



УДК 577.23

ПЕРЕНОС ЗАРЯДОВ ЧЕРЕЗ ГРАНИЦУ РАЗДЕЛА ФАЗ
ОКТАН/ВОДА КОМПЛЕКСАМИ ФЕРМЕНТОВ
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ*

*Богуславский Л. И., Волков А. Г., Кондрашин А. А.,
Скулачев В. П., Ясайтис А. А.*

Институт электрохимии Академии наук СССР, Москва

*Межфакультетская лаборатория биоорганической химии
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова*

При исследовании изолированных олигоферментных комплексов дыхательной цепи митохондрий показано, что протекание определенных окислительно-восстановительных реакций на границе раздела фаз вода/октан сопровождается переносом зарядов из водной в октановую фазу. Этот эффект регистрируется методом вибрирующего конденсатора по сдвигу вольта-потенциала на границе раздела. При наличии в октане МНХ в качестве акцептора электронов NADH-CoQ-редуктаза, сукцинат-цитохром *c*-редуктаза и цитохромоксидаза катализируют перенос отрицательных зарядов из воды в октан, сопряженный с окислением NADH, сукцината и аскорбата + цитохром *c*. Процесс зарядки октановой фазы подавляется ингибиторами этих ферментных комплексов — ротеноном, антимицином и цианидом. При наличии в октане ДНФ в качестве акцептора протонов NADH-CoQ-редуктаза и сукцинат-цитохром *c*-редуктаза катализируют перенос положительных зарядов из воды в октан, сопряженный с восстановлением феррицианида и окислением NADH или сукцината в водной фазе. Процесс положительной зарядки октановой фазы подавляется мерсалилом в первом случае и антимицином — во втором. Предполагается, что перенос ионов H⁺ через границу раздела фаз, катализируемый NADH-CoQ-редуктазой и сукцинат-цитохром *c*-редуктазой обусловлен функционированием H⁺-транслоказ пунктов I и II трансформации энергии в дыхательной цепи митохондрий. Перенос электронов через границу раздела фаз цитохромоксидазой рассматривается как модель электрогенной функции цитохромоксидазы в митохондриальной мембране.

Согласно хемосмотической гипотезе Митчелла [1, 2], функция ферментов митохондриальной дыхательной цепи состоит в трансформации энергии окислительных реакций в разность электрохимических потенциалов ионов H⁺ между водными фазами, разделенными гидрофобным барьером сопрягающей мембраны. Экспериментальные результаты, подтверждающие это положение, были получены путем регистрации сдвигов pH среды, сопряженных с переносом электронов в дыхательной цепи митохондрий [3, 4], а также энергозависимого распределения природных [5, 6] и синтетических липофильных ионов [7—10] между фазами, разделенными митохондриальной мембраной [11, 12]. Для одного из пунктов энергетического сопряжения — цитохромоксидазного комплекса дыхательной цепи митохондрий — было получено в последнее время прямое доказательство окислительно-восстановительного электрогенеза: удалось измерить вольтметром генера-

* Сокращения: 2-N-метиламино-1,4-нафтохинон — МНХ; 2,4-дивитрофенол — ДНФ.

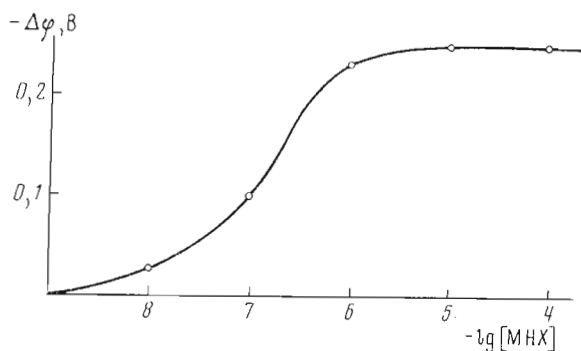


Рис. 1. Зависимость сдвига вольта-потенциала на разделе фаз октан/вода, катализируемого цитохромоксидазой, от концентрации МНХ в системе. Среда инкубации: 0,05 М трис-НСl (рН 7,3), 0,05 мМ цитохром с, 1 мМ аскорбат и 20 мкг белка цитохромоксидазы на 1 мл

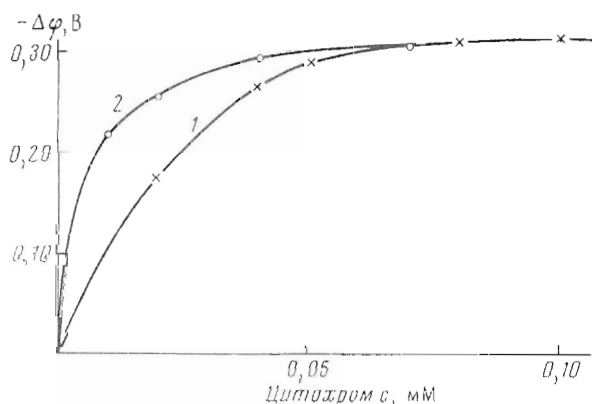


Рис. 2. Зависимость сдвига вольта-потенциала в системе октан/вода, катализируемого цитохромоксидазой, от концентрации цитохрома с. Среда инкубации: 1 — 0,05 М трис-НСl (рН 7,4), 1 мМ аскорбат, 20 мкг белка цитохромоксидазы на 1 мл и 10^{-3} М МНХ; 2 — то же и 0,3 мМ тетраметил-*n*-фенилдиамин

цию трансмембральной разности электрических потенциалов цитохромоксидазой, встроенной в искусственную фосфолипидную мембрану [13—15].

В настоящем сообщении показано, что изолированные олигоферментные комплексы дыхательной цепи митохондрий — цитохромоксидаза, сукцинат-цитохром *c*-редуктаза и NADH-CoQ-редуктаза — катализируют перенос зарядов между водой и октаном, регистрируемый по изменению скачка потенциала на границе раздела фаз вода/октан методом вибрирующего конденсатора. Обязательным условием для возникновения данного эффекта оказалось наличие соответствующих ферментов и субстратов окисления в водной фазе, а также акцепторов электрона или протона в октановой фазе [16—19].

Подобный методический прием был применен нами недавно к растворимой АТР-азе митохондрий, бактериородопсиновому комплексу и хлорофиллу [19]. При наличии в системе ДНФ как акцептора протонов в октановой фазе первые две системы транспортировали ионы H^+ из водной в октановую фазу соответственно за счет энергии гидролиза АТР и света [16, 17]. В присутствии хлорофилла на границе раздела фаз наблюдался перенос электрона от восстановителя, NADH, в водной фазе на МНХ, находящийся в декане [19].

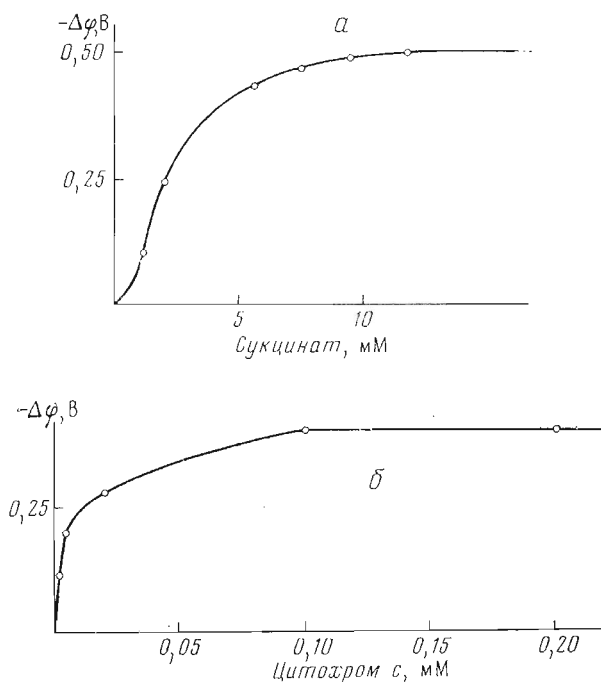


Рис. 3. Зависимость сдвига вольта-потенциала в системе октан/вода, катализируемого сукцинат-цитохром *c*-редуктазой, от концентрации сукцината (*a*) и цитохрома *c* (*b*). Среда инкубации: 0,05 М трис-НСl (рН 7,4), 0,5 мМ цитохром *c*, 0,1 мМ МНХ и 0,4 мг белка сукцинат-цитохром *c*-редуктазы на 1 мл (для *b* среда инкубации дополнительно содержит 4 мМ сукцинат)

Опыты, проведенные с цитохромоксидазой, показали, что при наличии в инкубационной смеси цитохромоксидазного комплекса, аскорбата, цитохрома *c* и МНХ наблюдается сдвиг вольта-потенциала в сторону увеличения отрицательного заряда в октановой фазе. Сдвиг потенциала обращался добавлением ингибиторов цитохромоксидазы (цианида и полилизина) в водную фазу и не обнаруживался в отсутствие любого из указанных выше компонентов. Как видно из данных, представленных на рис. 1, сдвиг потенциала достигает максимального значения при $5 \cdot 10^{-6}$ М концентрации МНХ. Зависимость этого эффекта от концентрации субстрата цитохромоксидазы — цитохрома *c* — представлена на рис. 2. Видно, что полумаксимальный эффект достигается при 16 мкМ концентрации цитохрома *c*. Эта величина снижается до 5 мкМ в присутствии липофильного переносчика электронов тетраметил-*n*-фенилендиамина. Снижение насыщающей концентрации цитохрома *c* в присутствии этого агента было обнаружено также в специальных опытах при измерении активности цитохромоксидазы.

Зависимость величины сдвига вольта-потенциала от концентрации фермента и аскорбата также имела вид кривой с насыщением. Полумаксимальный эффект достигался при концентрации белка цитохромоксидазы 2,5 мкг/мл и 180 мкМ аскорбата.

На рис. 3 представлены результаты аналогичных опытов, проведенных с изолированным сукцинат-цитохром *c*-редуктазным комплексом митохондрий. Из рис. 3 видно, что включение цитохром *c*-редуктазной реакции возрастающими концентрациями сукцината в водной фазе сопровождается сдвигом скачка потенциала на границе раздела вода/октан с повышенным отрицательным зарядом октановой фазы. Полунасыщение системы субстратом окисления достигается примерно при 2 мМ концентрации сукцилата. Как и в опытах с цитохромоксидазой, перенос отрицательных зарядов в октановую фазу цитохром *c*-редуктазой достигался лишь при наличии

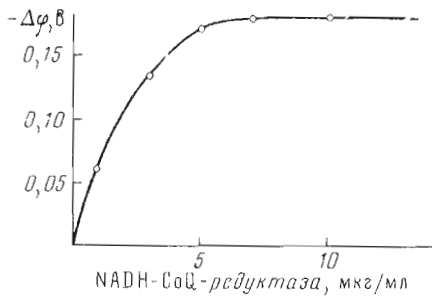


Рис. 4

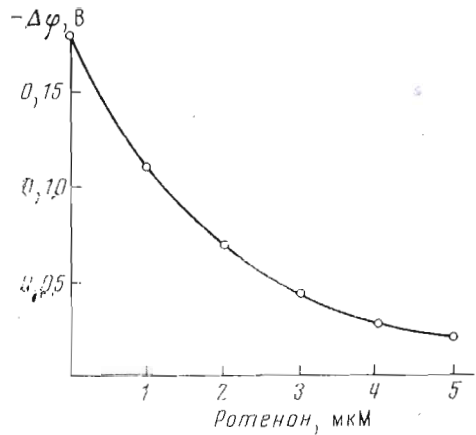


Рис. 5

Рис. 4. Перенос отрицательных зарядов из воды в октан, катализируемый NADH-CoQ-редуктазой, в зависимости от концентрации фермента. Среда инкубации: 20 М трис-HCl (pH 7,4), 0,2 мМ и 0,01 мМ МНХ.

Рис. 5. Подавление ротеноном переноса отрицательных зарядов из воды в октан, катализируемого NADH-CoQ-редуктазой. Среда инкубации — см. подпись к рис. 4. Концентрация NADH-CoQ-редуктазы — 25 мкг белка на 1 мл

МНХ в системе. Тем не менее обязательным для достижения эффекта было наличие в водной фазе природного акцептора электронов — цитохрома *c*.

Полунасыщение системы цитохромом *c* достигалось при его концентрации порядка 10 мкМ (рис. 3б). Во всех случаях эффект обращался и предотвращался антимицином — ингибитором сукцинат-цитохром *c*-редуктазной активности этого ферментного комплекса — и не подавлялся цианидом.

В заключение этой серии опытов был исследован изолированный NADH-CoQ-редуктазный комплекс дыхательной цепи митохондрий. Как видно из данных, представленных на рис. 5, повышение концентрации ферментного комплекса сопровождается повышением отрицательного заряда октановой фазы.

Обязательным для достижения эффекта оказалось наличие NADH в водной фазе и МНХ в системе. Полумаксимальный эффект достигался при концентрации белка ферментативного комплекса 1,5 мкг/мл (рис. 4); полумаксимальное насыщение системы субстратом реакции NADH наблюдалось при 25 мкМ его концентрации.

Специальные измерения показали, что восстановление МНХ этим ферментативным комплексом в водной среде не подавляется ротеноном, в то время как электрогенная функция NADH-МНХ-редуктазы в системе октан/вода оказалась чувствительной к ротенону. Как видно из рис. 5, полумаксимальное подавление процесса зарядки октановой фазы достигается при 2 мкМ концентрации ротенона.

В опытах с NADH-CoQ-редуктазой было замечено, что включение ДНФ в систему понижает величину отрицательного заряда или полностью предотвращает ферментативную зарядку октановой фазы. В дальнейшем оказалось, что при замене в системе липофильного акцептора электронов (МНХ) водорастворимым акцептором (феррицианидом) его ферментативное восстановление в присутствии ДНФ сопровождается повышением положительного заряда октановой фазы.

Как и в предыдущих опытах, оказалось, что зависимость изменения вольта-потенциала характеризуется кривыми насыщения с достижением полумаксимальной величины при 70 мкМ концентрации ДНФ (рис. 6) и 22 мкМ NADH (рис. 7). В отличие от системы, в которой в качестве ак-

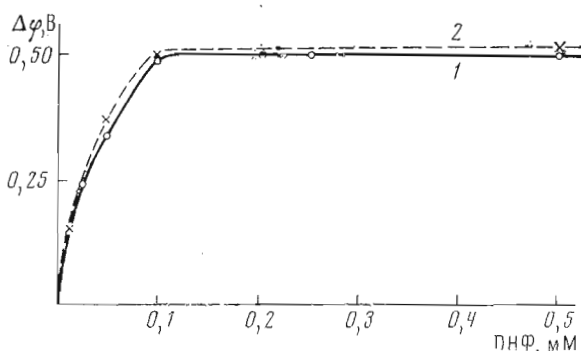


Рис. 6. Катализ переноса положительных зарядов из воды в октан NADH-CoQ-редуктазой (1) и сукцинат-цитохром *c*-редуктазой (2) в зависимости от концентрации ДНФ. Среда инкубации: 1 — 20 мМ трис-HCl (рН 7,4), 0,2 мМ NADH и 25 мкг белка NADH-CoQ-редуктазы на 1 мл; 2 — 20 мМ трис-HCl, (рН 7,4), 7 мМ сукцинат, 0,2 мМ цитохром *c* и 40 мкг белка сукцинат-цитохром *c*-редуктазы на 1 мл. В обоих опытах среда содержала 1 мМ феррицианид

цептора электронов использовался МНХ, зарядка октановой фазы, сопряженная с восстановлением феррицианида, оказалась нечувствительной к ротенону. Ротенон не подавлял также NADH-феррицианидную активность ферментного комплекса, измеренную в водной среде.

Эффективными ингибиторами ферментативного переноса положительных зарядов в октановую фазу оказался мерсалил — реагент, блокирующий SH-группы.

Способность катализировать перенос положительных зарядов в октан оказалась присущей также изолированному сукцинат-цитохром *c*-редуктазному комплексу при наличии в системе соответствующих доноров и акцепторов восстановительных эквивалентов: сукцината, цитохрома *c*, феррицианида и ДНФ. Процесс оказался чувствительным к антимицину. Следует отметить, что сдвиг потенциала не удалось обнаружить в отсутствие

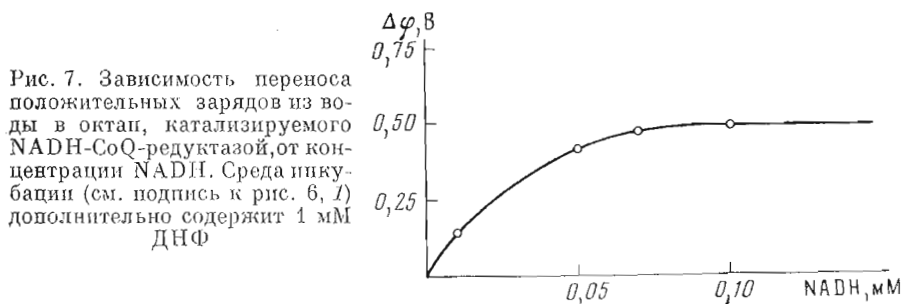


Рис. 7. Зависимость переноса положительных зарядов из воды в октан, катализируемого NADH-CoQ-редуктазой, от концентрации NADH. Среда инкубации (см. подпись к рис. 6, 1) дополнительно содержит 1 мМ ДНФ

феррицианида, несмотря на наличие в водной фазе относительно высокой концентрации цитохрома *c*, достигающей $5 \cdot 10^{-4}$ М. Тем не менее цитохром *c* оказался необходимым компонентом системы для обнаружения эффекта в присутствии феррицианида.

Таким образом, полученные результаты однозначно свидетельствуют о способности ферментативных комплексов дыхательной цепи катализировать перенос зарядов из водной в октановую («липидную») фазу. Есть основания полагать, что эта функция выполняется определенной частью ферментативных комплексов, локализованных на границе раздела фаз вода/октан. Так, при исследовании растворимой митохондриальной АТФ-азы и бактериоро-

допсинового комплекса [16, 17], а также окислительных ферментов не удалось наблюдать сдвига вольта-потенциалов, когда ферментативные комплексы добавлялись в водную фазу, содержащую небольшие количества катионного детергента — бромид цетилтриметиламмония. Данный агент, вероятно, заполнял поверхность раздела фаз, препятствуя последующему взаимодействию с ней ферментативных комплексов. Существенно, что детергент был не эффективен, будучи добавленным после соответствующих ферментов.

Предпосылкой переноса зарядов через границу раздела оказались условия, обеспечивающие катализ окислительно-восстановительных реакций, свойственных применявшимся олигоферментным комплексам. В случае цитохромоксидазы необходимым оказалось наличие липофильного акцептора электронов — МНХ. Чувствительность процесса зарядки октановой фазы цитохромоксидазой к цианиду свидетельствует о том, что этот акцептор принимает электроны либо от цитохрома a_3 , локализованного в октановой фазе, либо от ионизованного кислорода, продуцированного цитохромоксидазой. Что касается сукцинат-цитохром *c*-редуктазного комплекса, то в этом случае МНХ, вероятно, «снимает» электроны с цитохрома *c*, локализованного на разделе фаз или в октановой фазе. Окончились неудачей все попытки осуществить перенос заряда из водной фазы в октан в таких системах, как цитохром *c* + аскорбат в водной фазе, МНХ в октане; цитохром *c* + аскорбат + цитохром *c*-редуктаза в водной фазе, МНХ в октане; ферроцианид в водной фазе, МНХ в октане. Этот факт, а также приведенные выше данные действия специфических ингибиторов дыхательной цепи в исследуемой системе указывают на то, что далеко не всякая окислительно-восстановительная реакция может приводить к переносу зарядов через границу раздела вода/октан. В частности, не эффективным в этом отношении оказалось восстановление МНХ сукцинат-цитохром *c*-редуктазой в присутствии антимицина.

Перенос зарядов в октан, катализируемый NADH-CoQ-редуктазным комплексом, требует специального рассмотрения. При наличии липофильного акцептора электронов (МНХ) в октане этот комплекс катализирует перенос электрона в октан по пути, чувствительному к ротенону. Наряду с этим создается возможность переноса протонов в октан, которая проявляется как подавление отрицательной зарядки октановой фазы в присутствии липофильного акцептора протонов — ДНФ. Последний процесс становится единственным возможным при использовании феррицианида в качестве акцептора электронов в водной фазе и ДНФ как акцептора протонов в октане.

Повышение положительного заряда октановой фазы нельзя объяснить просто сдвигом величины рН водной фазы на границе раздела в ходе ферментативной реакции, так как величина и кинетические характеристики эффекта не менялись при повышении концентрации трис-буфера в водной фазе от 3 до 50 мМ. Можно полагать, что явление переноса ионов H^+ в октан NADH-CoQ-редуктазой моделирует функцию первого пункта энергетического сопряжения, так как окисление NADH на внутренней поверхности митохондриальной мембраны сопровождается генерацией трансмембранного градиента ионов H^+ [29]. Тот факт, что в случае восстановления феррицианида достигается перенос протонов в октановую фазу в ходе реакции, нечувствительной к ротенону, подтверждает точку зрения, что первый пункт энергетического сопряжения в дыхательной цепи локализован до дыхательного переносчика, взаимодействующего с ротеноном [21]. Гарланд [22] при исследовании митохондрий дрожжей показал, что в определенных условиях удается получить дрожжи, дыхание которых не тормозится ротеноном, несмотря на сохранение первого пункта сопряжения.

Относительно сукцинат-цитохром *c*-редуктазного сегмента дыхательной цепи, включающего второй пункт энергетического сопряжения, можно предположить, что он содержит по крайней мере два участка, взаимодействующих с неполярной октановой фазой. Один из них локализован за мес-

том действия антимицина и представляет собой, вероятно, цитохром *c*, определенным образом ассоциированный с цитохромом *c*₁ редуктазного комплекса и погруженный в октановую фазу в такой степени, которая обеспечивает передачу электрона акцептору в октане. Наряду с этим, катализ сукцинат-цитохром *c*-редуктазной реакции в водной фазе (конечный акцептор феррицианид) сопровождается переносом ионов H^+ на липофильный акцептор протонов (ДНФ) в октановую фазу. Этот функциональный ответ, вероятно, можно рассматривать как моделирование «протонной помпы» второго пункта энергетического сопряжения, катализирующей перенос ионов H^+ через митохондриальную мембрану. Следует отметить, что реакция восстановления феррицианида этим ферментативным комплексом в водной фазе является процессом, нечувствительным к антимицину. Подавление антимицином электрогенной функции сукцинат-цитохром *c*-редуктазного комплекса в системе октан/вода означает, что перенос как отрицательных, так и положительных зарядов в октан требует транспорта электронов через все компоненты второго пункта сопряжения дыхательной цепи.

Экспериментальная часть

Препаративные методы. Источником ферментативных комплексов дыхательной цепи служила общая фракция митохондрий сердца быка, выделенная по ранее описанной методике [23]. Цитохромоксидазу выделяли по методу Йонетани [24], сукцинат-цитохром *c*-редуктазу по методу Ерицинской и соавт. [25], NADH-CoQ-редуктазу по методу Хатефи и соавт. [26].

Активность препаратов цитохромоксидазы составляла 5 мкг атом O за 1 мин на 1 мг белка, сукцинат-цитохром *c*-редуктазы — 330 нмоль восстановленного цитохрома *c* за 1 мин на 1 мг белка, NADH-CoQ-редуктазы с акцептором 1,4-нафтохиноном и феррицианидом — 460 нмоль и 5 мкмоль окисленного NADH за 1 мин на 1 мг белка соответственно.

Измерение вольта-потенциала в системе октан/вода. Исследуемая система октан/вода была включена в цепь следующим образом: вибрирующий золотой электрод на расстоянии 0,2—1 мм от поверхности октана; слой октана толщиной в 3 мм; водный раствор 50 мМ трис-HCl (рН 7,5); солевой мостик, соединяющий водную фазу с каломельным электродом [27].

Колебания золотого электрода в рассматриваемой схеме приводят к периодическим изменениям емкости конденсатора, образованного золотым электродом и поверхностью водного раствора. Возникающий ток смещения усиливается специальным усилителем и регистрируется осциллографом. Ток смещения компенсируется устройством, подающим на вибрирующий электрод потенциал, равный по величине и противоположный по знаку измеряемому вольту-потенциалу цепи. Подаваемый компенсатором потенциал измеряли вольтметром [28]. Наблюдаемые изменения вольта-потенциала в описанной цепи могут быть отнесены к изменению скачка потенциала на границе раздела фаз октан/вода, принимая, что скачки потенциалов на других межфазных границах остаются без изменения [29].

Для опытов использовали равновесные системы октан/вода, содержащие все необходимые компоненты, за исключением ферментов и субстратов, которые добавляли в ячейку непосредственно перед измерением. Равновесные системы готовили в отдельной посуде, в которой водные растворы уравнивались в течение 24 ч с октаном. Вольт-потенциал измеряли через 1 мин после добавления последнего компонента в систему. На рисунках представлены величины изменения вольта-потенциала, отложенные относительно фона — раствора, лишённого одного из компонентов, необходимых для протекания ферментативной реакции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Mitchell P. (1961) *Nature*, **191**, 144—148.
2. Mitchell P. (1966) *Chemiosmotic Coupling in Oxidative and Photosynthetic Phosphorylation*. Glynn Res. Ltd., Bodmin Cornwall.
3. Mitchell P., Moyle J. (1967) in *Biochemistry of Mitochondria*. (E. S. Slater, Z. Kaniuga and L. Wojtczak, eds.) pp. 53—74, Academic Press, New York.
4. Mitchell P., Moyle J. (1967) *Biochem. J.*, **105**, 1147—1162.
5. Mitchell P., Moyle J. (1969) *Eur. J. Biochem.*, **7**, 471—484.
6. Lehninger A. (1970) *Biochem. J.*, **119**, 129—138.
7. Либерман Е. А., Топалы В. П., Цофина Л. М., Ясайтис А. А., Скулачев В. П. (1969) *Биохимия*, **34**, 1083—1087.
8. Grinius L. L., Jasaitis A. A., Kadziauskas J. P., Liberman E. A., Skulachev V. P., Topali V. P., Tsofina L. M., Vladimirova M. A. (1970) *Biochim. et biophys. acta*, **216**, 1—13.
9. Bakeeva L. E., Grinius L. L., Jasaitis A. A., Kuliene V. V., Levitsky D. O., Liberman E. A., Severina I. I., Skulachev V. P., (1970) *Biochim. et biophys. acta*, **216**, 13—21.
10. Liberman E. A., Skulachev V. P. (1970) *Biochim. et biophys. acta*, **216**, 30—42.
11. Скулачев В. П. (1972). Трансформация энергии в биомембранах, «Наука», М.
12. Ясайтис А. А. (1973). Превращение энергии в митохондриях, ВИНТИ, М.
13. Драчев Л. А., Каулен А. Д., Кондрашин А. А., Либерман Е. А., Немечек И. Б., Остроумов С. А., Семенов А. Ю., Скулачев В. П., Ясайтис А. А. (1974). Докл. АН СССР, **218**, 481—484.
14. Drachev L. A., Jasaitis A. A., Kaulen A. D., Kondrashin A. A., Liberman E. A., Nemecsek I. B., Ostroumov S. A., Semenov A. Yu., Skulachev V. P. (1974) *Nature*, **249**, 321—324.
15. Барский Е. Л., Драчев Л. А., Каулен А. Д., Кондрашин А. А., Либерман Е. А., Остроумов С. А., Самуилов В. Д., Семенов А. Ю., Скулачев В. П., Ясайтис А. А. (1975). *Биоорг. химия*, **1**, 113—125.
16. Boguslavsky L. I., Kondrashin A. A., Kozlov I. A., Metelsky S. T., Skulachev V. P., Volkov A. G. (1975) *FEBS Lett.*, **50**, 223—226.
17. Богуславский Л. И., Волков А. Г., Козлов И. А., Метельский С. Т., Скулачев В. П. (1974) Докл. АН СССР, **228**, 963—966.
18. Харкац Ю. И., Волков А. Г., Богуславский Л. И. (1975) Докл. АН СССР, **220**, 1441—1444.
19. Волков А. Г., Ложкин Б. Т., Богуславский Л. И. (1975). Докл. АН СССР, **220**, 1207—1211.
20. Lawford H. G., Garland P. B. (1972) *Biochem. J.*, **130**, 1029—1043.
21. Gutman M., Singer T. P., Beinert H. (1972) *Biochemistry*, **11**, 556—562.
22. Garland P. B. (1970) *Biochem. J.*, **118**, 329—339.
23. Скулачев В. П. (1969). Аккумуляция энергии в клетке, «Наука», М.
24. Yonetani T. (1967) in *Methods in Enzymology* (Estabrook R. W., Pullman M. E., eds.) vol. 10, p. 332, Academic Press, New York.
25. Erecinska M., Oshino R., Oshino N., Chance B. (1973) *Arch. Biochem. and Biophys.*, **157**, 431—445.
26. Hafeji I., Naavik A. G., Griffiths D. E. (1962) *J. Biol. Chem.*, **337**, 1676—1680.
27. Гугешашвили М. И., Ложкин Б. Т., Богуславский Л. И. (1974) *Электрoхимия*, **10**, 1272—1274.
28. Boguslavsky L. I., Frumkin A. N., Gugeshashvili M. I. (1974) *Bioelectrochem. Bioenergetics*, **1**, 506—514.
29. Фрумкин А. Н., Гугешашвили М. И., Богуславский Л. И. (1971) Докл. АН СССР, **198**, 1452—1455.

Поступила в редакцию
28.IV.1975

CHARGE TRANSFER THROUGH OCTANE/WATER INTERFACE BY THE ENZYME COMPLEXES OF THE RESPIRATORY CHAIN

OGUSLAVSKY L. I., VOLKOV A. G., KONDRASHIN A. A., SKULACHEV V. P.,
JASAITIS A. A.

*Institute of Electrochemistry, Academy of Sciences of the USSR
Laboratory of Bioorganic Chemistry, M. V. Lomonosov State
University, Moscow*

In experiments with isolated enzyme complexes of mitochondrial respiratory chain, it has been shown that catalysis of certain redox reactions of the water/octane interface give rise to charge transfer from the water into the octane phase. The effect may be me-

asured by the method of vibrating condenser as a volta-potential change of the interface. In the presence of 2-N-aminomethyl-1,4-naphthoquinone as an electron acceptor in the octane, NADH-KoQ-reductase, succinate-cytochrome c-reductase and cytochrome oxidase catalyze negative charge transfer from water into octane coupled to oxidation of NADH succinate and ascorbate + cytochrome c, respectively. The process of charge transfer is inhibited by inhibitors of these complexes, i. e. rotenone, antimycin and cyanide. In the presence of 2,4-DNP as a proton acceptor in the octane phase, NADH-KoQ-reductase, succinate-cytochrome c-reductase catalyze transfer of positive charges from water into octane coupled to reduction of ferricyanide and oxidation of NADH or succinate in the water phase. The process of positive charge transfer is inhibited by mersalyl in the former case and by the antimycin, in the latter. It is proposed that H⁺ transfer through the interface catalyzed by the NADH-KoQ-reductase and succinate-cytochrome c-reductase is due to the functioning of H⁺-translocases of I and II coupling sites of the respiratory chain. Electron transfer through the interface by the cytochrome oxidase is considered being a model of electrogenic function of cytochrome oxidase in mitochondrial membrane.
