

Lemeško, V. V.

ELEKTROCHEMISCHER PHOSPHIT-THIOL-REAKTIONSBLAUF DER
OXIDATIVEN PHOSPHORYLIERUNG IN DER REDOXKETTE VON
BIOMEMBRANEN

Deutsche Vollübersetzung aus dem Russischen:

Doklady. Akademiya nauk Ukrainskoj SSR. Serija B: Geologija,
Chimija, Biologija. Kiev, 1980, Nr 10, S. 78 - 81.

Russ.: **ФОСФИТ-ТИЛОВЫЙ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ
ОКИСЛИТЕЛЬНОГО ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ
В РЕДОКС-ЦЕПИ БИOMEMБРАН**

Fosfit-tiолоvyj élektrochimičeskij mehanizm
okislitel'nogo fosforilirovanija v redoks-цепи
biomembran

Summary

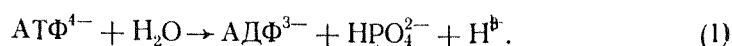
Chemical mechanism is suggested for coupling of oxidative phosphorylation in the redox-chain of biomembranes. On nongem metalloproteids phosphate is reduced electrochemically to phosphite which in subsequent oxidation forms a macroergic bond with one of the disulphide sulphur atoms.

Der Vorgang der oxidativen Phosphorylierung in elektronenübertragenen Systemen biologischer Membranen ist noch nicht genügend erforscht. In der letzten Zeit wurde von vielen Forschern die chemiosmotische Hypothese der energetischen Verbindung angenommen, die experimentell am stärksten untermauert ist /1, 2/. Ihrem Wesen nach ist diese Hypothese jedoch phänomenologisch, weil in ihr, wie L.A. Bljumenfel'd

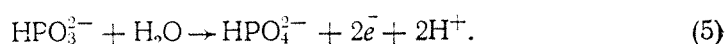
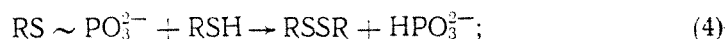
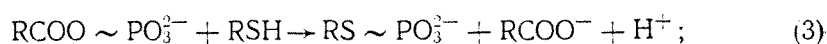
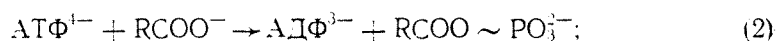
hervorhebt /3/, nicht die physikalischen Grundsätze der Energietransformation formuliert sind. Deshalb läßt sich die Möglichkeit eines chemischen Verlaufs der oxidativen Phosphorylierung der Redox-Kette nicht ausschließen. In der Regel zielt die allgemeine Tendenz der vorgeschlagenen chemischen Hypothesen darauf hin, die Möglichkeiten einer Beteiligung von anorganischem Phosphat in den ersten Energietransformationen der Redoxkette auszuschließen /1, 2/. Dies erklärt offensichtlich die erfolglosen Versuche, die chemische "Phosphat-Hypothese" Lipmans /4/ zu beweisen.

In der vorliegenden Arbeit wird der Reaktionsablauf der oxidativen Phosphorylierung dargelegt, bei dem das Phosphat im ersten Reaktionsablauf der Energietransformation beteiligt ist. Der Verteilung der Ladungsmenge auf der Membrane fällt eine bestimmte Rolle in der ADP-Synthese zu.

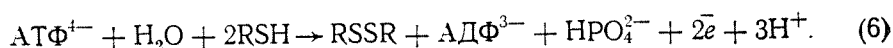
Die Darlegung der wichtigsten Annahmen des von uns vorgeschlagenen Mechanismus der oxidativen Phosphorylierung beginnt man am besten mit der Umkehrreaktion, der ADP-Hydrolyse in einem schwachbasischen Medium:



Desweiteren wird vorausgesetzt, daß im katalytischen Zentrum des H^+ -ADP-Komplexes die Carboxylgruppe und zwei SH-Gruppen unmittelbar an der ADP-Hydrolyse beteiligt sind. Danach läßt sich die Reaktion (1) in Form von vier aufeinanderfolgenden Reaktionen darstellen:

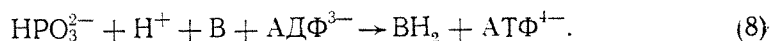
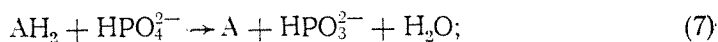


Die Gesamtreaktion sieht dann folgendermaßen aus:



Auf diese Weise kann die Reaktion (1) zur Reduktions-Oxydations-Reaktion führen /6/. Wesentlich hierbei ist, daß das

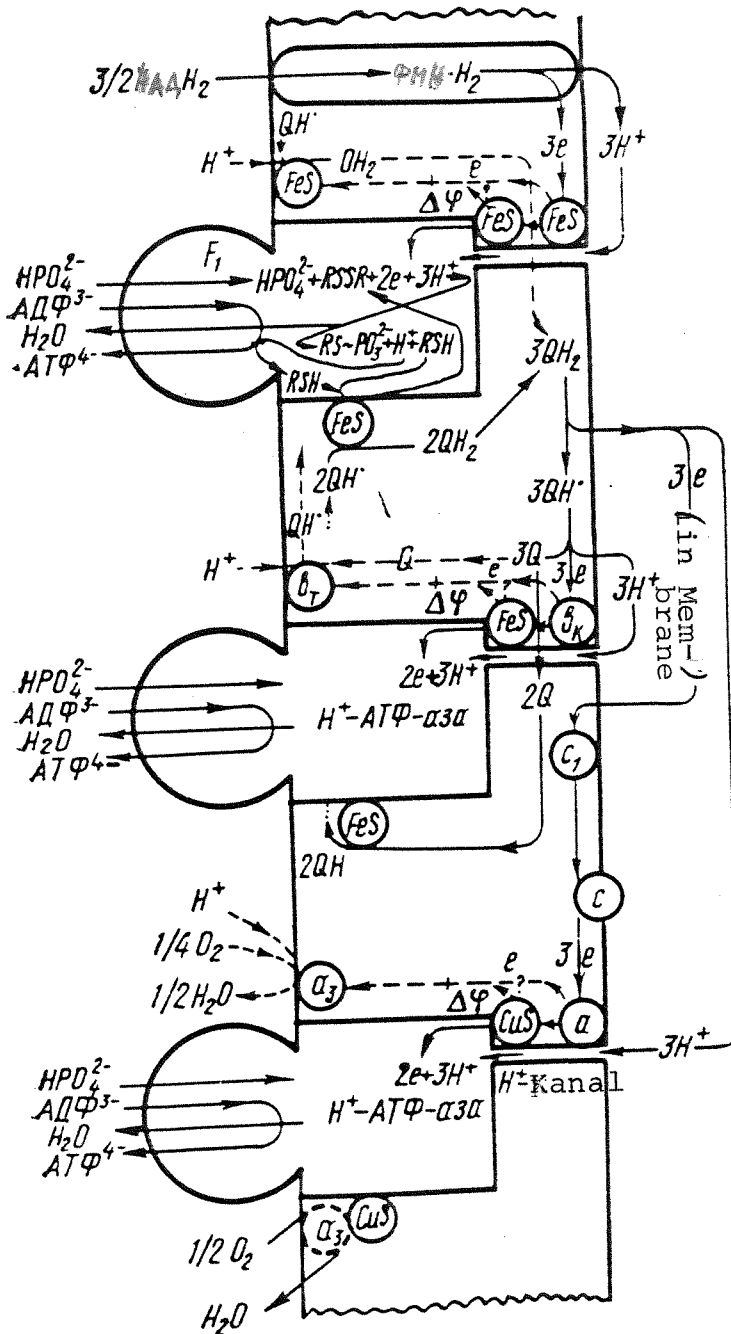
chemische Element Phosphor des anorganischen Phosphats dabei eine Reduktions-Oxydations-Umwandlung von $P^{5+} \rightarrow P^{3+} \rightarrow P^{5+}$ erfährt (die Zahlen geben den Oxidationsgrad des Elements wieder). Entsprechend den Referenzwerten beträgt das standardmäßige Reduktions-Oxydations-Potential (ROP) der Reaktion (5) - 0,276 W (pH 0). Dies bedeutet, daß unter normalen Bedingungen für die Verschiebung des Reaktionsgleichgewichts (5) nach links eine Energie in Größe der ADP-Hydrolyse-Energie erforderlich ist. Folglich kann die Reaktion (5) mit der Redox-Kette in Verbindung gebracht werden, und der Vorrat an Energie, die für die ADP-Synthese erforderlich ist, wäre dann durch die Umwandlung von Orthophosphat in Orthophosphit realisiert worden. Das Prinzip des chemischen (genauer gesagt, des elektrochemischen) Phosphit-Mechanismus der oxidativen Phosphorylierung zur Redoxketten kann durch die Reaktionen



dargestellt werden, wobei A, B und AH_2 , BH_2 Oxidations- und Reduktions-Überträger der Redox-Kette sind. In der Gesamtreaktion (6) von einer der möglichen biochemischen Varianten des vorgeschlagenen Mechanismus der Energiekopplung (2 - 5) bleiben die Reduktions-Oxydations-Umwandlungen des Phosphats verborgen, aber offensichtlich hängt die ADP-Hydrolyse mit der Oxydation zweier SH-Gruppen zusammen.

Das Reaktionsgleichgewicht bei der Oxidation der SH-Gruppen von Cystein ist, wie auch bei der ADP-Hydrolysereaktion, nach rechts verschoben. Folglich ist die Gesamtreaktion (6) weitaus ungleichgewichtiger als jede einzelne der Reaktionen. Nimmt man $\Delta G'$ (pH-7) für die ADP-Hydrolyse-Reaktion nach /3/ und für die Oxydationsreaktion von Cystein nach Cystin 8,6 kcal/mol an /5/, dann ergibt sich, daß man für die Verschiebung der Reaktionen (2 - 5) zur ADP-Hydrolyse-Seite hin - wenn man diese in Form der Reaktion (6) in die Redox-Kette einbezieht - die Energie 16,6 kcal/mol oder die ROP-Differenz zwischen den Überträgern in den Kopplungspunkten von ca.

0,36 W bei Doppелеlektronenbindung braucht. Die Differenz der ROP-Gleichgewichtswerte (ΔE_m) bei den Überträgern der Atmungskette von Mitochondrium in den Verbindungspunkten ist wesentlich geringer als dieser Wert /3/. Man könnte daraus schließen, daß der Kopplungsmechanismus mittels der Reaktionen (2 - 5) nicht real ist. Die Reaktion (6) kann man jedoch nicht nur in die Redoxkette "einbeziehen", sondern auch in die Differenz der elektrochemischen Potentiale der Wasserstoffionen (zu $\Delta\mu_{H^+}$) auf der Membrane, sodaß sich die Energien der Differenz von ROP und $\Delta\mu_{H^+}$ summieren.



Darstellung des hypothetischen elektrochemischen Phosphitthiol-Mechanismus bei der oxidativen Phosphorylierung in der Atmungskette von Mitochondrium

Auf der Zeichnung ist zu sehen, wie der Reaktionsablauf der Phosphorylierung mit der Atemkette Mitochondrium an den Verbindungsstellen bei der Oxidation von NADH_2 beschaffen sein muß. Die Haupteigenschaften dieses Mechanismus sind folgende:

1. An den Verbindungspunkten teilt sich die Elektronenübertragungskette in die klassische Kette, die $\Delta\bar{\mu}_{\text{H}^+}$ auf der Membrane nach Mitchell bildet (gestrichelte Linie), und in die Kette der chemischen Verbindung, die durch Nicht-gem.-Metallproteiden, Phosphat und Thiol vertreten wird. Dabei spielt Phosphat die Rolle des Elektronenüberträgers.
2. Alle drei Verbindungspunkte sind nach ein und demselben Prinzip aufgebaut, wenn der H^+ -ATPh-Komplex mit Hilfe der Metallproteiden (Nicht-gem.-Eisenschwefel- und -Kupferschwefel-Zentren) an die Redox-Kette und mit Hilfe des H^+ -Kanals an $\Delta\bar{\mu}_{\text{H}^+}$ auf der Membrane "angeschlossen" wird.
3. Die Elektroreduktion des Phosphats auf Phosphit und die Oxidation der SH-Gruppen kommt auf den Nicht-gem.-Metallproteiden zustande. Die Moleküle des entstehenden Wassers werden bei der Phosphat-Reduktion aus dem hydrophoben Bereich ausgestoßen.
4. $\Delta\bar{\mu}_{\text{H}^+}$ gewährleistet den Transport anorganischen Phosphats und ADPh ins katalytische Zentrum, sowie den Rücktransport von ATP, ebenso die Umverteilung der Elektronen durch Reduktion von Phosphat oder der Membranenergie.
5. Die theoretisch voraussagbaren Werte $\text{PO}(\text{ADPh}/\text{O})$ betragen 2,00 bei der Oxidation von NADH_2 , und 1,33 bei der Oxidation von Sukzinat oder α -Glyzerophosphat.

Wenn Phosphat in die ATP-Synthese in der ionisierten Form NPO_4^{2-} einbezogen wird, wie auf der Zeichnung zu sehen, dann wird nach den Reaktionen (1) und (3) nur ein einziges Proton beim "Anschluß" der Reaktion (6) an $\Delta\bar{\mu}_{\text{H}^+}$ beteiligt. Die

Gesamtenergie, die dabei für die ADPh-Synthese aufgewendet wird, beträgt in jedem Verbindungspunkt

$$\Delta G' = 2e \cdot F \cdot \Delta E_m + e \cdot F \cdot \Delta \bar{\mu}_{H^+} \approx -17 \text{ Kcal/mol},$$

wobei $\Delta E_m = -0,25 \text{ W /3/}$, $\Delta \bar{\mu}_{H^+} = -0,25 \text{ W /6/}$ und e Elektronenladung, F Faradaysche Zahl sind. Dies ist völlig ausreichend für die Verschiebung des Gleichgewichts der Reaktion (6) in Richtung der ATP-Synthese.

Effektivität der Phosphorylierung bei der Oxidation des α -Glyzerophosphats durch Mitochondrien

Werte	Norm	Tiroxin	
		250 g, 2 Tage	50 g, 9 Tage
ADPh/O	1,21±0,17	1,21±0,13	1,33±0,06
Atem- kontrolle	1,62±0,13 n=4	1,61±0,09 n=6	2,16±0,42 n=3

In der Tabelle sind die Meßergebnisse des ADPh/O-Koeffizienten nach dem polarographischen Verfahren bei der Oxidation von Mitochondrien an α -Glyzerophosphat dargestellt. Daß α -Glyzerophosphat gewählt wurde, läßt sich dadurch erklären, daß seine Metabolismus-Produkte im Unterschied zu Sukzinat nicht weiter in der Atemkette oxidiert werden und keinerlei Verzerrungen beim Echt-Wert von ADPh/O verursachen. Bei den Versuchen wurde Mitochondrium der Leber von normalen, 1 Monat alten Ratten und solchen Exemplaren verwendet, denen zur Induktion der α -Glyzerophosphat-Oxydase-Aktivität täglich Tiroxin verabreicht worden war.

Die niedrigen Werte bei der Atemkontrolle bedeuten hier keineswegs eine schlechte Qualität von Mitochondrium, weil in Sukzinat seine Werte über 3,5 liegen. Die erzielten ADPh/O-Werte bestätigen das in der Zeichnung wiedergegebene Verbindungsbild.

Der vorgeschlagene Reaktionsablauf läßt ebenfalls eine Erklärung der Zweckbestimmung der großen Gruppe an Nicht-gem.-Metallproteiden in der Atemkette von Mitochondrium zu /3/. Eine ausführlichere Beschreibung und Begründung des Phosphit-Thiol-Reaktionsverlaufs wird in der folgenden Arbeit gegeben.

Literatur

1. Рэкер Э. Биоэнергетические механизмы. М.: Мир, 1979. 216 с.
Réker, E.
Bioenergetičeskie mechanizmy.
Moskva: Verlag "Mir", 1979, 216 S.
Übersetzung von:
Racker, Efraim
Mechanisms in bioenergetics.
New York u.a.: Academy Press, 1965:
2. Скулачев В. П. Аккумуляция энергии в клетке. М.: Наука, 1969.— 440 с.
Skulačev, V.P.
Akkumuljacija énergii v kletke.
Moskva: Verlag "Nauka", 1969, 440 S.
/Zell-Energie-Akkumulation; russ./
3. Блюменфельд Л. А. Проблемы биологической физики. М.: Наука, 1977.— 336 с.
Bljumenfel'd, L/ev/A/leksandrovič/
Problémy biologičeskoj fiziki.
Moskva: Verlag "Nauka", 1977, 336 S.
Engl. Übersetzung:
Blumenfeld, L.A.
Problems of biological physics.
Berlin/Heidelberg/New York: Springer, 1981, 224 S.
(Springer Series in synergetics. 7)
4. Lippmann, Fritz: Metabolic process patterns
In: Currents in biochemical research. Ed. by David E. Green. New York: 1946, S. 137 - 148.
5. Handbook of biological data.
Philadelphia/London: W. Spector, W.B. Sander, Co., 1956.
6. Mitchell, Peter: A commentary of alternative hypotheses of protonic coupling in the membrane systems catalysing oxidative and photosynthetic phosphorylation.
In: FEBS /Federation of European Biochemical Societies/ letters for the rapid publication in biochemistry, biophysics, and molecular biology. Amsterdam, 78 (1977), Nr 1, S. 1 - 20.

Universität
Char'kov

Redaktionseingang
6.6.1980

Stuttgart, den 5. Dezember 1988

übersetzt von

(Andrea Ulrich-v.Oertzen)
Dipl.-Übersetzerin

Ottmar Pertschi
(Ottmar Pertschi)
Dipl.-Übersetzer