

Antarctic Research Station «Comandante Ferraz», King George Island // Polar Biol, 2007. № 30. P. 209-210.

23. Gregoire, M. Interphasic chromosome segregation in micronuclei followed by electron microscopy

and fluorochromes H 33342 binding to DNA / M. Gregoire, D. Hernandez-Verdun, C Masson et al. // Biol. Cell. 1982. № 2. P. 123-129.

УДК 577.23

Матвеев Н.А.

Институт истории естествознания и техники им. С.И. Вавилова РАН

К ВОПРОСУ О РОЛИ ТЕРМОДИНАМИКИ И БИОЭНЕРГЕТИКИ В ИСТОРИИ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ*

N. Matveenko

S.I. Vavilov Institute of History of Science and Technology Russian Academy of Sciences

TO THE ROLE OF THERMODYNAMICS AND BIOENERGETICS IN THE HISTORY OF PHYSICO-CHEMICAL BIOLOGY

Аннотация. В статье обсуждается ведущая роль термодинамики в преобразовании биологии в точную науку «по образцу физики и химии». Биоэнергетика, возникнув в 60-х гг. XIX ст. как новое течение общей физиологии, исследующее возможность применимости законов термодинамики к анализу процессов в живых организмах, к 20-м гг. XX ст. приобретает черты самостоятельной биохимической исследовательской области. Её развитие в 1930-х — 1960-х гг. привело к формированию науки биоэнергетики, изучающей молекулярные основы энергетического обмена живых систем. Делается вывод, что история биоэнергетики отражает наиболее существенные закономерности становления современной физико-химической биологии.

Ключевые слова: биоэнергетика, энергия, термодинамика, дыхание, фотосинтез, биологическое окисление, брожение, цикл лимонной кислоты (Кребса), дыхательная цепь, окислительное фосфорилирование, аденозинтрифосфат (АТФ), электрохимический потенциал ионов водорода ($\Delta\mu\text{H}$), хемосмотическая теория.

Abstract. In the article the leading role of thermodynamics in transformation of biology into the kind of exact science like physics and chemistry is discussed. Bioenergetics emerged in the 1860's as a new branch of general physiology investigating the applicability of thermodynamics laws to living processes, in the 1920's became a research field of biochemistry. In the 1930's — 60's bioenergetics as the science investigating the molecular basis of energy metabolism is formed. The conclusion is made that the history of bioenergetics reflects the most significant patterns of the development of modern physical-chemical biology.

Key words: bioenergetics, energy, thermodynamics, respiration, photosynthesis, biological oxidation, fermentation, citric acid (Krebs) cycle, respiratory chain, oxidative phosphorylation, adenosine triphosphate (ATP), proton electrochemical gradient ($\Delta\mu\text{H}$), chemiosmotic theory.

Самостоятельное обеспечение энергоресурсами является одной из фундаментальных особенностей живых систем. Наука, исследующая эту функцию, называется биоэнергетикой и представляет собой один из разделов современной биохимии и молекулярной биологии [9].

* © Матвеев Н.А.

Насколько важна энергия – каждое живое существо знает из повседневного опыта: для поддержания жизнедеятельности надо питаться и периодически восстанавливать силы. Самый общий вопрос биоэнергетики – вопрос о причине движений живых организмов – является одновременно и одним из древнейших вопросов естествознания. В то же время само понятие энергии как универсальной меры способности совершать работу, т. е. проводить процессы, которые не могут идти самопроизвольным путём, сравнительно новое. Оно было введено в естествознание в середине XIX в. в связи с открытием и обоснованием принципа сохранения «работоспособных сил» (т. е. энергии) в трудах Р. Майера (1814–1878), Дж. Джоуля (1818–1889) и Г. Гельмгольца (1821–1894). К этому же времени стал известен феноменологический подход, основанный французским инженером Сади Карно (1796–1832) с целью рассчитать эффективность (КПД) тепловых двигателей, не прибегая к изучению их внутреннего строения. Этот подход оказался впоследствии необычайно плодотворным не только в физике и механике, но и в химико-биологических науках.

Соединение принципа сохранения энергии с подходом Карно легло в основу термодинамики – науки, исследующей общие закономерности процессов совершения работы, т. е. превращения энергии. В истории естествознания термодинамика явилась первой наукой, которая позволила достоверно сравнивать биологические и небологические явления, процессы в весьма разных по природе устройствах, а также производить точные расчёты при недостатке знаний о внутренней структуре исследуемых объектов. Работа паровой машины, двигателя внутреннего сгорания, электродвигателя и живого организма оценивается в одних и тех же единицах, носящих имя Джоуля, экспериментально доказавшего существование постоянного механического эквивалента теплоты. Два закона термодинамики позволяют вывести важные закономерности

биологических процессов, которые, как выяснили исследователи XX столетия, имеют физико-химическую основу. Прежде всего с термодинамикой отпала необходимость привлекать «жизненную силу» для объяснения биологических явлений, хотя немногие из биологов сразу согласились так думать. (Однако и сегодня существуют многочисленные приверженцы учения об особых свойствах «биоэнергии» и «биоэнергоинформационного поля», выходящих за рамки известных физико-химических закономерностей, которое тоже носит название «биоэнергетика».)

Второй закон термодинамики позволил прояснить существо ещё одного древнего вопроса естествознания – вопроса о природе теплоты, который долгое время на неверной основе тесно увязывался с вопросом об источнике движений. Среди врачей и физиологов бытовало представление о «врождённой теплоте», идущее от Аристотеля. Питание и дыхание на этом фоне выглядели подсобными процессами, служащими, соответственно, для поддержания «внутреннего огня» и для предотвращения «перегрева» организма, поскольку пища, с точки зрения Аристотеля, содержит избыточное количество потенциальной теплоты.

Путь к научному пониманию дыхания, природы теплоты и движений живых существ, путь к выяснению принципа взаимосвязи всех этих процессов, лежал в исследованиях состава воздуха и его изменений в ходе горения и дыхания. Они были начаты в XVI в. врачом и алхимиком Парацельсом (1493–1541) и привели к двум важнейшим открытиям XVIII в. Дж. Пристли (1733–1804) открыл фотосинтез – основной энергодающий процесс биосферы, и первым выделил «действующее начало дыхания» — кислород. А. Лавуазье (1743–1794) создал химическую теорию дыхания, прототип концепций биоэнергетики, а вместе с П. Лапласом (1749–1827) разработал биологическую калориметрию, прототип первого экспериментального метода будущей науки. Законы термодинамики впоследствии про-

яснили энергетическую роль фотосинтеза и дыхания для организмов, а также физическую природу самой теплоты.

Из второго закона термодинамики следовал очень важный вывод для выстраивания стратегии поиска элементарных процессов, поставляющих энергию для жизнедеятельности. В 1880-х гг. физиолог и физико-химик А. Фик (1829–1901) подсчитал, что минимальная температура для совершения работы мышцей за счёт теплоты равна $+142^{\circ}\text{C}$ – величина, едва ли мыслимая для живых организмов [2, 17]. Следовательно, энергия химических реакций, чтобы совершить работу, каким-то образом переходит в другие формы, избегая стадии превращения в тепло, которое оказывается конечным продуктом энергетического обмена организмов. Таким образом, только к концу XIX столетия стала ясна ложность древней аналогии горения, ведущего к полному разрушению органического материала, и дыхания, являющегося источником синтетических и других активных процессов организмов.

Для понимания принципов жизнедеятельности оказывалось необходимым знание промежуточных продуктов обмена веществ и механизмов действия ферментов. Этот вопрос с самого начала находился в центре внимания биохимии, и первую страницу в её экспериментальной истории открыли исследования ещё одного энергодающего процесса, характерного для микроорганизмов – брожения.

Примечательно, что А. Гарден (1865–1940) и В. Юнг (1878–1942), приступившие к изучению механизма спиртового брожения на основе «зимазы» Э. Бухнера*, путём диализа исходного препарата в 1904 г. открыли новый

* Такое название автор дал экстракту, полученному из высушенных и нагретых до 100°C в вакууме дрожжевых клеток, который сохранял бродительную активность (правда, со сниженной интенсивностью). За разработку методики приготовления «бесклеточных препаратов», обладающих химической активностью, характерной для целостных клеток, Э. Бухнер в 1907 г. был удостоен Нобелевской премии по химии. С тех пор подавляющее большинство Нобелевских премий по химии было присуждено за биохимические открытия и исследования.

класс низкомолекулярных веществ – коферменты, в отсутствие которых большинство ферментов теряют активность [3, 137]. Тщательный анализ, проведённый в 1940-х гг., выявил, что в препарате Гардена–Юнга (названном Г. Эйлером «козимазой») преобладали вещества, участвующие в центральных реакциях преобразования энергии в организме, а именно никотинамиддинуклеотидфосфат (НАД), аденозинтрифосфат (АТФ), тиаминпирофосфат, катионы магния и анионы фосфата**. Сами же Гарден и Юнг смогли в дальнейшем установить активирующее влияние фосфата на брожение и его связывание в сахарофосфорные эфиры (эстерификацию) в ходе процесса, что было тоже немалым достижением [3, 139]. Э. Слейтер [21, 327] считает эти исследования вводными по проблеме окислительного фосфорилирования – феномена, открытого в 1930 г. выдающимся российским биохимиком В.А. Энгельгардтом (1894–1984). Этот процесс используется в качестве универсального механизма энергообеспечения организмов. Раскрытие молекулярных принципов, лежащих в его основе, потребовало в 1960-х – 1970-х гг. существенного пересмотра ряда постулатов, принятых в биохимии, о чём речь пойдёт дальше.

Другой фронт раннебиохимических работ, оказавших существенное влияние на развитие принципов энергетики обмена веществ, касался проблемы биологического окисления, поднятой ещё Лавуазье [5; 11].

Острота проблемы оказалась совсем не там, где предполагал основатель «кислородной химии». В 60-х гг. XIX в. его великий соотечественник Луи Пастер (1821–1895) обнаружил явления «жизни без кислорода» – строго анаэробные микроорганизмы, для которых этот газ, необходимый для жизнедеятельности высших животных и растений, оказывался, наоборот, смертельным. Ещё большей неожиданностью для традиционных физиологов стали хемоавтотрофные

² За исследования «козимазы» А. Гардену и Г. Эйлеру в 1929 г. была присуждена Нобелевская премия по химии за «достижения в понимании механизма спиртового брожения».

микроорганизмы, открытые в 1880-х – 1990-х гг. выдающимся русским микробиологом С.Н. Виноградским (1856–1953); они размножались на чисто минеральных средах, лишённых какой-либо органики и «питались» углекислотой воздуха подобно фотосинтезирующим растениям [4, 166]. Анаэробы были первым свидетельством того, что снабжение организма энергией важнее снабжения кислородом, а хемоавтотрофы, окисляющие неорганические вещества, т. е. использующие их в качестве субстратов дыхания, наглядно свидетельствовали о том, что снабжение клеток энергией всецело определяется механизмом обмена веществ. Так микробиологи гораздо раньше химиков начали прояснять физический смысл биологических окислительных процессов, до того скрытый присутствием кислорода.

Тем не менее прототипом биологического окисления и биоэнергетических процессов ещё долго оставались реакции с участием кислорода, поскольку без кислорода невозможна жизнедеятельность высших животных и растений, объяснить которую была призвана теория. В начале 1920-х гг. немецкий биохимик О. Варбург (1883–1970) выдвинул теорию клеточного дыхания, удовлетворявшую требованиям и биохимиков, и физиологов того времени. Согласно Варбургу, включение кислорода в дыхательный обмен обеспечивает железосодержащий катализатор коллоидной природы – «дыхательный фермент». В то же время другой немецкий биохимик Г. Виланд (1877–1957) и шведский биохимик Т. Тунберг (1890–1950) отстаивали идею альтернативного принципа биологического окисления, высказанную в начале 1910-х гг. В.И. Палладиным (1859–1922). Эти авторы исследовали реакции дегидрогенирования органических субстратов, которые гораздо больше напоминали реакции в анаэробных условиях. В 1913–1922 гг. Виланд разработал теорию, основанную на предположении о существовании в тканях «дегидраз» — ферментов, катализирующих отщепление водорода субстратов (в противовес распространённой концепции «оксидаз»). Теория

Виланда с единых позиций объясняла аэробные и анаэробные окислительные процессы, а также впервые широко использовала термодинамические представления. Г. Виланд подчёркивал, что дегидрогенирование возможно лишь в том случае, когда выход свободной энергии этой реакции больше энергии обратной реакции гидрогенирования, т. е. отщепление водорода должно быть энергетически выгодным [5, 113]. Как мы видим, теория Виланда содержала многие элементы современных представлений, но, однако, не смогла на данном этапе составить серьёзной конкуренции теории Варбурга; наиболее убедительные данные в пользу широкой распространённости дегидрогеназ (общепринятое название этой группы оксидоредуктаз) в тканях разнообразных организмов стали накапливаться только к концу 1920-х – началу 30-х гг.

К этому же времени в биохимической литературе стала обсуждаться роль «системы цитохрома» в дыхании [15, 140]. Эта новая группа внутриклеточных пигментов, по структуре напоминающих производные гемоглобина, была открыта и изучена ещё в 1880-х гг. ирландским врачом Ч. Мак-Манном (1852–1911), но, однако, почти 40 лет оставалась неизвестной биохимикам, поскольку автор не сумел доказать их отличие от гемоглобина. Их роль в дыхании клеток сумел доказать английский паразитолог и биохимик Д. Кейлин (1887–1963), пользовавшийся более совершенным спектроскопом. Пытаясь далее объяснить реакцию цитохромов на разнородные дыхательные ингибиторы, Кейлин в 1927 г. высказал идею [13, 368], что цитохромы являются тем центральным звеном в системе дыхания, неучёт которого приводит к соперничающим теориям Виланда и Варбурга; катализируя перенос водорода субстратов, активированного дегидрогеназами, на кислород, они связывают оба механизма в единую систему дыхания клеток. Идея Кейлина создала основу для исследований молекулярных механизмов преобразования энергии окислительных реакций. Ферментативная система дыхания в конце

1940-х гг. получила название *дыхательной цепи*, а в конце 1950-х гг., когда стало известно, что система переноса электронов, преобразующая энергию солнечного света при фотосинтезе, устроена аналогичным образом, американский биохимик Д. Грин (1910–1983) предложил обобщённое название *электронтранспортной цепи*. В ходе становления концепции дыхательной цепи были, наконец, систематизированы механизмы преобразования энергии, присущие разнообразным живым существам.

В 1927 г. также был открыт новый фронт работ, имеющих самое прямое отношение к вопросам биоэнергетики. Супруги Эггльтоны (Лондонский университет) и, независимо от них, К. Фиске и Й. Суббароу (Гарвардский университет) выделили из мышечных тканей новый фосфорный эфир, названный «фосфагеном»^{*}. В том же году О. Мейергоф (1884–1951), работавший в Институте Общества кайзера Вильгельма в Берлине, обнаружил, что добавление «фосфагена» к растёртой мышечной каше сопровождается значительным разогреванием смеси. Этим свойством новый эфир столь резко отличался от всех известных органических эфиров, что Мейергоф поручил своему сотруднику химику К. Ломанну (1898–1978) определить теплоты гидролиза всех эфиров, когда либо найденных в биологических препаратах. На основании полученных данных Мейергоф в 1931 г. предложил разделить биологические эфиры на «низкоэнергетические» и «высокоэнергетические» – по количеству теплоты, высвобождаемой при расщеплении (гидролизе) эфирной связи.

К этому времени стал известен ещё один эфир, обладающий свойствами «фосфагена». В конце 1928 г. К. Ломанн из мышцы изолировал «аденилпирофосфат». Это соединение сегодня известно практически каждому под

^{*} Креатинфосфат. В биохимической литературе до середины XX в. в отношении вновь открываемых промежуточных продуктов обмена часто применялись особые названия для удобства пользования в кругу специалистов, занимающихся тем или иным вопросом, в противовес современным, основанным на химической номенклатуре. — *Прим. авт.*

кратким названием АТФ (аденозинтрифосфата), как и его универсальная роль в энергетике живых существ. Однако первооткрыватели АТФ полагали, что он образуется исключительно в ходе брожения или гликолиза. Последовавшие вскоре сообщения В.А. Энгельгардта [12], в которых был убедительно показан синтез АТФ, сопряжённый с дыханием птичьих эритроцитов, за редкими исключениями остались незамеченными, поскольку отсутствовала химическая модель сопряжённого протекания двух разнородных реакций – фосфорилирования и окисления-восстановления. Реакцией Энгельгардта биохимики заинтересовались всерьёз только к концу 1930-х гг., когда работы датчанина Г. Калькара (1908–1991) показали, что она имеет молекулярные основы [14, 208], а наш соотечественник В.А. Белицер (1906–1988) получил первые доказательства того, что синтез АТФ сопряжён непосредственно с работой дыхательной цепи [1].

Биологический смысл окислительного фосфорилирования прояснила концепция высокоэнергетических соединений (макроэргов), разработанная в 1940-х – 1950-х гг. одним из учеников Мейергофа Ф. Липманном (1899–1986). Обобщив собственные исследования реакций фосфорилирования и выявив их широкую распространённость, Липманн в 1941 г. пришёл к выводу, что АТФ является универсальным переносчиком свободной энергии в системе обмена веществ, делающим возможным протекание в организмах термодинамически невыгодных реакций и прежде всего – биосинтезов [17]. На этой концепции базируются современные представления о системе энергетического обмена. Предварительные исследования окислительного фосфорилирования к началу 1950-х гг. подтвердили центральную роль АТФ в энергетике всех живых существ и позволили определить специфику проблем биоэнергетики на фоне других проблем биологического окисления.

К концу 1940-х гг. получил решение и вопрос о локализации системы дыхания в клетке, поднятый ещё на заре биохимии. Митохондрии, на внутренних мембранах

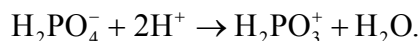
которых протекают реакции цикла лимонной кислоты (Кребса) и дыхательной цепи, а также сопряжённый с дыхательной цепью синтез АТФ, были впервые описаны ещё в 1850-х гг. немецким цитологом Р. Кёлликером (1817–1905) [6]. Однако другие цитологи долгое время считали их химическими артефактами и признали в качестве внутриклеточных органелл лишь к началу 1920-х гг., когда накопилось достаточное количество недвусмысленных данных в пользу самостоятельного существования митохондрий. И только в 1934 г., благодаря работам Р. Бенсли и Н. Хэрра, эти органеллы стали доступны биохимическим методам анализа. Подлинным прорывом в биоэнергетике стал новый метод выделения митохондрий в 0.88 М сахарозе, разработанный сотрудниками Рокфеллеровского института медицинских исследований в Нью-Йорке в 1948 г. Используя этот метод, американский биохимик А. Ленинджер (1917–1986) и его сотрудник Э. Кеннеди (род. 1919) в следующем году установили, что изолированные митохондрии окисляют все промежуточные продукты цикла лимонной кислоты (Кребса), а также катализируют окислительное фосфорилирование [16]. В 1951 г. Ленинджер доказал и гипотезу Белицера, продемонстрировав фосфорилирование, сопряжённое с окислением НАДН (восстановленного никотинамиддинуклеотида) кислородом [14, 245], т. е. с работой дыхательной цепи.

С середины 1950-х гг. биоэнергетика оформляется в самостоятельную биохимическую науку, исследующую молекулярные основы фосфорилирования в дыхательной цепи. В качестве исходной рабочей гипотезы первое время служила так называемая химическая гипотеза, сформулированная в 1953 г. сотрудником Молтеневского института Кембриджского университета Э. Слейтером (род. 1917) [21, 355]. В ней предполагается, что феномен имеет ту же молекулярную основу, что и общий феномен сопряжения двух ферментативных реакций посредством одного или нескольких промежуточных продуктов или переносчика. Однако несмотря

на предпринятые с тех пор многими лабораториями усилия, ни один из «высокоэнергетических» промежуточных продуктов дыхательной цепи обнаружить не удалось. Кроме того, в рамках химической схемы вызывало значительные трудности объяснение ряда других явлений, сопровождающих дыхательное фосфорилирование, и прежде всего – разобщения дыхания и фосфорилирования агентами, не аналогичными фосфату по структуре (например, динитрофенолом); это противоречило принципу специфичности ферментативного действия – одному из основополагающих принципов классической биохимии (энзимологии).

Проблема окислительного фосфорилирования была осознана как одна из великих нерешённых проблем теоретической биологии и привлекла внимание исследователей из смежных областей биологии и химии. Одним из них был англичанин Питер Митчелл (1920–1992), в годы аспирантуры работавший в Молтеневском институте под руководством Д. Кейлина и в дальнейшем занимавшийся проблемой транспорта фосфата через бактериальные стенки, в связи с чем исследовал механизм действия фосфокиназ. Точкой пересечения двух проблем был механизм гидролиза АТФ. К концу 1950-х гг. радиоизотопным методом было установлено, что при гидролизе АТФ отщепляются не фосфат-анионы (H_2PO_4^-), а фосфорильные катионы (H_2PO_3^+), поскольку мостиковый радиоактивный кислород, соединяющий вторую и третью фосфатные группы АТФ, оставался в составе АДФ. На симпозиуме в Рокфеллеровском институте (25-30 сентября 1958 г.) Ф. Липманн высказал идею, что в переносе фосфорильных групп заключается особенность механизма, при помощи которого АТФ обеспечивает свободной энергией другие реакции [18]. Митчелл своеобразно воспринял эту идею, предположив, что путём переноса фосфорильных групп синтезируется и сам АТФ под действием фермента, обладающего структурной особенностью фосфокиназ – непроницаемостью активного центра для молекул воды, открытого только

для её ионов (H^+ , OH^-) с противоположных сторон. Фосфорильные группы, в свою очередь, могли бы образовываться из анионов фосфата, если каким-то образом создать преобладание водородных ионов на противоположной стороне, что вызовет компенсирующий отток гидроксид-анионов, источником которых опять-таки оказываются анионы фосфорной кислоты:



На роль же источника «лишних» водородных ионов напрашивалась дыхательная цепь, которая куда-то должна девать протоны, остающиеся после того, как электроны достигают цепи цитохромов. Так у Митчелла в 1960 г. родилась оригинальная идея механизма фосфорилирования в дыхательной цепи без промежуточных «высокоэнергетических» продуктов, названного автором «механизмом хемиосмотического типа» [19].

Концепция Митчелла радикально отличалась от общепринятых концепций биохимии тем, что придавала первостепенное значение мембранной организации процессов обмена. Замкнутые мембраны помимо структурной роли выполняют ещё и роль изоляционного барьера, предотвращающего неконтролируемое проникновение ионов внутрь клетки и их отток наружу. В то же время в биохимии с её традиционным методом бесклеточных препаратов мембрана рассматривалась как одна из помех на пути выполнения главной процедуры – перевода исследуемых ферментов в раствор [8, 43]. Ранняя гипотеза Митчелла давала весьма простое объяснение феномену разобщения. По химической структуре все известные к тому времени разобщители оказывались жирорастворимыми слабыми кислотами, нарушающими изоляционные свойства мембраны, поскольку увлекали за собой протоны в обход системы сопряжения. Значительно труднее оказалось объяснить другой важный вопрос проблемы окислительного фосфорилирования – стехиометрию сопряжения, которая, соглас-

но экспериментальным данным, равнялась трём молекулам АТФ, синтезированным на каждую пару электронов, перенесённых по дыхательной цепи.

Не найдя способ уравнивать протоны, Митчелл отказался от идеи точной стехиометрии (чем впоследствии вызвал недовольство химиков), заменив её напряжениями кругового тока протонов, образуемого ферментами дыхательной цепи и аденозинтрифосфатазой (АТФазой), который должен проявляться в виде электрического потенциала на мембране. Так в 1966 г. появилась электрохимическая модель преобразования энергии, за которой автор решил оставить прежнее название «хемиосмотическая» [20]. Единственным условием синтеза АТФ, по Митчеллу, оказывается достижение протонным током, образующим дыхательную цепью, определённой пороговой величины (около 200 мВ), которая «давит» противоположный ток протонов, образуемый АТФазой, что «разворачивает» её в режим синтеза. Суммарный электрический и концентрационный градиент ионов водорода Митчелл обозначил как «хемиосмотический» градиент или протонный потенциал, который может быть рассчитан по уравнению Нернста:

$$\Delta\tilde{\mu}_H = F\Delta\psi + RT \ln \frac{[H^+]_{(+)}}{[H^+]_{(-)}}, \quad (1)$$

где F – число Фарадея (заряд моля электронов), $\Delta\psi$ – трансмембранная разность электрических потенциалов (мембранный потенциал), R – газовая постоянная, T – абсолютная температура, $[H^+]_{(+)}$ и $[H^+]_{(-)}$ – молярные концентрации протонов, соответственно, в положительно заряженном (или более кислом) и в отрицательно заряженном (или более щелочном) отсеках [9, 15]. Для выражения $\Delta\tilde{\mu}_H$ в единицах электрического поля (вольтах) Митчелл предложил использовать понятие *протондвижущей силы* (Δp) и более удобную на практике форму уравнения (называемую иногда уравнением Митчелла):

$$\Delta p = \Delta \tilde{\mu}_H / F = \Delta \psi - Z \Delta p_H, \quad (2)$$

где коэффициент Z равен $2.303RT/F$.

По мнению В.П. Скулачева, именно эта общая идея преобразования энергии дыхания на мембране по схеме: «энергоресурсы $\rightarrow \Delta \tilde{\mu}_H \rightarrow$ биологическая работа» произвела впоследствии революцию в мышлении биохимиков* и стала такой же догмой, какой является принцип «ДНК \rightarrow РНК \rightarrow белок» в генетике и молекулярной биологии. В данном смысле процесс дыхательного или фотосинтетического фосфорилирования оказывается аналогом информационной транскрипции, переводом энергии внешних ресурсов в универсальную форму – $\Delta \tilde{\mu}_H$, система « $\Delta \tilde{\mu}_H \rightleftharpoons$ АТФ» – мобильным клеточным аккумулятором, а вся биоэнергетика оказывается специализированным разделом молекулярной биологии. Путь к признанию этой догмы традиционными биохимиками был крайне нелёгким для Митчелла, но по прошествии 12 лет привёл к заслуженной Нобелевской премии по химии, «присуждённой вопреки традициям этих премий не за открытие какого-то нового явления, а за догадку о его существовании» [8, 41].

Основной вклад в доказательство хемиосмотической теории внесли группы акад. В.П. Скулачева в нашей стране и Э. Рэкера (1913–1991) в США. В 1967 г. Е.А. Либерман и В.П. Скулачев высказали ключевую идею использовать для измерения мембранного потенциала особые ионы**, экранированные гидрофобными заместителями, позволяющими свободно проходить барьер, не нарушая изоляционные свойства мембраны [7, 70; 8, 37]. Эта идея получила дальнейшее развитие в начале 1970-х гг., когда Скулачев предложил использовать протеолипосомы (замкнутые фосфолипидные мембраны) для встраивания ферментов – генератора и потребителя энергии $\Delta \tilde{\mu}_H$ [8, 28]. В 1973 г. Э. Рэ-

* См.: Скулачев В.П. Предисловие к русскому переводу книги Дж. Гилберта и Г. Малкея «Открывая ящик Пандоры» (М.: Наука, 1987).

** В 1974 г. Д. Грин предложил разнообразные синтетические ионы, используемые для измерения мембранного потенциала, называть «Скулачев-ионами» (Sk^+ , Sk^-).

керу удалось получить стабильные липосомы из природных растительных фосфолипидов с бактериородопсином, создающим протонный градиент без посредства электронтранспортных цепей за счёт энергии света, и АТФ-Фазой, выделенной из митохондрий сердца быка. Химерные липосомы под действием света синтезировали АТФ [8, 90] и стали, по образному выражению, «последней каплей, перевесившей чашу весов в пользу Митчелла».

Установление принципов и выяснение деталей механизмов, лежащих в основе превращений энергии в разнообразных биологических системах, можно считать одним из наиболее значительных достижений естествознания XX столетия. История развития биоэнергетики отражает, на наш взгляд, наиболее существенные закономерности формирования физико-химической биологии – крупной междисциплинарной области знания, возникшей в зоне взаимодействия химии, физики и математики с биологией и медициной, использующей идеи и методы разных наук для изучения живого «в едином, необычайно продуктивном методологическом сплаве» [10, 5]. Один из выдающихся отечественных специалистов «новейшей биологии» Ю.А. Овчинников (1934–1988) писал: «В таких сложнейших явлениях жизнедеятельности, как передача наследственных признаков, превращение энергии, транспорт веществ и ионов, распространение нервного импульса биология уже способна ответить на вопросы «как» и «каким образом», удовлетворяя при этом самым придирчивым критериям физики и химии. Проникнув в самые глубины живой материи, на уровень молекул и молекулярных комплексов, физико-химическая биология в последнее время постепенно распространяет своё влияние на процесс изучения более сложных надмолекулярных структур и органелл, уверенно переходя к клетке и учитывая особенности организма как целого» [7].

Сказанное более 30 лет назад не только сохранило актуальность, но приобрело поистине гигантские масштабы в развитии совре-

менной науки. И кто знает, какие тайны нам скоро могут приоткрыться, когда нанотехнологии проникнут внутрь живых организмов и, возможно, поставят точку во многих (если не всех) спорных вопросах биохимии, поскольку на этот раз ответы будут давать не бесклеточные препараты или искусственные системы, сконструированные из компонентов, выделенных из живых организмов, но сами клетки в ходе своей жизнедеятельности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Белицер В.А., Цыбакова Е.Т. О механизме фосфорилирования, сопряжённого с дыханием // Биохимия. 1939. Т. 4. С. 516-535.
2. Брода Э. Эволюция биоэнергетических процессов. Пер. с англ. М.: Мир, 1978. 304 с.
3. Гутина В.Н. История биохимии анаэробного разложения углеводов. М.: Наука, 1974. 217 с.
4. Гутина В.Н. Очерки по истории физиологии микроорганизмов. М.: Наука, 1988. 200 с.
5. Кривобокова С.С. Биологическое окисление. Исторический очерк. М.: Наука, 1971. 168 с.
6. Ленинджер А. Митохондрия. Молекулярные основы структуры и функции / Пер. с англ. М.: Мир, 1966. 316 с.
7. Овчинников Ю.А. Основные тенденции в развитии физико-химической биологии // Природа. 1980. № 2. С. 2-12.
8. Скулачев В.П. Рассказы о биоэнергетике. 2-е изд. М.: Молодая гвардия, 1985. 191 с.
9. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989. 564 с.
10. Шамин А.Н. История биологической химии: Истоки науки. М.: Наука, 1990. 384 с.
11. Шамин А.Н. История биологической химии. Формирование биохимии. М.: Наука, 1993. 262 с.
12. Энгельгардт В.А. Анаэробный распад и аэробный ресинтез пирофосфата в красных кровяных клетках птиц // Казан. мед. журн. 1931. № 4-5. С. 496-501.
13. Florkin M. A history of biochemistry. Part III. History of the identification of the sources of free energy in organisms // Comprehensive Biochemistry / Ed. by M. Florkin and E.H. Stotz. Vol. 31. Elsevier, Amsterdam, 1975. 475 pp.
14. Kalckar H. Biological phosphorylations: Development of concepts. Englewood Cliffs, Prentice Hall, N.J., 1969. 740 pp.
15. Keilin D. The history of cell respiration and cytochrome. Cambridge Univ. Press, L., 1966. 416 pp.
16. Kennedy E.P., Lehninger A.L. Oxidation of fatty acids and tricarboxylic cycle intermediates by isolated rat liver mitochondria // J. Biol. Chem. 1949. V. 179. P. 957-972.
17. Lipmann F. Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy // Adv. Enzymol. 1941. V. 1. P. 99-162.
18. Lipmann F. (1958) Attempts towards a formulation of biological use of energy in terms of chemical potentials // Molecular Biology / Ed. by D. Nachmansohn, Acad. Press, N.Y., 1960. P. 37-47.
19. Mitchell P. Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemiosmotic type of mechanism // Nature. 1961. V. 191. P. 144-148.
20. Mitchell P. Chemiosmotic coupling in oxidative and photosynthetic phosphorylation. Glynn Research, Bodmin, Cornwall, 1966. 192 pp.
21. Slater E.C. Oxidative phosphorylation // Comprehensive Biochemistry / Ed. by M. Florkin and E.H. Stotz. Vol. 14. Elsevier, Amsterdam, 1966. P. 327-396.