



Нативная организация альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB в митохондриях этиолированных проростков гороха

И.В. Уколова✉, М.А. Кондакова, Г.Б. Боровский

Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН, Иркутск, Российская Федерация

Аннотация. Многочисленные биохимические и структурные исследования нативной организации системы окислительного фосфорилирования в митохондриях различных эукариотических организмов убедительно показали, что дыхательные комплексы могут ассоциировать друг с другом с образованием структур более высокого порядка, называемых суперкомплексами. Растительные митохондрии отличаются более сложной организацией дыхательной цепи в связи с присутствием целого ряда альтернативных оксидоредуктаз. Считается, что эти ферменты физически не взаимодействуют с ферментами цитохромного пути. Однако имеющиеся литературные данные, полученные на митохондриях дрожжей, указывают на возможность такой ассоциации. В связи с этим целью исследования явилось изучение нативной организации альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB в растительных митохондриях. В работе использовали 6-суточные этиолированные проростки гороха. При помощи комбинированного использования методов 2D BN/SDS-PAGE и иммунохимии обнаружено, что в органеллах гороха основная часть популяций альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB входит в состав надструктур с массами 700, 780 и 900 кДа. Дополнительно NDA детектируется в области 1480 и 1600 кДа, а NDB – 1330, 340 и 100–120 кДа. Анализ субъединичных профилей выявленных ассоциаций и колориметрическая детекция АТФ-азной активности в 1D BN-геле позволяют предположить, что мажорная часть популяций NDA и NDB, идентифицированных при помощи имеющихся антител, связана с АТФ-синтазой и находится в виде гетерогенной популяции АТФ-синтасом с предполагаемым составом $NDA_2/NDB_2Va/b_{1-2}$. Остальная часть ферментов, по-видимому, входит в состав суперкомплексов NDA_2/NDB_2III_2IV и $NDA_2IV_1Va_2$. Физиологическое значение ассоциации альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ с АТФ-синтазой требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: митохондрии, система окислительного фосфорилирования, альтернативные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы, *Pisum sativum*, суперкомплексы

Благодарности. В работе использовано оборудование Центра коллективного пользования «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Минобрнауки России для Федерального государственного бюджетного учреждения науки Сибирского института физиологии и биохимии растений Сибирского отделения Российской академии наук (рег. № НИОКТР – 122041100049-0).

Для цитирования: Уколова И.В., Кондакова М.А., Боровский Г.Б. Нативная организация альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB в митохондриях этиолированных проростков гороха // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14. N 3. С. 429–435. DOI: 10.21285/achb.926. EDN: OLEORE.

Native organization of alternative NAD(P)H-dehydrogenases NDA and NDB in mitochondria of etiolated pea sprouts

Irina V. Ukolova✉, Marina A. Kondakova, Gennadii B. Borovskii

Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk, Russian Federation

Abstract. Numerous biochemical and structural studies into the native organization of oxidative phosphorylation in the mitochondria of various eukaryotic organisms have convincingly shown that respiratory complexes can associate with one another to form higher-order structures referred to as supercomplexes. Plant mitochondria are distinguished by a more complicated organization of the respiratory chain due to the presence of a number of alternative oxidoreductases. It is considered that these enzymes do not physically interact with those of the cytochrome pathway. However, the available literature data obtained on yeast mitochondria suggests the possibility of such an association. In this regard, we aimed to study the native organization of alternative NAD(P)H-dehydrogenases NDA and NDB in plant mitochondria. The work was performed on six-day etiolated pea seedlings. The 2D BN/SDS-PAGE in combination with immunochemistry found that, in pea organelles, the main part of the populations of NDA and NDB alternative NAD(P)H dehydrogenases were included in superstructures with masses of 700, 780, and 900 kDa. Additionally, NDA was detected in the region of 1480 and 1600 kDa, and NDB was registered at values of 1330, 340, and 100–120 kDa. An analysis of subunit profiles of the observed associations and a colorimetric detection of ATPase activity in 1D BN-gel suggested that the major part of the NDA and NDB populations identified by the available antibodies was associated with ATP synthase and represented a heterogeneous population of ATP-synthasomes, assumably, with a NDA₂/NDB₂Va/b₁₋₂ composition. The rest of the enzymes were likely to be part of the NDA₂/NDB₂III₂IV and NDA₂IV₁Va₂ supercomplexes. The physiological significance of the association of alternative NAD(P)H dehydrogenases with ATP synthase requires further study.

Keywords: mitochondria, oxidative phosphorylation system, alternative NAD(P)H dehydrogenases, *Pisum sativum*, supercomplexes

Acknowledgements. The equipment of the Center for Collective Use “Bioanalitika” of the Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS was used in the work (Irkutsk).

Funding. Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation supported this study within the framework of the state task for Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (registration number 122041100049-0).

For citation: Ukolova I.V., Kondakova M.A., Borovskii G.B. Native organization of alternative NAD(P)H-dehydrogenases NDA and NDB in mitochondria of etiolated pea sprouts. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2024;14(3):429-435. (In Russian). DOI: 10.21285/achb.926. EDN: OLEORE.

ВВЕДЕНИЕ

Надмолекулярная организация системы окислительного фосфорилирования (системы ОКСФОС) митохондрий активно изучается в различных эукариотических организмах, включая млекопитающих, грибы, растения и ряд протистов. В настоящее время выделены и структурно охарактеризованы основные суперкомплексы ОКСФОС, типичные для большинства изученных таксонов, а именно: дыхательные суперкомплексы I₁III₂, III₂IV₁₋₂, I₁₋₂III₂IV₁₋₂, а также димерная АТФ-синтаза [1–4]. Растительные митохондрии, благодаря присутствию многочисленных альтернативных оксидоредуктаз, отличаются более сложной и разветвленной системой дыхательной цепи по сравнению с органеллами млекопитающих [5]. Так, в митохондриях *Arabidopsis thaliana* обнаружено присутствие семи генов альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ, которые на основании филогенетического анализа объединяются в три подсемейства: NDA1-2, NDB1-4 и NDC1 [6, 7]. Гены NDA1-2 и NDC1 кодируют внутренние НАД(Ф)Н-дегидрогеназы NDA1-2 и NDC1, локализованные

с внутренней стороны митохондриальной мембраны, а NDB1-4 – внешние ферменты NDB1-4, расположенные соответственно с наружной стороны мембраны. Альтернативная оксидаза также представлена набором изоформ, которые кодируются генами АОХ1-2 у двудольных и АОХ1 у однодольных растений [8].

Считается, что альтернативные ферменты не входят в состав суперкомплексов [9]. В то же время в митохондриях дрожжей была обнаружена надмолекулярная структура, включающая, помимо других ферментов, альтернативные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы и комплексы II и III₂ [10], а также были выявлены ассоциации этих альтернативных ферментов с суперкомплексом III₂IV₁₋₂ [11, 12]. Кроме того, на основании данных комплексного профилирования митохондриального протеома из листьев *A. thaliana* было предположено, что альтернативные ферменты сами могут формировать «альтернативные респирасомы», существующие отдельно от других ферментов дыхательной цепи [13]. При помощи методов 2D BN/SDS-PAGE, иммунохимии, а также энзимографии

1D BN-гелей на примере митохондрий проростков гороха мы впервые показали, что в растительных органеллах альтернативные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы NDA и NDB могут ассоциировать с ферментами ОКСФОС с образованием АТФ-синтасом с предполагаемым составом $NDA_2/NDB_2Va/b_{1-2}$, респирасом NDA_2/NDB_2III_2IV и минорного суперкомплекса $NDA_2IV_1Va_2$.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

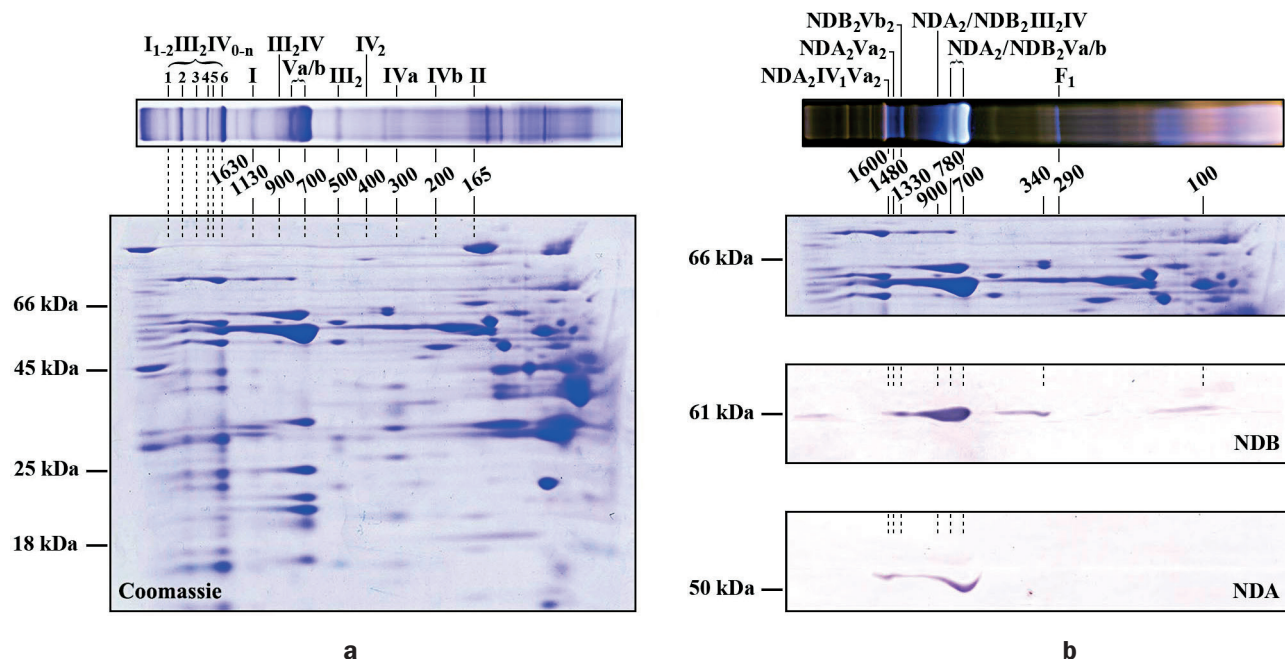
В работе использовали этилированные 6-суточные проростки гороха (*Pisum sativum* L., сорт Аксайский усатый 55), выращенные в темноте на влажной фильтровальной бумаге при температуре 20 °С. Выделение и очистку митохондрий из этилированных побегов проводили согласно ранее опубликованной методике [14]. Митохондриальные комплексы и суперкомплексы солюбилизировали при помощи дигитонина в соотношении детергента и белка 5:1 [14]. Изучение состава и субъединичных профилей солюбилизованных белков и их ассоциаций проводили при помощи методов 1D BN-PAGE и 2D BN/SDS-PAGE соответственно [15, 16]. Комплекс V в 1D BN-гелях визуализировали по АТФ-азной активности согласно методике [17]. Иммунохимическую детекцию альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB на иммуноблотах после 2D BN/SDS-PAGE осуществляли при помощи антител на NDA1 и NDB1 картофеля, которые были любезно предоставлены доктором А.Г. Расмус-

соном [18]. Учитывая рекомендации производителя и тот факт, что антитела на указанные белки в различных видах могут реагировать с разными изоформами, мы обозначили детектируемые ферменты как общие NDA и NDB неизвестного состава. Эксперименты выполнены в трех биологических повторностях.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши ранние исследования организации системы ОКСФОС в митохондриях побегов гороха показали, что система включает следующие структурные компоненты: мегакомплекс $(II_xIII_1IV_z)_n$, респирасомы $I_{1-2}III_2IV_{1-n}$, мажорный суперкомплекс I_1III_2 , минорную ассоциацию IV_1Va_2 , минорные количества суперкомплексов III_2IV_{1-2} , а также димерные и мономерные формы комплексов ОКСФОС [14, 19] (см. рисунок а). Следует отметить, что суперкомплекс IV_1Va_2 и форма АТФ-синтазы Va_{1-2} были обнаружены впервые. Было показано, что вместо предполагаемой ранее ассоциации $I_1III_2IV_1$, включающей и внутреннюю НАД(Ф)Н-дегидрогеназу NDA [20], в соответствующей области комигрируют два отдельных суперкомплекса: мажорный суперкомплекс I_1III_2 с расчетной массой 1630 кДа и непосредственно под ним минорный суперкомплекс IV_1Va_2 с видимой массой 1600 кДа [14].

Полученные данные отражают надмолекулярную архитектуру ферментов цитохромного пути дыхания в митохондриях гороха. Изучение нативной органи-



Нативная организация внутренних и внешних НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB в митохондриях этилированных побегов гороха: а – репрезентативный 2D BN/SDS-гель, окрашенный раствором Кумасси (сверху расположена полоса 1D BN-геля и указаны компоненты основного цитохромного пути системы окислительного фосфорилирования гороха и их массы; слева даны массы белков-стандартов); б – фрагменты типичных иммуноблотов NDA и NDB белков, а также соответствующий фрагмент 2D BN/SDS-геля (сверху представлена полоса 1D BN-геля после детекции АТФ-азной активности с обозначенными суперкомплексами, содержащими NDA и NDB, и даны их массы; слева приведены массы мономеров NDA и NDB)

Native organization of the internal and external NAD(P)H dehydrogenases NDA and NDB in the mitochondria of etiolated pea shoots: a – representative Coomassie-stained 2D BN/SDS-gel (1D BN-gel strip and identities of the OXPHOS main cytochrome pathway's components and their masses are given above, and protein standard masses to the left of the 2D gel); b – fragments of typical immunoblots for NDA and NDB proteins, along with the corresponding fragment of the 2D BN/SDS-gel (1D BN-gel strip after ATPase in-gel activity detection with corresponding NDA- and NDB-containing supercomplexes, and their masses are indicated above; masses of the NDA and NDB monomers are shown on the left)

зации ферментов альтернативного пути при помощи метода 2D BN/SDS-PAGE в сочетании с иммунохимической детекцией альтернативных внутренних и внешних НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDA и NDB показало, что эти ферменты также могут находиться в ассоциации с другими комплексами ОКСФОС. Так, внутренние дегидрогеназы NDA, имеющие видимую массу мономеров 50 кДа, солюбилизируются дигитонином в виде высокомолекулярных ассоциаций с массами 700, 780, 900, 1480 и 1600 кДа (см. рисунок б). Анализ субъединичных профилей структур и надструктур на 2D BN/SDS-гелях с указанными массами, а также колориметрическая детекция АТФ-азной активности в соответствующих областях на 1D BN-геле указывают на ассоциацию NDA с мономерами Va и Vb, димером Va₂, а также суперкомплексами IV₁Va₂ и, предположительно, III₂IV. Основная часть популяции внешних НАД(Ф)Н-дегидрогеназ NDB, имеющих видимую массу мономеров 61 кДа, также детектируется в области 700, 780, 900 кДа, что предполагает ее взаимодействие с двумя формами мономерной АТФ-синтазы, Va и Vb, а также суперкомплексом III₂IV. Минорная часть популяции солюбилизируется в ассоциации с димером Vb₂, имеющим массу 1330 кДа, следовые количества обнаружены в районе 340 и 100–120 кДа. Можно предположить, что в области 340 кДа NDB может мигрировать в составе либо разрушившейся части мембранного домена F₀ АТФ-синтазы, либо в составе другой пока неизвестной ассоциации. Следовые количества NDB в области 100–120 кДа могут соответствовать димерной форме или мономеру с оставшимися ассоциированными липидами мембраны. Наши данные по NDB частично согласуются с данными А.Г. Расмуссона и С.К. Агюс [21], полученными на митохондриях картофеля. Авторы также обнаружили часть популяции NDB этого вида в области 700 кДа на иммуноблотах 2D BN/SDS-гелей и дополнительно ряд иммунохимических NDB- и NDA-сигналов с

меньшими молекулярными массами. Последний факт, скорее всего, связан с ультразвуковым разрушением органелл в ходе пробоподготовки, вследствие чего значительная часть надструктур могла подвергнуться диссоциации. Минорные количества NDA1 и NDA2 в районе 700 кДа были также обнаружены в результате комплексного профилирования митохондриального протеома *A. thaliana* [13]. В этом же кластере детектировались и минорные количества АТФ-синтазы. Авторы предположили, что альтернативные ферменты могут взаимодействовать друг с другом, формируя высокомолекулярные «альтернативные респирасомы», однако не уточнили возможный состав этих структур.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Учитывая нативные массы иммунохимически детектируемых ассоциаций NDA и NDB с АТФ-синтазой и тот факт, что альтернативные НАД(Ф)Н-дегидрогеназы присутствуют во внутренней мембране митохондрий в виде димеров [5, 22] с ожидаемыми молекулярными массами 100 и 120 кДа соответственно, можно предположить, что на один фермент АТФ-синтазы с массой 600 кДа приходится один димер одной из альтернативных НАД(Ф)Н-дегидрогеназ. Таким образом, мы предполагаем присутствие гетерогенных популяций АТФ-синтасом NDA₂/NDB₂Va/b в электрофоретических фракциях с массами 700 и 780 кДа. Присутствие других белков в АТФ-синтасомах, особенно в более высокомолекулярной, имеющей массу 780 кДа, не исключается. На иммуноблотах детектируются дополнительно АТФ-синтасомы с димерным комплексом V, имеющие предполагаемый состав NDB₂Vb₂ и NDA₂Va₂, а также минорные суперкомплексы NDA₂IV₁Va₂ и NDA₂/NDB₂III₂IV. Физиологическое значение ассоциации альтернативных внутренних и внешних НАД(Ф)Н-дегидрогеназ с АТФ-синтазой изучается.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Cogliati S., Cabrera-Alarcón J.L., Enriquez J.A. Regulation and functional role of the electron transport chain supercomplexes // *Biochemical Society Transactions*. 2021. Vol. 49, no. 6. P. 2655–2668. DOI: 10.1042/BST20210460.
2. Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes // *EMBO Reports*. 2023. Vol. 24, no. 11. P. e57092. DOI: 10.15252/embr.202357092.
3. Kühlbrandt W. Structure and mechanisms of F-type ATP synthases // *Annual Review of Biochemistry*. 2019. Vol. 88. P. 515–549. DOI: 10.1146/annurev-biochem-013118-110903.
4. Ukolova I.V. The subcompartmented oxphosomic model of the phosphorylating system organization in mitochondria // *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021. Т. 25. N 7. С. 778–786. DOI: 10.18699/VJ21.089. EDN: VRUFFV.
5. Møller I.M., Rasmusson A.G., Van Aken O. Plant mitochondria – past, present and future // *The Plant Journal*. 2021. Vol. 108, no. 4. P. 912–959. DOI: 10.1111/tpj.15495.
6. Rasmusson A.G., Geisler D.A., Møller I.M. The multiplicity of dehydrogenases in the electron transport chain of plant mitochondria // *Mitochondrion*. 2008. Vol. 8, no. 1. P. 47–60. DOI: 10.1016/j.mito.2007.10.004.
7. Sweetman C., Waterman C.D., Rainbird B.M., Smith P.M.C., Jenkins C.D., Day D.A., et al. AtNDB2 is the main external NADH dehydrogenase in mitochondria and is important for tolerance to environmental stress // *Plant Physiology*. 2019. Vol. 181, no. 2. P. 774–788. DOI: 10.1104/pp.19.00877.
8. Гармаш Е.В. Сигнальные пути регуляции экспрессии генов альтернативной оксидазы растений // *Физиология растений*. 2022. Т. 69. N 1. С. 3–19. DOI: 10.31857/S0015330322010055. EDN: AATESI.
9. Braun H.-P. The Oxidative Phosphorylation system of the mitochondria in plants // *Mitochondrion*. 2020. Vol. 53. P. 66–75. DOI: 10.1016/j.mito.2020.04.007.
10. Grandier-Vazeille X., Bathany K., Chaignepain S., Camougrand N., Manon S., Schmitter J.M. Yeast mitochondrial dehydrogenases are associated in a supramolecular complex // *Biochemistry*. 2001. Vol. 40, no. 33. P. 9758–9769. DOI: 10.1021/bi010277r.
11. Guerrero-Castillo S., Vázquez-Acevedo M., González-Halphen D., Uribe-Carvajal S. In *Yarrowia lipolytica* mitochondria, the alternative NADH dehydrogenase interacts specifically with the cytochrome complexes of the classic respiratory pathway // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009. Vol. 1787, no. 2. P. 75–85. DOI: 10.1016/j.bbabo.2008.10.008.
12. Matus-Ortega M.G., Cárdenas-Monroy C.A., Flores-Herrera O., Mendoza-Hernández G., Miranda M.,

González-Pedrajo B., et al. New complexes containing the internal alternative NADH dehydrogenase (Ndi1) in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae* // *Yeast*. 2015. Vol. 32, no. 10. P. 629–641. DOI: 10.1002/yea.3086.

13. Senkler J., Senkler M., Eubel H., Hildebrandt T., Lengwenus C., Schertl P., et al. The mitochondrial complexome of *Arabidopsis thaliana* // *The Plant Journal*. 2017. Vol. 89, no. 6. P. 1079–1092. DOI: 10.1111/tpj.13448.

14. Ukolova I.V., Kondakova M.A., Kondratov I.G., Sidorov A.V., Borovskii G.B., Voinikov V.K. New insights into the organisation of the oxidative phosphorylation system in the example of pea shoot mitochondria // *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*. 2020. Vol. 1861, no. 11. P. 148264. DOI: 10.1016/j.bbabi.2020.148264.

15. Schagger H. Blue-native gels to isolate protein complexes from mitochondria // *Methods in Cell Biology*. 2001. Vol. 65. P. 231–244. DOI: 10.1016/S0091-679X(01)65014-3.

16. Wittig I., Braun H.-P., Schagger H. Blue native PAGE // *Nature Protocols*. 2006. Vol. 1, no. 1. P. 418–428. DOI: 10.1038/nprot.2006.62.

17. Sabar M., Balk J., Leaver C.J. Histochemical staining and quantification of plant mitochondrial respiratory chain complexes using blue-native polyacrylamide gel electrophoresis // *The Plant Journal*. 2005. Vol. 44, no. 5. P. 893–901. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02577.x.

18. Svensson A.S., Rasmusson A.G. Light-dependent gene expression for proteins in the respiratory chain of potato leaves // *The Plant Journal*. 2001. Vol. 28, no. 1. P. 73–82. DOI: 10.1046/j.1365-313x.2001.01128.x.

19. Ukolova I.V., Borovskii G.B. OXPHOS organization and activity in mitochondria of plants with different life strategies // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24, no. 20. P. 15229. DOI: 10.3390/ijms242015229.

20. Кондакова М.А., Уколова И.В., Боровский Г.Б., Войников В.К. Новые суперкомплексы в системе окислительного фосфорилирования митохондрий проростков гороха *Pisum sativum* L. // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2016. Т. 6. № 3. С. 143–146. DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-143-146. EDN: WZQKGF.

21. Rasmusson A.G., Agius S.C. Rotenone-insensitive NAD(P)H dehydrogenases in plants: immunodetection and distribution of native proteins in mitochondria // *Plant Physiology and Biochemistry*. 2001. Vol. 39, no. 12. P. 1057–1066. DOI: 10.1016/S0981-9428(01)01334-1.

22. Antos-Krzeminska N., Jarmuszkievicz W. Alternative type II NAD(P)H dehydrogenases in the mitochondria of protists and fungi // *Protist*. 2019. Vol. 170, no. 1. P. 21–37. DOI: 10.1016/j.protis.2018.11.001.

REFERENCES

1. Cogliati S., Cabrera-Alarcón J.L., Enriquez J.A. Regulation and functional role of the electron transport chain supercomplexes. *Biochemical Society Transactions*. 2021;49(6):2655–2668. DOI: 10.1042/BST20210460.

2. Kohler A., Barrientos A., Fontanesi F., Ott M. The functional significance of mitochondrial respiratory chain supercomplexes. *EMBO Reports*. 2023;24(11):e57092. DOI: 10.15252/embr.202357092.

3. Kühlbrandt W. Structure and mechanisms of F-type ATP synthases. *Annual Review of Biochemistry*. 2019;88:515–549. DOI: 10.1146/annurev-biochem-013118-110903.

4. Ukolova I.V. The subcompartmented oxphosomic model of the phosphorylating system organization in mitochondria. *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(7):778–786. DOI: 10.18699/VJ21.089. EDN: VRUFFV.

5. Møller I.M., Rasmusson A.G., Van Aken O. Plant mitochondria – past, present and future. *The Plant Journal*. 2021;108(4):912–959. DOI: 10.1111/tpj.15495.

6. Rasmusson A.G., Geisler D.A., Møller I.M. The multiplicity of dehydrogenases in the electron transport chain of plant mitochondria. *Mitochondrion*. 2008;8(1):47–60. DOI: 10.1016/j.mito.2007.10.004.

7. Sweetman C., Waterman C.D., Rainbird B.M., Smith P.M.C., Jenkins C.D., Day D.A., et al. AtNDB2 is the main external NADH dehydrogenase in mitochondria and is important for tolerance to environmental stress. *Plant Physiology*. 2019;181(2):774–788. DOI: 10.1104/pp.19.00877.

8. Garmash E.V. Signal pathways for regulation of plant alternative oxidase genes' expression. *Fiziologiya rastenii*. 2022;69(1):3–19. (In Russian). DOI: 10.31857/S0015330322010055. EDN: AATESI.

9. Braun H.-P. The Oxidative Phosphorylation system of the mitochondria in plants. *Mitochondrion*. 2020;53:66–75. DOI: 10.1016/j.mito.2020.04.007.

10. Grandier-Vazeille X., Bathany K., Chaignepain S.,

Camougrand N., Manon S., Schmitter J.M. Yeast mitochondrial dehydrogenases are associated in a supramolecular complex. *Biochemistry*. 2001;40(33):9758–9769. DOI: 10.1021/bi010277r.

11. Guerrero-Castillo S., Vázquez-Acevedo M., González-Halphen D., Uribe-Carvajal S. In *Yarrowia lipolytica* mitochondria, the alternative NADH dehydrogenase interacts specifically with the cytochrome complexes of the classic respiratory pathway. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2009;1787(2):75–85. DOI: 10.1016/j.bbabi.2008.10.008.

12. Matus-Ortega M.G., Cárdenas-Monroy C.A., Flores-Herrera O., Mendoza-Hernández G., Miranda M., González-Pedrajo B., et al. New complexes containing the internal alternative NADH dehydrogenase (Ndi1) in mitochondria of *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*. 2015;32(10):629–641. DOI: 10.1002/yea.3086.

13. Senkler J., Senkler M., Eubel H., Hildebrandt T., Lengwenus C., Schertl P., et al. The mitochondrial complexome of *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*. 2017;89(6):1079–1092. DOI: 10.1111/tpj.13448.

14. Ukolova I.V., Kondakova M.A., Kondratov I.G., Sidorov A.V., Borovskii G.B., Voinikov V.K. New insights into the organisation of the oxidative phosphorylation system in the example of pea shoot mitochondria. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*. 2020;1861(11):148264. DOI: 10.1016/j.bbabi.2020.148264.

15. Schagger H. Blue-native gels to isolate protein complexes from mitochondria. *Methods in Cell Biology*. 2001;65:231–244. DOI: 10.1016/S0091-679X(01)65014-3.

16. Wittig I., Braun H.-P., Schagger H. Blue native PAGE. *Nature Protocols*. 2006;1(1):418–428. DOI: 10.1038/nprot.2006.62.

17. Sabar M., Balk J., Leaver C.J. Histochemical staining and quantification of plant mitochondrial respiratory chain complexes using blue-native polyacrylamide gel

electrophoresis. *The Plant Journal*. 2005;44(5):893-901. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2005.02577.x.

18. Svensson A.S., Rasmusson A.G. Light-dependent gene expression for proteins in the respiratory chain of potato leaves. *The Plant Journal*. 2001;28(1):73-82. DOI: 10.1046/j.1365-313X.2001.01128.x.

19. Ukolova I.V., Borovskii G.B. OXPHOS organization and activity in mitochondria of plants with different life strategies. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023;24(20):15229. DOI: 10.3390/ijms242015229.

20. Kondakova M.A., Ukolova I.V., Borovskii G.B., Voinikov V.K. New supercomplexes of the oxidative phosphorylation system in pea (*Pisum sativum* L.) seedlings mitochondria. *Pro-*

ceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2016;6(3):143-146. (In Russian). DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-143-146. EDN: WZQKGF.

21. Rasmusson A.G., Agius S.C. Rotenone-insensitive NAD(P)H dehydrogenases in plants: immunodetection and distribution of native proteins in mitochondria. *Plant Physiology and Biochemistry*. 2001;39(12):1057-1066. DOI: 10.1016/S0981-9428(01)01334-1.

22. Antos-Krzeminska N., Jarmuszkiewicz W. Alternative type II NAD(P)H dehydrogenases in the mitochondria of protists and fungi. *Protist*. 2019;170(1):21-37. DOI: 10.1016/j.protis.2018.11.001.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Уколова Ирина Владимировна,

к.б.н., старший научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
✉ irinastupnikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Кондакова Марина Александровна,

к.б.н., ведущий инженер,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
kondakova-marina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3859-9138>

Боровский Геннадий Борисович,

д.б.н., профессор, главный научный сотрудник,
Сибирский институт физиологии
и биохимии растений СО РАН,
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132,
Российская Федерация,
borovskii@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

Вклад авторов

И.В. Уколова – разработка концепции
исследования, получение и анализ данных,
написание текста статьи.

М.А. Кондакова – получение данных.

Г.Б. Боровский – обсуждение полученных
результатов, редактирование рукописи.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina V. Ukolova,

Cand. Sci. (Biology), Senior Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
✉ irinastupnikova@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9167-9316>

Marina A. Kondakova,

Cand. Sci. (Biology), Lead Engineer,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
kondakova-marina@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-3859-9138>

Gennadii B. Borovskii,

Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher,
Siberian Institute of Plant Physiology
and Biochemistry SB RAS,
132, Lermontov St., Irkutsk, 664033,
Russian Federation,
borovskii@sifibr.irk.ru
<https://orcid.org/0000-0002-5089-5311>

Contribution of the authors

Irina V. Ukolova – research concept development,
data receiving and analysis, preparing the text
of manuscript.

Marina A. Kondakova – data receiving.

Gennadii B. Borovskii – results discussion,
editing the text of manuscript.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

Информация о статье

Поступила в редакцию 17.04.2024.
Одобрена после рецензирования 25.05.2024.
Принята к публикации 30.08.2024.

Information about the article

The article was submitted 17.04.2024.
Approved after reviewing 25.05.2024.
Accepted for publication 30.08.2024.