

В.П. Скулачев

**Мембранные
преобразователи энергии**

Биохимия мембран

**Москва
«Книга по Требованию»**

УДК 57
ББК 28
В11

B11 **В.П. Скулачев**
Мембранные преобразователи энергии: Биохимия мембран / В.П. Скулачев –
М.: Книга по Требованию, 2021. – 270 с.

ISBN 978-5-458-48435-0

Книга продолжает серию, посвященную изложению современного состояния биохимии мембран. В ней рассмотрено соотношение протонного потенциала и АТФ. Даны представления о белках-генераторах протонного потенциала: дыхательных ферментах, бактериородопсине и ферментах фотосинтетических редокс-цепей. Описаны проблемы механизма действия H^+ -АТФ синтазы и пространственной организации мембранный энергетики клетки. Приведены новейшие данные по «натриевой энергетике» бактерий. Рассмотрены эволюционный и регуляторный аспекты мембранный энергетики.

ISBN 978-5-458-48435-0

© Издание на русском языке, оформление

«YOYO Media», 2021

© Издание на русском языке, оцифровка,

«Книга по Требованию», 2021

Эта книга является репринтом оригинала, который мы создали специально для Вас, используя запатентованные технологии производства репринтных книг и печати по требованию.

Сначала мы отсканировали каждую страницу оригинала этой редкой книги на профессиональном оборудовании. Затем с помощью специально разработанных программ мы произвели очистку изображения от пятен, кляксы, перегибов и попытались отбелить и выровнять каждую страницу книги. К сожалению, некоторые страницы нельзя вернуть в изначальное состояние, и если их было трудно читать в оригинале, то даже при цифровой реставрации их невозможно улучшить.

Разумеется, автоматизированная программная обработка репринтных книг – не самое лучшее решение для восстановления текста в его первозданном виде, однако, наша цель – вернуть читателю точную копию книги, которой может быть несколько веков.

Поэтому мы предупреждаем о возможных погрешностях восстановленного репринтного издания. В издании могут отсутствовать одна или несколько страниц текста, могут встретиться невыводимые пятна и кляксы, надписи на полях или подчеркивания в тексте, нечитаемые фрагменты текста или загибы страниц. Покупать или не покупать подобные издания – решать Вам, мы же делаем все возможное, чтобы редкие и ценные книги, еще недавно утраченные и несправедливо забытые, вновь стали доступными для всех читателей.

От автора

Вот уже двадцать пять лет я читаю студентам биологического факультета МГУ курс биоэнергетики. В разное время фрагменты этого курса были опубликованы в книгах «Аккумуляция энергии в клетке», «Трансформация энергии в биомембранах», «Рассказы о биоэнергетике» и «Энергетика биологических мембран». Последняя из названных книг, задуманная как исчерпывающий обзор главных аспектов новой отрасли физико-химической биологии и потому включившая наибольший объем информации, адресовалась научным работникам — биохимикам, биофизикам и цитологам. Данное пособие — сокращенный вариант, рассчитанный на более широкий круг читателей, прежде всего студентов-биологов. В изложении материала опущены многие детали, интересные лишь для узкого круга биоэнергетиков. В то же время структурные и функциональные особенности основных мембранных преобразователей энергии рассмотрены достаточно подробно, чтобы читатель получил цельное представление об устройстве и назначении этих биологических систем.

Пользуюсь случаем выразить свою искреннюю признательность О. О. Малаховской, М. И. Мокеевой и С. А. Богословскому за большую помощь в подготовке рукописи и публикации.

В. П. Скулачев

Введение

Биологические науки можно классифицировать по трем основным критериям: уровню сложности изучаемого объекта, природе биологической функции, подлежащей исследованию, и методологии исследования. Использование этих критериев в качестве трех пространственных координат позволило изобразить «здание биологии» (рис. 1). Как показано на рисунке, здание получилось восьмиэтажным при условии, что каждый уровень сложности занимает свой этаж.

На самом верхнем этаже располагаются исследования *биосферы*. Под ним — *экология*, изучающая сообщества различных видов живых существ. Следующий, шестой этаж отведен группе биологических наук, изучающих отдельные виды животных, растений и бактерий и их систематику в целом. Среди этих наук — классическая зоология, ботаника, микробиология и вирусология. Все их можно объединить названием «биология видов», чтобы отличить от наук, размещенных на более высоких и более низких этажах. Далее располагаются *анатомия* и *физиология* — науки, изучающие структуру и жизнедеятельность индивидуального организма и его органов. Следующий очень важный уровень — *живая клетка*, соответствующая наука — клеточная биология, или цитология. Исследования на внутриклеточных органеллах и их фрагментах, гомогенатах, «тепнях» клеток и других бесклеточных надмолекулярных системах могут быть определены термином «субклеточная биология». Изучение функционирующих макромолекул и их комплексов составляет предмет *молекулярной биологии*. Это последний, самый простой уровень, где еще не утрачена биологическая функция.

Структура и физико-химические характеристики веществ, составляющих живой организм, изучаются на первом этаже. В подавляющем большинстве случаев объектом исследования служат органические соединения. Поэтому соответствующая наука получила название *биоорганической химии*. Некоторые из веществ биологического происхождения относятся к неорганическим. Применительно к таким системам можно было бы говорить о бионеорганической

химии, однако это направление вряд ли оправдано выделять в особую науку ввиду малочисленности объектов исследования.

Такова классификация «горизонтальных» наук, отличающихся по уровню организации изучаемой системы; «вертикальные» науки классифицируются по функциональному принципу.

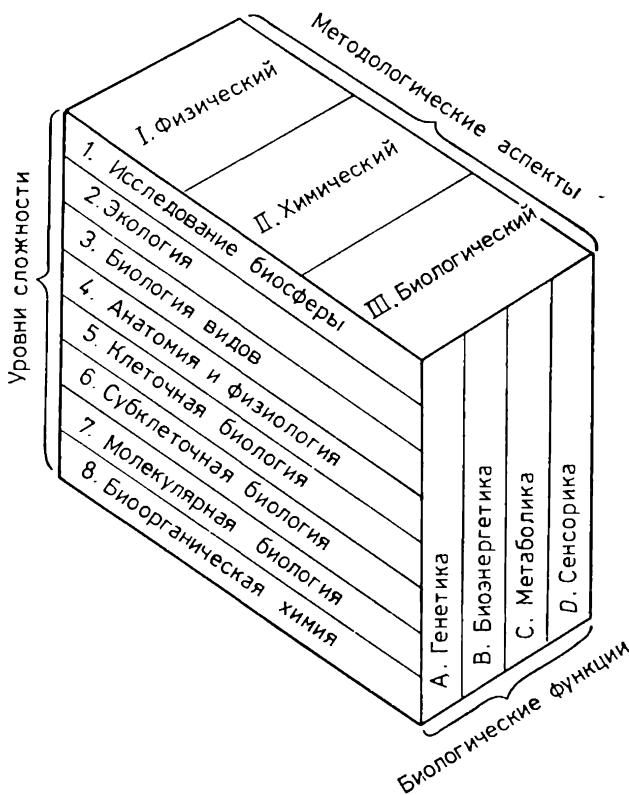


Рис. 1. «Здание биологии» (соотношение различных биологических наук)

К наиболее важным функциям, присущим всем живым существам, можно отнести следующие:

- 1) *самовоспроизведение* — запись, хранение и использование генетической информации;
- 2) *энергообеспечение* — получение энергии за счет внешних энергетических ресурсов;

3) *превращение веществ* — использование химических соединений окружающей среды для образования компонентов своего тела;

4) *раздражимость* — способность принимать и обрабатывать сигналы, поступающие из внешней и внутренней сред организма, и адекватно отвечать на эти сигналы.

Каждую из этих функций можно изучать на объектах различной степени сложности.

Науку, изучающую функцию энергообеспечения, можно определить как *биоэнергетику*.

В этом смысле *биоэнергетика* есть отрасль функциональной биологии, изучающая *превращение энергии внешних ресурсов в биологически полезную работу*.

В соответствии с таким определением следует различать молекулярную биоэнергетику, биоэнергетику клетки, целостного организма, биоценоза и биосфера.

Продолжая функциональную классификацию, необходимо определить науку, изучающую обеспечение живых систем веществами и превращения этих веществ. Названную область обычно рассматривают как часть биохимии или, в более узком смысле, энзимологии и т. п.

Если, однако, принять во внимание огромное значение функциональной биологии, которая, по существу, интегрирует знания, полученные «горизонтальными» биологическими науками, то окажется оправданным присвоение ранга самостоятельной науки каждому из четырех направлений, связанных с исследованием перечисленных выше важнейших биологических функций. По аналогии с генетикой и биоэнергетикой науку, исследующую метаболизм как превращение веществ, можно было бы назвать «метаболикой». Соответственно, будущая наука, призванная объединить биохимические, физиологические и прочие исследования по восприятию, передаче и обработке сигналов различных сенсорных систем, могла бы получить имя «сенсорика».

Еще один способ классификации биологических наук основывается на *методологии исследования*. Здесь нужно выделить три главных направления: физическое, химическое и биологическое. В первом случае соответствующая наука определяется как биофизика, во втором — как биохимия. Что касается собственно биологической методологии, то ее можно иллюстрировать такими подходами, как эволюционный, фило- и онтогенетический, учение об естественном отборе и т. п.

«Здание биологии», показанное на рис. 1, при необходимости может быть достроено. Например, увеличение роли математического подхода должно в будущем привести к необходимости выделить не три, а четыре методологических раздела.

Схема, изображенная на рис. 1, рассматривает лишь фундаментальные аспекты биологии. Для прикладной биологии, или биотехнологии, необходимо сконструировать отдельное здание.

Любое биологическое исследование фундаментального плана может найти свое место в обсуждаемой схеме. В частности, предметом данной книги служит рассмотрение проблем, расположенных в «помещениях» В, I—III, 5—8. Эти координаты означают физический, химический и биологический аспекты биоэнергетики на уровнях организаций от клетки до органических и неорганических молекул биологического происхождения.

В дальнейшем изложении внимание будет сконцентрировано на мембранных биоэнергетических системах, поскольку именно они занимают центральное положение в процессах получения конвертируемой энергии, которая утилизируется живой клеткой.

Основные понятия мембранный биоэнергетики

1

1.1. Мембранные с точки зрения биоэнергетики

Биологические мембранные представляют собой природные пленки толщиной 5—7 нм, состоящие из белков и липидов. *Липидный компонент* биомембран более или менее стандартен: это фосфолипиды или (реже) глико- и сульфолипиды. *Белок* — тот компонент, который, как правило, определяет специфику мембраны.

Среди мембранных белков можно найти многие ферменты, переносчики, пигменты и рецепторы. Взаимодействие процессов, осуществляемых всеми этими биологически активными компонентами, лежит в основе функционирования мембранных структур клетки.

Важнейшей функцией многих биомембран служит превращение одной формы энергии в другую. Эта функция осуществляется специальными белками, которые встроены в особого типа мембрану, называемую *энергопреобразующей*. Такая мембрана не проницаема для подавляющего большинства веществ, находящихся в растворах по обе стороны.

Любая мембрана, выполняющая энергетическую функцию, способна к превращению *химической энергии* окисляемых субстратов или АТФ, либо *энергии света* в электрическую энергию, а именно в *трансмембранные разности электрических потенциалов* ($\Delta\phi$) или в *энергию разности концентраций веществ*, содержащихся в разделенных мембранных растворах. Энергию, заключенную в разности концентраций растворенных веществ, часто называют *осмотической энергией*.

Некоторые энергопреобразующие мембранные могут превращать электрическую или осмотическую энергию в механическую, как это наблюдается у подвижных прокариот. Определенные ткани теплокровных животных, а также некоторые растения превращают накопленную энергию в тепло в целях терморегуляции, что оказывается биологически оправданным при понижении окружающей температуры.

Среди энергопреобразующих мембран, имеющих наибольшее биологическое значение, можно назвать такие структуры, как *внутреннюю мембрану митохондрий, внутреннюю (цитоплазматическую) мембрану бактерий, внешнюю мембрану клеток эукариот, мембрану бактериальных хроматофоров, тилакоидов хлоропластов и цианобактерий, вакуоллярную мембрану (тонопласт) растений и грибов.*

Не все биомембранные могут превращать одну форму энергии в другую. Некоторые из них не обладают энергетическими функциями. Таковы, в частности, внешние мембранные митохондрий и грам-отрицательных бактерий. В обеих названных мембранных содергится особый белок — *порин*, образующий в них довольно большие поры, проницаемые для низкомолекулярных соединений. Внешние мембранные митохондрий и бактерий служат барьером, не проницаемым для белков, растворенных в пространстве между внешней и внутренней мембранными. Кроме того, внешние мембранные содержат некоторые якорные белки, специфически связывающие наподобие рецепторов определенные компоненты цитозоля (в случае митохондрий) или внешней среды (в случае бактерий). Некоторые из рецептор-подобных белков были идентифицированы с поринами.

В животных клетках порин обнаружен только во внешней мембрани митохондрий. Однако по меньшей мере еще одна мембрана в этих клетках напоминает внешнюю митохондриальную, будучи проницаема (*in vitro*) для небольших гидрофильных молекул. Это мембрана пероксисом (возможно, однако, что данное свойство есть артефакт выделения пероксисом).

Внешняя мембрана оболочки хлоропласта, по-видимому, гомологична внешней мембране митохондрий и бактерий.

Традиционно мембранные эндоплазматической сети и аппарата Гольджи, а также мембранные клеточного ядра считаются не способными к трансформации энергии. Однако недавно были получены указания на то, что в аппарате Гольджи энергия АТФ может использоваться для создания градиента pH между цитозолем и внутренним объемом этих замкнутых мембранных структур. Это наблюдение заставляет вернуться к вопросу о возможной энергопреобразующей функции мембранных эндоплазматической сети и ядра, родственных мембранным аппаратам Гольджи.

Современное состояние проблемы биоэнергетической классификации мембранных животной клетки представлено на рис. 2.

1.2. Сопрягающие ионы

В огромном большинстве случаев преобразование энергии в биомембранных описывается следующей общей схемой:

Энергетические ресурсы $\rightarrow \Delta \bar{\mu}I$ \rightarrow работа, (1)

где $\Delta \bar{\mu}I$ — трансмембранные разности электрохимических потен-

циалов иона I. (Физическая природа $\Delta\bar{I}$ будет рассмотрена ниже, применительно к $\Delta\bar{H}$; см. разд. 1.3.) Схема (1) означает, что энергетические ресурсы, потребляемые мембранный системой, сначала используются для транспорта иона I через мембрану против сил электрического поля и в направлении большей концентрации I. Этот процесс называют *энергизацией мембраны*. Затем энергия, накопленная в электрической и осмотической формах, используется в качестве движущей силы, чтобы совершать ту или иную полезную работу.

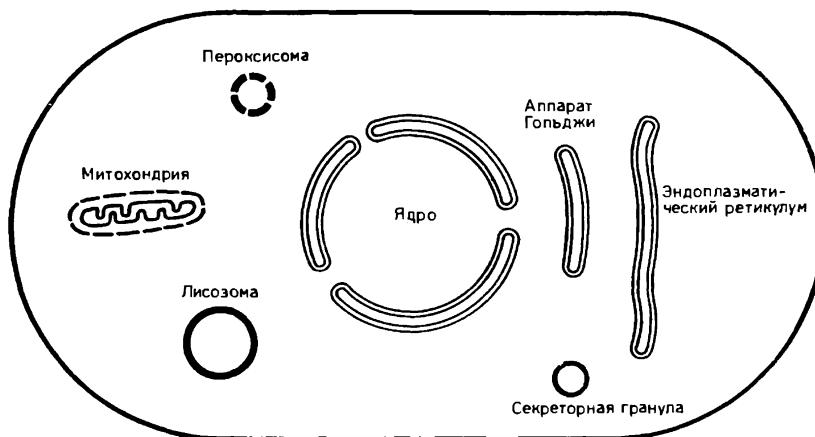


Рис. 2. Мембранные структуры животной клетки:

темными сплошными контурами показаны мембранны, преобразующие энергию, темными прерывистыми — свободные от энергетических функций, светлыми — мембранны, участие которых в превращениях энергии недостаточно ясно

Таким образом, процессы утилизации внешней энергии и совершения за ее счет работы оказываются сопряженными через образование и использование $\Delta\bar{I}$. Поэтому ион I может быть назван *сопрягающим ионом*.

До недавнего времени общепринятым было мнение о том, что в энергопреобразующих мембранных роль сопрягающего иона играет H^+ (как это было постулировано Питером Митчелом, 1961). Единственным исключением считали внешнюю мембрану животной клетки, которая использует не H^+ , а Na^+ в качестве иона, сопрягающего гидролиз АТФ с аккумуляцией различных метаболитов внутри клетки.

Однако недавние исследования показали, что Na^+ заменяет H^+ в процессах энергизации мембраны определенных бактерий, а $\Delta\bar{Na}$ может использоваться для осуществления всех тех типов полезной

работы, для которых требуется мембрана. Следовательно, H^+ не уничтожен в качестве сопрягающего иона (см. гл. 7).

Известно еще несколько ионов, помимо H^+ и Na^+ , которые также могут транспортироваться через мембрану против силы их электрохимического градиента. Например, в эндоплазматическом ретикулуме мышц и ряде других тканей, а также во внешней мембране многих клеток содержится Ca^{2+} -АТФаза, переносящая ионы Ca^{2+} с использованием энергии АТФ. Однако роль этого процесса ограничивается понижением концентрации Ca^{2+} в цитозоле, а образующаяся $\Delta\mu Ca$ никогда не используется для совершения какой-либо работы. Это же справедливо для ионов K^+ , транспортируемых Na^+/K^+ или H^+/K^+ -АТФазой (см. разд. 4.5.3 и 7.1.3), а также для ионов Cl^- , переносимых галородопсином (см. разд. 3.5.7).

Классификация мембран приведена ниже. В группах А и Б перечислены *сопрягающие мембранны*. Все эти структуры специализированы на сопряжении освобождающих и потребляющих энергию процессов посредством образования и использования $\Delta\mu H$ (группа А) или $\Delta\mu Na$ (группа Б). В группе В объединены мембранны, для которых образование $\Delta\mu I$ представляется конечным событием процесса преобразования энергии. Это наблюдается в тех случаях, когда функция мембранны состоит в перекачке иона из одного отсека в другой. В группе Г указаны мембранны, для которых можно с уверенностью исключить какие-либо энергетические функции. Случай, когда вопрос о возможных энергетических функциях остается открытым, перечислены в группе Д.

Биоэнергетическая классификация мембран

А. Энергопреобразующие мембранны, использующие H^+ как сопрягающий ион

1. Внутренняя мембрана митохондрий
2. Мембрана тилакоидов хлоропластов
3. Внутренняя мембрана оболочки хлоропласта
4. Внутренняя (цитоплазматическая) мембрана многих бактерий
5. Мембрана бактериальных хроматофоров
6. Внешняя мембрана клеток растений и грибов
7. Мембрана вакуолей (тононаст) растений и грибов
8. Мембрана хромаффинных и некоторых других секреторных гранул животной клетки

Б. Энергопреобразующие мембранны, использующие Na^+ как сопрягающий ион

1. Внешняя мембрана животной клетки
2. Внутренняя (цитоплазматическая) мембрана некоторых морских щелочестойчивых аэробных бактерий и морских анаэробных бактерий

В. Энергопреобразующие мембранны, роль которых ограничивается созданием ионного градиента

1. Мембранны лизосом и, вероятно, также аппарата Гольджи ($AT\bar{\Phi} \rightarrow \Delta\bar{\mu}H$)
2. Внешняя мембрана некоторых животных клеток, например, клеток слизистой желудка ($AT\bar{\Phi} \rightarrow \Delta\bar{\mu}H$)
3. Саркоплазматический ретикулум и другие пузырьки, накапливающие Ca^{2+} ($AT\bar{\Phi} \rightarrow \Delta\bar{\mu}Ca$)

Г. Мембранны, не способные к превращению энергии

1. Внешняя мембрана митохондрии
2. Внешняя мембрана оболочки хлоропласта
3. Внешняя мембрана бактерий
4. Мембрана пероксисом *in vitro*

Д. Мембранны, энергетические функции которых не доказаны, но и не исключены

1. Эндоплазматический ретикулум (микросомы)
2. Мембрана клеточного ядра

1.3. Конвертируемые энергетические «валюты» живой клетки

Энергетические превращения, протекающие в живой клетке, могут быть подразделены на две группы: одни из них локализованы в мембранных, а другие — в немембранных отделах протоплазмы. В каждой из групп используется своя «валюта» для оплаты энергетических затрат. В мембранных это $\Delta\bar{\mu}H$ или $\Delta\bar{\mu}Na$, в немембранных отделах — $AT\bar{\Phi}$ или другие высокозергетические вещества.

Энергия $\Delta\bar{\mu}H$ и $\Delta\bar{\mu}Na$ может обратимо превращаться в энергию $AT\bar{\Phi}$. Процессы такого рода катализируются H^+ - $AT\bar{\Phi}$ -сингтазой (H^+ - $AT\bar{\Phi}$ азой) в «протонных» мембранных, создающих $\Delta\bar{\mu}H$, и Na^+ - $AT\bar{\Phi}$ -сингтазой (Na^+ - $AT\bar{\Phi}$ азой) или Na^+/K^+ - $AT\bar{\Phi}$ азой в «натриевых» мембранных, поддерживающих $\Delta\bar{\mu}Na$.

На рис. 3 приведена схема энергетики живых клеток, которые используют $\Delta\bar{\mu}H$ в качестве мембранный формы конвертируемой энергии. Согласно схеме свет или энергия субстратов дыхания могут утилизироваться ферментами фотосинтетической или дыхательной редокс-цепей или (у галобактерий) бактериородопсином. В результате образуется $\Delta\bar{\mu}H$, которая затем используется для совершения работы, в частности для синтеза $AT\bar{\Phi}$. Субстратное фосфорилирование служит альтернативным механизмом образования $AT\bar{\Phi}$, который не требует $\Delta\bar{\mu}H$. Такое фосфорилирование наблюдается в цепи реакций гликолиза и при окислительном декарбоксировании α -кетоглутаровой кислоты.