

УДК 577.158.1

БИОХИМИЯ

А. И. АРЧАКОВ, А. В. КАРЯКИН, В. П. СКУЛАЧЕВ

ПЕРЕНОС ЭЛЕКТРОНОВ МЕЖДУ МЕМБРАНАМИ МИКРОСОМ И МИТОХОНДРИЙ

(Представлено академиком Ю. А. Овчинниковым 9 VIII 1972)

Реакции переноса электронов обнаружены в настоящее время во многих биологических мембранах (^{1, 2}). Осуществляются они ферментами, которые образуют электронпереносящие комплексы. Предполагаемая поперечная ориентация этих комплексов в мембранах (³) открывает возможность использования их как для создания мембранного потенциала, так и для перезарядки мембранных поверхностей (⁴). Механизмы транспорта

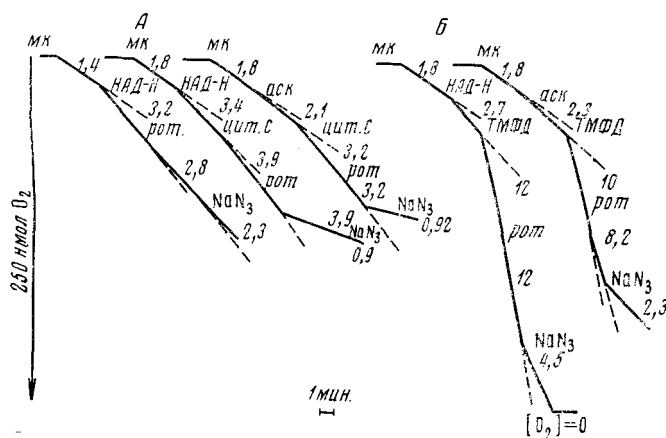


Рис. 1. Влияние цитохрома с (А) и ТМФД (Б) на скорость окисления НАД-Н микросомами. Инкубационная смесь объемом 1 мл содержала 100 мМ трис-НСl буфер, рН 7,4; 0,5 μ мол ЭДТА, 4 мг микросомного белка (мк). Добавки: НАД-Н 1 μ мол, цитохром с (цит.с.) 10 нмол, ТМФД 2 μ мол, ротенон (рот) $5 \cdot 10^{-9}$ мол, азид натрия 2 μ мол, аскарбат натрия (аск) 5 μ мол. Цифры над кривыми обозначают скорость поглощения кислорода в нмол/мг белка в 1 мин.

электронов в различных цепях переноса электронов изучены в достаточной мере подробно (^{1, 2}). В то же время имеются лишь единичные сообщения о переносе редуцирующих эквивалентов между мембранами (¹).

В данной работе изучались процессы переноса электронов из мембран эндоплазматического ретикулума в мембранную систему митохондрий.

Микросомную и митохондриальную фракции получали как описано ранее (⁴). Поглощение кислорода измеряли на полярографе LP-60 со стационарным платиновым электродом открытого типа.

Первые указания на возможность переноса электронов из НАД-Н-специфичной цепи микросом в цитохромоксидазную ферментную систему митохондрий были получены в опытах по стимулированию окисления НАД-Н в микросомной фракции цитохромом с и тетраметилпарафенилдиамином (ТМФД). Оказалось, что введение в инкубационную смесь переносчиков электронов не только ускоряло окисление НАД-Н, но и делало

его чувствительным к азиду натрия (рис. 1). Обнаруженный эффект можно легко объяснить, предположив, что ТМФД и цитохром с, восстановленные НАД-Н-специфичной цепью переноса электронов микросом, окисляются цитохромоксидазой митохондрий, присутствующей в микросомной фракции в виде загрязнений (⁴). При этом скорость восстановления переносчиков настолько велика, что окисление НАД-Н лимитируется только цитохромоксидазной реакцией. Подобную же систему переноса электронов из

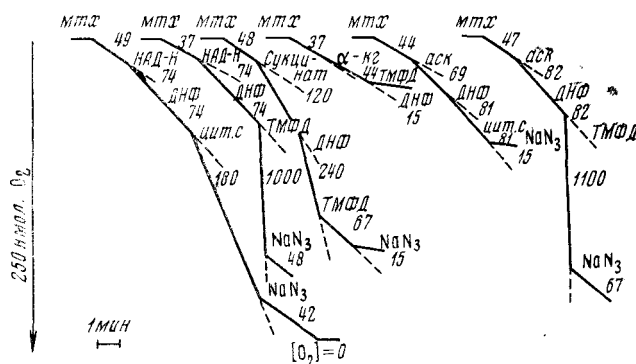


Рис. 2. Влияние цитохрома с и ТМФД на скорость окисления субстратов митохондриями. Инкубационная смесь объемом 1,0 мл содержала 100 мМ трис-НСl буфер, рН 7,4; 0,5 μ мол ЭДТА, 0,25 мг митохондриального белка (мтх). Добавки: ДНФ 0,1 μ мол, сукцинат натрия 5 μ мол, α -кетоглутарат (α -к2) 5 μ мол

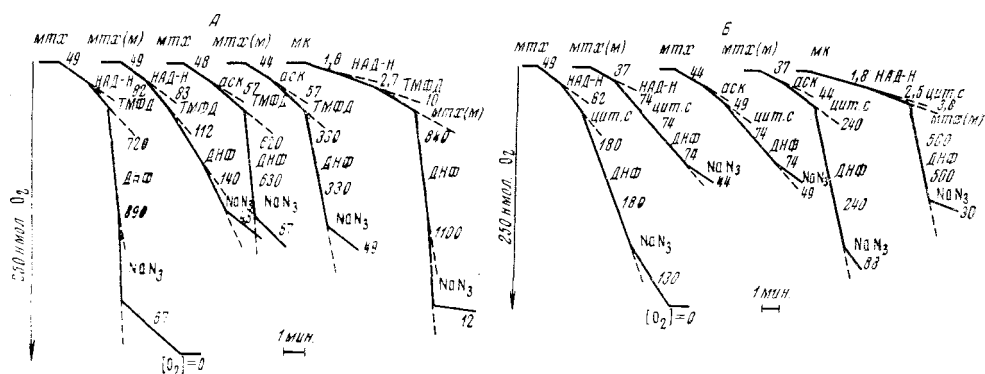
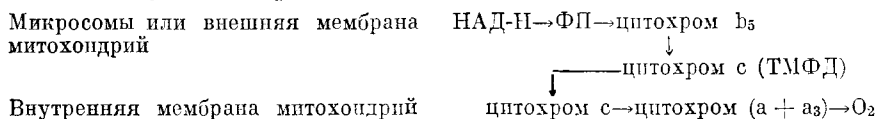


Рис. 3. Влияние ТМФД (А) и цитохрома с (Б) на скорость окисления НАД-Н в системе, содержащей микросомы и обработанные мерсалилом митохондрии. Инкубационная смесь объемом 1 мл содержала трис-НСl буфер 100 мМ, рН 7,4; 0,5 μ мол ЭДТА. Добавки: микросомы (мк) 0,1 мг белка, митохондрии (мтх) 0,25 мг белка, митохондрии, обработанные мерсалилом (мтх(м)), 0,25 мг белка

внешней мембраны митохондрий, содержащей НАД-Н-цитохром b_5 -редуктазу, во внутреннюю цитохромоксидазную цепь переноса электронов можно создать с помощью цитохрома с и ТМФД во фракции митохондрий. Скорость окисления НАД-Н в этой системе гораздо выше, чем скорость окисления сукцината и α -кетоглутарата. Интересно отметить, что добавление ТМФД на фоне данных субстратов, окисляющихся непосредственно в основной дыхательной цепи митохондрий, оказывает даже ингибирующее действие (рис. 2). Высказанное предположение о возможности быстрого переноса электронов из НАД-Н-специфичной цепи микросом в цитохромоксидазную систему митохондрий удалось подтвердить в опытах на митохондриальной фракции, обработанной мерсалилом. Оказалось, что предварительная инкубация митохондрий (10 мг белка/мл) с 1 μ мол мерсалина

в течение 30 мин. при 4° почти полностью ингибирует НАД-Н-цитохром b_5 -редуктазную систему внешней митохондриальной мембраны и вместе с тем не влияет на активность цитохромоксидазы (рис. 3). В этом случае ускоряющее действие ТМФД и цитохрома с на скорость окисления НАД-Н резко снижено, а скорость потребления кислорода при использовании в качестве субстрата аскорбата + ТМФД и аскорбата + цитохром с почти полностью сохранена. Добавление к такой системе каталитических количеств мембран микросом (100 $\mu\text{г/мл}$), содержащих НАД-Н-цитохром b_5 -редуктазу, резко стимулирует скорость окисления НАД-Н в присутствии ТМФД и цитохрома с, которая становится равной скорости цитохромоксидазной реакции. Полученные результаты позволяют утверждать, что НАД-Н-цитохром b_5 -редуктазная система микросом в данных условиях выполняет роль восстановителя ТМФД и цитохрома с, а их окислителем служит цитохромоксидаза митохондрий. Обращает на себя внимание огромная скорость переноса электронов в этой «гибридной» системе. Схематическая реакция шунтирования НАД-Н-специфичной цепи переноса электронов микросом и цитохромоксидазной системы митохондрий может быть представлена следующим образом.



В случае шунтирования с помощью цитохрома с электроны в микросомной цепи снимаются с цитохрома b_5 (², ⁵). Для ТМФД остается не ясным, какой из компонентов НАД-Н-цитохром b_5 -редуктазы непосредственно восстанавливает данный акцептор. В свете изложенных результатов НАД-Н-цитохром b_5 -редуктаза в клетке может рассматриваться как универсальный пункт свободного окисления, направляющий электроны в обход начальных и средних участков основной фосфорилирующей дыхательной цепи внутренней митохондриальной мембраны. Высокая скорость переноса электронов в шунтированной схеме может вполне компенсировать утрату двух начальных пунктов сопряжения митохондриальной цепи окисления. Наиболее вероятным кандидатом на роль межмембранного переносчика электронов является цитохром с. Показано (⁶), что этот цитохром может легко выходить из митохондрий в цитоплазму. В свете полученных в работе фактов о возможности использования цитохрома с в качестве промежуточного переносчика электронов между мембранами становятся вполне понятными и полученные ранее данные (¹) об ускорении окисления НАД-Н митохондриями в присутствии цитохрома с и резистентность этого окисления к антимицину и амиталу. В этом случае цитохром с выступает в качестве переносчика электронов, шунтирующего внешнюю и внутреннюю мембраны митохондрий. Вполне вероятно, однако, что не только данный переносчик электронов может выполнять в клетке эту роль. Способностью замыкать электронпереносящие комплексы различных мембран должны обладать различные по своей природе химические соединения с соответствующим редокс-потенциалом и, следовательно, НАД-Н-цитохром b_5 редуктаза может выполнять роль своеобразного универсального восстановителя в клетке.

И Московский государственный медицинский институт
им. Н. И. Пирогова
Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
2 VIII 1972

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. П. Скулачев, Аккумуляция энергии в клетке, «Наука», 1969. ² А. И. Арчаков, Усп. совр. биол., **71**, 163 (1971). ³ А. И. Арчаков, Л. Ф. Панченко и др., ДАН, **196**, 223 (1971). ⁴ А. И. Арчаков, Л. Ф. Панченко и др., Цитология, **13**, 887 (1971). ⁵ Ph. Strittmatter, In: Biological Oxidation, N. Y.—London, 1968, p. 171. ⁶ K. S. Cheah, FEBS Letters, **19**, 105 (1971).