQ. FQ daje wartości  $D_L = 2 \cdot 10^{-7}$  do  $10^{-6}$  cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> (FATO i współaut. 1986). Wartości współczynnika dyfuzji otrzymane na drodze wygaszania fluorescencji przez chinony w liposomach okazują się więc być około dwa rzędy wielkości wyższe niż wartości uzyskane techniką FRAP. Rozbieżność tę można tłumaczyć w następujący sposób: 1) różne techniki pomiaru bocznej dyfuzji są oparte na różnych fizycznych



Rys. 5. Konformacja plastochinhydronu (kompleks typu "charge transfer" PQ-PQH<sub>2</sub>), w której grupy hydroksylowe PQH<sub>2</sub> ulegają częściowemu osłonięciu przez podstawniki pierścienia PQ (według: KRUK 1988). podstawach i mierzą różne zakresy dyfuzji; FRAP pozwala mierzyć dyfuzję długozasięgową (~1µm), podczas gdy FQ daje informację o krótkozasięgowej dyfuzji (≥ 10 Å), 2) różna lokalizacja chinonowych analogów oraz naturalnych chinonów w błonie odpowiada różnej efektywnej lepkości dla dyfuzji translacyjnej. Jak wcześniej wspomniano, generalnie krótkołańcuchowe homologi mają tendencję do lokowania się blisko interfazy lipid – woda, podczas gdy długołańcuchowy UQ10 preferencyjnie zajmuje pozycję blisko centrum dwuwarstwy, gdzie efektywna lepkość błony jest mniejsza niż w rejonie głów polarnych, 3) nieobecność białek w liposomach umożliwia większą swobodną drogę chinonu między zderzeniami.

W przypadku ubichinonów fizjologiczne znaczenie długo- i krótkozasięgowej dyfuzji jest różne zależnie od przyjętego modelu organizacji łańcucha oddechowego (LENAZ 1988). Dla modelu losowego rozkładu kompleksów redoks powinna dominować dyfuzja długozasięgowa, będąca czynnikiem limitującym transport elektronów. W modelu supramolekularnej organizacji łańcucha transportu elektronów ważna jest dyfuzja krótkozasięgowa (odległości przemierzane przez UQ między kompleksami mogą być rzędu 30 nm), nie stanowiąca czynnika ograniczającego szybkość transportu elektronów.

Rajarathnam proponuje natomiast rozważenie trzech różnych wartości współczynnika dyfuzji lateralnej w zależności od formy występowania chinonów: 1)  $10^{-8}$  cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> dla UQ10 znajdującego się w puli lub domenie chinonowej, 2)  $3 \cdot 10^{-9}$  cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> dla UQ10 nie związanego z białkami, 3)  $10^{-10}$  cm<sup>2</sup>s<sup>-1</sup> dla UQ10 związanego z białkami (RAJARATHNAM i współaut. 1989).

Boczna dyfuzja cząsteczki UQ w dwóch wymiarach jest znacznie szybsza niż transmembranowy ruch pierścienia chinonowego, którego częstotliwość waha się w granicach 2030 razy na sekundę w zależności od homologu. Badania NMR wskazują, że długołańcuchowe formy UQ wykazują większą częstotliwość tego ruchu niż homologi krótkołańcuchowe. Oznacza to, że chinon podczas ruchu w poprzek błony przemiata obszar o średnicy 14 + 110 µm, jak obliczono z równania Einsteina-Smoluchowskiego:

$$d^2 = 4 \cdot D_L \cdot t$$

gdzie 'd' oznacza odległość,  $D_L$  — współczynnik dyfuzji lateralnej, t — czas.

Teoretyczny czas wymagany dla osiągnięcia mitochondrialnego kompleksu cytochromów bc1 przez UQ opuszczający kompleks I (oksydoreduktaza NADH-ubichinon) powinien wynosić 3 µs, przy następujących założeniach: średnica monomerycznego kompleksu wynosi 7 nm, średni dystans pomiędzy kompleksami, cytochromy bc<sub>1</sub> — kompleks I równa się 30 nm,  $D_L = 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$ , liczba obrotów enzymów wynosi 100 s<sup>-1</sup> na przekaz elektronu (FATO i współaut. 1986).

Utlenianie plastochinolu przez kompleks cytochromowy bf w tylakoidach jest krokiem limitującym fotosyntetyczny transport elektronów, podobnie jak utlenianie ubichinolu przez kompleks cytochromowy bc1 w mitochondrialnym transporcie elektronów. Pilna uwage zwrócono wobec tego na ruchliwość chinonów w tylakoidach i w układach modelowych, chcac określić czy szybkość utleniania chinolu jest kontrolowana chemicznie czy też dyfuzyjnie (CHAZOTTE i HACKENBROCK 1989). Kontrola chemiczna oznaczałaby, że szybkość utleniania chinolu jest zdeterminowana przez zdolność wiązania chinolu do miejsca utlenienia na kompleksie cytochromowym, podczas gdy kontrola dyfuzyjna implikuje, że szybkość ta jest zależna od częstości spotkań enzym - substrat, a wiązanie chinolu następuje wydajnie przy każdym takim spotkaniu. Na gruncie badań eksperymentalnych okazało się jednak, że w pierwszym rzędzie należy postawić bardziej fundamentalne pytanie o naturę molekularnej mobilności w natywnych błonach. Do niedawna własności transportowe i dynamika reakcji zderzeń w błonach biologicznych były oparte na modelu "płynnej mozaiki", w którym składniki błon swobodnie poruszają się w homogennej dwuwymiarowej przestrzeni. Dyfuzja w tym modelu

odpowiadałaby teoretycznie procesom przypadkowych ruchów (ang. random walk) w dwóch wymiarach, jak proponował Einstein. Jednak stosowalność tego modelu jest ściśle ograniczona do systemów homogennych, kóre mają własności fizyczne zbliżone do rozcieńczonych gazów. Procesy transportu w błonach biologicznych, które są niewatpliwie systemami heterogennymi wymagają więc innego opisu. Obiecujący wydaje się być perkolacyjny model mikrostruktury błon tylakoidów, który dobrze tłumaczy istnienie puli szybko i wolno dyfundujących cząsteczek PQ. Wyjaśnia on również brak równowagi między stanami redukcyjnymi związanego i mobilnego PQ podczas transportu oraz występowanie aktywnych i nieaktywnych centrów reakcji PSII. Autorzy tłumaczą powyższe zjawiska faktem znacznego ograniczenia ruchliwości PQ przez białka błon tylakoidów. W badaniach z wygaszaniem fluorescencji perylenu wykazano, że wartość współczynnika dyfuzji PQ spada dziesięciokrotnie gdy 16%-26% powierzchni błony jest zajmowane przez gramicydynę, natomiast wieksze kompleksy białkowe (cytochromy bf, centra reakcji Rhodobacter sphaeroides, cytochromy bc i oksydaza cytochromowa), których hydrofobowa objętość jest 15-20 razy większa niż cytochromu f i transmembranowego dimeru gramicydyny powodują 15–20-krotne zmniejszenie współczynnika dyfuzji PQ (BLACKWELL i WHITMARSH 1990). Możliwość zastosowania modelu perkolacyjnego do opisu ruchu makrocząsteczek w błonach jest obecnie intensywnie badana.

## INTERACTION OF PRENYLQUINONES WITH LIPIDS OF MODEL MEMBRANES

## Summary

The structure, occurrence and function of natural prenylquinones, especially of plastoquinone and ubiquinone which are components of the chloroplast and mitochondrial electron transport chains, respectively, is described. The localization, orientation, physical state and molecular mobility of prenylquinones in model lipid membranes is discussed including the influence of prenylquinones on the physical structure of the membranes. Special attention is devoted to different physical behaviour of oxidized and reduced forms of prenylquinones in model membranes. The lateral and transverse diffusion of plastoquinone and ubiquinone within the membranes is discussed in the light of their function as long-distance hydrogen shuttle in natural membranes.

## LITERATURA

- ALBERTS B., BRAY D., LEWIS J., RAFF M, ROBERTS K., WATSON J., 1989. Molecular biology of the cell. Garland Publishing, Inc., New York, London.
- ALONSO A., GÓMEZ-FERNANDEZ J. C., ARANDA F. J., BELDA F. J. F. GONI F. M. 1981. On the interaction of ubiquinones with phospholipid bilayers. FEBS Lett. 132, 19–22.
- ARANDA F. J., GÓMEZ-FERNANDEZ J. C., 1985. The interaction of ubiquinone-10 and ubiquinol-10 with phospholipid bilayers. A study using differential scanning calorymetry and turbidity measurements. Biochim. Biophys. Acta 820, 19–26.
- ARANDA F. J., VILLALAIN J., GÓMEZ-FERNANDEZ J. C., 1986. A fourier transform infrared study of the molecular interaction of ubiquinone-10 and ubiquinol-10 with bilayers of dipalmitoylphosphatidylcholine. Biochim. Biophys. Acta 861, 25–32.
- ARNON D. I., CRANE F. L., 1965. Role of quinones in photosynthetic reactions. [W:] Biochemistry of Quinones, MORTON R. A. (red.), Academic Press London, New York, 433– 460.
- BARR R., HENNINGER M. D., CRANE F. L., 1967, *Quinones in algae and higher plants*. Meth. Enzymol. 42, 372–408.

- BLACKWELL M., GIBAS C., GYGAX S., ROMAN D., WAGNER B., 1994. The plastoquinone diffusion coefficient in chloroplast and its mechanistic implications. Biochim. Biophys. Acta 1183, 533–543.
- BLACKWELL M. F., WHITMARSH J., 1990. Effect of integral membrane proteins on the lateral mobility of plastoquinone in phosphatidylcholine proteoliposomes. Biophys. J. 58, 1259–1271.
- CAIN J., SANTILLAN G., BLASIE J. K., 1972. Molecular motion in membranes as indicated by X-ray diffraction. [W:] Membrane Research, Fox C. F. (red.), Academic Press, New York, London, 3–14.
- CASTRESANA J., ALONSO A., ARRONDO J. R., GONI F. M., CASAL H., 1992. The physical state of ubiquinine-10, in pure form and incorporated into phospholipid Bilayers. A Fourier-transform infrared spectroscopic study. Eur. J. Biochem. 204, 1125–1130.
- CHAZOTTE B., HACKENBROCK, 1989. Lateral diffusion as a rate-limiting step in ubiquinone-mediated mitochondrial electron transport. J. Biol. Chem. 264, 4978–4985.
- CORNELL B. A., KENIRY M. A., POST A., ROBERTSON R. N., WEIR L. E., WESTERMAN P. W., 1987. Location and activity of ubiquinone-10 and analogues in model and biological membranes. Biochemistry 26, 7702–7707.
- CRAMER W. A., FURBACHER P. N., SZCZEPANIAK A., TAE G.-S., 1991. Electron transport between photosystem II and photosystem I. Curr. Top. Bioenerg. 16, 179–222.
- CRANE F. L., 1965. Distribution of ubiquinones. MORTON R. A. (red.). Academic Press London and New York, 183–207.
- FATO R., BATTINO M., ESPOSTI M. D., CASTELLI G. P., LENAZ G., 1986. Determination of partition and lateral diffusion coefficient of ubiquinones by fluorescence quenching of n-(9-anthroyloxy)stearic acid in phospholipid vesicles and mitiochondrial membranes. Biochemistry 25, 3378–3390.
- FUTAMI A., HURT E., HAUSKA G., 1979. Vectorial redox reactions of physiological quinones. I. Requirement of a minimum length of the isoprenoid side chain. Biochim. Biophys. Acta 547, 583–596.
- GOODWIN T. W., 1977. The prenyllipids of the membranes of higher plants. [W:] Lipids and Lipid Polymers in Higher Plants, TEVINI M., LICHTENTHALER H. K. (red.,. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 29–45.
- GREEN D. E., BRIERLEY G. P., 1965. The role of coenzyme Q in electron transfer. [W:] Biochemistry of Quinones, MORTON R. A. (red.), Academic Press, London, New York, 405–433.
- GREEN J., MCHALE D., 1965. *Quinones related to vitamin E.* [W:] *Biochemistry of Quinones*, MORTON R. A. (red.), Academic Press, London, New York, 261–288.
- HAUSKA G., 1977. Plasto- and ubiquinone as translocators of electrons and protons through membranes. A Facilitating role of the isoprenoid side chain. FEBS Lett. 79, 345–347.
- HAUSKA G., HURT E., 1982. Pool function behavior and mobility of isoprenoid quinones. [W:] Function of Quinones in Energy Conserving Systems. TRUMPOWER B. L. (red.), Academic Press, New York, 87–111.
- HEMMING F. W., PENNOCK J. F., 1965. Vitamins and ubiquinone status in animals. [W:] Biochemistry of Quinones, MORTON R. A. (red.), Academic Pres, s London, New York, 288–317.
- JEMIOLA-RZEMIŃSKA M., KRUK J., SKOWRONEK M., STRZAŁKA K., 1996. Location of ubiquinone homoloques in liposome membranes studied by fluorescence anisotropy of diphenyl-hexatriene and trimethylammonium-diphenylhexatriene. Chem. Phys. Lipids 79, 55–63.
- KATSIKAS H., QUINN P. J., 1981. The interaction of coenzyme Q with dipalmitoylphosphatidylcholine bilayers. FEBS Lett. 133, 230–234.
- KATSIKAS H., QUINN P. J., 1982. The distribution of ubiquinone-10 in phospholipid bilayers. A study using differen-

tial scanning calorimetry. Eur. J. Biochem. 124, 165–169.

- KATSIKAS H., QUINN P. J., 1982. The polyisoprenoid chain length influences the interaction of ubiquinones with phospholipid bilayers. Biochim. Biophys. Acta 689, 363–369.
- KATSIKAS H., QUINN P. J., 1983. Fluorescence probe studies of the distribution of ubiquinone homologues in bilayers of dipalmitoylglycerophosphocholine. Eur. J. Biochem. 133, 607–612.
- KINGSLEY P. B., FEIGENSON G. W., 1981. <sup>1</sup>H-NMR study of the location and motion of ubiquinones in perdeuterated phosphatidylcholine bilayers. Biochim. Biophys. Acta 635, 602–618.
- KRUK J., 1988. Charge-transfer complexes of plastoquinone and α-tocopherol quinone in vitro. Biophys. Chem. 30, 143–149.
- KRUK J., 1988. Physicochemical properties of charge-transfer complexes of plastoquinone and α-tocopherol quinone, and their possible role in vivo. Biophys. Chem. 32, 51–56.
- KRUK J., SCHMID G. H., STRZAŁKA K., 1994. Antioxidant properties of plastoquinol and other biological prenylquinols in liposome and solution. Free Rad. Res. 21, 409– 416.
- KRUK J., STRZAŁKA K., 1991. Charge-transfer complexes of plastoquinone and α-tocopherol quinone in unsaturated fatty acids and temperature dependences of their absorption spectra. Chem. Phys. Lipids 58, 27–33.
- KRUK J., STRZAŁKA K., 1993. Fluorescence properties of plastoquinol, ubiquinol and α-tocopherol quinol in solution and liposome membranes. J. Photochem. Photobiol. 19, 33–38.
- KRUK J., STRZAŁKA K., 1994. Charge-transfer complexes of plastoquinone and α-tocopherol quinone in phosphatidylcholine and octadecane. Chem. Phys. Lipids 70, 199–204.
- KRUK J., STRZAŁKA K., 1994. Occurence and function of α-tocopherol quinone in plants. J. Plant Physiol. 145, 405–409.
- KRUK J., STRZAŁKA K., LEBLANC R. M., 1992. Fourier transform infrared studies on charge-transfer interactions of plastoquinones and α-tocopherol quinone with their hydroquinone forms and monogalactosyldiacylglycerol. Biophys. Chem. 45, 161–169.
- KRUK J., STRZAŁKA K., LEBLANC R. M., 1992. Monolayer study of plastoquinones, α-tocopherol quinone, their hydroquinone forms and their interaction with monogalactosyldiacylglycerol. Charge-transfer complexes in a mixed monolayer. Biochim. Biophys. Acta 1112, 19–26.
- LENAZ G. 1988. Role of mobility of redox components in the inner mitochondrial membrane. J. Mem. Biol. 104, 193– 209.
- LENAZ G., ESPOSTI M. D., 1985. Physical properties of ubiquinones in model systems and membranes. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 83–107.
- LENAZ G., ESPOSTI M. D., BERTOLLI E., 1982. Studies on the interactions and mobility of ubiquinone in mitochondrial and model membranes. [W:] Function of Quinones in Energy Conserving Systems, TRUMPOWER B. L. (red.), Academic Press, New York, 111–125
- LENAZ G., SAMORI B., FATO R., BATTINO M., CASTELLI G. P., DOMINI I., 1991. Localization and preffered orientation of ubiquinone homologs in model bilayers. Biochem. Cell Biol. 70, 504–514.
- LENAZ G., SANTIS A., BERTOLLI E., 1985. A survey of the function and specificity of ubiquinone in the mitochondrial respiratory chain. [W:] Coenzyme Q. LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 165–201.
- LICHTENTHALER H. K., 1977. Regulation of prenylquinone synthesis in higher plants. [W:] Lipids and Lipid Poly-

- LIU B., HOFF A. J., LI L., ZHOU P., 1991. The relationship between the structure of plastoquinone derivatives and their biological activity in photosystem II of spinach chloroplast. Photosynthesis Res. 30, 95–106.
- MICHAELIS L., MOORE M. J., 1985. Location of ubiquinone-10 (CoQ-10) in phospholipid vesicles. Biochim. Biophys. Acta 821, 121–129.
- MILLNER P. A. and BARBER J., 1984. Plastoquinone as a mobile redox carrier in the photosynthetic membrane. FEBS Lett. 169, 1–6.
- MITCHELL R., SPILMANN A., HAEHNEL W., 1990. Plastoquinol diffusion in linear photosynthetic electron transport. Biophys. J. 58, 1011–1024.
- ONDARROA A., QUINN P. J., 1986. Proton magnetic resonance spectroscopic studies of the interaction of ubiquinone-10 with phospholipid model membranes. Eur. J. Biochem. 155, 353–361.
- OZAWA T., 1985. Formation of oxygen radicals in the electron transfer chain and antioxidant properties of coenzyme Q. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 441–457.
- RAJARATHINAM K., HOCHMAN J., SCHINDLER M., FERGUSON-MIL-LER S., 1989. Synthesis, location and lateral mobility of fluorescently labeled ubiquinone-10 in mitochondrial and artificial membranes. Biochemistry 28, 3168–3176.
- RAMASARMA T., 1985. Natural occurence and distribution of coenzyme Q. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 67–83.
- REDFEARN E. R., 1965. Plastoquinone. [W:] Biochemistry of Quinones, MORTON R. A. (red.), Academic Press London, New York, 149–183.
- RICH P. R., HARPER R., 1990. Partition coefficients of quinones and hydroquinones and their relation to biochemical reactivity. FEBS Lett. 269, 139–144.
- RICH P. R., Moss D. A., 1987. The reaction of quinones in higher plant photosynthesis. [W:] The Light Reactions, BARBER J. (red.), Elsevier Science Publishers B.V. 421– 445.
- SALGADO J., VILLALAIN J., GÓMEZ-FERNANDEZ J. C., 1993. Magic angle spinning <sup>13</sup>C-NMR spin-lattice relaxation study of the location and effect of α-tocopherol, ubiquinone-10 and ubiquinol-10 in unsonicated model membranes. Eur. Biophys. J. 22, 151–155.

- SAMORI B., LENAZ G., BATTINO M., MARCONI G., DOMINI I., 1992. On coenzyme Q orientation in membranes: A linear dichroism study of ubiquinones in a model bilayer. J. Mem. Biol. 128, 193-203.
- SCHNEIDER H., LEMASTERS J. L., HACKENBROCK C. R., 1982. Lateral diffusion of ubiquinone in mitochondrial electron transfer. [W:] Function of Quinones in Energy Conserving Systems, TRUMPOWER B. L. (red.), Academic Press, New York, 125–141.
- SCHNEIDER H., LEMASTERS J. L., HACKENBROCK C. R., 1985. Membrane fluidity and mobility of ubiquinone. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 201–215.
- SKOWRONEK M., JEMIOLA-RZEMIŃSKA M., KRUK J., STRZAŁKA K., 1996. Influence of the redox state of ubiquinones and plastoquinones on the order of lipid bilayers studied by fluorescence anisotropy of diphenylhexatriene and trimethylammonium diphenylhexatriene. Biochim. Biophys. Acta 1280, 115–119.
- SPISNI A., MASOTTI L., LENAZ G., BERTOLLI E., PEDULLI G. F., ZANNONIC., 1978. Interactions between ubiquinones and phospholipid bilayers. A Spin-Label Study. Arch. Biochem. Biophys. 190, 454–458.
- SPISNI A., SATOR G., LENAZ G., MASOTTI L., 1981. Effect of CoQ Homologues on the fluidity of phospholipid bilayers as studied by fluorescence polarization of perylene. Mem. Biochem. 4, 149–157.
- STIDHAM M. A., MCITOSH T. J., SIEDOW J. N., 1984. On the localization of ubiquinone in phosphatidylcholine bilayers. Biochim. Biophys. Acta 767, 423–431.
- TREBST A. 1985. Plastoquinone in photosynthetic electron flow in chloroplasts. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 257–285.
- ULRICH E. L., GIRVIN M. E., CRAMER W. A., MARKLEY J. L., 1985. Location and mobility of ubiquinones of different chain lengths in artificial membrane vesicles. Biochemistry 24, 2501–2508.
- VELTHUYS B. R., 1982. The function of plastoquinone in electron transfer. {W:] Function of Quinones in Energy Conserving Systems, TRUMPOWER B. L. (red.), Academic Press, New York, 401–409.
- YAMAMURA Y., 1985. A survey of the therapeutic uses of coenzyme Q. [W:] Coenzyme Q, LENAZ G. (red.), John Wiley and Sons, New York, 479–507.