

А. А. КОНСТАНТИНОВ

**О МЕХАНИЗМЕ ГЕНЕРАЦИИ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО
ПОТЕНЦИАЛА ИОНОВ H^+ В НАЧАЛЬНЫХ УЧАСТКАХ
ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ**

(Представлено академиком С. Е. Севериным 28 X 1974)

Утверждение хемосмотической концепции окислительного фосфорилирования в роли ведущей на сегодняшний день теории, наилучшим образом согласующейся с имеющимися в нашем распоряжении экспериментальными данными, привело к тому, что исследования, целью которых является проверка основных постулатов схемы Митчела, уступают место исследованиям, задача которых — дальнейшая разработка и конкретизация хемосмотической теории сопряжения.

Как было указано (1), сущность митчеловской теории можно выразить в виде «основной теоремы»:

$$\text{перенос электронов} \leftrightarrow \text{трансмембранный градиент} \leftrightarrow \text{АТФ} \quad (1)$$

электрохимического потен-
циала ионов водорода, $\Delta\mu_{H^+}$

Значительные успехи, достигнутые в последние годы в области разделения и реконструкции ферментативных систем, катализирующих окислительное фосфорилирование, а также в разработке методов регистрации мембранного потенциала замкнутых частиц позволяют с уверенностью сказать, что схема (1) адекватно описывает систему сопряжения окисления и синтеза АТФ. Дальнейшее развитие теории окислительного фосфорилирования требует ответа на вопрос о том, каким образом происходит превращение химической энергии окислительно-восстановительных реакций в дыхательной цепи в электрохимическую энергию $\Delta\mu_{H^+}$ и как энергия $\Delta\mu_{H^+}$ используется для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата. Ранее (2) были обсуждены принципы работы связанной с мембраной АТФ-синтазы, способной утилизировать мембранный потенциал для образования АТФ. В этом сообщении нам хотелось бы сосредоточить внимание на первой части «теоремы Митчела — Скулачева» и рассмотреть ряд возможных механизмов генерации мембранного потенциала дыхательной цепью митохондрий.

Напомним, что согласно первоначальной схеме Митчела образование $\Delta\mu_{H^+}$ дыхательной цепью митохондрий происходит за счет трансмембранного переноса электронов в направлении снаружи — внутрь в участках, соответствующих I, II и III пунктам сопряжения. Подобный принцип устройства предъявляет довольно жесткие требования к пространственной организации редокс-цепи, которая, образуя «митчеловские петли», должна восемь раз пересечь внутреннюю митохондриальную мембрану, чтобы осуществить перенос пары электронов от НАДФ-Н к кислороду сопряженно с синтезом четырех молекул АТФ (см. схему А, рис. 1, иллюстрирующую возможный вариант организации редокс-цепи в виде «митчеловских петель» (взято из (3))). В то время, как в результате ряда исследований были получены убедительные доказательства в пользу трансмембранного переноса электронов от цитохрома с к цитохрому a_3 в третьем пункте сопряжения (4), поиски двух первых петель в дыхательной цепи

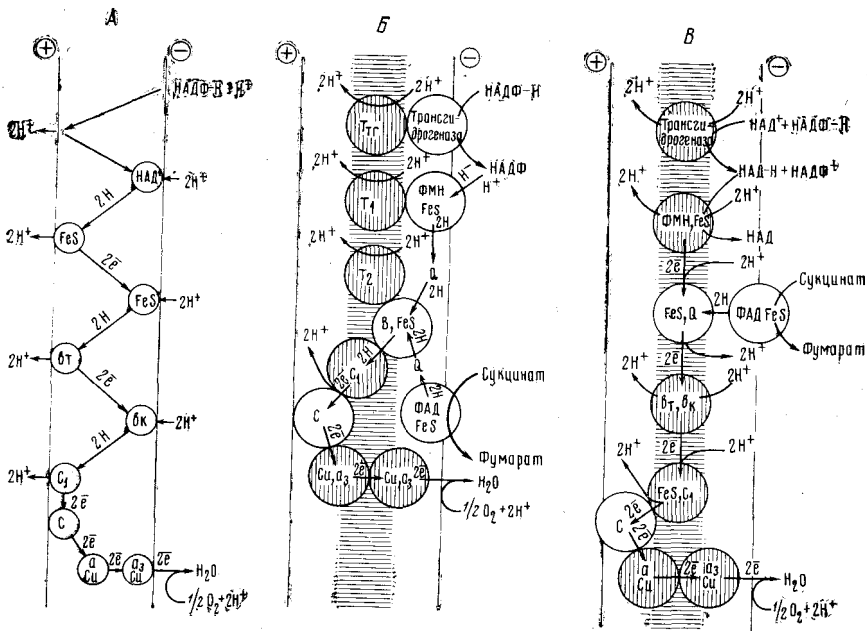


Рис. 1. Расположение дыхательной цепи в мембране митохондрий. А — по Митчеллу; В — по Скулачеву; В — вариант, предлагаемый в этом сообщении. FeS — негемовый железопротейд; Т_{тг}, Т₁, Т₂ — ферменты, осуществляющие перенос протонов через гидрофобный барьер мембраны в трансгидрогеназном, I и II пунктах сопряжения. Заштрихован на схемах В и В гидрофобный слой мембраны и белки, катализирующие трансмембранный перенос протонов или восстановительных эквивалентов

митохондрий не увенчались успехом. Более того, исследования энергозависимой трансгидрогеназы митохондрий показали, что по крайней мере в случае этого «четвертого пункта сопряжения» дыхательной цепи реализуется механизм генерации $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, принципиально отличающийся от предложенного Митчелом. Как выяснилось, в ходе трансгидрогеназной реакции восстановительный эквивалент переносится непосредственно от НАДФ-Н к НАД⁺ без обмена протона с водой (5), что весьма трудно объяснить с точки зрения организации «IV пункта сопряжения» в виде митчелловской петли.

В связи с этим В. П. Скулачевым было высказано предположение, что электрогенной реакцией, обуславливающей возникновение мембранного потенциала при переносе восстановительных эквивалентов через трансгидрогеназную систему и два первых пункта сопряжения, может быть транслокация ионов водорода из внутреннего объема митохондрий в наружную среду (4).

На рис. 1В представлена схема дыхательной цепи как генератора $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$, работающего по принципу протонной помпы, предложенная В. П. Скулачевым (4). Согласно этой схеме, дыхательные переносчики осуществляют электронейтральный перенос восстановительных эквивалентов вдоль внутренней стороны мембраны митохондрий, а генерация трансмембранной разности электрохимических потенциалов иона водорода происходит с помощью специальных белков — транслоказ протона (Т), погруженных в гидрофобный слой мембраны. Транслоказы способны претерпевать изменения конформации (или совершать повороты в плоскости рисунка), сопряженные с переносом ионов водорода через гидрофобный барьер, при экзергоническом изменении редокс-состояния дыхательных переносчиков, находящихся с ними в тесном контакте. Заметим, что для выполнения функции переноса протона не требуется присутствия в фер-

менте специальных простетических групп, характерных для редокс-переносчиков, а достаточно протолитических свойств, свойственных практически любому белку. В связи с этим интересно заметить, что до сих пор не находит удовлетворительного объяснения природа так называемого «структурного белка» митохондрий, представляющего собой смесь бесцветных, весьма гидрофобных белков, не обнаруживающих какой-либо ферментативной активности и составляющих значительную долю от общего содержания белка в митохондриальной мембране.

В этом сообщении мы хотим предложить вниманию читателя еще один гипотетический механизм генерации потенциала дыхательной цепью. Вариант, о котором пойдет речь ниже, обходится без специальных белков транслоказ.

Хорошо известно, что многие дыхательные переносчики, например, цитохромы *b*, восстанавливаясь одновременно с электроном присоединяют

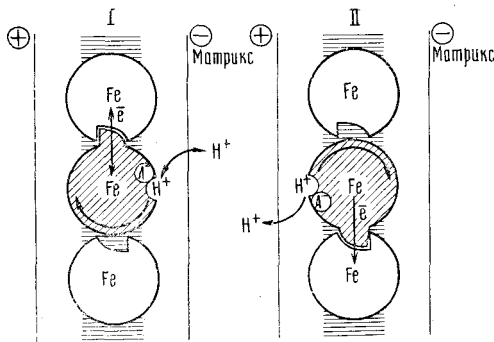


Рис. 2. Предлагаемый механизм генерации мембранного потенциала в начальных участках дыхательной цепи. A^- — протолитическая группа дыхательного переносчика, рК которой зависит от редокс-состояния фермента. Заштрихованы — гидрофобный слой мембраны и дыхательный переносчик, осуществляющий трансмембранный перенос протона

и протон, а при окислении освобождают его, что обусловливается резкими изменениями константы диссоциации одной или нескольких кислотно-основных групп переносчика в ходе окислительно-восстановительной реакции. Легко заметить, что редокс-фермент такого типа может параллельно с переносом электронов в дыхательной цепи осуществлять транслокацию протона через мембрану (рис. 2). Для этого достаточно, чтобы при восстановлении переносчика компонентом дыхательной цепи, находящимся по субстратную сторону, протолитическая группа (A^-), рК которой зависит от редокс-состояния фермента, находилась по одну сторону изолирующего слоя мембраны, а при окислении переносчика партнером по цепи, расположенным ближе к кислороду, — по другую. Условие легко выполняется при наличии соответствующей взаимной ориентации протолитической группы и участка молекулы фермента, ответственного за стереоспецифичное взаимодействие с соседями по цепи переноса электронов (достаточно «присоединения по двум точкам»). Предполагается, что переносчик свободно вращается в мембране, в то время как для его партнеров такое вращение запрещено.

Общая схема строения дыхательной цепи как генератора $\Delta\psi_{H^+}$, основанная на описанном механизме транслокации протона, приведена на рис. 1В. Она отличается от схемы 1Б отсутствием специальных H^+ -транслоказ, а от схемы Митчела тем, что согласно ей перенос электронов происходит вдоль мембраны внутри ее гидрофобного слоя и не требует локализации простетических групп окислительно-восстановительных переносчиков на поверхности этого слоя.

Обсуждение возможных путей генерации мембранного потенциала дыхательной цепью митохондрий в этом сообщении можно в равной степени отнести к проблеме образования $\Delta\psi_{H^+}$ системами переноса электронов в хлоропластах и фотосинтезирующих бактериях.

Я хочу выразить признательность В. П. Скулачеву за подробное обсуждение возможных принципов устройства биологических молекулярных генераторов мембранного потенциала, а также за полезные замечания, сделанные при чтении рукописи этой статьи.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова

Поступило
19 IX 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ В. П. Скулачев, Трансформация энергии в биомембранах, М., 1972. ² А. Глаголев, В. П. Скулачев, Биохимия, т. 39, 107 (1974). ³ P. Mitchell, FEBS Symp., v. 28, 353 (1972). ⁴ V. P. Skulachev, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., in press. ⁵ L. L. Grinius, T. J. Guds, V. P. Skulachev, J. Bioenergetics, v. 2, 101 (1971). ⁶ C.-P. Lee, V. Sismard-Diquesne et al., Biochim. et biophys. acta, v. 105, 397 (1965).