

МИТОХОНДРИИ: МИФЫ И РЕАЛЬНОСТЬ

© 2017 г. Н.Л. Векшин

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пущино Московской области, ул. Институтская, 3

E-mail: nvekshin@rambler.ru

Поступила в редакцию 16.05.17 г.

Кратко сформулированы наиболее распространенные мифы о митохондриях и дана альтернативная авторская интерпретация.

Ключевые слова: митохондрии, дыхательная цепь.

За долгие годы работы с митохондриями у автора сложилась о них собственная точка зрения, во многом отличающаяся от общепринятой. Ниже сформулированы некоторые современные общепринятые воззрения (см., например, работы [1,2]), которым дана альтернативная авторская интерпретация (со ссылкой на собственные публикации).

1. *«Митохондрии имеют форму туфельки или червячка».* В соматических клетках млекопитающих (в клетках печени, мышц, почек, сердца и др.) митохондрии – это сферы, причем такие же, как в изолированном виде [3–5]. «Туфельки», наблюдаемые методом электронной микроскопии, зачастую являются результатом сшивания двух-трех митохондрий в процессе обработки и фиксации образца. «Червячки» при оптической микроскопии – это актиновые нити или фибриллы, на которых сидят митохондрии.

2. *«Митохондриальная мембрана представляет собой липидный бислой, в котором плавают белки».* Поскольку соотношение белок : липид во внутренней мембране = 3 : 1, то она представляет собой гигантский межбелковый комплекс с небольшим вкраплением липидов [6].

3. *«Размер одной митохондрии – несколько микрон».* Нет, обычно это $1,0 \pm 0,5$ мкм [3–5]. В клетке есть также мелкие зародышевые протомитохондрии (~30%) диаметром 0,1–0,4 мкм [3].

4. *«В клетках существует митохондриальная сеть, гигантский разветвленный ретикулум».* Никакого митохондриального ретикулума не существует [3–5]. При электронной микроскопии «гигантские» митохондрии – это результат сшивок многих митохондрий между собой формальдегидом, глутаральдегидом и т.д. При флуоресцентной микроскопии – это окрашивание фибрилл, актиновых нитей, на которых сидят митохондрии [7,8].

5. *«Митохондрии возникают путем деления».* Нет, обычно не делением. И даже не почкованием. Молекула ДНК старой митохондрии выходит в цитоплазму и достраивает вокруг себя (в кооперации с ядерной ДНК) две мембраны, в результате чего получается зародышевая протомитохондрия размером около 0,1–0,2 мкм [3, 9]. Именно поэтому в протомитохондриях, в отличие от митохондрий, не обнаруживается пигмент старения липофусцин (статья – в печати).

6. *«Главная функция митохондрий – это синтез АТФ».* Это лишь одна из многих важных функций, среди которых: метаболизм ди- и трикарбоновых кислот, окисление субстратов с выделением тепла (не менее 70% энергии уходит в тепло, т.е. на обогрев клеток), депонирование кальция, электрическая активность [1,2]. При этом в разных органах доминируют разные функции [1,3], например, в жировой ткани – почти только одна теплопродукция, а в нейронах – генерация потенциала.

7. *«Перенос электронов по дыхательной цепи нужен для синтеза АТФ».* Для акта фосфорилирования АДФ никакой энергии не нужно [10]. АТФаза, как все ферменты, работает спонтанно в обе стороны. Энергия нужна для десорбции АТФ с фермента.

8. *«Электрон передается последовательно по длинной дыхательной цепи».* Цепь не последовательная и не длинная, а есть две или три коротких параллельных цепи со стоком на цитохромоксидазу. Длинная последовательная цепь (в отличие от коротких последовательных цепей) слишком уязвима и ненадежна, причем скорость лимитирована самым медленным участком (что странно). Последовательность редокс-центров была придумана на основании стандартных редокс-потенциалов (не имеющих отношения к реальным) и на некорректной интерпретации спектроскопических данных.

9. «Потребление кислорода осуществляется на цитохромоксидазе». Не только на цитохромоксидазе. В норме при окислении НАДН изолированными митохондриями около 5% кислорода может потребляться на НАДН-оксидазе, давая супероксид [1,8]. На НАДН-оксидазе при повреждении дыхательной цепи может потребляться до 30% кислорода.

10. «В наружной мембране есть ротенон-нечувствительная НАДН-дегидрогеназа, передающая электроны через цитохром с в дыхательную цепь внутренней мембраны». Такого фермента нет [11]. Реакция ротенон-нечувствительного окисления НАДН осуществляется НАДН-дегидрогеназой внутренней мембраны, причем это имеет место в поврежденных митохондриях.

11. «Снижение поглощения и флуоресценции НАДН и флавинов (флавиномононуклеотида и флавинадениндинуклеотида) в митохондриях отражает окисление НАДН и восстановление флавинов». Далекое не всегда. Например, при связывании с дегидрогеназами квантовый выход флуоресценции НАДН возрастает, что создает иллюзию восстановления НАД до НАДН [7]. При выходе флавиномононуклеотида из НАДН-дегидрогеназы митохондрий его поглощение (при 450 нм) и флуоресценция (при 520 нм) резко возрастает [12,13] из-за устранения вклада отражения света на мембранах [5] и тиндалевского гипохромизма [14]. В работах Б. Чанса и других авторов это не учитывалось.

12. «Митохондрии имеют две мембраны – наружную и внутреннюю». Это верно для митохондрий в клетках. Но изолированные митохондрии быстро теряют наружную мембрану [5], если в среде нет ЭДТА или сукцината. При комнатной температуре наружная мембрана рвется и слетает (в отсутствие ЭДТА или сукцината) через 10 мин. В живой клетке зародышевые молодые протомитохондрии диаметром менее 0,2 мкм не имеют двух мембран (статья – в печати).

13. «Восстановление субстратами (НАДН, сукцинат и др.) искусственных акцепторов электронов осуществляется с участием флавинов, железо-серных кластеров и убихинона». Ни флавины, ни железо-серные кластеры, ни убихинон в этом не задействованы [11,15]. Восстановление субстратами феррицианида, дихлорфенолиндофенола, тетразолия и других акцепторов – это высокоскоростные шутки.

14. «Старые митохондрии в клетке перевариваются лизосомами». Это лишь один из путей деградации старых митохондрий, причем отнюдь не самый главный. В специализированных клетках животных (мозг, мышцы, сердце, печень) митохондрии деградируют до липофус-

циновых гранул [16], которые не утилизируются, а остаются в виде клеточного мусора. В некоторых органах (почки, легкие, фибробласты) старые митохондрии деградируют до постмитохондрий – полых сфер диаметром 2–6 мкм, которые либо лизируются с помощью протеаз, либо выбрасываются из клетки [3].

15. «Митохондрии специфически окрашиваются митотрекером и родамином 123». Митотрекер и родамин 123 не обладают селективностью [3,7,8]. Они окрашивают и митохондрии, и актиновые нити, что создает иллюзию червеобразных митохондрий или гигантской митохондриальной сети. При этом подобные красители обычно плохо проникают в интактные митохондрии, но зато хорошо окрашивают поврежденные митохондрии [17]. Среди родаминовых красителей лишь янус зеленый обладает хорошей избирательностью к митохондриям. Реальными же маркерами митохондрий являются сукцинатдегидрогеназа, обнаруживаемая по восстановлению сукцинатом тетразолия до формазана, откладывающегося внутри митохондрий [3], а также ДНК, окрашиваемая этидиум бромидом.

16. «Облучение митохондрий светом вызывает их порчу». Это верно для интенсивного УФ-облучения, ведущего к повреждению мембран и образованию фотолипофусцина [16]. При неинтенсивном облучении видимым светом в митохондриях активируется перенос электронов и синтез АТФ [18].

17. «С помощью флуоресцентных зондов можно легко измерить трансмембранный потенциал». Не легко. Хотя положительно заряженные красители действительно связываются с митохондриями лучше, чем отрицательно заряженные, но дело не в трансмембранном потенциале, а в наличии на наружной поверхности отрицательно заряженных фосфолипидов и белков. При этом поврежденные митохондрии связывают гораздо больше красителя, чем неповрежденные [17].

18. «Во внутренней мембране имеются специальные переносчики для субстратов: сукцинат-транслоказа, АДФ-транслоказа, НАДН-транслоказа и т.д.» Существуют ли такие транслоказы в клетке – вопрос спорный, но изолированные митохондрии обладают высокой проницаемостью, например, для сукцината, которую невозможно объяснить переносчиком [19]. В гипотонической среде проницаемость многократно возрастает, причем даже для НАДН. Транспорт субстратов внутрь митохондрий в суспензии происходит просто по градиенту концентраций из-за наличия в наружной мембране крупных пор, а во внутренней – мелких динамических неспецифических каналов. Этот про-

цесс ничем не отличается от транспорта внутрь искусственных акцепторов и красителей, для которых уж точно не существует в мембране никаких специальных транспортеров.

19. «Для создания трансмембранного потенциала из матрикса забираются три свободных протона». Никаких трех «свободных» протонов в матриксе нет, так как протоны связаны буфером. Если рассчитать количество протонов внутри сферы диаметром 1 мкм, аналогично тому, как это сделал А. Ленинджер для *E. coli*, то получится всего два протона. При этом протоны должны браться не из матрикса, а из субстрата, как это правильно указано в исходной митчелловской схеме [20]. Электроны реально транспортируются вдоль цепи, а протоны – нет. Протоны высвобождаются из субстратов на дегидрогеназах, а забираются из буфера цитохромоксидазой, что дает по ним нулевой баланс.

20. «Для окисления НАДН в первом комплексе дыхательной цепи необходимы флавиномононуклеотид и железо-серные кластеры». Не факт. Многие дегидрогеназы (алкогольдегидрогеназа и др.) не имеют ни флавинов, ни железо-серных кластеров, но окисляют НАДН. При помещении митохондрий в воду из них «вываливается» весь флавиномононуклеотид [7,12], однако НАДН прекрасно окисляется, причем это окисление полностью блокируется ротеноном [19].

21. «Когда-то на заре эволюции аэробные бактерии внедрились в протоклетку и превратились в митохондрии». Маловероятно. ДНК аэробных бактерий весит миллионы дальтон, а ДНК митохондрий – всего 16 килобаз. Более вероятно, что внедрилась не бактерия, а ДНК-содержащий вирус или фаг.

Из всего вышесказанного можно сделать один главный вывод: при исследовании митохондрий, как любого сложного объекта, необходимо быть осторожным, нужно строго доказывать адекватность используемых методов и осознавать границы их применимости, а не

выдумывать без острой необходимости все новые и новые сущности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. М. Кокс и Д. Нельсон, *Основы биохимии Ленинджера* (БИНОМ, М., 2017), т. 2.
2. Ю. С. Ченцов, *Введение в клеточную биологию* (Академкнига, М., 2004).
3. А. Г. Белякович, *Изучение митохондрий и бактерий с помощью соли тетразолия *p*-НТФ* (ОНТИ НЦБИ, Пушино, 1990).
4. А. Н. Зинина, *Краткая история развития представлений о строении и функциях митохондрий* (Фотон-век, Пушино, 2008).
5. Д. Н. Курдюков и Н. Л. Векшин, *Биофизика* **61** (4), 736 (2016).
6. Н. Л. Векшин, *Биофизика* **33** (2), 360 (1988).
7. Н. Л. Векшин, *Флуоресцентная спектроскопия биополимеров* (Фотон-век, Пушино, 2008).
8. Н. Л. Векшин и М. С. Фролова, *Биофизика* **59** (5), 1034 (2014).
9. Е. А. Бегунова и Н. Л. Векшин, *Биофизика* **60** (6), 1109 (2015).
10. N. L. Vekshin, *Comm. Mol. Cell. Biophys.* **7** (1), 17 (1990).
11. И. В. Шарова и Н. Л. Векшин, *Биофизика* **49** (5), 814 (2004).
12. И. Б. Соколова и Н. Л. Векшин, *Биофизика* **53** (1), 73 (2008).
13. M. S. Frolova and N. L. Vekshin, *J. Fluorescence* **24**, 1061 (2014).
14. Н. Л. Векшин, М. С. Фролова, В. И. Ковалев и Е. А. Бегунова, *Биофизика* **60** (1), 129 (2015).
15. А. С. Ломтев, И. В. Шарова и Н. Л. Векшин, *Докл. РАН* **376** (1), 114 (2001).
16. М. С. Фролова, А. М. Суринов, А. В. Браславский и Н. Л. Векшин, *Биофизика* **60** (5), 1125 (2015).
17. Н. Л. Векшин, *Биофизика* **58** (6), 1074 (2013).
18. N. L. Vekshin, *Photonics of Biopolymers* (Springer, 2002).
19. А. М. Львов, А. В. Браславский и Н. Л. Векшин, (2017, в печати).
20. В. П. Скулачев, *Рассказы о биоэнергетике* («Мол. гвардия», М., 1985).

Mitochondria: Myths and Reality

N.L. Vekshin

*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,
ul. Institutskaya 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

The most common myths about mitochondria are summarized and the author's alternative interpretation is given.

Keywords: mitochondria, respiratory chain