

ПРОВЕДЕНИЕ ИОНОВ ВОДОРОДА В ГИДРОФОБНЫХ СТРУКТУРАХ КАК МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ РАЗОБЩИТЕЛЕЙ

А. В. Бабаков, Е. А. Либерман, В. П. Скулачев, В. П. Топалы,
А. А. Шараф, Л. С. Ягужинский

(Отдел биоэнергетики Лаборатории биорганической химии и Кафедра биохимии животных Московского государственного университета, Институт биофизики АН СССР)

Широкий круг химических соединений, определяемых как разобщители, обладает способностью отключать перенос электронов в дыхательной цепи от механизма накопления энергии. В условиях, когда скорость окисления ограничивается сопряженным фосфорилированием, разобщители стимулируют перенос электронов. Мы исследовали механизм действия разобщителей, используя в качестве экспериментальных объектов митохондрии, реконструированную сукцинатоксидазу, искусственные фосфолипидные мембраны и растворы фосфолипидов в гептане.

Митохондрии печени крысы выделяли в растворе сахарозы (0,25 М) и версена (0,001 М) и инкубировали в среде следующего состава: сахароза (0,25 М), КСl (0,02 М), фосфат калия (0,01 М), MgCl₂ (0,005 М), трис-буфер (0,03 М), версен (0,002 М), рН 7. Сукцинатоксидазу реконструировали из очищенных ферментных комплексов: сукцинат-цитохром-с-оксидоредуктазы (получена по Хатефи и др. [6]), цитохромоксидазы (получена по Фоулеру и др. [5]) и цитохрома с. Для получения бимолекулярных искусственных мембран применяли раствор фосфолипидов мозга в гептане (10 мг/мл). В опытах использовали тефлоновый стаканчик с двойной стенкой, в которой проделывалось отверстие диаметром 1—1,5 мм. Промежуток между стенками заполняли раствором фосфолипида. В качестве водной фазы применяли ту же смесь, что при инкубации митохондрий. Дыхание измеряли полярографически, восстановление НАД — флуориметрически, а цитохромов — на спектрофотометре типа Чанса.

Опыты на биологических системах дали следующие результаты.

1. Все разобщители, несмотря на сильные различия в их химической структуре, обладают качественно идентичным эффектом на дыхание митохондрий в отсутствие акцепторов фосфата: по мере повышения количества разобщителя дыхание сначала активизируется, а затем тормозится. Торможение сопровождается переходом НАД(Ф)·Н₂ и цитохромов в окисленное состояние (см. также [3, 4]). Разобщающая активность падает в ряду: *n*-трифторметоксикарбонилцианидфенилгидразон (ФКФ) > метахлоркарбонилцианидфенилгидразон (ХКФ) > тетрахлортрифторметилбензимидазол (ТФБ) > дикумарол > *n*-динитрофенол (ДНФ) = β-оксинафтойная кислота > салициловая кислота.

2. Наиболее активные разобщители (ФКФ, ХКФ, ТФБ) могут стимулировать дыхание митохондрий, а также тормозить дыхание митохондрий и реконструированной сукцинатоксидазы в количествах меньших, чем содержание дыхательных ферментов в опытной пробе...