

Х. Н. МИКЕЛЬСААР

**ГИПОТЕЗЫ О СТРУКТУРНЫХ ПЕРЕХОДАХ АТФазы**

(Представлено академиком А. Н. Белозерским 1 VI 1971)

Многочисленные данные, полученные на митохондриальных (<sup>1</sup>, <sup>2</sup>) и др.), бактериальных (<sup>3</sup>) и др.) препаратах, сделали возможным заключить, что АТФаза располагается на мембране в так называемых грибовидных субъединицах и является непосредственным участником окислительного фосфорилирования. Подобные грибовидным субъединицам структуры

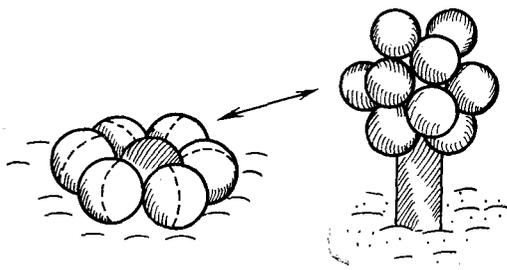


Рис. 1. Предполагаемый переход мембранно-связанной АТФазы из гексамерической формы в икосаэдрическую (объяснение в тексте)

были найдены и в хлоропластах, на плазматических мембранах клеток печени и кишечного эпителия, на мембранах наружных сегментов палочек сетчатки (<sup>4-6</sup>).

С другой стороны, выделение и очистка АТФазы показывает, что молекула фермента представляет собою белок с четвертичной структурой, с молекулярным весом, колеблющимся в зависимости от организма и источника от 100 000 до 385 000 (<sup>7-13</sup>).

По Пэневскому и Варнеру (<sup>12</sup>), митохондриальная АТФаза с молекулярным весом 284 000 содержит около 10 мономеров (молекулярный вес приблизительно 26 000—29 000). Шнебли с сотрудниками (<sup>10</sup>) считают, что эти данные не исключают возможности того, что митохондриальная АТФаза состоит из 12 субъединиц. Именно такое число было ими получено для АТФазы *Streptococcus faecalis*. Молекулярные веса субъединиц и целой стрептококковой АТФазы соответственно 33 000 и 385 000. Изучив электронномикроскопические картинки, Шнебли с сотрудниками пришли к выводу, что как бактериальная, так и митохондриальная АТФазы являются планарными гексамерами, мономеры которых состоят из двух субъединиц. Предположение о гексамерической структуре митохондриальной АТФазы находит подтверждение в работе Форреста и Эделстейна (<sup>13</sup>). Диаметры мономера и гексамера для стрептококка соответственно 40 Å и 120 Å (<sup>10</sup>). Размеры мономера и гексамера митохондриальной АТФазы по нашим расчетам приблизительно 35 и 105 Å.

Четко продемонстрирована гексагональная упаковка субъединиц АТФазы и у *Micrococcus lysodeikticus*, у которого диаметр дискообразной молекулы составляет 100 Å (<sup>3</sup>). По Фаррону (<sup>11</sup>), молекула (с молекулярным весом 325 000) сопрягающего фактора шпината  $cF_1$ , который в искусственных условиях может приобрести АТФазную активность, распадается на субъединицы с молекулярным весом 62 000. Теоретически возможная минимальная субъединица (по аминокислотному составу, на один цистенин) имеет молекулярный вес 28 000. В молекуле  $cF_1$  12 SH групп (<sup>14</sup>). Таким образом, не исключено, что и  $cF_1$  состоит из 6 мономеров, каждый из которых содержит по две субчастицы.

Диаметр очищенной АТФазы близок к диаметру головки грибовидных частиц. Это обстоятельство, а также неудачи в обнаружении у головки каких-либо других активностей, дали повод предположить, что молекулы растворенного фермента идентичны головкам грибообразных субъединиц (<sup>2, 3</sup>). Это предположение вполне правдоподобно, но не лишено противоречия, потому что, несмотря на близкие диаметры, головка имеет сферическую форму (<sup>15</sup>), а по крайней мере некоторая часть очищенной АТФазы, как показано выше, имеет плоскую дискообразную форму. Показать один из возможных выходов и представляет главную цель настоящей работы.

Ключом, по нашему мнению, могут быть приведенные выше данные о том, что в каждый мономер гексамера входят две геометрически равные субчастицы: двенадцать — это и есть минимальное число субчастиц, позволяющее построить правильный шар (икосаэдрическую сферу). Поэтому разумно допустить возможность взаимных переходов сферической и плоской форм АТФазы. При переходе фермента из плоской структуры в сферическую происходит диссоциация сложных мономеров в простые, весом вдвое меньше (т. е. из шести мономеров гексамера образуется 12 мономеров — сфера) и, наоборот, превращение икосаэдров снова в диск сопровождается ассоциацией двенадцати простых мономеров в шесть сложных. Мы склонны думать, что при переходе головки грибовидной субъединицы в гексамер ножка ее располагается седьмой глобулой внутри гексамера (рис. 1). Возможно, именно поэтому Мунос с сотрудниками (<sup>3</sup>) видели в препаратах микрококковой АТФазы семи-членные структуры; при этом важно отметить наличие некоторого полиморфизма у средней глобулы. Расчеты показывают, что если диаметр гексамера равен около 105 Å, то у образующегося из него шара он будет около 85 Å.

Идея о конформационных перестройках грибовидных субъединиц не новая. Ода (<sup>16</sup>) первым обратил внимание на то, что элементарные частицы митохондрий, т. е. грибовидные субъединицы вместе с подлежащей частью мембраны, могут существовать или в рыхлой форме (при этом она состоит из трех частей), или в компактной сферической форме. К настоящему времени накоплен целый ряд данных электронномикроскопического (<sup>17-19</sup>) и др.), седиментационного (<sup>11-13</sup>) и иммунохимического (<sup>20</sup>) анализа, которые все непосредственно или косвенно говорят в пользу структурных переходов молекулы АТФазы и, по нашему мнению, вполне могут быть объяснены высказанной нами гипотезой. В цитируемых выше работах описание изменений структур имеет более поверхностный характер.

Гипотеза способна дать объяснение широкоизвестному явлению аллотопии у АТФазы (<sup>1</sup>). Основа этого феномена, по нашему мнению, — в дополнительных контактах, образующихся между АТФазой и мембраной при переходе первой в дискообразную форму.

Регуляция проницаемости, осуществление активного транспорта метаболитов и ионов через мембрану, процесс набухания и сокращения митохондрий, а возможно и другие явления контрактильности (<sup>21</sup>), по нашему

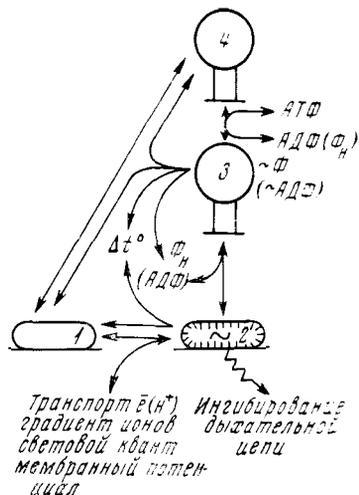


Рис. 2. Возможная функционально-регуляторная схема синтеза и гидролиза АТФ: 1 — дискообразная форма АТФазного комплекса; 2 — дискообразный АТФазный комплекс, принявший первичный макроэрг (типа X ~ Y или конформационного характера); 3 — высокоэнергетически-фосфорилированная (аденилированная) грибовидная форма АТФазного комплекса; 4 — грибовидная форма АТФазного комплекса

мнению, могут быть косвенно или непосредственно связаны с представленными выше структурными изменениями АТФазы.

В заключение изложим схему, пытающуюся соединить структурные и функционально-регуляторные стороны процесса синтеза и гидролиза АТФ (рис. 2). Эта схема основывается на постулате, что тонкая структура активного центра АТФазы не может остаться неизменной (активной) при столь крупных перестройках четвертичной структуры фермента. Поскольку известно, что скрытая АТФаза закреплена на мембране крепче работающей<sup>(2)</sup>, то, видимо, активной формой АТФазы является грибовидная структура (рис. 2). Для обеспечения циклической работы АТФазной или синтетазной системы необходимо допустить самопроизвольные переходы 1—4 или 4—1. Направление перехода и, следовательно, направление работы целой системы определяется составом среды. Свойства и путь получения промежуточного соединения — состояния 2 (рис. 2) мы не уточняем, и, следовательно, приведенная регуляторная схема синтеза и гидролиза АТФ способна работать как часть любой из основных концепций окислительного фосфорилирования.

Автор выражает искреннюю благодарность коллективам лаборатории эволюционной биохимии и субклеточных структур Института биохимии АН СССР и отдела биоэнергетики межфакультетской лаборатории биоорганической химии Московского университета за полезные советы и обсуждение работы.

Институт биохимии им. А. Н. Баха  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
31 V 1971

Институт экспериментальной биологии  
Академии наук ЭССР  
Таллин

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> E. Racker, *Federat. Proc.*, **26**, № 5, 1335 (1967). <sup>2</sup> E. Racker, D. D. Tyler et al., In *Oxidases and Related Redox Systems*, **2**, N. Y.—London—Sydney, 1965, p. 1077. <sup>3</sup> E. Милюз, J. H. Freer et al., *Biochim. et biophys. acta*, **150**, № 3, 531 (1968). <sup>4</sup> Д. Грин, Р. Гольдбергер, В кн. *Молекулярные аспекты жизни*, М., 1968, стр. 216. <sup>5</sup> T. Oda, In: *Profiles of Japanese Science and Scientists 1970*, Tokyo, 1970, p. 107. <sup>6</sup> А. Г. Гамбургцева, В. В. Глаголева, В кн. *Биологические ультраструктуры*, 1967. *Итоги науки*, М., 1969, стр. 77. <sup>7</sup> A. Abrams, *J. Biol. Chem.*, **240**, № 9, 3675 (1965). <sup>8</sup> D. J. Evans, *J. Bacteriol.*, **107**, № 3, 1203 (1970). <sup>9</sup> S. Ishikawa, *J. Biochem.*, **67**, № 2, 297 (1970). <sup>10</sup> P. H. Schnebli, A. E. Vatter, A. Abrams, *J. Biol. Chem.*, **245**, № 5, 1122 (1970). <sup>11</sup> F. F. Farron, *Biochemistry*, **9**, № 19, 3823 (1970). <sup>12</sup> H. S. Penefsky, R. C. Warner, *J. Biol. Chem.*, **240**, № 12, 4694 (1965). <sup>13</sup> G. Forrest, S. J. Edelstein, *J. Biol. Chem.*, **245**, № 23, 6468 (1970). <sup>14</sup> F. Farron, E. Racker, *Biochemistry*, **9**, № 19, 3829 (1970). <sup>15</sup> H. Fernandez-Moran, T. Oda et al., *J. Cell Biol.*, **22**, № 1, 63 (1964). <sup>16</sup> D. E. Green, T. Oda, *J. Biochem.*, **49**, № 8, 743 (1961). <sup>17</sup> D. S. Smith, *J. Cell Biol.*, **19**, № 1, 115 (1963). <sup>18</sup> T. Oda, Y. Nishi, *J. Electronmicroscopy*, **12**, № 4, 290 (1963). <sup>19</sup> E. F. Korman, A. D. F. Addenk et al., *J. Bioenergetics*, **1**, № 1, 9 (1970). <sup>20</sup> T. L. Whiteside, M. R. J. Salton, *Biochemistry*, **9**, № 15, 3034 (1970). <sup>21</sup> J. R. Gibbons, A. J. Rowe, *Science*, **149**, № 3682, 424 (1965).