

РАЗНОСТЬ ПОТЕНЦИАЛОВ НА МЕМБРАНЕ СУБКЛЕТОЧНЫХ ЧАСТИЦ

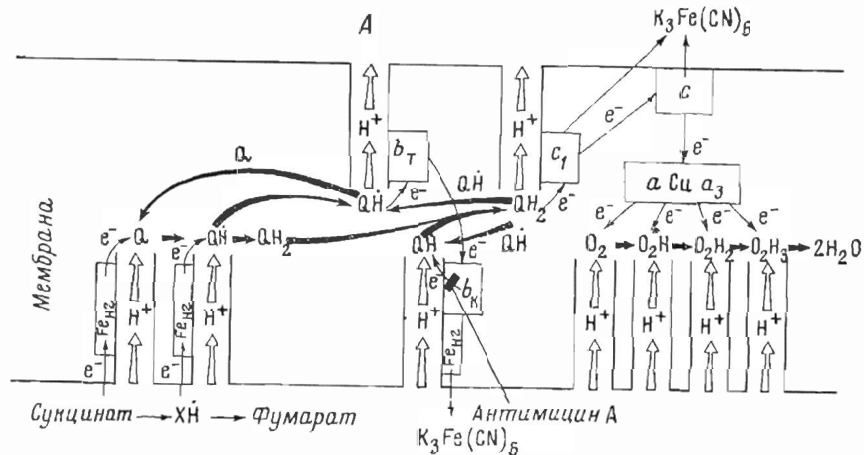
V. ГЕНЕРАЦИЯ РАЗНОСТИ ПОТЕНЦИАЛОВ МИТОХОНДРИЯМИ И СУБМИТОХОНДРИАЛЬНЫМИ ЧАСТИЦАМИ В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ

Е. А. ЛИБЕРМАН, М. А. ВЛАДИМИРОВА, Л. М. ЦОФИНА

Институт проблем передачи информации АН СССР, Москва

В предыдущей работе [1] методом проникающих ионов [2] была продемонстрирована генерация мембранного потенциала (МП) за счет работы только второго пункта сопряжения дыхательной цепи субмитохондриальных частиц (СМЧ). Субстратом окисления служил сукцинат, а окислителем — феррицианид. Причем МП возникал в присутствии антимицина и снимался не только разобщителями окислительного фосфорилирования и аскорбатом, превращающим феррицианид в ферроцианид, но и цианидом [1]. Возможность использования феррицианида в качестве генерирующего МП акцептора электронов на СМЧ была предсказана хемиелектрической гипотезой [3—5], предполагавшей наличие электронного пути возле каждого входного протонного канала (см. на рисунке фрагмент А). Эффект цианида в растворах с рН 7,5 и выше можно было объяснить как в рамках хемиелектрической [4], так и хемосмотической гипотезы [6], если гидрохинон коэнзима Q (QH₂) отдает электроны цитохрому c₁, и антимицин не мешает феррицианиду снимать электроны с цитохрома b_K. Наши опыты показали, что цитохромы b у СМЧ в присутствии сукцината, цианида и антимицина быстро окисляются феррицианидом и что добавка феррицианида в анаэробных условиях вызывает при рН 7,5 и выше генерацию лишь очень небольшого МП.

Концентрацию ФКБ⁻ измеряли с помощью пропитанной фосфолипидами пористой тефлоновой мембраны. Для создания анаэробных условий во время опыта рабочую и измерительную ячейки, разделенные этой мембраной, закрывали пробками с тонким ка-



Влияние кислорода и рН на мембранный потенциал митохондрий и СМЧ. А — схема сукцинатоксидазы митохондрий (хемиелектрическая гипотеза). Изображены два протонных и два электронных канала сукцинатдегидрогеназы, восстанавливающей внутри мембраны коэнзим Q до QH₂ через семихинон (QH[•]). Предполагается, что Q получает электроны от сукцината, а QH[•] — от промежуточного продукта ХН, с которым может взаимодействовать феррицианид. Показано предполагаемое место воздействия антимицина при низкой концентрации. Описание остальной части схемы см. [1, 5]. Б — изменение концентрации анионов фенилдикарбаундекаборана (ФКБ⁻) и потенциала на измерительной мембране при работе отдельных участков дыхательной цепи фосфорилирующих СМЧ из митохондрий сердца быка. Реакционная среда содержала 0,25 М сахарозу, 20 мМ НЕРЕС-буфер рН 7,4 в начале опыта; 20 мМ КН₂РO₄, 0,15 мг/мл каталазы и 1,5 мг белка СМЧ/мл. В — то же, что Б, но рН среды 6,5. Г — изменение концентрации катионов тетрафенилфосфония (ТФФ⁺) и потенциала на измерительной мембране при работе дыхательной цепи митохондрий печени крыс. Реакционная среда содержала 0,125 М сахарозу, 40 мМ КСl, 2 мМ ЭДТА, 5 мМ КН₂РO₄, 3 мМ MgCl₂, 30 мМ трис-НСl рН 7,5, 1 мг белка МХ/мл. Конечная концентрация добавок: 2,5 мМ НАД[•]Н (+алкогольдегидрогеназа 0,2 мг/мл+1% спирт); 1 мМ НАДФ[•]Н; 1 мМ НАД⁺; 10 мМ фумарат; 10 мМ аскорбат; 1 мМ АТФ; 0,1 мМ АДФ; 10 мМ K₃Fe(CN)₆; 0,5 мМ Н₂O₂; 5·10⁻⁶ М ротенон; 1,3 мкг/мл антимицина; 2 мМ KCN. Жирными стрелками показан момент прекращения доступа кислорода