

Чекман І.С.,
Юзьків Я.С.,
Клименко О.В.

БІОХІМІЧНІ І ФАРМАКОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АТФ: НАНОБІОЛОГІЧНИЙ АСПЕКТ

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (м. Київ)

Резюме. АТФ (аденозинтрифосфат) – головне джерело і розподільник енергії в організмі людини. Фермент АТФ-синтаза синтезує АТФ. АТФ-синтаза є свого роду лідером серед молекулярних моторів такого типу: за ефективністю роботи і силою фермент істотно перевершує всі відомі в природі молекулярні мотори. Так, наприклад, молекула АТФ-синтази приблизно в 10 разів активніша за актоміозиновий комплекс – молекулярну машину, що спеціалізується на виконанні механічної роботи в клітинах м'язів і різних органах. Таким чином, за сотні мільйонів років до народження людини, яка винайшла колесо, переваги обертально-го руху були успішно реалізовані природою на молекулярному рівні.

Ключові слова: АТФ, АТФ-синтаза, нанобіологічний мотор, енергія.

АТФ (аденозинтрифосфат) – головне джерело і розподільник енергії в організмі людини. Молекула АТФ складається з аденоzinу і трьох фосфатних груп. При розриві зв'язку між фосфатною групою і аденоzinом виділяється енергія. [2, 13, 14]. АТФ є також одним із медіаторів аденоzinових (пуринергічних) рецепторів, бере участь у передачі нервового збудження в холінергічних та адренергічних нервових закінченнях. АТФ входить до складу фармакотерапевтичної групи засобів, що впливають на серцево-судинну систему [2, 6, 7]. АТФ і її лужні солі добре розчиняються у воді й погано – в органічних розчинниках. β - і γ -фосфатні залишки легко відщеплюються при гідролізі, α – гідролізується важче.

При гідролізі кожного із двох легкогідролізуєчих фосфатних залишків

АТФ, зв'язаних ангідридним зв'язком, виділяється значно більше енергії (від 8 до 11 ккал/моль), ніж при відщеплюванні важкогідролізуочного фосфату (2–3 ккал/моль). При кислому гідролізі N-глікозидний зв'язок АТФ розвивається так само легко, як і β - та γ -фосфатні залишки. Тому АТФ належить до так званих макроергічних сполук.

Аденозинтрифосфат бере участь у процесах аеробного і анаеробного окислювального фосфорилювання. Механізм дії АТФ у процесі скорочення м'язів відкритий російськими біохіміками В. О. Енгельгардтом і М. П. Любімовою, які показали, що скорочувальний білок м'язів, міозин, володіє властивостями ферменту – аденоzinтрифосфатази, яка відщеплює фосфат від АТФ. У цьому процесі й відбувається передача енергії фос-

фатних зв'язків АТФ скорочувальному білку м'язів [1, 2, 5].

АТФ є безпосереднім джерелом енергії для багатьох енерговитратних біохімічних та фізіологічних процесів: активного переміщення молекул через біологічні мембрани, в тому числі і для створення трансмембранного електричного потенціалу, здійснення м'язового скорочення. Аденоzinтрифосфат є проміжним продуктом при синтезі нуклеїнових кислот та відіграє важливу роль у регуляції багатьох біохімічних процесів, є попередником синтезу циклоаденоzinмонофосфату – вторинного посередника передачі в клітину гормонального сигналу. У ЦНС АТФ здатна впливати на функціонування нейронів: швидкий стимулюючий вплив самої АТФ може змінюватися довгостроковим впливом продукту її деградації – аденоzinу [3, 6]. Фермент АТФ-синтаза

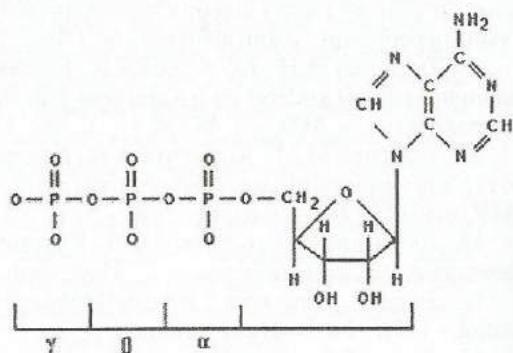


Рис.1. Аденозинтрифосфат α - , β - і γ -фосфатні залишки

синтезує АТФ, універсальну частку енергії в живих клітинах, з АДФ (аденозиндифосфат) і неорганічним фосфатом. Для здійснення ендогенної реакції фермент використовує енергію електрохімічного потенціалу, утворену градієнтом протона через біомембрани. Електрохімічна енергія як перший крок перетворюється на механічну енергію: кілька субодиниць ферменту обертаються відносно інших підрозділів. Механічна енергія, у свою чергу, перетворюється на хімічну, обертальний рух викликає конформаційні зміни до нуклеотидного місця зв'язування, що призводить до синтезу АТФ. Цей другий етап перетворення енергії є першим відомим прикладом хімічного синтезу з прямим приходом механічної сили. АТФ є не тільки джерелом енергії, а й своєрідним наномотором біологічних процесів в організмі людини [9, 11].

Як організми отримують енергію? Це просте питання означало початок багаторічних пошуків, які зрештою привели до відкриття функції ферменту АТФ-сінтази. Використовуючи енергію, отриману із протонних градієнтів, під час фотосинтезу або дихання, ензим синтезує молекули АТФ.

АТФ-сінтаза складається з двох обертаючих біологічних двигунів – F_0 і F_1 , що поєднані

своїми валами. Цей пристрій використовує рухи у вигляді 120° обертальних реакцій F_1 , перетворюючи енергію з електрохімічної через ланку механічної у хімічну форму [8].

Двигуни F_0 і F_1 мають спеціалізовані функції. Двигун F_0 пов'язаний з мембранами енергогенеруючих клітинних структур, таких як мітохондрія, і з протонами його каналів через ротор і необертальний статор, що дає можливість здійснювати оберти. Тим часом статор F_0 катализує виробництво АТФ з АДФ і неорганічного фосфату, за умови, що F_0 керує ротором F_1 з достатнім обертальним моментом (обертальною силою).

Кatalітичні ділянки F_1 знаходяться всередині трьох так названих β -субодиниць, які розташовані з трьохсторонньою симетрією в статорі. Біологічні двигуни F_0 і F_1 можуть працювати у зворотному напрямку. Ізольований F_1 має назву F_1 -АТФаза, оскільки поза обертальним моментом для F_0 здійснюється гідроліз АТФ до сили зворотного обертання. Існують непрямі докази того, що F^0 може обертатися [10], але обертання підкомплексу F_1 візуалізується безпосередньо в *in vitro*, шляхом закріплення статора на скляній поверхні і за допомогою мікрометричного розміру волокна, прикріпленого до γ -субодиниці ротора в якості вказівника [15, 16].

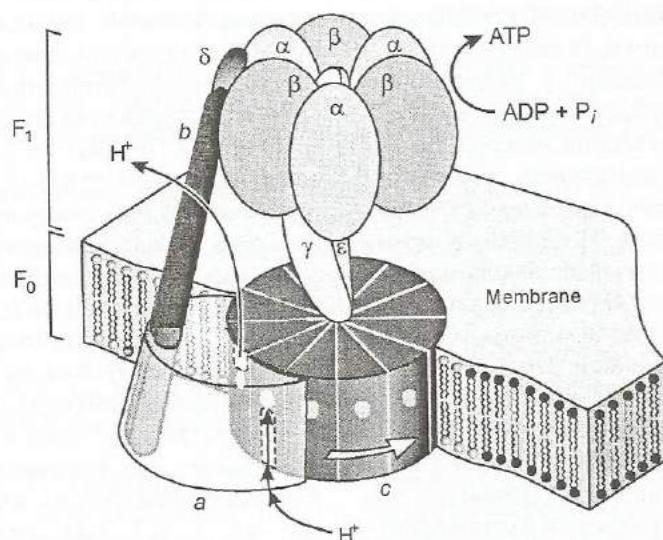


Рис.2. Структура біонаномолекулярного механізму (F_0F_1 -АТФази) [15]. Мембраний блок F_0 включає одну а-субодиницю (CO), дві b- CO і десять олігомерних c- CO і вмістить у собі протонний канал. Володіючи АТФазною активністю кatalітичний компонент F_1 , обернений в матрикс. Він складається із субодиниць 5 типів ($\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$): α (3 CO), β (3 CO), γ (1 CO), δ (1 CO) і ϵ (1 CO). Гомологічні а- і β - CO звязують нуклеотиди, але тільки β - CO володіє кatalітичною активністю. γ і ϵ - CO утворюють палочкоподібну структуру, яка направлена до мембраниого блоку F_0 та інтегрована в його центральну частину. При переміщенні протона з міжмембраниого простору в матрикс мітохондрії мембраний блок F_0 повертається на 120° .

120° обертальні реакції можуть бути виявлені шляхом спостереження за рухом філамента (волокна) при низьких концентраціях АТФ, що з'єднує АТФ з F1 двигуном і лімітує швидкість циклу між обертаннями [16]. Розподіл часу між реакціями відповідає одній молекулі АТФ, яка гідролізується на кожному етапі. Після початку реакції час, витрачений на 120° обертання, залежить від опору тертя, спричиненого філаментом (волокном) і його довжиною. Динамічний опір також згладжує будь-які особливо тонкі структури в межах 120° руху білка, коли спостерігати його через волокно. У зв'язку з цим виникає питання: яким чином рухи ротора пов'язані з реакцією гідролізу, що, ймовірно, відбуватиметься у зворотному напрямку в процесі синтезу АТФ? Таким чином, щоб зламати бар'єр швидкості, спричинений волокном, Yasuda R. та співавтори [15] ускладнили експеримент шляхом використання в якості маркера гранули діаметром усього 40 нанометрів. Використовуючи високошвидкісну камеру для захоплення кадрів обертання гранули, автори виявили, що, коли приєднані до γ -субодиниці від осі обертання, гранула обертається в ексцентричній орбіті в ході гідролізу АТФ. Опір при фракційному обертанні настільки незначний, що при збільшенні АТФ-концентрації 120° реакції починаються приблизно через кожні 2 мс і повний крок завершується протягом 0,25 мілісекунди.

Потенційна проблема у випадку цих швидких обертів полягає в тому, що вони можуть ускладнити виявлення підкроків у межах однієї реакції, враховуючи, що камера отримує дані лише двічі протягом 120° циклу. Завдяки роботі лауреата Нобелівської премії Paul Boyer стало відомо, що більша частина енергії, яка виділяється під час циклу гідролізу АТФ, виходить, коли АТФ міцно пов'язаний з однією каталітичною ділянкою. Більша частина енергії звільняється приблизно через 2 мілісекунди, коли продукти гідролізу (АДФ і неорганічного фосфату) звільняються від одної каталітичної ділянки. Ймовірно, що такі великі зміни енергії могли б супроводжуватися значними конформаційними (структурними) змінами в F1. Якби ці зміни включали (містили) обертальні підкроки, це дало б можливість збільшити середній час між послідовними підкроками принаймні до 2 мс, а головна складність полягала б у тому, щоб робити паузу при обертанні після підкроку

утворення продукту за рахунок зниження концентрації АТФ, достатньої для затримання наступного обов'язкового АТФ-підкроку на 2 мс або більше. Таким чином, кожен підкрок тепер здійснюється б після паузи.

Yasuda R. та співавтори [15] адаптували цю тактику, і результати руху в АТФ на 20 μ M або нижче показують $90 \pm 10^\circ$ і $30 \pm 10^\circ$ підкроків, відокремлених приблизно до 2 мілісекунд. 90° рух повинен бути обов'язковим підкроком — його середній час ініціації після 30° рухів залежить від концентрації АТФ. Гістограми часу ініціації показують затримку між 90° і 30° обертаннями і розподіл часу, сумісний з двома кінетичними переходами, кожне обертання вимагає приблизно 1 мілісекунди. Проблематичним залишається коригування цих переходів і підкроків зі структурними формами каталітичних β -підодиниць.

АТФ-синтаза — один з перших відомих ферментів, який каталізує взаємодію між його каталітичними ділянками. Експериментальними дослідженнями встановлено [15], що АТФ, пов'язаний з F₁, викликає обертання ферменту. F₁, таким чином, приєднується до певних молекулярних машин, які використовують АТФ-сполучення в одній каталітичній ділянці, щоб викликати випуск продукту від іншої каталітичної ділянки за допомогою значних механічних рухів.

АТФ входить до складу багатьох лікарських засобів. Серед найбільш поширених — кардіологічні препарати: АТФ-ЛОНГ (аденозин-5'-трифосфато-гістидинатомагнієм (ІІ) трикалієва сіль октагідрат з натрієм хлоридом; АТФ-ФОРТЕ (1 таблетка містить субстанцію АТФ-ЛОНГ у перерахуванні на суху речовину (без вмісту натрієвого хлориду) - 15 мг, що відповідає сумі аденоілових нуклеотидів 9,44 мг або 30 мг - відповідає сумі аденоінових нуклеотидів 18,89 мг), натрієвий аденозинтрифосфат — Біофарма (динатрієвий аденозинтрифосфат у перерахуванні на 100% кислоту аденозинтрифосфорну ($C_{10}H_{16}N_5O_{13}P_3 \cdot 3H_2O$).

В результаті проведених досліджень встановлено, що фармакологічна активність АТФ реалізується тільки в комплексі з іонами Mg^{2+} [6, 7, 12]. Такі сполуки називаються координаторами [4, 12].

АТФ виконує різноманітні функції, є медіатором рецепторів, а також входить до складу лікарських засобів. Результати досліджень останніх років свідчать, що дана молекула є нанобіологічним мотором.

БІОХІМИЧЕСКІ І ФАРМАКОЛОГІЧЕСКІ СВОЙСТВА АТФ: НАНОБІОЛОГІЧЕСКИЙ АСПЕКТ

Чекман І.С., Юзьків Я.С., Кліменко О.В.

Резюме. АТФ (аденозинтрифосфат) – головний істочник і розподільник енергії в організмі людини. Фермент АТФ-синтаза синтезує АТФ.

АТФ-синтаза є своєго роду лідером серед молекулярних моторів такого типу: по ефективності роботи і силі вона значно перевосходить всі відомі в природі молекулярні мотори. Так, наприклад, молекула АТФ-синтази приблизно в 10 раз активніше актоміозинового комплекса – молекулярної машини, спеціалізованої на виконанні механічної роботи в клітинах м'язів і різних органах. Таким чином, за сотні мільйонів років з дня народження людини, який вобрал колесо, переважно вращального характеру руху, були успішно реалізовані природою на молекулярному рівні.

Ключові слова: АТФ, АТФ-синтаза, нанобіологічний мотор, енергія.

BIOCHEMICAL AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES ATP: NANOBIOLOGICAL ASPECT

Chekman I.S., Yuzkiv Y.S., Klimentko O.V.

Abstract. ATP (adenosintriphosphat) – main source and distributor of energy in the organism of man. The ATP-synthase enzyme synthesizes ATP. ATP-synthase is some kind of the champion among molecular motors of this kind. It essentially surpasses all molecular motors known in the nature in overall performance and force developed by it. So, for example, molecule of ATP-synthase approximately in 10 times is more active than actomyosin complex – the molecular machines specializing in cells of muscles and in cells in various organs on performance of mechanical work. Thus, for hundred millions years before there was a person, who has invented a wheel, advantages of rotary character of movement have been successfully realized by the nature at molecular level.

Key words: ATP, ATP-synthase, nanobiological motor, energy.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Владимиров Г. Е., Гиподман Л. М. Биохимия. – 1953. – № 18. – Вып. 4. – 490 с.
2. Губський Ю.І. Біологічна хімія. Підручник. – Київ – Вінниця: НОВА КНИГА, 2007. – 656 с.
3. Зиганшин А.У., Зиганшина Л.Е., Бернсток Д. Рецепторы: теоретические предпосылки клинического воздействия // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2002. – №10. – С. 365 – 370.
4. Липкан Г.Н., Мхитарян Л.С., Кутняк В.П. «АТФ-ЛОНГ» – представитель нового класса кардиотропных препаратов // Журнал практического лікаря. – 1999. – №4. – С. 56–59.
5. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: В 2-х томах. – М.: Мир, 1993. – Т.1. – 520 с.
6. Тринус Ф.П. Фармакология пуринергических систем // Вестн. АМН СССР. – 1982. – №5. – С. 69-72.
7. Чекман И.С. Биохимическая фармакология. К., 1991. – 199 с.
8. Dürer M.G., Bi Y., Zarrabi N. et al. The proton-translocating a subunit of F0F1-ATP synthase is allocated asymmetrically to the peripheral stalk // J. Biol. Chem. – 2008. – № 283. – P.33602–33610.
9. Hoek A., I Nougalli-Tonaco I., Borst JW. et al. Protein-protein interactions in vivo // Use of biosensors based on FRET. in: Reviews in Fluorescence. – 2006. – Vol. 3. – P. 341–57.
10. Krebstakies T., Zimmermann B., Gräber P. Both Rotor and Stator subunits are necessary for efficient binding of F1 to F0 in functionally assembled E. coli ATP synthase // J. Biol. Chem. – 2005. – № 280. – P.33338–33345.
11. Lill H., Pavlova P., Groth G. et al. ATP synthase-regulation of a complex Machine. – 2006. – 306 p.
12. Meldrum D.R., Ayala A., Chaudry I.H. Energetics of lymphocyte «burn-out» following hemorrhage and resuscitation: Adjuvant treatment with ATP-MgC12 restores energetic and decreases lethality // J. Surg. Res. – 1994. – Vol. 53. – P.55–61.
13. Stryer L. Biochemistry. New York: W.H. Freeman and Company. – 1988. – P. 315-320.
14. Stryer L. Biochemistry. New York: W.H. Freeman and Company. – 1988. – P. 935-936.
15. Yasuda R., Noji H., Yoshida M., Kinoshita K. Jr., Itoh H. Resolution of distinct rotational substeps by submillisecond kinetic analysis of F1-ATPase // Nature. – 2001. – Vol. 410, №6831. – P. 898–904.
16. Yasuda R., Noji H., Kinoshita K. Jr., Yoshida M. F1-ATPase is a highly efficient molecular motor that rotates with discrete 120 degree steps // Cell. – 2001. – Vol. 93, №7. – P. 1117–1124.