

F-АТФ-синтаза

Емельянов Артем
Московский государственный
университет имени М.В.
Ломоносова
yaz008.yaz008@yandex.ru

27.10.2024

1 Введение

АТФ-синтаза - важнейший фермент, играющий значительную роль в производстве клеточной энергии. Он расположен во внутренней митохондриальной мембране эукариотических клеток и в плазматической мембране прокариот. АТФ-синтаза использует энергию протонного градиента, создаваемого электронно-транспортной цепью, для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата.

2 Структура фермента

Структура АТФ-синтазы варьирует у разных организмов, но основные части остаются схожими. В целом фермент состоит из двух основных доменов: F_1 и F_0 .

2.1 Субъединицы

У *E. coli* домен F_1 состоит из пяти отдельных субъединиц: α , β , γ , δ и ϵ . Стехиометрическое соотношение составляет $3\alpha : 3\beta : 1\gamma : 1\delta : 1\epsilon$. Домен F_0 , отвечающий за транслокацию протонов через мембрану, состоит из трех дополнительных субъединиц: a , b и c . Соотношение этих субъединиц в *E. coli* составляет $1a : 2b : 10c$.

Напротив, митохондриальный фактор F_1 имеет схожий состав, но включает дополнительную субъединицу, известную как OSCP (oligomycin sensitivity conferring protein). Стехиометрия митохондриальной АТФ-синтазы может быть описана как $3\alpha : 3\beta : 1\gamma : 1\delta : 1\epsilon : 1\text{OSCP}$.

В животных клетках структура несколько иная. Общепринятые стехиометрические коэффициенты для АТФ-синтазы в этих клетках составляют $3\alpha : 3\beta : 1\gamma : 1\delta : 1\epsilon : 1\text{OSCP} : 1a : 1b : 8c$.

2.2 3D-структура

2.2.1 F-One

Сектор F_1 был широко изучен, и его трехмерная структура была определена с высоким разрешением ($2,4 \text{ \AA}$) с помощью рентгеновской кристаллографии. Комплекс F_1 состоит преимущественно из трех типов субъединиц: $3\alpha : 3\beta : 1\gamma$. Центральная часть фермента состоит из длинных α -спиральных сегментов γ -субъединицы, окруженных поочередно α - и β -субъединицами.

Субъединицы α и β содержат по одному нуклеотид-связывающему сайту, в то время как субъединица γ играет важнейшую структурную роль, не связывая нуклеотиды в физико-биологических условиях. Субъединица γ простирается асимметрично от центра глобулы, образуя "стебель", который соединяет F_1 с доменом F_0 . Субъединица ϵ располагается ближе к сектору F_0 и участвует в регуляции.

2.2.2 F-Zero

Сектор F_0 участвует в транслокации протонов через мембрану. Он состоит из субъединиц типов a, b и c.

Субъединицы c образуют олигомерную кольцевую структуру, в которой фактическое количество элементов варьирует у разных организмов. Например, *E. coli* обычно содержит 10 c-субъединиц. Каждая c-субъединица состоит из двух трансмембранных α -спиралей, соединенных петлей, богатой полярными аминокислотами (что имеет решающее значение для протонного транспорта).

Субъединица a гидрофобна и образует несколько трансмембранных α -спиралей (которые, вероятно, участвуют в формировании протонпроводящего пути).

Напротив, b-субъединица оказывается более гидрофильной и помогает стабилизировать сборку F_1 и F_0 , образуя "периферическую ножку" АТФ-синтазы.

3 Механизм

АТФ-синтаза встроена во внутреннюю митохондриальную мембрану (или тилакоидную мембрану хлоропластов) и использует протонный градиент, создаваемый электронно-транспортной цепью. Протоны (H^+) поступают обратно в митохондриальный матрикс через сектор F_0 АТФ-синтазы.

Часть F_0 встроена в мембрану и состоит из множества субъединиц, включая c-субъединицы, которые образуют вращающееся кольцо. Когда протоны попадают в это кольцо, они вызывают вращение c-субъединиц. Каждый проходящий протон вызывает конформационное изменение, которое облегчает вращение c-кольца.

Вращение c-кольца передается компоненту F_1 через центральную ножку (состоящую из γ -субъединицы). Это вращение вызывает конформационные изменения в β -субъединицах F_1 , которые отвечают за катализ синтеза АТФ.

Компонент F_1 состоит из трех β -субъединиц, каждая из которых способна связывать АДФ и неорганический фосфат с образованием АТФ.

Поскольку β -субъединицы претерпевают конформационные изменения во время каждого оборота ("свободное", "плотное" и "открытое" состояния), они последовательно связывают АДФ и неорганические фос...

фат, превращают их в АТФ и высвобождают в митохондриальный матрикс. Этот процесс происходит за счет механической энергии (скручивание γ -субъединицы), получаемой от потока протонов.

Активность АТФ-синтазы может регулироваться различными факторами, включая доступность АДФ и протонную движущую силу. Когда уровень АДФ высок, комплекс F_1F_{10} работает более активно, вырабатывая АТФ.

4 Разновидности АТФ-синтаз

4.1 Эволюция

Все вращающиеся ион-транслоцирующие АТФазы имеют общее эволюционное происхождение, что позволяет предположить, что они произошли от общего предка, который обладал основными структурными особенностями, необходимыми для синтеза АТФ и транспорта ионов. Эта эволюционная связь подтверждается сохранением ключевых субъединиц, участвующих в катализе, у всех типов АТФ-синтаз.

4.2 Структурные различия

4.2.1 F-Типе

АТФ-синтазы F-типа характеризуются относительно простой структурой, состоящей из гидрофильного субкомплекса F_1 и гидрофобного субкомплекса F_0 . Часть F_1 содержит гексамерное кольцо, образованное чередующимися α - и β -субъединицами, в котором находятся сайты связывания нуклеотидов. Центральная ножка, состоящая из γ -субъединицы, соединяет комплексы F_1 и F_0 , облегчая вращательное движение во время синтеза АТФ. Примечательно, что АТФ-синтазы F-типа из разных организмов (например, бактерий и хлоропластов) имеют небольшие структурные различия, сохраняя при этом консервативную сборку субъединиц, которая имеет решающее значение для их каталитической функции. Однако митохондриальные АТФ-синтазы F-типа включают дополнительную субъединицу ϵ в центральной ножке, что повышает их сложность по сравнению с бактериальными аналогами.

4.2.2 V-образный

АТФ-синтазы V-типа значительно отличаются по структуре от ферментов F-типа. Они обладают несколькими периферическими стеблями - обычно тремя - каждый из которых состоит из двух субъединиц (e и g). Такая структурная вариация обеспечивает более сложное взаимодействие в эукариотических клетках, где АТФ-синтазы V-типа в основном функционируют как протонные насосы, а не как синтезаторы АТФ. Центральная ножка ферментов V-типа содержит дополнительные уникальные субъединицы, способствующие присоединению

функциональной d-субъединицы, которая отсутствует у АТФ-синтаз F-типа. Наличие гидрофильного домена в субъединице a V-типа АТФ-синтаз способствует прикреплению периферических стеблей.

4.2.3 А-тип

АТФ-синтазы А-типа имеют некоторые общие черты с F- и V-типами, но встречаются в основном у архей и некоторых бактерий. Как правило, они имеют две периферические ножки и центральную ножку, которая соединяется с каталитическими участками. Считается, что структурные компоненты ферментов А-типа произошли от предковых форм, общих с АТФ-синтазами V-типа (тесная эволюционная связь).

4.3 Функциональные различия

АТФ-синтазы F-типа в первую очередь функционируют как АТФ-синтазы, катализируя синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата с использованием энергии, получаемой от электрохимического градиента протонов через мембрану. Однако при определенных условиях они могут работать и в обратном направлении, гидролизуя АТФ для поддержания протонного градиента, когда это необходимо.

В отличие от них, АТФ-синтазы V-типа являются в первую очередь протонными насосами и не синтезируют АТФ напрямую. Вместо этого они используют гидролиз АТФ для переноса протонов через мембраны, создавая электрохимический градиент протонов.

АТФ-синтазы А-типа демонстрируют функциональную универсальность, сходную с ферментами F-типа (но встречаются они преимущественно у архей и некоторых бактерий). В зависимости от условий окружающей среды они могут функционировать и как АТФ-синтазы, и как АТФ-зависимые протонные насосы.

5 Регулирование АДП

5.1 Обзор

АТФ-синтаза катализирует синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата, используя протонную движущую силу, создаваемую электронно-транспортными цепями, но она может выполнять и обратную функцию и действовать как АТФ-зависимый протонный насос.

Механизм ингибирования АТФ-синтазы АДФ включает в себя прежде всего неконкурентное ингибирование АДФ, когда он связывается с каталитическим участком фермента без присутствия неорганического фосфата.

5.2 Процесс

Когда АДФ связывается с каталитическим сайтом F_0F_1 -комплекса, он может вызывать конформационные изменения в ферменте. Это связывание происходит в отсутствие неорганического фосфата.

Конформационные изменения, вызванные связыванием АДФ, могут привести к тому, что высвобождение АДФ из каталитического участка

будет затруднено. Это эффективно инактивирует фермент, предотвращая дальнейший синтез АТФ и приводя к состоянию, когда вместо этого может происходить гидролиз АТФ.

Высвобождение прочно связанного АДФ и реактивация АТФ-синтазы может происходить при наличии достаточной протонной движущей силы. Однако порог

для реактивации часто выше, чем требуется для синтеза АТФ, что указывает на то, что в условиях низкой энергии фермент остается неактивным, несмотря на потенциальный градиент протонов.

Энергизация мембраны повышает сродство каталитического сайта к неорганическому фосфату, тем самым снижая вероятность присутствия АДФ без него. Этот механизм помогает предотвратить переход в АДФ-инактивированное состояние.

Некоторые соединения, такие как спирты, сульфиты и детергенты, могут ослаблять ингибирование АДФ и усиливать активность АТФазы. Эти соединения могут взаимодействовать с АТФ-синтазой таким образом, что стабилизируют ее активную форму или способствуют в ы с в о б о ж д е н и ю АДФ.

5.3 Регуляторные белки

5.3.1 Белок IF1

Белок IF1 действует как важнейший ингибитор АТФ-синтазы в условиях низкого уровня АДФ. Он связывается с сектором F1 АТФ-синтазы, не позволяя ферменту гидролизовать АТФ до АДФ и неорганического фосфата, когда синтез АТФ не требуется.

IF1 стабилизирует структуру АТФ-синтазы, особенно в ее неактивном состоянии. Связываясь с ферментом, он предотвращает конформационные изменения, которые могут привести к гидролизу АТФ.

Активность IF1 зависит от уровня pH. В кислых условиях IF1 с большей вероятностью связывается с АТФ-синтазой.

5.3.2 Субъединица Эпсилон

Субъединица ϵ вносит свой вклад в структурную целостность комплекса F1 в составе АТФ-синтазы. Ее присутствие необходимо для поддержания правильной сборки и функционирования ферментного комплекса

6 Субъединица Эпсилон

6.1 Структурный контекст

Эпсилон-субъединица входит в состав сектора F_1 АТФ-синтазы, который отвечает за синтез АТФ. Ее положение и структура позволяют ей тесно взаимодействовать с другими субъединицами, в частности с субъединицами α и β , которые образуют каталитические сайты.

6.2 Сборка комплекса F0F1

Сборка АТФ-синтазы - это многоступенчатый процесс, требующий точной координации между субъединицами. Субъединица ϵ вносит свой вклад в этот процесс, стабилизируя промежуточные формы комплекса по мере его сборки. N-концевая β -сэндвич часть субъединицы ϵ играет решающую роль

в сборке комплекса F_0 у разных организмов.

6.3 Ингибирование гидролиза АТФ

Одной из основных регуляторных функций субъединицы ϵ является ингибирование гидролиза АТФ в определенных условиях. Это ингибирование имеет решающее значение для предотвращения потерь энергии при достаточном уровне АТФ. Эпсилон-субъединица достигает этого путем:

- **Конформационные изменения:** Субъединица ϵ может претерпевать конформационные сдвиги, которые изменяют ее взаимодействие с каталитическими участками. При высоком уровне АТФ эти сдвиги могут стабилизировать удлинненную конформацию, которая препятствует гидролизу.
- **Динамика связывания:** Связывание АДФ и неорганического фосфата может влиять на состояние субъединицы ϵ , способствуя расширенной конформации, которая благоприятствует синтезу АТФ и препятствует гидролизу.

6.4 Регулирование с помощью протонной двигательной силы

На активность АТФ-синтазы, в том числе субъединицы ϵ , влияет протонная движущая сила. Она гонит протоны через сектор F_0 , вызывая вращение, которое влияет на конформацию сектора F_1 (в частности, на тример $\alpha + \beta$). Сильная протонная движущая сила может активировать синтез АТФ, в то время как слабая сила может запустить его гидролиз.

6.5 Роль в каталитическом механизме

Субъединица ϵ способствует правильному расположению и ориентации нуклеотидов в каталитических участках, повышая эффективность синтеза АТФ.

Взаимодействие между субъединицей ϵ и другими компонентами облегчает вращательное взаимодействие, необходимое для производства АТФ. Это взаимодействие необходимо для преобразования механической (вращательной и торсионной) энергии, получаемой от потока протонов, в химическую энергию, запасенную в АТФ.

6.6 Взаимодействие с другими субъединицами

Субъединица ϵ имеет специфические сайты связывания, которые облегчают ее взаимодействие с субъединицами α и β . Эти взаимодействия имеют решающее значение для поддержания структурной целостности АТФ-синтазного комплекса во время синтеза АТФ.

После связывания с субъединицами α и β субъединица ϵ вызывает конформационные изменения, необходимые для синтеза АТФ. Эти

изменения связаны с вращением гамма-субъединицы. Субъединица ϵ выступает в роли стабилизатора во время этого процесса, обеспечивая правильное расположение каталитических участков.

Субъединица ϵ образует прямые контакты со специфическими остатками на α -субъединицах, что помогает стабилизировать их конформацию во время синтеза АТФ. Взаимодействие с бета-субъединицами более сложное, оно включает множество точек контакта. Они обеспечивают стабильность структуры. Связывание ϵ -субъединицы может регулировать эффективность перехода бета-субъединиц между различными состояниями.

7 Конформационные переходы

7.1 Инициальное состояние

Начальное состояние эпсилон-субъединицы АТФ-синтазы включает в себя несколько ключевых характеристик.

- **Компактная структура:** В исходном состоянии субъединица ϵ обычно находится в компактной конформации. Эта компактность имеет решающее значение для ее взаимодействия с другими субъединицами АТФ-синтазы, в частности с каталитическим ядром (субъединицы α и β).
- **Позиционирование:** Субъединица ϵ расположена в комплексе ротора, который является частью более крупной структуры АТФ-синтазы. Ее расположение имеет стратегическое значение для облегчения необходимых конформационных изменений во время синтеза АТФ.
- **Места связывания:** Субъединица ϵ содержит специфические участки связывания, которые позволяют ей взаимодействовать с с-кольцом ротора. Это взаимодействие необходимо для передачи вращательных движений, возникающих при прохождении протонов через мембрану.
- **Стабильность:** Начальное состояние субъединицы ϵ стабилизируется за счет взаимодействий с соседними субъединицами, что обеспечивает ее сохранность на начальных этапах синтеза АТФ.

7.2 Переход в активное состояние

При прохождении протона через с-кольцо происходит конформационное изменение.

- **Начальный триггер:** Переход в активное состояние инициируется вращением с-кольца, которое происходит под действием потока протонов через мембрану. Это вращение прикладывает механическую силу к субъединице ϵ , заставляя ее претерпевать конформационные изменения.
- **Вращательно-индуцированное движение:** Это движение выравнивает субъединицу ϵ с каталитическими сайтами субъединиц α и β , способствуя эффективному взаимодействию.
- **Открытие сайтов связывания:** Во время этого перехода специфические сайты связывания на субъединице ϵ становятся более доступными.
- **Формирование активной конформации:** В активном состоянии

субъединица ϵ принимает вытянутую форму. Такая конформация позволяет ей эффективно передавать механическую энергию от вращения с-кольца к каталитическому ядру, способствуя образованию АТФ.

7.3 Активное государство

- **Удлиненная конформация:** В активном состоянии субъединица ϵ принимает более вытянутую конформацию по сравнению с исходным состоянием. Это структурное изменение имеет решающее значение для ее взаимодействия с другими компонентами АТФ-синтазы, в частности с каталитическими участками субъединиц α и β .
- **Динамические взаимодействия:** Активная субъединица ϵ способна к динамическим взаимодействиям с с-кольцом и каталитическим ядром. Эти взаимодействия необходимы для передачи механической энергии, получаемой от потока протонов, в химическую энергию в виде АТФ.
- **Облегчение синтеза АТФ:** Активная конформация субъединицы ϵ позволяет ей эффективно передавать вращательные движения от с-кольца к каталитическим участкам. Эта связь имеет решающее значение для синтеза АТФ из АДФ и неорганического фосфата (Pi).

7.4 Переход в исходное состояние

После синтеза АТФ субъединица ϵ должна вернуться в свою исходную конформацию:

- **Потеря механических сил:** Переход в исходное состояние происходит в первую очередь из-за прекращения действия механических сил, которые были приложены во время синтеза АТФ. Когда поток протонов уменьшается или прекращается, замедляется ротация с-кольца, что приводит к уменьшению крутящего момента, действующего на субъединицу ϵ .
- **Реверсия конформационных изменений:** В ответ на потерю механического входа субъединица ϵ претерпевает ряд конформационных изменений, которые возвращают ее к компактной структуре. Это возвращение перезапускает фермент для нового каталитического цикла.
- **Восстановление компактной конформации:** Субъединица ϵ возвращается в более компактную конформацию, которая стабилизирует взаимодействие с другими субъединицами. Это компактное состояние позволяет ей подготовиться к следующим вращениям.
- **Выравнивание с каталитическими участками:** Во время этого перехода субъединица ϵ должна выровняться с каталитическими сайтами субъединиц α и β . Это выравнивание имеет решающее значение для того, чтобы она могла участвовать в следующих циклах синтеза АТФ.

Ссылки

- [1] *АТФ-синтаза*, Биоэнергетика, 2011.
- [2] В.М. Зубарева, А.С. Лапашина, Т.Е. Шугаева, А.В. Литвин, Б.А. Фенюк,
*Поворотные ион-транслоцирующие АТФазы/АТФ-синтазы:
Разнообразие, общие черты и различия*, Биохимия, 2020.

- [3] А.С. Лапашина, Б.А. Фенюк, *Ингибирование АДФ H^+ -F₀F₁-АТФ-синтазы*, Биохимия, 2018.
- [4] Борис А. Фенюк а, Тошихару Сузуки, Масасуке Йошида, *Роль субъединицы epsilon в катализе и регуляции F₀F₁-АТФ-синтазы*, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 2006.
- [5] Борис А. Фенюк, Ясуюки Като-Ямада, Масасуке Йошида и Тоши-Хару Судзуки, *Конформационные переходы субъединицы Epsilon в АТФ-синтазе из термофильной Bacillus PS3*, Биофизический журнал, 2010.