

## ENERGY TRANSDUCTION IN MITOCHONDRIA

A. D. VINOGRADOV

*The basic concepts of energy transduction in mitochondria are described. The mechanisms of vectorial electron transfer in biological membranes coupled with proton translocation reactions (chemi-osmotic coupling theory by P. Mitchell) are discussed.*

**Изложены основные закономерности преобразования энергии митохондриями. Рассмотрены механизмы реакций векторного переноса электронов, сопряженного с переносом протонов, в биологических мембранах (теория электрохимического сопряжения П. Митчелла).**

## ПРЕОБРАЗОВАНИЕ ЭНЕРГИИ В МИТОХОНДРИЯХ

А. Д. ВИНОГРАДОВ

Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова

### ВВЕДЕНИЕ

Образование молекулы АТФ, главного источника энергии для совершения работы в биологических системах, сегодня не может быть описано в терминах точного химического механизма элементарных стадий, однако ясно, что движущей силой процесса служит энергия электрического поля, существующего на внутренней мембране митохондрий. Возникает естественный вопрос: что служит источником этой энергии? В самом общем виде ответ можно сформулировать так. Питательные вещества (белки, жиры и углеводы) в конечном счете превращаются в ограниченный набор низкомолекулярных соединений — органических кислот. Углеродные атомы, из которых построены эти кислоты, окисляются (у аэробных организмов кислородом) до углекислого газа и воды. Процесс окисления органических кислот кислородом происходит в митохондриях — клеточных органеллах, обеспечивающих большую часть синтеза АТФ в клетках. Потребление кислорода в качестве окислителя обычно называют внутриклеточным дыханием. Энергия, освобождающаяся в результате химической реакции окисления, превращается в электрохимическую и в таком виде используется для синтеза АТФ.

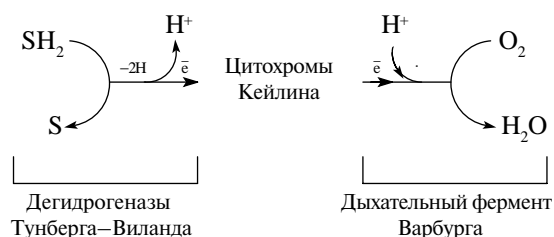
Трансформация энергии окисления осуществляется ферментами, расположенными во внутренней мембране митохондрий и работающими как генераторы, которые используют в качестве носителя электрического заряда ион водорода ( $H^+$ , протон). По определению, окислительными (точнее, окислительно-восстановительными) реакциями называют такие, в которых происходит перенос электронов от молекулы-донора (восстановителя) к молекуле-акцептору (окислителю). Эти реакции чрезвычайно распространены в живых системах и катализируются ферментами, получившими название оксидоредуктаз. Совокупность оксидоредуктаз, катализирующих процесс внутриклеточного дыхания, обычно называют дыхательной цепью. Для ответа на вопрос о том, как возникает электричество в мембране митохондрий, предстоит рассмотреть, как работает дыхательная цепь.

Отметим сразу, что для возникновения электрического поля (одна сторона мембраны заряжена положительно, а другая — отрицательно) необходимо, чтобы ферменты дыхательной цепи осуществляли векторный, направленный (по отношению к

сторонам мембраны) перенос электронов от восстановителя к окислителю. В этом состоит принципиальное отличие работы оксидоредуктаз дыхательной цепи от функционирования ферментов, катализирующих аналогичные реакции в гомогенном (изотропном) растворе, где вопрос о направлении реакции в пространстве не имеет смысла (скалярные процессы).

## ИСТОРИЯ ПРОБЛЕМЫ

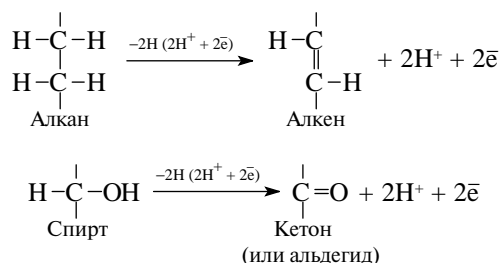
Началом изучения дыхания принято считать классические опыты Антуана Лавуазье (A. Lavoisier), который еще в 1777 году показал, что “чистый воздух, войдя в легкие, выходит из них частично в виде связываемого воздуха или меловой кислоты. Следовательно, чистый воздух, проходя через легкие, претерпевает такое разложение, которое имеет место при горении угля”. То, что Лавуазье назвал меловой кислотой, было, как мы теперь знаем, углекислым газом ( $\text{CO}_2$ ). Начало современным представлениям о внутриклеточном дыхании было положено работами В.И. Палладина в России (1909 год), Т. Тунберга (T. Thunberg) в Швеции (1909 год), Г. Виланда (H. Wieland) и О. Варбурга (O. Warburg) в Германии, выполненными в 20-х годах нынешнего века. К тому времени уже было известно, что ткани млекопитающих катализируют окисление органических кислот кислородом воздуха. При обсуждении механизма этого катализа к середине 20-х годов сформировались две на первый взгляд альтернативные точки зрения. Т. Тунберг и Г. Виланд полагали, что быстрое окисление химически инертных органических кислот связано с существованием в тканях ферментов (дегидрогеназ) — активаторов атомов водорода в молекулах субстратов. О. Варбург считал, что катализ обусловлен железосодержащим ферментом, названным им дыхательным ферментом, активирующим химически инертный кислород. Как часто случается, оказалось, что обе точки зрения верны. Примерно в то же время Д. Кейлин (D. Keilin) в Кембридже обнаружил существование в тканях пигментов, названных им цитохромами, окраска которых зависела от наличия кислорода и активности дыхательного фермента Варбурга. Кейлин предположил, а потом элегантными опытами доказал, что цитохромы являются связующим звеном между дегидрогеназами Тунберга и Виланда и дыхательным ферментом Варбурга. Позднее Кейлин и его ученики доказали, что существуют несколько цитохромов, различающихся по своей окраске и все они являются обязательными компонентами почти любых живых систем (Кейлин обследовал более 100 различных видов животных и растений). К середине 30-х годов стало ясно, что окисление органических кислот ( $\text{SH}_2$ ) кислородом в тканях может быть описано следующей схемой:



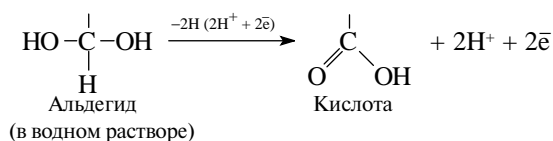
К середине 50-х годов выяснилось, что некоторые дегидрогеназы, цитохромы Кейлина и дыхательный фермент Варбурга (дыхательная цепь) прочно связаны с внутренними мембранами митохондрий. В 60-х годах Д. Грин (D. Green) с сотрудниками в США разработал методы разделения, выделения и очистки компонентов дыхательной цепи. Уже к концу 30-х годов благодаря работам В.А. Энгельгардта, В.А. Белицера и Г. Калькара (H. Kalckar) была установлена тесная связь между процессами окисления (поглощение кислорода) и образования АТФ (фосфорилирование). Природа этой связи (сопряжение двух процессов), обеспечивающей главный суммарный процесс биоэнергетики — окислительное фосфорилирование, оставалась загадкой вплоть до 60-х годов, когда П. Митчелл (P. Mitchell) опубликовал гипотезу о хемиосмотическом сопряжении, ставшую спустя примерно двадцать лет общепринятой теорией.

## ДЫХАТЕЛЬНАЯ ЦЕПЬ И ЕЕ КОМПОНЕНТЫ

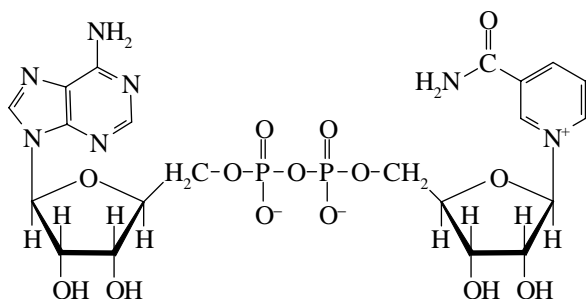
Рассмотрим более детально устройство отдельных блоков схемы, изображенной выше. Прежде чем это сделать, необходимы несколько предварительных замечаний. До сих пор при описании процесса внутриклеточного дыхания говорилось, что кислород расходуется на окисление ограниченного числа органических соединений, образующихся из продуктов питания. В живых системах наиболее распространены следующие химические группировки, подвергающиеся окислению<sup>1</sup>:



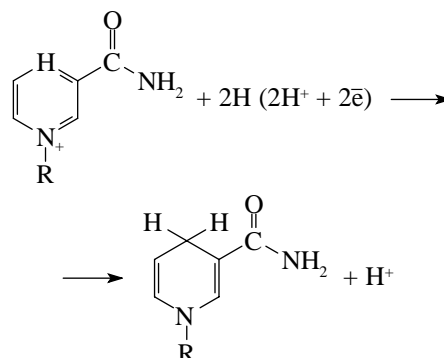
<sup>1</sup> Приведенные примеры, конечно, не исчерпывают всего многообразия окислительных реакций, протекающих в клетках. Окислению подвергаются также аминогруппы, серосодержащие соединения, ионы переходных металлов и пр. Однако наибольший вклад в общую энергетику клеток млекопитающих вносит окисление углеродных атомов.



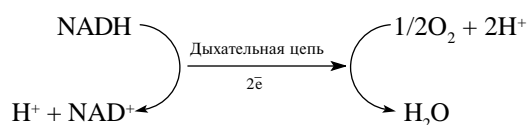
Во всех приведенных примерах окисление можно рассматривать как отщепление двух атомов водорода, каждый из которых состоит из протона и электрона. Протон в водном растворе существует в виде катиона  $\text{H}^+$ , и, если на время забыть об электронах, каждая из приведенных выше реакций будет сопровождаться закислением среды. Электроны в свободном виде в водном растворе существовать не могут, поэтому для протекания этих реакций белки-катализаторы должны содержать ловушку для электронов. В качестве такой ловушки в ферментах-дегидрогеназах служат относительно небольшие (по сравнению с размером белков) органические или неорганические молекулы или атомы разной химической природы. Эти молекулы принято называть кофакторами или простетическими группами. Таким образом, любой белок, катализирующий окислительно-восстановительную реакцию, содержит кофактор, способный к обратимому окислительно-восстановительному превращению. Есть и другая, не менее важная роль кофакторов. Если в клетке в свободном, не связанном с белком состоянии присутствует какая-либо молекула кофактора в достаточном количестве, то атомы водорода, отщепляющиеся от органических молекул в результате действия дегидрогеназ, могут быть запасены в виде восстановленной формы кофактора. Это достигается либо заменой восстановленной формы связанного с ферментом кофактора на его окисленную форму, либо окислением связанного кофактора свободным. Существуют несколько типов свободных кофакторов. В качестве основного служит молекула достаточно сложного химического строения, носящая, согласно принятой биохимиками номенклатуре, название никотинамидадениндинуклеотид (сокращенно NAD), окисленная форма которого показана ниже:



Коллектором атомов водорода (протонов и электронов) в молекуле  $\text{NAD}^+$  служит только небольшая ее часть:



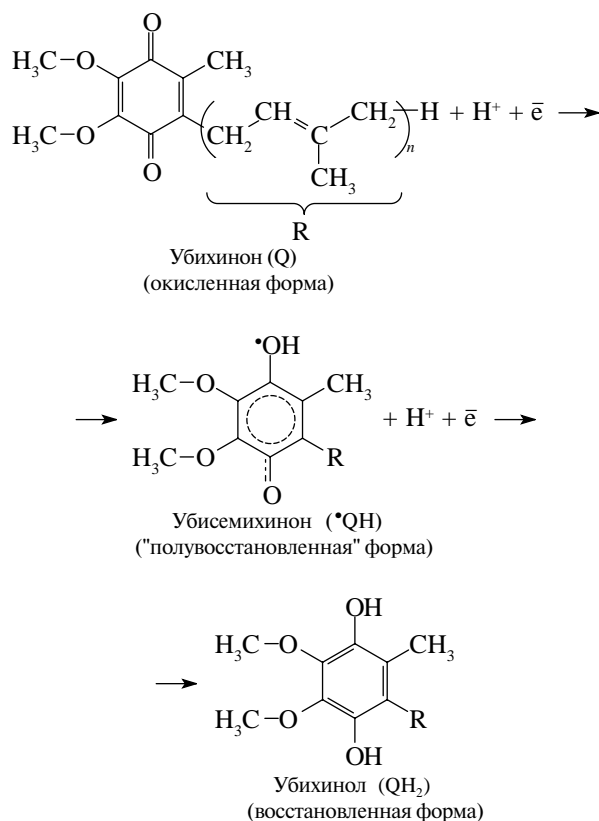
В процессе восстановления исходно окисленная молекула NAD (обозначают  $\text{NAD}^+$ , по заряду участвующей в реакции группы) принимает два электрона и один протон. В грубом приближении можно считать, что все окислительные реакции, катализируемые дегидрогеназами, приводят к универсализации отщепленных атомов водорода и запасанию их в виде NADH.  $\text{NAD}^+$  и NADH хорошо растворимы в воде и присутствуют в значительных количествах в цитоплазме и митохондриях. Дыхательная цепь, состоящая из нескольких ферментов, прочно связанных с внутренней мембраной митохондрий, осуществляет окисление митохондриального NADH кислородом:



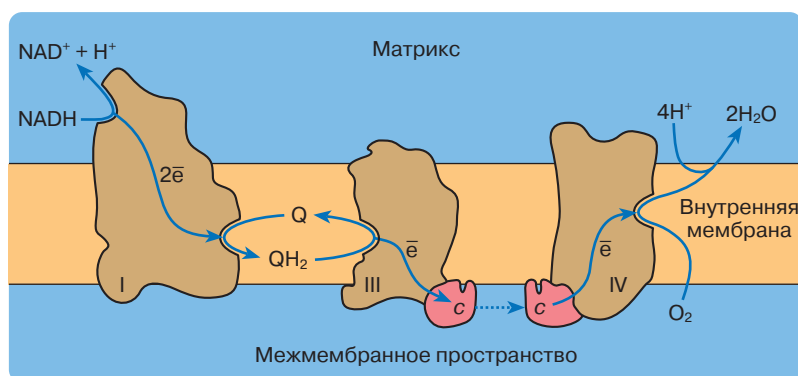
В присутствии кислорода два электрона в молекуле NADH стремятся перейти к молекуле кислорода, и такой переход сопровождается освобождением энергии. Восстановленная форма NADH устойчива и без ферментов не окисляется кислородом. “Водород” (два электрона и протон) в молекуле NADH так же химически устойчив, как химически инертен газообразный водород ( $\text{H}_2$ ) в смеси с газообразным кислородом ( $\text{O}_2$ ). Такая смесь, однако, известна под названием “гремучий газ”, и достаточно искры, чтобы произошел взрыв — мгновенное образование воды, сопровождающееся огромным выделением энергии в виде тепла. Задача, стоящая перед ферментами дыхательной цепи, такова: необходимо провести взрыв так, чтобы освобождающаяся энергия была запасена в форме, пригодной для совершения работы — синтеза АТФ. Уместно подчеркнуть, что ферменты дыхательной цепи замечательны не столько тем, что они, как и всякие другие катализаторы, увеличивают скорость химической реакции (многие окислительно-восстановительные реакции мгновенно протекают в водных растворах и без ферментов), сколько тем, что они упорядоченно переносят электроны от одного компонента к другому (в конечном счете на кислород), постепенно понижая потенциал “водорода” и запасая энергию.

Проследим теперь путь двух электронов от NADH к кислороду, оставляя пока в стороне энергетику этого процесса. Суммарный процесс разбит на три стадии, каждая из которых катализируется тремя липопротеидными комплексами, встроенными во внутреннюю мембрану митохондрий. Каждый комплекс (I, III и IV) представляет собой весьма крупное образование, построенное из многих полипептидных цепей. Комплекс I, например, состоит из более чем 40 таких цепей (субъединиц) и имеет молекулярную массу около 1 млн. Комплексы плавают в фосфолипидном море мембраны, так что верхушки и дно этих айсбергов контактируют с водными фазами матрикса и межмембранного пространства митохондрий (рис. 1). Жидкая липидная фаза разрешает двумерную диффузию комплексов в плоскости мембраны, так что комплексы могут встречаться между собой. Каждый комплекс катализирует окислительно-восстановительную реакцию – перенос электронов и, следовательно, как уже отмечалось, содержит в своем составе простетические группы, способные принимать и отдавать электроны. Эти группы представлены разнообразным набором химических структур. Комплекс I содержит в своем составе флавин (производное витамина рибофлавина) и более 20 атомов железа, упакованных в клетки, построенные из атомов серы. Комплекс III содержит железо как в серных клетках, так и в виде комплексов с порфиринами – сложными гетероциклическими молекулами, содержащими четыре атома азота. Такие комплексы называются гемами, а комплексы гемов с полипептидными цепями – цитохромами. В состав комплекса IV (дыхательный фермент Варбурга, цитохромоксидаза) помимо двух различных гемов входят несколько атомов меди, прочно связанных с белком. Кроме этих трех гигантских образований в состав дыхательной цепи входят еще два компонента. Один из них – небольшой белок (молекулярная масса около 13 тыс.), содержащий ковалентно связанный гем – цитохром c.

Другой – нерастворимое в воде “жирное” соединение – убихинон, способное выполнять в гидрофобной фазе мембраны такую же функцию, какую выполняет NAD в водном окружении цитоплазмы или матрикса митохондрий, – запасать атомы водорода:



Убихинон (как окисленный, так и восстановленный) совершенно нерастворим в воде, но хорошо растворяется в средах с низкой диэлектрической постоянной (“жирные” среды). Длинный хвост убихинона, по-видимому, вытянут в плоскости

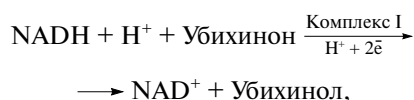


мембрана митохондрий содержит еще несколько компонентов дыхательной цепи, в частности комплекс II – фермент, окисляющий анион янтарной кислоты убихиноном. Этот комплекс не является, однако, преобразователем энергии в том смысле, как это обсуждается в настоящей статье, и поэтому исключен из дальнейшего рассмотрения

**Рис. 1.** Структурная организация компонентов дыхательной цепи – преобразователей энергии. Каждый комплекс (I, III, IV) образован многими полипептидными цепями. Пространство над двойным фосфолипидным слоем, обозначенным желтым цветом, – матрикс митохондрий, под ним – межмембранное пространство. Небольшой белок цитохром c (обозначено c) в окисленном состоянии образует комплекс с комплексом III, а в восстановленном – с комплексом IV. В дополнение к перечисленным комплексам внутренняя

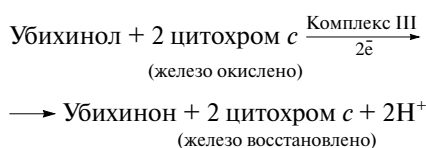
гидрофобного слоя мембраны, а активная голова может располагаться либо в той же плоскости, либо приближаться к поверхностям мембраны, контактирующим с водными фазами. Важное свойство убихинона, которое понадобится нам при дальнейшем рассмотрении, состоит в том, что его голова может восстанавливаться ступенчато, принимая последовательно по одному электрону (и протону). При этом возникает полувосстановленная форма — убисемихинон.

Первая стадия окисления NADH катализируется комплексом I, один активный центр которого контактирует с водной фазой матрикса (внутреннее пространство митохондрий) и связывает NADH. Два электрона, отщепленные от NADH, путешествуют по окислительно-восстановительным компонентам комплекса I и в конечном счете попадают на убихинон, который связывается с другим активным центром, расположенным внутри гидрофобной фазы мембраны. В результате происходит реакция



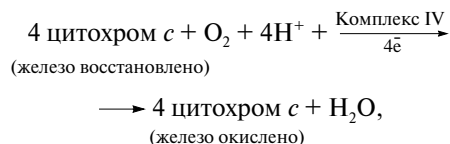
в ходе которой электроны из водного окружения (в молекуле NADH) попадают в “жирную” фазу мембраны (молекула убихинола). Энергетический потенциал (запас энергии) атомов водорода ( $\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ ) в молекуле убихинола существенно ниже, чем в молекуле NADH, и в результате реакции освобождается энергия. Если бы такой процесс проходил в гомогенном растворе (независимо от того, катализировался бы он комплексом I или спонтанно), то энергия выделилась бы в виде тепла. На самом деле энергия реакции запасается, но об этом позже.

Восстановленный убихинон (убихинол) отдает электроны из гидрофобной фазы в водное окружение — на атом железа гема цитохрома *c*. Этот процесс катализируется комплексом III (при этом электроны путешествуют по атомам железа в составе компонентов комплекса):



Энергетический потенциал электронов (теперь в цитохроме *c*) становится еще ниже. Окисленный цитохром *c* хорошо связывается с комплексом III, а восстановленный — с комплексом IV. Это означает, что комплексы III и IV умеют различать белковые молекулы окисленного и восстановленного цитохрома *c* (молекулярная масса около 13 тыс.), отличающиеся друг от друга всего на один электрон, — яркий пример того, что связывание малого по размеру лиганда (в данном случае электрона) способно приводить к изменению конформации белка!

Последняя стадия (теперь в реакцию дыхания вступает собственно кислород) катализируется комплексом IV:



и электроны, пройдя по атомам железа и меди в составе комплекса IV, попадают, наконец, на кислород, связывающийся в активном центре цитохромоксидазы, что приводит к образованию воды.

Суммарная реакция, катализируемая дыхательной цепью, таким образом состоит в окислении NADH кислородом, приводящем к образованию  $\text{H}_2\text{O}$ . Энергетический потенциал электронов в NADH, который по запасу энергии существенно больше, чем даже в молекуле водорода, оказывается плавно спущенным до стабильного состояния в молекуле воды. При этом освобождается энергия, достаточная для синтеза по крайней мере трех молекул АТФ на каждую пару электронов, перенесенных от NADH к кислороду.

## ХЕМИОСМОТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ЗАПАСАНИЯ ЭНЕРГИИ ДЫХАНИЯ

Читатель наверняка обратил внимание на то, что при рассмотрении окислительно-восстановительных реакций (собственно обмен электронами) в уравнениях, описывающих эти реакции, постоянно фигурировала другая заряженная частица — ион водорода, протон ( $\text{H}^+$ ). Этот знаменательный факт, как оказалось, имеет принципиальное значение для понимания сопряжения между окислительно-восстановительными реакциями и запасанием освобождающейся при этом энергии. На возможность создавать высокие концентрации ионов  $\text{H}^+$  в клетках при протекании реакции окисления впервые, по-видимому, обратили внимание в 50-х годах Р. Дэвис (R. Davies), А. Огстон (A. Ogston) и Ю. Конвей (E. Konway) при обсуждении вопроса о механизме секреции кислоты клетками желудка. Если представить себе, что реакции, о которых шла речь, протекают так, что электроны удаляются из раствора, окисление любой органической молекулы приведет к появлению в этом растворе ионов водорода (рН раствора понизится, повысится кислотность раствора). П. Митчелл в 1961 году предложил идею хемиосмотического энергетического сопряжения в дыхательной цепи. Пожалуй, наиболее существенны для понимания принципа хемиосмотического сопряжения следующие положения.

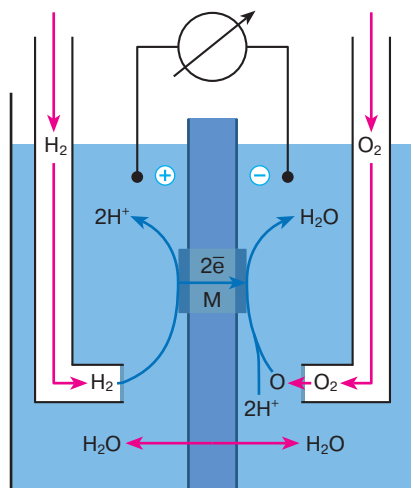
1. Внутренняя мембрана митохондрий, где происходят окислительно-восстановительные реакции дыхания, непроницаема для ионов водорода ( $\text{H}^+$ ) (точнее, протон диффундирует через двойной фосфолипидный слой очень медленно по сравнению со

скоростью потребления кислорода). В то же время мембраны хорошо проницаемы для воды и благодаря электролитической диссоциации  $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$  запас протонов в водных растворах неограничен.

2. Внутренняя мембрана митохондрий асимметрична: одни компоненты дыхательной цепи контактируют с матриксом (например, активный центр комплекса I), другие расположены внутри мембраны (например, убихинон), третьи контактируют с межмембранным пространством (например, цитохром c).

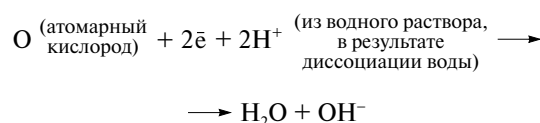
3. Разрушение мембраны не препятствует окислению NADH кислородом, а даже ускоряет дыхание. Энергетическое сопряжение (синтез АТФ) при этом полностью прекращается: происходит разобщение процессов переноса электронов и запасания энергии. Для разобщения необязательно полностью разрушать мембрану — достаточно, сохраняя ее структуру, добавить вещества, резко повышающие проницаемость мембраны для протона.

Для того чтобы понять принцип хемиосмотического сопряжения, предложенный Митчеллом, воспользуемся рассмотрением химического генератора электричества, применяющегося в технике. Представим себе сосуд, разделенный перегородкой, проницаемой для воды и непроницаемой для каких бы то ни было ионов (рис. 2). В перегородку вмонтирован проводник электричества — металл (М), торцовые поверхности которого, обращенные одна в левый, а другая в правый отсек сосуда, покрыты каким-нибудь химическим катализатором (мелко



**Рис. 2.** Схема устройства топливного элемента. Объяснение см. в тексте. Реакции окисления водорода и восстановления кислорода на самом деле значительно сложнее, чем это показано на схеме: первая представляет собой по крайней мере трехстадийный, а вторая — пятистадийный электрохимический процесс

диспергированная платина, никель). Осуществим теперь подачу к левой поверхности металлического проводника водорода ( $\text{H}_2$ ), а к правой кислорода ( $\text{O}_2$ ). Ситуация аналогична той, которая создается в гремучем газе (смеси кислорода и водорода), однако между реагирующими молекулами возможен только электронный контакт (за счет металлического проводника). В результате теплового движения и действия катализатора на левой поверхности проводника будет происходить реакция  $\text{H}_2 \rightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ . Протоны ( $2\text{H}^+$ ) останутся в растворе (перегородка непроницаема для ионов). Электроны отправятся по проводнику к правой поверхности, где при встрече с активированным на правой поверхности кислородом произойдет реакция



Суммарный процесс такого контролируемого окисления водорода кислородом (образование воды) приведет к тому, что перегородка окажется электрически заряженной (два отрицательных заряда слева перенесены направо) и возникнет разница концентраций ионов водорода в обоих отсеках ячейки: слева появится кислота ( $\text{H}^+$ ), а справа — щелочь ( $\text{OH}^-$ )

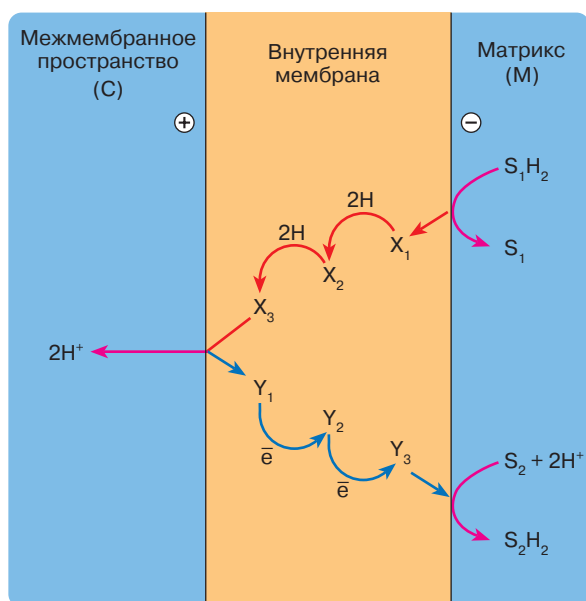
$$\begin{aligned} \Delta E &= \Delta \bar{\mu}_{\text{H}^+} = \\ \begin{matrix} \text{Энергия} \\ \text{окислительно-} \\ \text{восстановительной} \\ \text{реакции} \end{matrix} &= \begin{matrix} \text{Разность} \\ \text{электрохимических} \\ \text{потенциалов} \\ \text{ионов водорода} \end{matrix} \\ &= \begin{matrix} \text{Электрический} \\ \text{потенциал } (\Delta\psi) \end{matrix} + \begin{matrix} \text{Энергия разницы} \\ \text{кислотности в} \\ \text{разных отсеках ячейки} \end{matrix} \end{aligned}$$

Первый член правой части равенства, описывающего энергетический баланс реакции ( $\Delta\psi$ ), — электрическая составляющая запасенной энергии, второй — осмотическая. Очевидно, что, после того как перегородка зарядится (слева +, справа —), процесс прекратится — электроны не побегут по проводнику против электрического поля. Если заряд на перегородке снимать (подключить устройство, потребляющее электрическую энергию, например лампочку), то окисление продолжится, а горение лампочки будет сопровождаться накоплением кислоты слева и щелочи справа. Можно расходовать запасенную энергию ( $\Delta \bar{\mu}_{\text{H}^+}$ ) и по-другому: устроить в перегородке каналы для протонов. В этом случае за счет тока протонов слева направо также можно будет совершать работу. Именно так (за счет тока протонов) устроена молекулярная машина, синтезирующая АТФ.

## КОМПОНЕНТЫ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ — ТРАНСЛОКАТОРЫ ПРОТОНОВ

Каждый из трех комплексов, составляющих дыхательную цепь, работает так, что перенос электронов

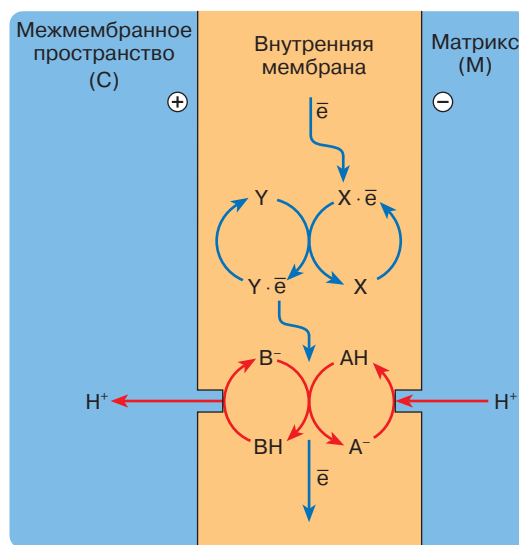
по его компонентам — простетическим группам — сопровождается переносом протонов через сопрягающую мембрану. Возникает вопрос: как хемиосмотический принцип сопряжения реализован в белковых конструкциях комплексов дыхательной цепи? В принципе возможны два варианта таких конструкций. Первый, в качестве гипотезы предложенный П. Митчеллом получил название окислительно-восстановительной петли. Схематически такой механизм изображен на рис. 3. Легко видеть, что этот механизм аналогичен тому, который мы рассмотрели применительно к топливному элементу. Роль металлического проводника выполняют простетические группы комплекса ( $Y_1$ ,  $Y_2$  и  $Y_3$ ), а поверхностей, покрытых катализатором, — его активные центры. Вся система организована в прост-



**Рис. 3.** Схема, иллюстрирующая генерацию  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$  компонентом дыхательной цепи, функционирующим по механизму петли. Красные стрелки — путь атомов водорода, синие — путь электронов. Процесс начинается реакцией восстановителя ( $S_1H_2$ ) с активным центром комплекса, расположенным в матриксе митохондрий (правая часть рисунка). Два атома водорода ( $2H^+ + 2\bar{e}$ ), отщепленные от восстановителя, путешествуют по простетическим группам комплекса ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ) к левой поверхности внутренней мембраны. Здесь судьбы протонов и электронов расходятся: протоны остаются в водной фазе межмембранного пространства, а электроны возвращаются назад по другим компонентам комплекса и попадают на молекулу окислителя ( $S_2$ ), в качестве которого служит какая-либо группа следующего комплекса. В результате в матриксе появляется очередной восстановитель ( $S_2H_2$ ), а на мембране возникает  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ . Реакция дальнейшего окисления  $S_2H_2$  может происходить с участием следующего комплекса дыхательной цепи

ранстве в виде петли, так что электроны дважды пересекают мембрану: один раз вместе с протонами, а другой — сами по себе.

Отметим, что для возникновения  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$  по механизму петли необходимо, чтобы дыхательный комплекс имел в своем составе компоненты, способные переносить H (см. верхнюю часть петли). Анализ качественного состава переносчиков электронов в комплексах, однако, показал, что это не всегда выполняется. Так, например, атомы железа при изменении валентности могут переносить электроны, но неспособны быть носителями протонов. В связи с этим, развивая идеи Митчелла, несколько исследовательских групп предложили вариант функционирования комплексов в качестве генераторов  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$ , который можно назвать протонным насосом.



**Рис. 4.** Схема генерации  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$  компонентом дыхательной цепи, функционирующим как протонный насос. Синие стрелки — перенос электронов, красные — перенос протонов. Пусть компоненты X и Y являются переносчиками только электронов (например, атомы железа, связанные с различными группами белка), а группы A и B — аминокислотные остатки белка, являющиеся слабыми кислотами — акцепторами протона. При этом группы A и B доступны для протонов матрикса митохондрий (справа) и межмембранного пространства (слева) за счет специальных полуканалов, образованных специфической укладкой полипептидных цепей. В силу того что изменения свойств одной группы белка могут приводить к изменению свойств другой (кооперативность), легко допустить, что восстановление X электроном изменит сродство группы A к протону. В результате протон из матрикса попадет внутрь мембраны. Дальнейший перенос электрона на Y можно связать с передачей протона от  $AH^+$  к  $B^-$  и выбросом его через левый полуканал в межмембранное пространство при окислении  $Y \cdot \bar{e}$  каким-либо компонентом следующего комплекса

Принципиальная схема такого насоса показана на рис. 4. В такой модели комбинация пар А, Х и В, У фактически служит в качестве переносчиков атома Н. Для направленного переноса  $H^+$  справа налево протонный насос, очевидно, должен быть снабжен клапанами, не позволяющими протону возвращаться назад в матрикс при окислении, например, группы Х. Принимая во внимание конформационную подвижность белков, сконструировать такой клапан достаточно легко. По-видимому, обе модели — петля и протонный насос — и их вариации реализуются при функционировании дыхательных комплексов.

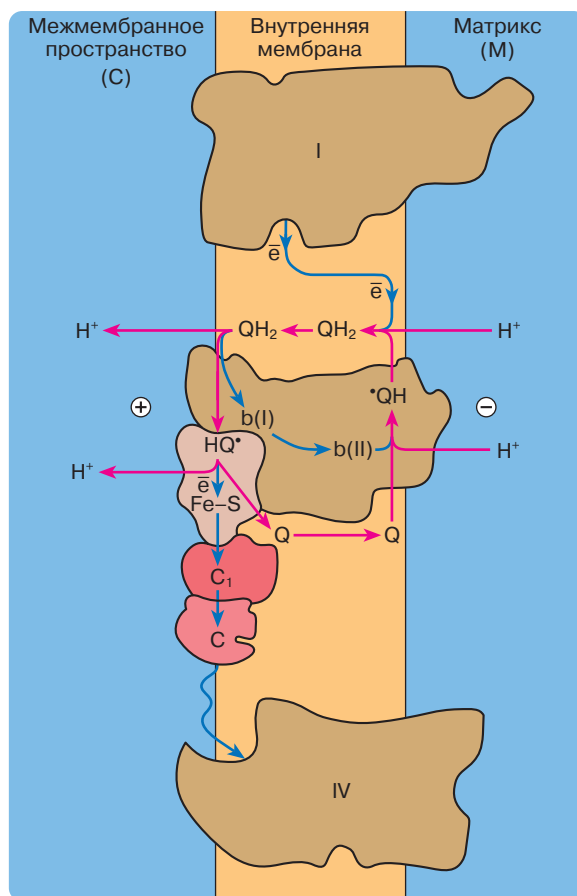
### МЕХАНИЗМ РАБОТЫ КОМПЛЕКСА III

До сих пор мы обсуждали принципы устройства генераторов электричества в дыхательной цепи. Теперь можно рассмотреть работу одного из них более детально на конкретном примере комплекса III, механизм функционирования которого на сегодня изучен лучше всего. Донором электронов для этого комплекса служит восстановленный убинон ( $QH_2$ ), а акцептором — цитохром с. Напомним, что убинон служит переносчиком атомов водорода, а цитохром с, содержащий в качестве простетической группы атом железа в составе гема, может принимать и отдавать только электроны.

Комплекс III (рис. 5) представлен липопротеидом, состоящим из нескольких различных полипептидных цепей. В качестве переносчиков электронов комплекс содержит негемовые атомы железа ( $Fe-S$ ), атом железа в составе гема цитохрома  $c_1$  и два атома железа в составе еще двух различных гемов  $b(I)$  и  $b(II)$ . Активный центр цитохрома  $c_1$  расположен на внешней, обращенной в межмембранное пространство стороне внутренней мембраны митохондрий (там, где находится цитохром с). Последовательность реакций, приводящих к возникновению электричества при работе комплекса III, показана на рис. 5.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Можно с уверенностью сказать, что принципиальное устройство трансформаторов энергии — компонентов дыхательной цепи стало ясным. Более того, принцип хемиосмотического сопряжения Митчелла, как оказалось, работает не только в митохондриях, но при функционировании и других биологических трансформаторов энергии, таких, как, например, светопоглощающие комплексы бактерий и растений, анаэробные дыхательные цепи. Это, конечно, не означает, что проблемы трансформации энергии окислительно-восстановительных реакций в энергию  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$  решены. Даже для наиболее изученных систем остаются вопросы, на которые пока нет ответа. Почему, например, комплексы дыхательной цепи такие большие и построены из десятков индивидуальных полипептидных цепей,



**Рис. 5.** Механизм трансформации энергии окисления убинола цитохромом с в энергию  $\Delta\bar{\mu}_{H^+}$  при работе комплекса III дыхательной цепи. Синими линиями показан путь электронов. Восстановленный убинон ( $QH_2$ ) реагирует с железом гема  $b(I)$  и, восстанавливая его, освобождает протон в водную фазу, сам превращаясь в полувосстановленную форму ( $HQ^*$ ). Электрон от гема  $b(I)$  переносится через мембрану к железу гема  $b(II)$  (см. механизм петли, показанный на рис. 3). Полувосстановленный  $HQ^*$  отдает второй электрон на ( $Fe-S$ ), при этом второй протон оказывается в водной фазе слева, а электрон передается далее на железо цитохрома  $c_1$ , а затем на конечный окислитель — цитохром с. Окисленный убинон, образовавшийся слева, теперь диффундирует назад к той стороне мембраны, которая обращена к матриксу. Здесь убинон получает электрон от гема  $b(II)$  (заметим, что этот электрон исходно принадлежал убинолу) и протон из водной фазы матрикса. Полувосстановленный убинон получает второй электрон от комплекса I и второй протон из матрикса. В мембране получается восстановленный убинол ( $QH_2$ ), и весь процесс начинается сначала. В результате окисления  $QH_2$  цитохромом с освобождающаяся энергия запасается таким образом в виде электрического заряда мембраны и градиента концентрации  $H^+$  по разные ее стороны

ведь собственно реакционные центры, переносящие электроны, представлены сравнительно малыми по размеру молекулами. Скорее всего, белковое окружение необходимо для точной настройки сродства к электрону каждого центра и тем самым для обеспечения строгой упорядоченности процесса. Упорядоченность, по-видимому, достигается и структурным расположением переносчиков электронов внутри и на поверхности белковых глобул. Поразительные успехи рентгеноструктурного анализа белков позволили увидеть полные пространственные структуры комплекса IV (дыхательного фермента Варбурга, состоящего из 13 различных полипептидных цепей). В самое последнее время удалось расшифровать и структуру комплекса III. Почти ничего не известно о механизме генерации “электричества” комплексом I.

Исторически сложилось так, что в течение более чем полувека биохимии и биофизики стремились установить последовательность и выяснить физико-химические закономерности переноса электронов в дыхательной цепи. Опыт изучения других полиферментных систем показывает, что биология начинается тогда, когда перед исследователями встают во-

просы о регулировании процессов. Этот аспект понимания внутриклеточного дыхания только начинает развиваться, и можно с уверенностью сказать, что на этом пути нас ожидают увлекательные открытия.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Ксенжеск О.С., Петрова С.А.* Электрохимические свойства обратимых биологических редокс-систем. М.: Наука, 1986.
2. *Рэкер Э.* Биоэнергетические механизмы: Новые взгляды. М.: Мир, 1979.
3. *Скулачев В.П.* Биоэнергетика: Мембранные преобразователи энергии. М.: Высш. шк., 1989.

\* \* \*

Андрей Дмитриевич Виноградов, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой биохимии биологического факультета МГУ, лауреат Государственной премии СССР. Область научных интересов – энзимология биоэнергетических систем. Автор около 200 статей, опубликованных в российских и международных журналах.