БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ
том 4 * № 1 * 1978

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

УДК 576.311.347
577.15.033

МИТОХОНДРИАЛЬНАЯ АДЕНИННУКЛЕОТИДТРАНСЛОКАЗА

Панов А. В., Ляхович В. В.

Институт клинической и экспериментальной медицины Сибирского филиала Академии медицинских наук СССР, Новосибирск

В обзоре рассматриваются данные по кинетике обмена адениннуклеотидов, влияние на этот процесс энергетического состояния митохондрий, механизм действия специфических ингибиторов адениннуклеотидтранслоказы и свойства этого переносчика. Высказывается точка зрения, что открытие и изучение высокоспецифического обмена адениннуклеотидов через внутреннюю мембрану митохондрий имеет большое значение для понимания механизмов функционирования митохондрий и взаимосвязи между митохондриями и цитоплазмой. На основании имеющихся данных делается вывод, что адениннуклеотидтранслоказа является неотъемлемым компонентом общего механизма окислительного фосфорилирования в митохондриях и местом регуляции энергетического потенциала цитоплазмы и митохондрий. Применение специфических ингибиторов переноса адениннуклеотидов позволило предложить модели функционирования адениннуклеотидтранслоказы как мембранного переносчика.

Структурная организация митохондрий и проблема транспорта АН

Изучение структурной и функциональной организации митохондрий показало, что в соответствии со способностью мембран к проникновению различных веществ можно выделить внутримитохондриальное пространство (матрикс) и межмембранное пространство. Через наружную мембрану большинство молекул проходит путем диффузии. Верхний предел проницаемости соответствует примерно размерам молекул цитохрома *c* (*M* 12 000) [1], поэтому наружная мембрана не может служить барьером для большинства низкомолекулярных веществ. Внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для гидрофильных ионов, в том числе и для ионов H^+ и OH^- [2]. Процесс окислительного фосфорилирования происходит во внутреннем пространстве митохондрий. Поскольку митохондрии способны быстро фосфорилировать $ADP_н$ или гидролизовать $ATP_н$, которые не могут диффундировать через внутреннюю мембрану, появилась необходимость постулировать наличие специального переносчика, осуществляющего перенос ATP и ADP через внутреннюю мембрану.

Выделенные митохондрии содержат сравнительно большие количества ATP, ADP и AMP, суммарная концентрация которых довольно постоянна [3, 4]. При этом часть АН выделенных митохондрий может быть отмыта

Принятые сокращения: $АН_в$ — внутримитохондриальные адениннуклеотиды, $АН_н$ — внемитохондриальные адениннуклеотиды, АНТ — адениннуклеотидтранслоказа, АТК — аттрактиловая кислота (аттрактилозид), КАТ — 4-карбоксиаттрактилозид (4-карбоксиаттрактиловая кислота), БК — бонгкрековая кислота.

или обмениваться на добавленные АН [5]. Изучение с помощью радиоизотопного метода кинетики входа и выхода митохондриальных АН позволило постулировать распределение АН в двух пространствах. Та часть АН, которая локализована в межмембранном пространстве, легко обменивается на $АН_н$ путем диффузии, носящей неспецифический характер, поскольку этот тип обмена зависит не от вида АН, а лишь от концентрации добавленных веществ и происходит очень быстро [6]. Кроме того, был обнаружен также идущий с большой скоростью высокоспецифичный обмен АН, в котором участвуют внутренние мембраны митохондрий [1, 7].

Состояние структуры внутренней мембраны митохондрий определяет характер ее проницаемости для АН. Майснер и Клингенберг [8], инкубируя митохондрии в присутствии P_i, Mg^{2+}, EDTA, показали, что выход АН из матрикса митохондрий осуществляется только с участием специфического переносчика. В этих условиях митохондрии теряли 75—80% эндогенных АН без снижения величины Р/О. Этот тип потери митохондриями АН характеризуется отсутствием выхода пиридиннуклеотидов, инертностью выхода $ADP_в$, и особенно $AMP_в$, и ингибируется небольшими концентрациями добавленных АН (0,02—0,04 мМ) [8]. При повреждении структуры внутренней мембраны, вызываемом набуханием в присутствии P_i, особенно индуцированного ионами Ca^{2+}, гипотонией, старением, наряду со специфическим механизмом наблюдается и неспецифическая потеря АН. При этом выходят не только ATP и ADP, но также AMP и пиридиннуклеотиды [3, 9].

Специфический перенос АН через внутреннюю мембрану митохондрий был установлен и охарактеризован с помощью АН, меченных ^{14}C, ^{3}H и ^{32}P. Для этой цели были разработаны остроумные и достаточно точные методы регистрации быстрой кинетики обмена АН [5—7, 10]. Следует отметить также, что открытие и применение специфических ингибиторов АНТ оказалось очень полезным при изучении обмена АН и свойств переносчика, однако только после установления факта обмена и изучения основных свойств переносчика стало возможным определить точное место действия этих ингибиторов.

Обмен АН

Специфичность обмена. С помощью меченых АН было показано, что весь внутренний фонд АН, представляющий собой сумму ATP, ADP и AMP, за 60—90 мин обменивается на экзогенные АН. При этом обнаруживаются две фазы обмена — быстрая и медленная [5, 11—13]. Быстрая фаза обмена осуществляется менее чем за 1—2 мин и определяется величиной суммы концентраций $ATP_в$ и $ADP_в$. $AMP_н$ обменивается примерно в 100 раз медленнее, чем $ATP_н$ и $ADP_н$ [13], поэтому медленная фаза обмена зависит от скорости превращения $AMP_н$ в $ATP_н$ и $ADP_н$.

Обмен АН проявляет очень высокую специфичность по отношению к ATP и ADP. При добавлении в среду инкубации $ADP_н$ обменивается примерно 80% $ATP_в$ и $ADP_в$, при добавлении $ATP_н$ — 40%, а при добавлении $AMP_н$ — только 6% $ATP_в$ и $ADP_в$ [5]. Дезоксиадениннуклеотиды обмениваются подобным же образом, но с гораздо меньшей скоростью. Аденин, аденозин, производные гуанина, цитидина, инозина вообще не способны обмениваться с $АН_в$ по специфическому механизму [5, 6, 12]. Замена в молекуле ADP рибозного остатка на глюкозу полностью ингибирует процесс обмена [5, 6].

Важной характеристикой обмена АН является постоянство концентрации $АН_в$ [7, 14]. Если не применять специальных методов воздействия, то в процессе инкубации митохондрий концентрация $AMP_в$ остается постоянной [7] и в быстрой фазе обмена участвуют только $ATP_в$ и $ADP_в$. При этом в ходе обмена соотношение концентраций $ATP_в$ и $ADP_в$ может

меняться, но суммарная концентрация остается постоянной [15]. В связи с этим был сделан важный вывод, что в процессе обмена на каждую молекулу $ADP_н$ ($ATP_н$), поступающую из среды в матрикс, из последнего выходит одна молекула $ADP_в$ ($ATP_в$) [4, 5, 15, 16]. При условии постоянства содержания АН в матриксе изменения концентрации $AMP_в$ оказывают влияние на скорости обмена $АН_в$. Так, инкубация митохондрий с арсенатом увеличивает содержание в матриксе $AMP_в$, снижая величину обменного фонда $АН_в$ и скорость обмена. Наоборот, инкубация митохондрий с α-кетоглутаратом оказывает обратное действие на величину обменного фонда $АН_в$ и скорость обмена $АН_н$ [5, 13, 17].

При изменении концентраций $АН_н$ было найдено, что скорости обмена становятся максимальными при следующих концентрациях: $ADP_н$ — 50 мкМ, $ATP_н$ — 100 мкМ; $AMP_н$ обменивается медленно вплоть до 3 мМ концентрации [15]. Константы Михаэлиса для обмена $АН_н$ равны: $ADP_н$ — 1,5—4,0 мкМ [17, 18], для $ATP_н$ — 3,0 мкМ, для комплекса $ATP_н$ — Mg^{2+} — 10 мкМ [17]. При совместном добавлении $ADP_н$ и $ATP_н$ было показано наличие между ними в ходе обмена конкурентных взаимоотношений [18, 19]. При равных концентрациях $ATP_н$ и $ADP_н$ последний обменивается в 10 раз быстрее [6, 17]. Наличие конкуренции между $ATP_н$ и $ADP_н$ в процессе обмена указывает на то, что оба АН используют один и тот же переносчик [5, 17]. Ионы магния ингибируют обмен $ATP_н$ и мало влияют на обмен $ADP_н$, и это свидетельствует о том, что истинными субстратами переносчика являются свободные формы АН [5].

Влияние ингибиторов дыхания и фосфорилирования на обмен АН. Изменение метаболического состояния митохондрий сравнительно мало сказывается на скорости обмена $ADP_н$ [15, 17]. Обмен $ATP_н$, напротив, сильно зависит от энергетического состояния митохондрий [5, 12, 17—19]. Условия, способствующие энергизации митохондрий, тормозят обмен $ATP_н$. К такого рода воздействиям можно отнести добавление субстратов дыхания, P_i, олигомицина. Наоборот, дезэнергизация митохондрий повышает скорость обмена $ATP_н$. Это особенно заметно в исследовании конкуренции обмена с $ADP_н$ [5]. Повышение транспорта $ATP_н$ в митохондрии наблюдается в анаэробиозе, при добавлении ингибиторов дыхания, валиномицина и K^+, но наибольшая стимуляция транспорта $ATP_н$ наблюдается при разобщении окислительного фосфорилирования хлоркарбонилцианидфенилгидразоном [5, 13, 17, 18]. В присутствии этого разобщителя скорость переноса $ATP_н$ может быть даже больше скорости обмена $ADP_н$ [5]. Высказывалось предположение, что различие в обмене $ATP_н$ и $ADP_н$ могло быть вызвано тем, что для $ATP_н$ обменный фонд $АН_в$ меньше, чем для $ADP_н$ [18]. С помощью методов быстрой фильтрации было показано [5], что обменный фонд $АН_в$ одинаков как для $ATP_н$, так и для $ADP_н$ [12, 18, 20].

Кинетика обмена АН. Изучение начальной фазы обмена показало, что, отнесенная к величине $ATP_в + ADP_в$ в матриксе, эта фаза следует кинетике первого порядка [12, 17, 20, 21]. Эти данные соответствуют представлению об обмене как сопряженном противообмене $АН_в$ и $АН_н$ в отношении 1 : 1 [4, 15, 16]. На основании этого факта был также сделан вывод, что обменный фонд АН в матриксе митохондрий является «гомогенным», т. е. $ATP_в$ и $ADP_в$ находятся в свободном состоянии и в равной степени доступны для переносчика [16, 20—22].

Необходимость выделения обменного фонда $ATP_в$ и $ADP_в$ из общего фонда $АН_в$ вызвана тем, что $AMP_в$ практически не участвует в обмене. Он может обмениваться только в той мере, в какой будет иметь место его превращение в матриксе в $ADP_в$ и $ATP_в$ в реакциях аденилаткиназного типа с участием GTP — AMP-фосфотрансферазы (КФ 2.7.4) и GTP — ADP-фосфотрансферазы [11, 13, 23]. Когда осуществляется медленная фаза обмена АН, зависящая от превращения $AMP_в$ в $ATP_в$ и $ADP_в$, она соответствует кинетике второго порядка [11, 13]. Фактическая скорость пе-

реноса АН, выраженная в ферментных единицах (константа нулевого порядка), может быть получена путем умножения скорости первого порядка на величину $АТР_в$ + $АДР_в$ [20]. Таким образом, данные о кинетике обмена АН позволили предположить, что со стороны матрикса сродство переносчика к $АТР_в$ и $АДР_в$ одинаково [21]. На основании этого предположения были сделаны теоретические расчеты скорости фосфорилирования $АДР_н$, хорошо согласующиеся с данными экспериментов [21]. Однако ряд авторов [24, 25] считают, что $АН_в$ находятся в матриксе в связанном состоянии и не принимают непосредственного участия в реакциях фосфорилирования, когда митохондрии находятся в активном метаболическом состоянии.

Обмен АН сильно зависит от температуры. Изучение скоростей фосфорилирования $АДР_в$ и $АДР_н$ и стимулированного разобщителем гидролиза $АТР_в$ и $АТР_н$ показало, что при температурах ниже 14° превращения $АН_в$ лимитируются их транспортом в митохондрии [6, 10, 19, 26, 27]. При 6° скорость фосфорилирования $АДР_в$ более чем в 3 раза превышает скорость фосфорилирования $АДР_н$, а гидролиз $АТР_в$ — более чем в 20 раз [10]. При температурах выше 14—18° скорости фосфорилирования $АДР_в$ и $АДР_н$ становятся равными [6, 28]. Скорость гидролиза $АТР_н$ хотя и возрастает при повышении температуры, но остается ниже скорости гидролиза $АТР_в$ [6, 10]. Из этих данных следует, что высокая температурная зависимость окислительного фосфорилирования и зависимых от него реакций (перенос e^-, уровень окисленности пиридиннуклеотидов) определяется этапом переноса АН, а не функцией АТР-азного комплекса [13, 15]. Изменения pH не оказывают заметного влияния на скорость и специфичность обмена АН в митохондриях в пределах pH 5—8 [5]. Однако величина pH оказывает влияние на характер действия ингибиторов АНТ — КАТ [29] и БК [30].

Транспорт АН как обмен анионов

Выше уже приводились данные об асимметрии переноса АН через внутреннюю мембрану энергизованных митохондрий: со стороны матрикса сродство АНТ к АТР и ADP одинаково, с внешней стороны сродство АНТ больше к ADP, чем к АТР [5, 17, 18]. Поскольку при разобщении окислительного фосфорилирования скорости переноса $АТР_н$ и $АДР_н$ становятся равными, было предположено, что переносчик АН обладает одинаковым сродством к АТР и ADP как с наружной стороны мембраны, так и со стороны матрикса [22]. То, что хлоркарбонилцианидфенилгидразон ускоряет транспорт $АТР_н$ даже в присутствии олигомицина, указывает на способность разобщителя первично влиять на энергизацию митохондрий, а не на превращение АТР в матриксе [22].

На основании данных по прямому изучению обмена АН [12, 15, 19], данных о конкуренции между $АТР_н$ и $АДР_н$ в ходе обмена [18] был сделан вывод, что асимметрия переноса АН является следствием энергизации митохондрий [18, 22], а процесс переноса можно рассматривать как тесно сопряженный обмен анионов [5, 17, 22].

При физиологических значениях pH и в отсутствие ионов магния АН находятся в форме $АМР^{2-}$, $АДР^{3-}$, $АТР^{4-}$ [23]. Исходя из этого можно представить следующие виды обмена АН между матриксом и наружным пространством митохондрий [5, 22]:

Наружное пространство	Мембрана	Матрикс
1. $АДР^{3-}$	$\rightleftharpoons$	$АДР^{3-}$
2. $АТР^{4-}$	$\rightleftharpoons$	$АТР^{4-}$
3. $АТР^{4-}$	$\rightleftharpoons$	$АДР^{3-}$
4. $АДР^{3-}$	$\rightleftharpoons$	$АТР^{4-}$

Как видно из схемы, первые 2 случая представляют электронейтральный, или «гомогенный», обмен АН, а следующие 2 — «гетерогенный» обмен, сопровождающийся переносом одного отрицательного заряда на каждый акт обмена [5]. Гомогенные реакции обмена, по-видимому, не лимитируют скорость обмена АН и протекают в первую очередь [18], однако они не сказываются на наблюдаемых реакциях фосфорилирования ADP или гидролиза АТР. Согласно этой схеме, обмен $АТР_н^{4-}$ против $ADP_в^{3-}$ сопровождается переносом одного отрицательного заряда в матрикс. Эксперименты показывают, что при отсутствии мембранного потенциала митохондрий в условиях анаэробиоза или в присутствии ингибиторов дыхания, даже при наличии олигомицина, препятствующего генерации трансмембранного потенциала АТР-азой, наблюдается самоингибирование поступления $АТР_н^{4-}$ в матрикс [5, 22]. В присутствии разобщителя хлоркарбонилцианидфенилгидразона переносимый в матрикс в ходе обмена отрицательный заряд компенсируется переносом H^+ в том же направлении. Валиномицин + K^+ также стимулируют обмен $АТР_н^{4-}$, но в меньшей степени, чем хлоркарбонилцианидфенилгидразон [5, 22].

Гетерогенный обмен $ADP_н^{3-}$ против $АТР_в^{4-}$ может иметь место при энергизации митохондрий в ходе окислительного фосфорилирования. Плафф и Клингенберг [5] показали, что при наличии положительного заряда на наружной и отрицательного заряда на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий избыточный заряд $АТР_в^{4-}$ в ходе обмена против $ADP_н^{3-}$ движется по градиенту электрического потенциала. Противоположный тип обмена ($АТР_н^{4-}$ против $ADP_в^{3-}$) тормозится, поскольку избыточный отрицательный заряд должен переноситься в этом случае против градиента трансмембранного электрического потенциала [5].

В общем процессе окислительного фосфорилирования или гидролиза $АТР_н$ обмен $АН_н$ должен быть сопряжен с переносом P_i. При движении аниона $H_2PO_4^-$ в том же направлении, что и ADP^{3-}, не должна была бы возникать разность потенциалов в ходе обмена АН. Однако опыты показали, что обмен АН не зависит от присутствия P_i, и наоборот [22]. Более того, было показано, что P_i переносится через внутреннюю мембрану не по градиенту трансмембранного потенциала, а по градиенту pH [31, 32] в виде нейтральной молекулы H_3PO_4. По мнению Клингенберга и др. [22], обмен АН и транспорт P_i сопряжены только статистически.

Специфические ингибиторы АНТ

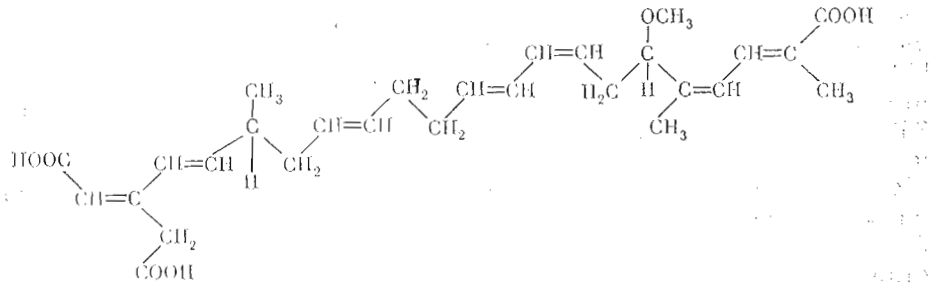
В корнях чертополоха *Atractylis gummifera* был обнаружен гликозид, названный аттрактиловой кислотой [29]. Первоначально считалось, что действие АТК на митохондрии аналогично олигомицину, но вскоре были найдены существенные различия между этими ингибиторами окислительного фосфорилирования, позволившие установить место действия АТК. Эти различия заключались в следующем: 1) олигомицин тормозит окислительное фосфорилирование в интактных и в поврежденных митохондриях. Эффект АТК наблюдается только при использовании интактных митохондрий и снижается при обработке митохондрий дигитонином, дезоксихолатом [33], гипотоническими растворами [34, 35]. Разрушение митохондрий ультразвуком полностью снимает влияние АТК на окислительное фосфорилирование [36]; 2) в отличие от олигомицина АТК ингибирует в интактных митохондриях также и субстратное фосфорилирование при окислении α-кетоглутарата [37—39], хотя само по себе субстратное фосфорилирование не ингибируется АТК [35, 39, 40]; 3) в отличие от олигомицина, который ингибирует окислительное фосфорилирование и АТР-азную активность необратимо, ингибирующее влияние АТК конкурентно по отношению к ADP и АТР [35, 41—44]; 4) олигомицин тормозит дыхание митохондрий, разобщенное арсенатом, АТК — нет [38, 45, 46].

Аналог АТК — 4-карбоксиаттрактилозид (КАТ), известный также под названием «гуммиферин» [29, 47, 48], имеет в 50 раз более высокое сродство к АНТ, чем АТК [49, 50]. Соответствующие константы ингибирования и константы диссоциации комплекса АНТ — ингибитор равны: $K_{i(АТК)}$ $5 \cdot 10^{-7}$ М, $K_{д(АТК)}$ $8 \cdot 10^{-8(-7)}$ М, $K_{i(КАТ)}$ $1 \cdot 10^{-8}$ М, $K_{д(КАТ)}$ $8 \cdot 10^{-9}$ М [29, 49, 51, 52]. Другим важным отличием КАТ от АТК является неконкурентный характер ингибирования транспорта АН [29, 53]. Имеются, однако, данные, что в присутствии $ADP_н$ $K_д$ для КАТ возрастает от $5 \cdot 10^{-9}$ до $1{,}6 \cdot 10^{-8}$ М; это указывает на то, что АН и в присутствии КАТ конкурирует за место связывания на переносчике [50]. АТК и КАТ оказывают действие только с наружной стороны внутренней мембраны митохондрий [8, 54, 55] и ингибируют только поступление, но не выход АН из митохондрий [29, 56]. Кроме того, в ряде работ по связыванию [^{36}S] КАТ с митохондриями и субмитохондриальными частицами была прямо показана асимметрия связывания ингибитора с АНТ [51, 56].

В Индонезии среди местного населения распространен напиток «бонгкрек», который готовится из молока кокосовых орехов. Иногда наблюдались случаи массового отравления людей этим напитком. Было выяснено, что токсический продукт, названный бонгкрековой кислотой (БК), образуется при сбраживании кокосового молока *Streptococcus cocovenans* [57, 58]. Хотя проявление ингибирующего влияния АТК, КАТ и БК на функциональную активность митохондрий одинаково, имеются принципиальные различия в механизмах действия этих соединений. БК ингибирует активность АНТ неконкурентно по отношению к АН [29, 59—61]. АТК и КАТ удаляют $ADP_н$ и $ATP_н$ с мест их связывания на переносчике [55, 62]. БК, наоборот, увеличивает связывание АН с переносчиком, причем АН в свою очередь усиливают связывание БК [61, 62]. Из этого был сделан вывод о конформационных изменениях АНТ под влиянием ADP и БК, поэтому некоторые авторы называют БК аллостерическим ингибитором [29, 50]. БК проявляет очень высокое сродство к переносчику, удаляя с АНТ связанную АТК, но не КАТ [62, 63]. Константа ингибирования транспорта АН при действии БК очень невелика—$(2—8) \cdot 10^{-8}$ М [64]. В отличие от АТК и КАТ, которые в интактных митохондриях ингибирают обмен АН менее чем за 0,5 с [10, 61], БК проявляет действие через несколько минут инкубации [60, 61, 65]. Временная зависимость ингибирования транспорта АН при действии БК определяется температурой и pH. Если при 25° БК ингибирует активность АНТ через несколько минут инкубации, то при 0° БК неэффективна даже после инкубации в течение 15 мин [61, 64]. Еще больше зависит влияние БК на активность АНТ от величины pH. При $pH > 7{,}3$ даже при 25° БК неэффективна [60, 61], а при $pH < 6{,}5$ ингибирование наблюдается даже при 0° [61].

Наличие лаг-периода, характер температурной и pH-зависимости ингибирующего влияния БК на транспорт АН хорошо объясняются особенностями химического строения БК и предположением, что БК связывается с переносчиком со стороны матрикса. По химическому строению БК представляет собой полиненасыщенную трикарбоновую жирную кислоту. Для трех карбоксильных групп измеренные величины pK были примерно равны ($\sim$5,3) [66]. Предполагается, что подобно другим липофильным слабым кислотам БК проникает через внутреннюю мембрану митохондрий в недиссоциированном виде по градиенту pH [61]. Согласно расчетам, концентрация $БК_в$ в 10^3 раз больше, чем $БК_н$, на каждую единицу ΔpH [30].

pH-Зависимость ингибирования переноса АН при действии БК позволяет предположить, что прежде, чем ингибитор свяжется с АНТ, он должен проникнуть в матрикс через липидную фазу мембраны [61]. Температурную зависимость эффективности БК с этой точки зрения нужно рассматривать как результат изменения подвижности БК в липидной фазе [30, 63].



Бонгкрековая кислота. Изомер БК — изобонгкрековая кислота отличается конфигурацией дикарбоксильного конца молекул. БК — *транс*-изомер, изоБК — *цис*-изомер

Изучение влияния АТК, КАТ и БК на связывание и обмен АН в ультразвуковых субмитохондриальных частицах обнаружило ряд важных особенностей АНТ. Озвучивание митохондрий сильно инактивирует переносчик [63], тем не менее связывание и обмен АН проявляют чувствительность к ингибиторам. АТК и КАТ тормозят обмен только в том случае, если они были добавлены к митохондриям до озвучивания [51, 56, 63]. С другой стороны, БК оказывает на субмитохондриальные частицы действие менее чем за 0,2 с и вне зависимости от величины pH среды [63, 67]. Эти данные свидетельствуют о наличии асимметрии переносчика, которая проявляется в различной чувствительности его к ингибиторам. Со стороны матрикса АНТ имеет умеренное сродство к ADP и ATP, очень низкое — к АТК и КАТ и высокое — к БК, со стороны цитоплазмы умеренное сродство к ADP и ATP, высокое — к АТК и КАТ и низкое — к БК. Этот тип асимметрии, по мнению Клингенберга и др. [68], является свойством переносчика и отличается от асимметрии переноса ADP и ATP, которая представляет собой результат энергизации мембраны митохондрий.

АТК, КАТ и БК сыграли большую роль в выяснении механизма обмена АН и АН-зависимых реакций в митохондриях. Эти ингибиторы обычно применяются: 1) с целью быстро останавливать обмен АН в интактных митохондриях и субмитохондриальных частицах. Для этого лучше использовать КАТ и БК; 2) для изучения с помощью АТК и КАТ начальной кинетики обмена АН в интактных митохондриях, а с помощью БК — в субмитохондриальных частицах [63]; 3) для установления локализации реакций в митохондриях, в которых участвуют АН. Например, так была установлена локализация цитруллинсинтетазы [69] и митохондриальной РНК-полимеразы [70]; 4) для выделения и идентификации АНТ из митохондриальных экстрактов [71, 72].

Ингибирование транспорта АН ацил-производными CoA

Интерес к АНТ как месту регуляции энергетического обмена в клетке возрос после того, как было установлено, что эфиры жирных кислот и CoASH являются мощными конкурентными ингибиторами транспорта ATP и ADP через внутреннюю мембрану митохондрий [73—78]. Этот вопрос более подробно рассматривается в ранее опубликованных обзорах [79, 80]. В ряде работ было показано, что добавление небольших концентраций олеата к митохондриям печени вызывает ингибирование DNP-стимулированной АТР-азы и ряда других процессов, зависящих от переноса АН через внутреннюю мембрану митохондрий [81—83]. Позднее было доказано, что ингибирование транспорта АН обязано не непосредственному влиянию жирных кислот, а образовавшимся из них ацил-CoA [73, 76]. Причем оказалось, что наибольшей эффективностью обладают эфиры жирных кислот с 12—18 углеродными атомами [76, 84, 85], в то время как октаноил-

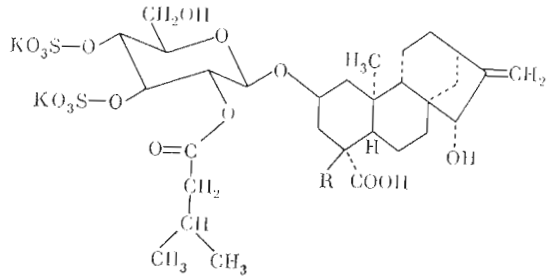
CoA и другие ацил-CoA с более короткой цепью неэффективны при 50 мкМ концентрациях, а ацетил-CoA вообще неэффективен как ингибитор АНТ [76, 85]. Способность ацил-CoA ингибировать транспорт АН не зависит от степени ненасыщенности жирных кислот и их стереоспецифичности [84, 85]. Наиболее сильные ингибиторы среди ацил-CoA — пальмитоил-CoA и олеоил-CoA оказывают такое же влияние на транспорт АН, как и АТК [74, 76, 85]. В отличие от АТК связывание пальмитоил-CoA с митохондриями не имеет насыщающего характера [84]. Тем не менее ингибирование АНТ пальмитоил-CoA и олеоил-CoA высокоспецифично и конкурентно по отношению к $ADP_н$ и $ATP_н$ [74—76, 78, 86]. K_i для пальмитоил-CoA очень невелика (0,1—0,5 мкМ) [78, 86] и в пересчете на митохондриальный белок равна $(1—5)\cdot10^{-10}$ М [76, 84]. Это исключает возможность ингибирования окислительного фосфорилирования вследствие повреждения митохондриальной мембраны, поскольку константа мицеллообразования для пальмитоил-CoA равна 3—4 мкМ [87, 88]. Панов и др. [78, 86] показали, что K_m для ADP в активном метаболическом состоянии зависит от величины дыхательного контроля митохондрий, но K_i для пальмитоил-CoA не зависит от степени энергизации митохондрий и равна 0,5 мкМ. Это говорит о том, что ацил-CoA влияет только на процесс связывания АН с переносчиком и не затрагивает процесс переноса АН, зависящий от энергизации мембраны митохондрий [86]. Ингибирование переноса АН пальмитоил-CoA снимается преинкубацией митохондрий с карнитином [73, 78, 86] и БСА [76, 87].

Свойства АНТ

Применение таких высокоспецифичных лигандов, как АТК, КАТ и БК, способствовало выявлению многих особенностей строения и функционирования переносчика АН. По связыванию меченых АН и ингибиторов было определено число специфических мест связывания (N), соответствующих АНТ. Для митохондрий печени крыс N составляет 0,12—0,16 мкмоль/г белка, для митохондрий сердца — 0,6—1,0 [51, 56, 89, 90]. Большее количество мест связывания АН и КАТ в митохондриях сердца соответствует более развитой в них поверхности внутренней мембраны по сравнению с митохондриями печени. Поэтому при старении митохондрии сердца быстрее теряют $АН_в$, чем митохондрии печени [9]. В расчете на цитохром *a* число специфических мест связывания КАТ составляет (моль/моль цитохрома *a*): для митохондрий печени 1,5—2,0, для митохондрий сердца 2,5—3,0 [91], для дрожжевых митохондрий 1,5—2,0 [92], для митохондрий картофеля 3—5,0 [93]. Поскольку в митохондриях печени содержится ~0,12 мкмоль F_1-АТР-азы [94], то отношение АТР-азы/АНТ в них близко к единице [95].

По вытеснению АН со специфических мест связывания ингибиторами было найдено, что АНТ митохондрий сердца проявляет более высокое сродство к ADP, чем АНТ митохондрий печени. Соответствующие K_i были равны для митохондрий сердца $1{,}4\cdot10^{-7}$ М, для митохондрий печени $9\cdot10^{-7}$ М [89]. На основании числа молекул переносчика в митохондриях печени и скорости транспорта АН было найдено число оборотов переносчика. При 2° оно равно 40—60, а при 20° — 1600—2000 об/мин [90, 91, 96].

О характере мест связывания с внешней стороны внутренней мембраны митохондрий в какой-то мере свидетельствуют данные по изучению влияния на АНТ различных производных АТК, КАТ [29, 95] и ацил-CoA [76]. Амфифильный характер АТК, КАТ и ацил-CoA делает эти вещества неспособными проникать через внутреннюю мембрану [95]. Данные об асимметрии связывания АТК, КАТ и БК с митохондриями и субмитохондриальными частицами [51, 63] указывают на то, что место действия ингибитора определяется не только его способностью проникать через мембрану, но и свойствами переносчика.



Производные АТК [95]: АТК (R = H), КАТ (R = = COOH), апоАТК или апоКАТ (в обоих случаях удален остаток изовалериановой кислоты)

По характеру ингибирующего влияния на АНТ производные АТК можно разделить на две группы: 1) конкурентные ингибиторы — АТК, аттрактилгенин, апоКАТ; 2) неконкурентные ингибиторы — КАТ, стевиол, дегидростевиол [29]. Считается, что нордитерпеновая кислота (аттрактилгенин) ответственна за узнавание места связывания на АНТ [11, 29]. Замена в молекуле АТК COOH-группы на CH_3 приводит к полной потере активности [11], а введение второй карбоксильной группы (КАТ) повышает активность ингибитора и делает его неконкурентным по отношению к АН [53]. Неконкурентный характер ингибирования проявляется и при введении в молекулу АТК в положение С-4 метильной группы (стевиол) [11, 29, 97]. Большое значение для структурной комплементарности между АНТ и ингибиторами аттрактилового ряда имеет остаток изовалериановой кислоты. Удаление ее из молекулы КАТ (апоКАТ) делает ингибитор конкурентным по отношению к АН [29]. Необходимость углеводородной цепи для проявления ингибирующего действия особенно четко видна на примере ацил-СоА. Вероятно, для фиксации ингибитора на переносчике необходимо наличие гидрофобного взаимодействия между гидрофобным участком молекулы ингибитора и липидной частью мембраны [76, 95]. Вместе с тем на примере ингибиторов аттрактилового ряда и ацил-СоА видно, что характер ингибирующего действия зависит от определенного соотношения между полярными и неполярными участками молекул ингибитора [76]. В этой связи представляют интерес данные, что СоА усиливает ингибирующее влияние БК в интактных митохондриях; это выражается прежде всего в сокращении в десятки раз лаг-периода [75, 98]. Вполне возможно, что активация БК — необходимый этап в проявлении ее ингибирующего действия, как и в случае других ацил-производных CoASH.

Обобщая особенности строения ингибиторов и АН, можно сказать, что минимальным требованием для взаимодействия лиганда с переносчиком является наличие трех анионных групп и характер их пространственного расположения [64, 76]. С помощью пространственных молекулярных моделей было показано, что в молекуле КАТ аксиальная COOH-группа (в молекуле АТК она единственная) может близко подходить к карбонильной группе эфирной связи в положении С-2 глюкозы. Экваториальная COOH-группа КАТ должна обладать большей кислотностью, чем аксиальная, поскольку последняя в силу стерических особенностей труднее подвергается сольватации [29].

Для объяснения способности столь различных лигандов тормозить перенос АН было предположено, что АТК, КАТ и БК вызывают конформационные изменения в молекуле переносчика [29, 93]. Подтверждением этих представлений послужили данные, что ADP повышает чувствительность АНТ к действию гидрофобного N-этилмалеимида. В отсутствие АН N-этилмалеимид не ингибирует обмен АН и связывание АТК с перенос-

чиком [99—101]. Помимо N-этилмалеимида подобное действие оказывает другой липофильный SH-реагент — фусцин, но не гидрофильные SH-реагенты — *n*-хлормеркурибензоат и мерсалил [101]. Данные о способности ADP демаскировать участки специфического связывания АТК, КАТ [101, 103] и БК [104] также были интерпретированы в том смысле, что ADP вызывает конформационные изменения молекулы переносчика, открывая тем самым дополнительные места для связывания лигандов с радиоактивной меткой. При этом предполагалось, что АТК, КАТ [29] и в особенности БК [62] связываются с АНТ в участках, с которыми не взаимодействуют АН. Эти лиганды рассматривались как типичные представители аллостерических ингибиторов [95].

В последнее время, однако, Клингенберг и др. [50, 68] считают, что более перспективно интерпретировать приведенные выше данные, рассматривая АНТ как подвижный переносчик. Эту точку зрения разделяют в настоящее время и другие авторы [101]. Согласно этой гипотезе, обязательный сопряженный транспорт ADP и ATP может осуществляться либо путем вращательного или диффузионного перемещения подвижного переносчика, либо в том случае, когда фиксированный переносчик образует «контролируемые поры» (gated pore) [68, 101]. В обоих случаях предполагается, что при незанятых точках связывания АН переносчик не способен функционировать. Только при связывании субстрата (ATP или ADP) переносчик мобилизуется [68].

В пользу подвижного переносчика свидетельствуют следующие факты: 1) температурная зависимость транспорта АН указывает на влияние изменения состояния липидной фазы, окружающей АНТ [101]; 2) асимметрия переносчика [67, 105]. В соответствии с гипотезой мобильного переносчика предполагается, что КАТ и АТК фиксируют переносчик на наружной, а БК — на внутренней стороне внутренней мембраны митохондрий [50, 68, 101]. По мнению Клингенберга и др. [68], гипотезу мобильного переносчика подтверждают также данные о «макроскопических» изменениях конформации митохондрий. Под влиянием ADP в присутствии олигомицина или БК митохондрии подвергаются низкоамплитудному сокращению, а АТК и КАТ вызывают низкоамплитудное набухание митохондрий [30, 50, 68, 106—108]. Изменения конформации митохондрий происходят, как считают Клингенберг и др. [68], в результате фиксации АНТ на внутренней или соответственно на внешней сторонах внутренней мембраны.

Рассматривая АНТ как подвижный переносчик, Клингенберг и др. в ряде обобщающих работ [50, 68] полностью пересматривают представление о том, что АТК, КАТ и БК связываются с аллостерическим центром на АНТ. Указанные авторы считают, что все ингибиторы связываются с переносчиком в том же месте, что и ATP и ADP, и конкурируют с ними за место связывания, образуя бинарные комплексы с переносчиком. АН усиливают ингибирующее влияние АТК, КАТ и БК потому, что при связывании субстрата с переносчиком последний мобилизуется и переходит на ту сторону мембраны, с которой действует ингибитор. Усиление связывания АН под влиянием БК с этой точки зрения является кажущимся, поскольку БК «запирает» меченые АН внутри митохондрий [68].

Роль АНТ в общем механизме окислительного фосфорилирования

Подробное изучение транспорта АН через внутреннюю мембрану митохондрий показало, что положение и функция АНТ определяют многие свойства процесса окислительного фосфорилирования. К ним можно отнести специфичность к нуклеотидам [109], температурную зависимость [13, 15] и кинетические параметры синтеза и гидролиза ATP [22].

Имеются, однако, различные точки зрения на механизм участия АНТ в общем процессе окислительного фосфорилирования, которые в значи-

тельной мере отражают представления, свойственные сторонникам химической и хемиосмотической гипотез сопряжения. Ряд авторов [110—112] предполагают, что АНТ за счет трансмембранного потенциала «перекачивает» $АТР_в^{4-}$ из матрикса в цитоплазму против градиента концентрации. В результате этого величина фосфатного потенциала в цитоплазме выше, чем в матриксе митохондрий, а энергия гидролиза АТР в цитоплазме выше, чем в матриксе, на несколько килокалорий на 1 моль АТР. При этом предполагается обмен между $АН_в$ и $АН_н$. Имеются, однако, противоречащие этой точке зрения данные, что в активном состоянии митохондрии фосфорилируют $АДР_н$ F_1-АТР-азой без предварительного смешения с $АДР_в$ [25], а синтезированный АТР поступает обратно в цитоплазму без смешения с $АТР_в$ [24, 25, 113]. На основании этих данных была предложена гипотеза о структурно-функциональном комплексе между АНТ и F_1-АТР-азой в ходе окислительного фосфорилирования [113].

Таким образом, к настоящему времени нет единой точки зрения на механизм функционирования переносчика АН и точный характер взаимосвязи между транспортом АН и их превращениями, катализируемыми F_1-АТР-азой. Однако можно считать доказанным участие АНТ в общем механизме окислительного фосфорилирования и в регуляции процессов трансформации энергии в митохондриях и клетке в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pfaff E., Klingenberg M., Ritt E., Vogell W. (1968) Eur. J. Biochem., **5**, 222—232.
2. Скулачев В. П. (1972) Трансформация энергии в биомембранах, «Наука», М.
3. Pfaff E., Schwalbach K. (1967) Mitochondria structure and compartmentation (Quagliariello E., Papa S., Slater E. C., Tager J. M., eds.), pp. 346—350, Adriatica Editrice, Bari.
4. Winkler H., Bygrave F., Lehninger A. L. (1968) J. Biol. Chem., **243**, 20—28.
5. Pfaff E., Klingenberg M. (1968) Eur. J. Biochem., **6**, 66—79.
6. Pfaff E., Klingenberg M., Heldt H. (1965) Biochim. et biophys. acta, **104**, 312—315.
7. Klingenberg M., Pfaff E., Kröger A. (1966) Rapid mixing and sampling techniques (Chance B., ed.), pp. 333—337, Acad. Press, N. Y.
8. Meisner H., Klingenberg M. (1968) J. Biol. Chem., **243**, 3631—3639.
9. Pfaff E. (1967) Mitochondrial structure and compartmentation (Quagliariello E., Papa S., Slater E. C., Tager J. M., eds.), pp. 328—333, Adriatica Editrice, Bari.
10. Heldt H., Klingenberg M. (1968) Eur. J. Biochem., **4**, 1—8.
11. Vignais P. V., Duée E., Vignais P. M., Huet J. (1966) Biochim. et biophys. acta, **118**, 465—483.
12. Duée E., Vignais P. V. (1969) J. Biol. Chem., **244**, 3920—3931.
13. Pfaff E., Heldt H., Klingenberg M. (1969) Eur. J. Biochem., **10**, 484—493.
14. Pressman B. (1958) Fed. Proc., **17**, 291.
15. Klingenberg M., Pfaff E. (1966) Regulation of metabolic processes mitochondria (Tager J., Papa S., Quagliariello E., Slater E. C., eds.), pp. 180—201, BBA Library, vol. 7, Elsevier Publ. Co., Amsterdam.
16. Duée E., Vignais P. (1965) Biochim. et biophys. acta, **107**, 184—188.
17. Klingenberg M., Pfaff E. (1968) The metabolic roles of citrate (Goodwin T., ed.), pp. 105—122, Acad. Press, N. Y.— London.
18. Souverijn J., Huisman L., Rosing J., Kemp A., Jr. (1973) Biochim. et biophys. acta, **305**, 185—197.
19. Duée E., Vignais P. (1969) Biochemistry of intracellular structures (Wojtczak L., ed.), pp. 55—73, Warszawa.
20. Klingenberg M., Heldt H., Pfaff E. (1969) The energy level and metabolic control in mitochondria (Papa S., Tager J., Quagliariello E., Slater E. C., eds.), pp. 237—253, Adriatica Editrice, Bari.
21. Heldt H. W., Pfaff E. (1969) Eur. J. Biochem., **10**, 494—500.
22. Klingenberg M., Wulf R., Heldt H. W., Pfaff E. (1969) FEBS Symp., **17**, 59—77.
23. Heldt H. W., Schwalbach K. (1967) Eur. J. Biochem., **1**, 199—206.
24. Bertina R. M., Out T. A. (1973) Abstr. 9th Intern. Congr. Biochem., Stockholm, p. 136, Aktiebolaget Engelska, Bock-tryckeriet.
25. Vignais P. V., Vignais P. M., Doussiere J. (1975) Biochim. et biophys. acta, **376**, 219—230.
26. Kemp A., Jr., Groot G. S. P., Reitsma H. J. (1969) Biochim. et biophys. acta, **180**, 28—34.

27. Heldt H. W., Jacobs H., Klingenberg M. (1965) Biochem. and Biophys. Res. Communs., 18, 174—179.
28. Heldt H. W. (1966) Regulation of metabolic processes in mitochondria (Tager J., Papa S., Quagliariello E., Slater E. C., eds.), pp. 51—63, BBA Library, vol. 7, Elsevier Publ. Co., Amsterdam.
29. Vignais P. V., Vignais P. M., Defaye G. (1973) Biochemistry, 12, 1508—1509.
30. Scherer B., Klingenberg M. (1974) Biochemistry, 13, 161—170.
31. Palmieri F., Quagliariello E., Klingenberg M. (1970) Eur. J. Biochem., 17, 230—238.
32. McGivan J. D., Klingenberg M. (1971) Eur. J. Biochem., 20, 392—397.
33. Vignais P. V., Vignais P. M., Stanislas E. (1962) Biochim. et biophys. acta, 60, 284—300.
34. Bruni A., Luciani S. (1962) Nature, 196, 578—580.
35. Bruni A., Contessa A., Luciani S. (1962) Biochim. et biophys. acta, 60, 301—311.
36. Löw H., Vallin J., Alm B. (1963) Energy-lin ed functions of mitochondria (Chance B., ed.), pp. 5—16, Acad. Press, N. Y.
37. Bruni A., Luciani S., Contessa A., Azzone G. (1964) Biochim. et biophys. acta, 82, 630—632.
38. Bruni A., Azzone G. (1964) Biochim. et biophys. acta, 93, 462—474.
39. Chappel J., Crofts A. (1965) Biochem. J., 95, 707—716.
40. Moret V., Pinna L., Sperti S., Lorini M., Siliprandi N. (1964) Biochim. et biophys. acta, 82, 603—605.
41. Bruni A. (1966) Regulation of metabolic processes in mitochondria (Tager J., Papa S., Quagliariello E., Slater E. C., eds.), pp. 275—291, BBA Library, vol. 7, Elsevier Publ. Co., Amsterdam.
42. Bruni A., Luciani S., Bortignon C. (1965) Biochim. et biophys. acta, 97, 434—441.
43. Vignais P. V., Vignais P. M. (1964) Biochem. and Biophys. Res. Communs., 14, 559—564.
44. Hoppel C., Cooper C. (1969) Arch. Biochem. and Biophys., 135, 184—193.
45. Estabrook R. (1961) Biochem. and Biophys. Res. Communs., 4, 89—91.
46. Huijing F., Slater E. C. (1961) J. Biochem., 49, 493—501.
47. Danieli D. A. (1971) Fitoterapia, 42, 91—104.
48. Defaye G., Vignais P. M., Vignais P. V. (1972) FEBS Lett., 25, 325—328.
49. Klingenberg M., Buchholz H., Erdelt H., Falkner G., Grebe K., Kadner H., Scherer B., Stengel-Rutkowski L., Weideman M. (1972) Biochemistry and biophysics of mitochondrial membranes (Azzone G., Carafoli E., Lehninger A. L., Quagliariello E., Siliprandi N., eds.), pp. 465—486, Acad. Press, N. Y.— London.
50. Klingenberg M., Scherer B., Stengel-Rutkowski L., Buchholz M., Grebe K. (1973) Mechanisms in Bioenergetics (Azzone G., Ernster L., Papa S., Quagliariello E., Siliprandi N., eds.), pp. 257—284, Acad. Press, N. Y.— London.
51. Klingenberg M., Falkner G., Erdelt H., Grebe K. (1971) FEBS Lett., 16, 296—300.
52. Scherer B., Grebe K., Klingenberg M. (1973) FEBS Lett., 31, 15—19.
53. Vignais P. V., Vignais P. M., Defaye G. (1971) Lett., 17, 281—288.
54. Heldt H. (1969) Inhibitors — tools in cell research (Bücher T., Sies U., eds.), pp. 301—317, Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — N. Y.
55. Vignais P. V., Vignais P. M. (1972) FEBS Lett., 26, 27—31.
56. Weideman M., Erdelt H., Klingenberg M. (1970) Eur. J. Biochem., 16, 313—335.
57. Lardy H. (1969) Inhibitors — tools in cell research (Bücher T., Sies U., eds.), p. 333 (Discussion), Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — N. Y.
58. Van Veen A. G. (1966) Toxicants occuring naturally in foods, p. 179, Publication 1354, Nat. Acad. Sci., Washington.
59. Henderson P., Lardy H. A. (1970) J. Biol. Chem., 245, 1319—1326.
60. Kemp A., Jr., Out T. A., Guiot H., Souverijn J. (1970) Biochim. et biophys. acta, 223, 460—462.
61. Erdelt H., Weideman M., Buchholz M., Klingenberg M. (1972) Eur. J. Biochem., 30, 107—122.
62. Klingenberg M., Grebe K., Falkner G. (1971) FEBS Lett., 16, 301—303.
63. Klingenberg M., Riccio P., Aquila H., Schmidt B., Grebe K., Topitsch P. (1974) Membrane proteins in transport and phosphorylation (Azzone G., Klingenberg M., Quagliariello E., Siliprandi N., eds.), pp. 229—243, North-Holland Publ. Co., Amsterdam.
64. Klingenberg M., Grebe K., Heldt H. (1970) Biochem. and Biophys. Res. Communs., 39, 344—351.
65. Henderson P., Lardy H., Dorschner E. (1970) Biochemistry, 9, 3453—3458.
66. Lijmbach G. W. M., Cox H. C., Berends W. (1971) Tetrahedron, 27, 1839—1858.
67. Klingenberg M. (1974) Dynamics of energy-transducing membranes (Ernster L., ed.), pp. 511—528, BBA Library, vol. 13, Elsevier Publ. Co., Amsterdam.
68. Klingenberg M., Riccio P., Aquila A., Buchanan B., Grebe K. (1976) The structural basis of membrane function (Hatefi Y., Djavadi-Ohaniance L., eds.), pp. 293—311, Acad. Press, N. Y.— London.
69. Charles R., van den Bergh S. (1967) Biochim. et biophys. acta, 131, 393—396.

70. Saccone C., Gadaleta M., Quagliariello E. (1967) Biochim. et biophys. acta, **138**, 474—479.
71. Shertzer H., Racker E. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 1320—1321.
72. Brandolin G., Meyer C., Defaye G., Vignais P. M., Vignais P. V. (1974) FEBS Lett., **46**, 149—153.
73. Shug A., Lerner E., Elson C., Shrago E. (1971) Biochem. and Biophys. Res. Communs., **43**, 557—563.
74. Pande S., Blanchaer M. (1971) J. Biol. Chem., **246**, 402—411.
75. Harris R., Farmer B., Ozawa T. (1972) Arch. Biochem. and Biophys., **150**, 109—209.
76. Vaartjes W., Kemp A., Souverijn J., van den Bergh S. (1972) FEBS Lett., **23**, 303—308.
77. Lerner E., Shug A., Elson C., Shrago E. (1972) J. Biol. Chem., **247**, 1513—1519.
78. Панов А. В., Константинов Ю. М., Яхович В. В. (1975) Докл. АН СССР, **221**, 746—748.
79. Meijer A., van Dam K. (1974) Biochim. et biophys acta, **346**, 213—244.
80. Wojtczak L. (1976) J. Bioenergetics, 8, 293—311.
81. Wojtczak L., Bogucka K., Sarsała M., Zaluska H. (1969) FEBS Symp., **17**, 79—92.
82. Wojtczak L., Zaluska H. (1967) Biochem. and Biophys. Res. Communs., **28**, 76—81.
83. Hülsman W., Elliot N., Slater E. C. (1960) Biochim. et biophys. acta, **39**, 267—276.
84. Morel F., Lauquin G., Lunardi J., Duszynski J., Vignais P. V. (1974) FEBS Lett., **39**, 133—138.
85. Shrago E., Shug A., Elson C., Spenneta T., Crosby C. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 5269—5274.
86. Panov A., Konstantinov Yu., Lyakhovich V. (1975) J. Bioenergetics, **7**, 75—81.
87. Halperin H., Robinson B., Fritz J. (1972) Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **69**, 1003—1007.
88. Zahler W., Barden R., Cleland W. (1968) Biochim. et biophys. acta, **164**, 1—11.
89. Weideman M., Erdelt H., Klingenberg M. (1969) Inhibitors — tools in cell research (Bücher T., Sies U., eds.), pp. 324—332, Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — N. Y.
90. Klingenberg M. (1970) Essays in biochemistry (Campbell P., Dickens P., eds.), pp. 110—159, Acad. Press, London.
91. Klingenberg M. (1972) FEBS 8th Meeting, Amsterdam 1972, vol. 28, pp. 147—162, North-Holland American Elsevier.
92. Vignais P. V., Vignais P. M., Lauquin G., Morel F. (1973) Biochimie, **55**, 763—778.
93. Douce R., Vignais P. M., Vignais P. V. (1975) 10th FEBS Meeting, Paris, Abstract No. 1157.
94. Bertina R., Schrier P., Slater E. (1973) Biochim. et biophys. acta, **305**, 503—518.
95. Vignais P. V. (1976) Biochim. et biophys. acta, **456**, 1—38.
96. Klingenberg M. (1970) FEBS Lett., **6**, 145—154.
97. Vignais P. V. (1969) Inhibitors — tools in cell research (Bücher T., Sies U., eds.), pp. 318—323, Springer Verlag, Berlin — Heidelberg — N. Y.
98. Henderson P., Shug A. (1972) Biochem. J., **127**, 65—66.
99. Leblanc P., Clauser H. (1972) FEBS Lett., **23**, 107—113.
100. Vignais P. V., Vignais P. M. (1972) FEBS Lett., **26**, 27—31.
101. Vignais P. V., Lauquin G., Vignais P. M. (1976) Mitochondria, bioenergetics, biogenesis and membrane structure (Packer L., Gomez-Puyou A., eds.), pp. 109—125, Acad. Press, N. Y.
102. Vignais P. M., Vignais P. V. (1973) Biochim. et biophys. acta, **325**, 357—374.
103. Vignais P. V., Vignais P. M. (1971) FEBS Lett., **13**, 28—32.
104. Klingenberg M., Buchholz M. (1973) Eur. J. Biochem., **38**, 346—358.
105. Schertzer H., Racker E. (1974) J. Biol. Chem., **249**, 1320—1321.
106. Klingenberg M., Grebe K., Scherer B. (1971) FEBS Lett., **16**, 253—256.
107. Stoner C., Sirak H. (1973) J. Cell Biol., **56**, 65—73.
108. Erdelt H., Weideman M., Buchholz M., Klingenberg M. (1972) Eur. J. Biochem., **30**, 107—122.
109. Souverijn J., Weijers F., Grout G., Kemp A. (1970) Biochim. et biophys. acta, **223**, 31—35.
110. Klingenberg M. (1969) The energy level and metabolic control in mitochondria (Papa S., Tager J., Quagliariello E., Slater E. C., eds.), pp. 189—193, Adriatica Editrice, Bari.
111. Heldt H., Klingenberg M., Milovancev M. (1972) Eur. J. Biochem., **30**, 434—440.
112. Davis E., Lumeng L., Bottoms D. (1974) FEBS Lett., **39**, 9—12.
113. Kemp A., Jr., Out T. (1975) Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, **78**, 143—154.
114. Kemp A., Jr., Out T. (1975) Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch., Amsterdam, **78**, 155—156.

Поступила в редакцию
22.IV.1977

MITOCHONDRIAL ADENINE NUCLEOTIDE TRANSLOCASE

PANOV A. V., LYAKHOVICH V. V.

Institute of Clinical and Experimental Medicine, Siberian Branch of Academy of Medical Sciences of the USSR, Novosibirsk

The review deals with the properties and mechanism of highly specific ADP and ATP transport through the inner mitochondrial membrane which is performed by the hydrophobic protein — adenine nucleotide translocase (ANT). Such properties of the overall mechanism of oxidative phosphorylation as nucleotide specificity, kinetics, temperature and pH dependence of ATP synthesis or hydrolysis are determined by ANT. The transport is realized as an obligatory coupled counter-exchange of endogenous and exogenous adenine nucleotides and depends on the metabolic state of mitochondria. The energisation of mitochondria favors the exchange of exogenous ADP against endogenous ATP. Specific inhibitors of ANT, such as atractyloside (AT), 4-carboxyatractyloside (CAT), bongkrekic acid (BA) and long chain acyl-CoA's appeared to be very useful in the studies of adenine nucleotide transport. These inhibitors to various extent compete with ADP and ATP for binding sites on the carrier. AT, CAT and acyl-CoA inhibit the AN transport from the outer side and BA — from the inner side of the inner mitochondrial membrane. The current hypotheses on the mechanism of adenine nucleotide carrier functioning are discussed.