

Строение и функциональная организация митохондрий явились предметом интенсивного изучения. Тем не менее, многие важнейшие вопросы, сюда относящиеся, пока не имеют ответа. Специфическая мембранная структура митохондрий, присутствие в них автономной программы синтеза белков (ДНК), механическая активность митохондрий непосредственно связаны с их ролью «силовых станций» клетки.

§ 13.2. Строение и свойства митохондрий

Митохондрии фигурируют во всех аэробных клетках животных и растений, за исключением некоторых примитивных бактерий, в которых функции митохондрий выполняет плазматическая мембрана. Число этих органелл в клетке различно — от 20—24 в сперматозоидах до 500 000 в клетке гигантской амёбы *Chaos chaos*. Число митохондрий характерно для клеток данного вида, по-видимому, при митозе происходит деление митохондрий и их правильное расхождение в дочерние клетки. Во многих клетках митохондрии образуют непрерывную сеть — митохондриальный ретикулум. Форма, структура и размеры митохондрий также варьируют. Они всегда обладают системой внутренних мембран, именуемых *кристами*. На рис. 13.5 схематически изображена структура митохондрии из печени крысы. Длина ее примерно 3 мкм, ширина 0,5—1 мкм. Поэтому она хорошо видна в оптическом микроскопе. Средняя сухая масса 10^{-13} г. Общая площадь поверхности всех крист составляет 16 мкм², внешней мембраны — 13 мкм². В клетке печени содержится примерно 1000 митохондрий, значит, полная поверхность митохондриальных мембран равна примерно 29 000 мкм², что в десять раз превышает поверхность мембраны самой клетки. Внутренность митохондрии, не занятая кристами, заполнена *матриксом*. Митохондрии содержат так называемые «плотные гранулы», по-видимому, возникающие путем аккумуляции различных ионов, в частности Ca^{2+} .

В митохондриях обнаружена ДНК, в них происходит ДНК-зависимый синтез РНК. В митохондриях представлена вся система биосинтеза белка — в них содержатся тРНК, аминоксил-тРНК-синтетазы и рибосомы.

Мембраны митохондрий тоньше большинства клеточных мембран — их толщина порядка 5 нм. Методами электронной микроскопии установлено, что внутренние мембраны и кристы покрыты сферическими или полиэдрическими частицами диаметром 8—10 нм, прикрепленными к мембранам ножками, имеющими размер (2—4) × (4—5) нм². Эти структурные элементы весьма многочисленны, до 10^4 — 10^5 в одной митохондрии, и занимают 10—15% ее объема. На рис. 13.6 показано электронно-микроскопическое изображение крист в митохондрии; видны эти элементарные частицы. Не исключено, однако, что они являются артефактом, возникающим при негативном контрастировании.

Митохондрии содержат 50—60 ферментов, катализирующих реакции ЦПЭ и т. д.

Липиды составляют от 15 до 50% сухой массы митохондрий; 90% липидов — фосфолипиды.

Локализация окислительных ферментов в митохондриях изучалась при разрушении митохондрий детергентами или ультразвуком. Цитохромы и флавопротеиды дыхательной цепи обнару-

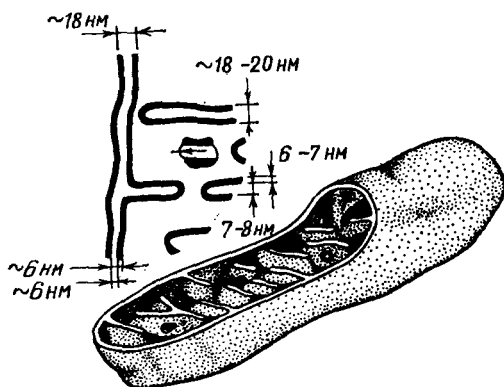


Рис. 13.5. Схематическое изображение митохондрии

живаются в нерастворимых частицах, по-видимому, принадлежащих мембранам. Напротив, ферменты цикла Кребса (дегидрогеназы и др.) содержатся в растворимой части. Отсюда можно сделать заключение, что они локализованы вблизи крист или на них, но легко отделяются.

Кристы образованы впячиванием внутренних мембран. Число и поверхность крист непосредственно связаны с интенсивностью



Рис. 13.6. Электронная микрофотография крист. Верхняя стрелка указывает головку, нижняя — подставку элементарной частицы

клеточного дыхания. Их формы широко варьируют. Митохондрии летательных мышц насекомых содержат развитую поверхность плотно упакованных крист; интенсивность дыхания этих

клеток раз в 20 выше, чем клеток печени, митохондрии которых содержат относительно мало крист. Митохондрия клетки печени содержит примерно 17 000 дыхательных ансамблей, как это следует из количества цитохромов. На каждый $\mu\text{м}^2$ поверхности внутренней мембраны приходится 650 ансамблей, каждый ансамбль занимает площадь $40 \times 40 \text{ нм}^2$.

Фазово-контрастная микроскопия показывает, что митохондрии живых клеток испытывают изменения размеров и формы, связанные с дыханием. Происходят циклы набухания и сокращения двух типов. Обратимый цикл малой амплитуды, в котором объем меняется на 1—2%, наблюдается у всех видов митохондрий *in vitro*. Набухание происходит в отсутствие АДФ в состоянии покоя. При добавлении АДФ происходит сокращение и окислительное фосфорилирование АДФ. Цикл блокируется *разобщителями* окислительного фосфорилирования.

В цикле большой амплитуды объем митохондрии может меняться в несколько раз. Это наблюдается как *in vitro*, так и *in vivo*. Сокращение митохондрий вызывается добавлением АТФ. Процесс непосредственно связан с дыханием — с окислительным фосфорилированием. Наблюдается прямой параллелизм в ингибировании сокращения и окислительного фосфорилирования олигомицином.

Эти механохимические процессы сводятся к превращению химической энергии в механическую работу. Имеется далеко идущее сходство АТФ-азной активности митохондриальных мембран и актомиозиновой сократительной системы скелетных мышц. Сходны их механохимические свойства — сокращение под действием АТФ. Можно было думать, что в мембранах митохондрий присутствуют сократительные белки, подобные актомиозину. Эта гипотеза была подтверждена — сократительный белок удалось выделить из митохондрий. Показано, что сократительные белки участвуют в митохондриальной механохимии, но оказалось, что здесь играет существенную роль и липид мембран — фосфатидилинозитол.

В работах школы Ленинджера было показано непосредственное участие транспорта катионов в функционировании мембран митохондрий. Накопление больших количеств Ca^{2+} , поступающего из окружающей среды, происходит при дыхании и блокируется его ингибиторами и разобщителями окислительного фосфорилирования. Поступление Ca^{2+} связано с количеством поглощаемого кислорода, фосфат также аккумулируется параллельно накоплению Ca^{2+} в отношении $\text{Ca}^{2+} : \Phi_n = 1,67$ (соответствующем оксиапатиту). Электронная микроскопия показывает, что в митохондриях могут накапливаться гранулы фосфата кальция.

Имеется прямое и точное соотношение между аккумулированными количествами Φ_n и Ca^{2+} и числом электронов, проходящих по ЦПЭ. При перемещении каждой пары электронов через каждый из трех центров накопления энергии в цепи аккумулируется 1,67 ионов Ca^{2+} и одна молекула Φ_n . Этот процесс альтер-

нативен окислительному фосфорилированию. Тем самым Ca^{2+} действует как его *разобщитель*.

Малые количества Ca^{2+} , напротив, стимулируют дыхательный процесс. Транспорт Ca^{2+} связан с транспортом катионов H^+ , K^+ и Na^+ .

§ 13.3. Хемосмотическое сопряжение

Как уже сказано, окислительное фосфорилирование в митохондриях сопряжено с ионным транспортом. Это система сопряженных процессов, а не отдельная химическая реакция. Слэйтер (1953) предположил, что в результате окисления возникают *первичные макроэрги* — промежуточные вещества, обладающие избытком свободной энергии и участвующие в фосфорилировании. Такие вещества не были обнаружены и физический механизм предлагаемого процесса не ясен. Химическая гипотеза Слэйтера оставлена.

Широкое признание получила *хемосмотическая теория Митчелла* (1961). Она исходит из трех постулатов.

Во-первых, фосфорилирование происходит только в мембранах, содержащих замкнутые везикулы. Мембрана отделяет внутреннее пространство везикула от внешнего. Она имеет низкую проницаемость для протонов.

Во-вторых, предполагается, что перенос электронов между компонентами ЦПЭ сопровождается переносом протонов сквозь мембрану. Переносчики расположены асимметрично относительно обеих сторон мембраны. Первичным макроэргом является протондвижущая сила:

$$\begin{aligned} \Delta \tilde{\mu}_{\text{H}} &= \tilde{\mu}_{\text{H}}^{\text{вход}} - \tilde{\mu}_{\text{H}}^{\text{выход}} = \\ &= RT \ln [\text{H}^+]^{\text{вход}} / [\text{H}^+]^{\text{выход}} + \mathcal{F} \Delta \psi = -2,3RT \Delta p\text{H} + \mathcal{F} \Delta \psi. \end{aligned} \quad (13.2)$$

В-третьих, предполагается, что $\Delta \tilde{\mu}_{\text{H}}$ определяет синтез АТФ с помощью фермента, связанного с мембраной, — АТФ-синтазы. Фермент действует векторно, образует канал, по которому перемещаются протоны. Синтез одной молекулы АТФ требует прохождения многих протонов.

Фермент работает обратимо. При гидролизе АТФ протоны переносятся назад и мембрана энергизуется.

Прежде чем рассмотреть теорию Митчелла, остановимся на общем термодинамическом описании сопряжения.

При сопряжении двух процессов — окисления (о) и фосфорилирования (ф) — имеем (ср. с. 310)

$$\begin{aligned} J_o &= L_{11} \frac{\mathcal{A}_o}{T} + L_{12} \frac{\mathcal{A}_\phi}{T}, \\ J_\phi &= L_{12} \frac{\mathcal{A}_o}{T} + L_{22} \frac{\mathcal{A}_\phi}{T}. \end{aligned} \quad (13.3)$$