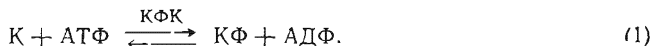


ВЛИЯНИЕ СИНТЕЗА КРЕАТИНФОСФАТА НА МЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МИТОХОНДРИЙ

Е. А. ЛИБЕРМАН, Г. И. ХАЧАТРЯН, Л. М. ЦОФИНА

*Институт проблем передачи информации АН СССР, Москва;
Институт биохимии АН АрмССР, Ереван*

В клетках сердечной мышцы около 30% креатинфосфокиназной активности связано с митохондриями (МХ) [1, 2]. Митохондриальный изофермент креатинфосфокиназы (КФК) локализован на наружной стороне внутренней мембраны [3]. Креатин (К) в присутствии АТФ способен ускорять потребление кислорода МХ сердца [3, 4]. При этом в реакционной среде увеличивается концентрация креатинфосфата (КФ) [3, 4]:



Именно появление АДФ в присутствии субстрата окисления ведет к увеличению скорости потребления кислорода [3] и должно снижать разность потенциалов на мембране МХ [5]. Изучение влияния работы митохондриальной КФК на мембранный потенциал (МП) — цель данной работы

Измерение разности потенциалов при различных концентрациях АДФ и АТФ, К и КФ позволяет также проверить в равновесных условиях, в какой мере правильно предположение о высокой эффективной концентрации АТФ в районе активного центра КФК МХ сердца, сделанное в работе [6] на основе кинетических опытов.

МП митохондрий сердца определяли методом проникающих ионов [5, 7] с помощью тетрафенилфосфония (ТФФ⁺). Измеряли разность потенциалов ($\Delta U_{\text{взм}}$) на пропитанном фосфолипидами (азолектином) мембранном фильтре (сывпор № 8), что позволяло рассчитывать концентрации ТФФ⁺ в среде, которые менялись в зависимости от разности потенциалов на мембране МХ ($\Delta\psi$).

На рис. 1 и 2 показано, что МП снижается на время после добавления АДФ, а затем восстанавливается по мере превращения АДФ в АТФ. Добавка К уменьшает МП на длительное время. Это уменьшение связано с появлением АДФ в результате

реакции (1), так как олигомицин, ингибирующий синтез АТФ в процессе окислительного фосфорилирования, возвращает МП на прежний уровень. Антимидин снимает разность потенциалов на мембране МХ, возникшую при окислении субстратов. КФК-реакция протекает только в присутствии ионов Mg^{2+} или Mn^{2+} , и в среде без Mg^{2+} креатин, добавленный после АДФ, не вызывает изменения МП (рис. 1, 2). Эффекта креатина

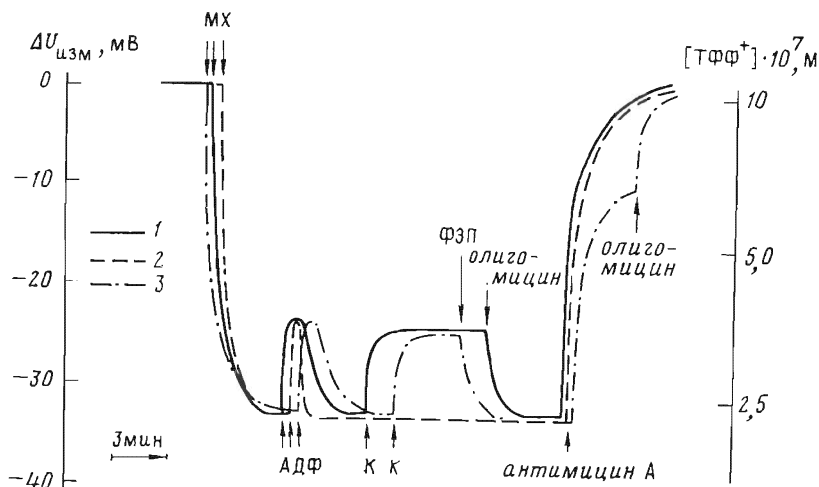


Рис. 1. Влияние АДФ и креатина на мембранный потенциал МХ сердца. 1 — состав среды: 0,25 М сахараза, 3 мМ $MgCl_2$, 5 мМ KH_2PO_4 , 0,2 мМ ЭДТА, 20 мМ трис-НСI рН 7,4, 5 мМ глутамат, 1 мМ малат, 10 мМ сукцинат. Конечные концентрации добавок: МХ ~ 1 мг белка на 1 мл среды, АДФ — 0,2 мМ, креатина — 20 мМ, олигомицина — 2,5 мкг/мл, антимидина — 0,8 мкг/мл; 2 — то же, но среда без Mg^{2+} ; 3 — в среду добавлено 12,5 мкг/мл пируваткиназы, фосфоэнлпируват (ФЭП) — 2 мМ

нет и в присутствии $2 \cdot 10^{-5}$ М 1-фтор-2,4-динитробензола, ингибитора КФК. Это означает, что изменения разности потенциалов, наблюдаемые в опытах с МХ сердца, связаны не с влиянием на мембрану МХ креатина, а именно с КФК-реакцией. На МХ печенки крыс, у которых нет КФК, добавка К не меняет МП.

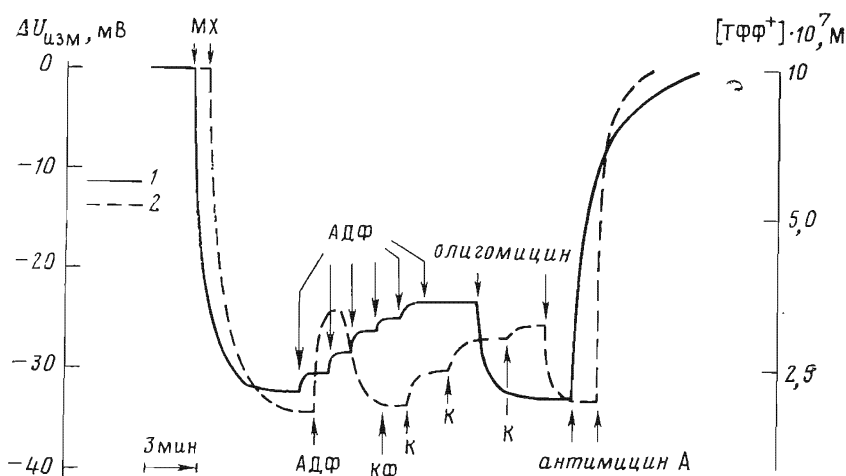


Рис. 2. Зависимость мембранного потенциала МХ сердца от концентраций АДФ. Состав среды, как на рис. 1, 1. Кроме того: 1 — 30 мМ глюкоза+0,5 мг/мл гексокиназа, АДФ — по 50 мкМ; 2 — АДФ — 0,2 мМ, КФ — 4 мМ, К — по 10 мМ

На рис. 2, 1 показана зависимость МП от концентрации АДФ в присутствии системы глюкоза+гексокиназа, поддерживающей высокое отношение $[АДФ]/[АТФ]$ в среде, окружающей МХ сердца. На кривой 2 отношение $[АДФ]/[АТФ]$ в среде поддерживалось добавкой КФ и К. При сравнении кривых 1 и 2 становится ясно, что на МП в обоих случаях влияет главным образом концентрация АДФ в среде. Если бы