

4. Skulachev V. Zakony bioenergetiki. Sorosovskiy obrazovatel'nyy zhurnal. 1997; 1:9-14.

5. Lebiezdinska, M., Szabadkai, G., Jones, A.W.E., Duszynski, J. & Wieckowski, M.R. Interaction between the endoplasmic reticulum, mitochondria, plasma membrane and other subcellular organelles. Int. J. Biochem. Cell Biol. 2009; 41:1805–1816.

Хомочкін А.П.

провідний інженер відділу мембранології і фітохімії,

Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного

Національної академії наук України

ДЕЯКІ НЕОРГАНІЧНІ АКТИВАТОРИ АТФ-АЗИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА АТФ-СИНТАЗНИЙ КОМПЛЕКС

Каталітичну частину АТФ-синтазного комплексу – чинник спряження CF_1 – ізолювали з хлоропластів шпинату (*Spinacia oleracea* L.). Латентну (приховану) АТФ-азну активність CF_1 активували додаванням у середовище сульфату натрію. Метою роботи було вивчення дії сульфату на Ca^{2+} - і Mg^{2+} -залежну АТФ-азну активність CF_1 .

За наявності екзогенного сульфату в концентрації 25 мМ Mg^{2+} -залежна гідролітична активність зростала у 7 разів, а Ca^{2+} -залежна – у 3 рази порівняно з контролем. Отримані дані дозволяють припустити, що сульфат здатен заміщувати бікарбонат у структурі CF_1 .

Бікарбонат, поряд з сульфатом є відомими стимуляторами Mg^{2+} -АТФазної активності CF_1 [1], однак при цьому їх діючі концентрації більш, ніж на порядок перевищують концентрації сульфату і, особливо, бікарбонату, які виявилися ефективними в реактивації АТФази після кислотної обробки. Важливим фактом є те, що бікарбонат-залежна реактивація блокувалася за додавання інгібітору карбоангідраз [2].

Ранніми дослідженнями [3] показано що діючі фосфат і деякими оксианіони подібні до сульфату, зміщують рівновагу між активною і неактивною формою АТФ-синтази у бік активної форми.

За наявності сульфату міцно зв'язаний АДФ вивільняється від хлоропластної АТФ-синтази [4]. Сульфат таким чином імітує дію

електрохімічного градієнту при активації ензиму. Механізм активації лишається досі не досліджений.

Пропонується що первинною стадією в трансформації фермента, яка призводить до вивільнення міцно зв'язаного ADP і активації ферменту, є реакція з фосфат зв'язуючи центром [5] комплексу фермент Mg^{2+} -АТФ-ази.

Існують свідчення отримані при дослідженні вакуолярних H^+ АТФ-ази дріжджів, що стримуючий ефект сульфїту можуть бути викликані внутрішньою сегрегацією гідролізу АТФ і протонного транспорту. При вивченні мембранних препаратів було показано, що гідроліз стимулюється сульфїтом. Препарати інгібувалися цим оксианіоном.

Латентна АТФ-за листя шпинату активується при утворенні високо енергетичного стану тилакоїдів за умов відновлення дисульфїдного зв'язку на γ -субодиниці. Якщо високо енергетичний стан спадає, то АТФ-азна активність зникає.

Знайдено, що АТФ-азна активність може бути відновлена не лише при повторному освітленні, але також при додаванні неорганічного сульфїту в темряві. Якщо в середовищі присутня достатня кількість сульфїту, висока концентрація роз'єднувача більш не інгібують гідроліз АТФ. Однак сульфїт не замінює світло в швидкому відновленні ДТТ дисульфїдного зв'язку на γ – субодиницях. Сульфїт разом з насичуючим рівнем роз'єднувачів хлоридом амонію і грамїцидином, стимулює високі швидкості Mg^{2+} -АТФ-ази [6].

SF_1 регулюється світлом зазнає конфїрмаційних змін на світлі, в наслідок яких дисульфїдний зв'язок на γ -субодиниці експонується для відновлення *in vivo* and *in vitro* SH реагентами. Ізольовані тилакоїди, зазвичай, є латентними для оберненої реакції АТФ-ази, але в темновій фазі Mg^{2+} -залежна активність може проявлятися після відновлення.

Кінетичний аналіз виявив конкурентні зв'язки між АДФ, АТФ та сульфїтом і між азидом (високо афінним інгібітором цієї системи) і сульфїтом.

Існує взаємозалежність кінетичних констант для АТФ і для сульфїту: коли концентрація одного з них знижується то значення K_m і V_m теж знижується.

Аналоги наближені до фосфату, такі як сульфат (H_2SO_4), хромат (H_2CrO_4), фосфїт (H_3PO_3) і арсенат (H_3AsO_4), антагоністи фосфату в процесі фотофосфорилювання, не здатні до активації АТФази (не репризентують сульфїтний ефект). Тільки селенїт (H_2SeO_3) показав

таку ж сильну стимуляцію тилакоїдної АТФази. З цієї групи, сульфит і селеніт є єдиними тригональними аніонами, які містять карбоніл, гідроксил і гідроксилат-аніон при фізіологічних значеннях рН. Якщо сульфит зв'язується з фосфатним сайтом, відсутність стимуляції альтернативними аніонами, включаючи фосфат-аніони, може бути обумовлено більшою жорсткістю структури необхідної для стимуляції і конкуренції [7].

Ці атрибути характерні невеликим органічним аніонам, які, мабуть, за аналогічним принципом стимулюють Mg^{2+} -залежну АТФ-азу розчинної CF_1 . Найбільш ефективними органічними аніонами, які стимулювали високу активність АТФ-ази, були дикарбонові кислоти, з найбільшим pK_a в результаті депротонування іонів карбоксильної групи. Примітно, що дотепер проводились спроби стимуляції АТФази бікарбонатом і він майже не стимулює тилакоїдну CF_1 .

Сульфит, заміщуючи АДФ, формує структуру, яка, мабуть, хімічно імітує АТФ. Ми можемо припустити, що сульфит активує, а азид пригнічує активність, зв'язуючись замість сполученого АДФ. Цей асоційований АДФ може впливати на Mg^{2+} -АТФ-ази. У наслідок, якщо сульфит є достовірним аналогом ΔpH , необхідного для збереження АТФ-азної активності, то функція цього ΔpH може складатися в запобіганні інгібування іонами Mg^{2+} .

Фосфат має тетраедричну структуру з довжиною зв'язку P-O 152 пкм і кутом O-P-O 109 градусів. Три кисню в сульфіту розміщені на вершинах тригонального структура з відстанню між зв'язками S-O в 151 пкм і кутом O-S-O 106 градусів. Основна відмінність між двома аніонами, полягають у відсутності четвертого кисню, який заміщується в сульфіті вільною парою електронів, яка може приймати протон, формуючи HSO_3^- ; [8] і надають відштовхуючу дію на кисень, злегка зменшуючи зв'язок тетраедричних симетрії [9].

Сульфит, заміщуючи АДФ, формує структуру, яка, мабуть, хімічно імітує АТФ. Ми можемо припустити, що сульфит активує, а азид пригнічує активність, зв'язуючись замість сполученого АДФ. Цей асоційований АДФ може впливати на Mg^{2+} -АТФ-ази. У наслідок, якщо сульфит є достовірним аналогом ΔpH , необхідного для збереження АТФ-азної активності, то функція цього ΔpH може складатися в запобіганні інгібування іонами Mg^{2+} .

Проведені дослідження з розкриття механізмів участі сульфіту в регуляції АТФ-синтазного комплексу є актуальними з огляду впливу кислотних дощів на фотосинтетичний апарат рослин.

Список використаних джерел:

1. Guerrero K. J., Xue Z. X., Boyer P. D. Active/Inactive state transitions of the chloroplast F_1 ATPase are induced by a slow binding and release of Mg^{2+} . Relationship to catalysis and control of F_1 ATPases. *J. Biol Chem.* 1990; 265(27): 16280-16287.
2. Khomochkin A. P., Onoiko O. B., Semenikhin A. V., Zolotareva O. K. Reversible pH-dependent activation/inactivation of CF(1)-ATPase of spinach chloroplasts. *Ukr. Biochem. J.* 2017; 89(4): 43-48.
3. Moyle, J., & Mitchell, P. (1975). Active/inactive state transitions of mitochondrial ATPase molecules influenced by Mg^{2+} , anions and aurovertin. *FEBS letters*, 56(1), 55-61.
4. Larson E. M, Jagendorf A. Sulfite stimulation of chloroplast coupling factor ATPase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1989; 973: 67-77.
5. Du Z., Boyer P. D. On the mechanism of sulfite activation of chloroplast thylakoid ATPase and the relation of ADP tightly bound at a catalytic site to the binding change mechanism. *Biochemistry.* 1990; 29(2): 402-407.
6. Larson E. M, Jagendorf A. Sulfite stimulation of chloroplast coupling factor ATPase. *Biochim. Biophys. Acta.* 1989; 973: 67-77.
7. Cappellini, P., Turina, P., Fregni, V., & Melandri, B. A. (1997). Sulfite Stimulates the ATP Hydrolysis Activity of but not Proton Translocation by the ATP Synthase of Rhodobacter Capsulatus and Interferes with its Activation by ΔH^+ . *European journal of biochemistry*, 248(2), 496-506.
8. Maylor, R., Gill, J. B., & Goodall, D. C. (1972). Tetra-n-alkylammonium bisulphites: a new example of the existence of the bisulphite ion in solid compounds. *Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions*, (18), 2001-2003.
9. Greenwood, N. N., & Earnshaw, A. (1984). Chemistry of the Elements Pergamon. *Press Oxford*.