



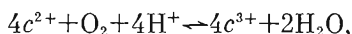
УДК 577.152.191.3

ГЕНЕРАЦИЯ МЕМБРАННОГО ПОТЕНЦИАЛА ЦИТОХРОМ
c-ОКСИДАЗОЙ В ОТСУТСТВИЕ ЦИТОХРОМА *c**Цофина Л. М., Либерман Е. А., Выгодина Т. В.*,
Константинов А. А.**

*Институт проблем передачи информации АН СССР, Москва;
* Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Межфакультетская проблемная научно-исследовательская лаборатория
молекулярной биологии и биоорганической химии им. А. Н. Белозерского*

Исследована способность цитохром *c*-оксидазы генерировать мембранный потенциал за счет аэробного окисления искусственных доноров электронов в отсутствие цитохрома *c*. Найдено, что непроникающий катион гексааминорутений $Ru(NH_3)_6^{2+}$ служит эффективным субстратом окисления в митохондриях, отмытых от цитохрома *c*, и в протеолипосомах с очищенной цитохромоксидазой. Среди ряда других исследованных доноров электронов лишь феназинметосульфат обладал способностью в низких концентрациях поддерживать генерацию разности потенциалов в протеолипосомах со встроенной цитохромоксидазой. Соответственно $Ru(NH_3)_6^{2+}$ и феназинметосульфат являются наиболее эффективными восстановителями цитохрома *a* мембранной цитохромоксидазы в условиях ингибирования цитохрома *a₃* цианидом.

Митохондриальная цитохром *c*-оксидаза (ферроцитохром *c*: кислород оксидоредуктаза) является терминальным ферментом дыхательной цепи митохондрий, катализирующим реакцию



сопряженную с генерацией на внутренней мембране митохондрий разности электрических потенциалов $\Delta\psi$ и градиента концентрации ионов H^+ (ΔpH) [1].

Многие годы считалось, что фермент строго специфичен к цитохрому *c* и кислороду как к донору и акцептору электронов соответственно (о возможных исключениях из этого правила см. работы [2, 3]). Действительно, несмотря на то что многие искусственные редокс-медиаторы, такие, как феназинметосульфат, ферроцианид, TMPD, галогензамещенные хиноны, могут восстанавливать металлосодержащие редокс-центры цитохромоксидазы, в их присутствии наблюдается очень слабое потребление кислорода, которое достигает нормального уровня лишь при добавлении цитохрома *c* или в некоторых случаях других поликатионов [4–6]. Последние, видимо, стимулируют окисление фермента [6]. Несколько лет назад в коммерческих препаратах ингибитора митохондриального транспорта Ca^{2+} рутениевого красного была обнаружена редокс-активная примесь [7], идентифицированная позднее как соль гексааминорутения $Ru(NH_3)_6Cl_3$ [8]. Последующие эксперименты показали, что восстановленный гексааминорутений $Ru(NH_3)_6^{2+}$ может служить эффективным донором электронов для мембранной и солюбилизированной митохондриальной цитохромоксидазы [8, 9], а также восстанавливать митохондриальный цитохром *b*-562 [10]. Однако оставалось неясным, реализуются ли при окислении гексааминорутения цитохромоксидазой те же пути переноса электронов, что и

* *Принятые сокращения:* $\Delta\psi$ — трансмембранная разность электрических потенциалов, TMPD — N,N,N',N'-тетраметил-*n*-фенилендиамин, NEPES — N-2-гидроксиэтилпиперазин-N'-2-этансульфоновая кислота, MOPS — 3-(N-морфолино)пропансульфоновая кислота, TPP⁺ — тетрафенилфосфоний, EDTA — этилендиаминтетрауксусная кислота, диаминодурен — 2,3,5,6-тетраметил-*n*-фенилендиамин.