

# ИЗУЧЕНИЕ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ МЕМБРАННОГО КОМПЛЕКСА МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

## STUDY OF THE ULTRASTRUCTURAL ORGANIZATION OF THE MITOCHONDRIAL ENERGY APPARATUS

**A. Tsekhomsky  
I. Kovtunovskaya**

*Summary.* Mitochondria are two-membrane organoids of eukaryotic cells of animals and some plants, fungi. They are characteristic of both autotrophs and heterotrophs. The number of mitochondria in a cell can vary significantly, depending on the type of cells. Most of them are in cells that perform the most energy-consuming functions (for example, reduction). In the cell, these organelles perform extensive functions related to the oxidation of organic substances and the synthesis of a universal energy source — adenosinetriphosphate (ATP). For this reason, the entire structural organization of mitochondria is adapted to perform oxidative processes. However, the energy function is not the only characteristic of mitochondria. They also participate in the synthesis of steroids and nucleic acids, having the appropriate architectonics for this. In addition, energy can accumulate not only in the form of ATP molecules, but also be emitted into the external environment in the form of heat — thermal function. The paper will consider not only the structural features common to all mitochondria, but also some particulars characteristic of certain types of cells. As well as the evolutionary adaptations that appeared in them in the process of multiple complication. The result of the work is a detailed description of the structure of the mitochondria, which is necessary for further in-depth understanding of the specifics of the transformations that occur in these organelles.

*Keywords:* mitochondria, structure, architectonics, crystals, membrane.

**Цехомский Александр Вячеславович**  
Кубанский государственный медицинский университет  
aastartov12@mail.ru

**Ковтуновская Ирина Владимировна**  
Кубанский государственный медицинский университет  
kovtunovskaya12@mail.ru

*Аннотация.* Митохондрии являются двумембранными органоидами эукариотических клеток животных и некоторых растений, грибов. Характерны как для автотрофов, так и для гетеротрофов. Количество митохондрий в клетке может значительно отличаться, в зависимости от типа клеток. Большее их количество находится в клетках, выполняющих наиболее энергозатратные функции (например, сокращение). В клетке данные эти органеллы выполняют обширные функции, касающиеся окисления органических веществ и синтеза универсального источника энергии — аденозинтрифосфата (АТФ). По этой причине вся структурная организация митохондрий приспособлена для выполнения окислительных процессов. Однако, энергетическая функция — не единственная характерная для митохондрий. Они также участвуют в синтезе стероидов и нуклеиновых кислот, имея для этого соответствующую архитектуру. Кроме того, энергия может накапливаться не только в виде молекул АТФ, а также испускаться во внешнюю среду в виде тепла — термическая функция. В работе будут рассмотрены общие для всех митохондрий особенности строения. А также эволюционные приспособления, которые появились в них в процессе многократного усложнения. Результатом работы является подробное описание строения митохондрии, необходимое для дальнейшего глубокого понимания специфики превращений, которые протекают в этих органеллах.

*Ключевые слова:* митохондрии, структура, архитектура, кристаллы, мембрана.

## Эволюция митохондрий

**И**стория происхождения митохондрий интересна тем, что это прежде всего история о паразитических, или, вернее будет сказать, симбиотических отношениях. Если обычно паразит использует тело хозяина, как жилища, то в данном случае ситуация обстоит другим образом. Прокариоты — безъядерные клетки — в процессе эволюции развивались, и со временем стали нуждаться в большем количестве кислорода, вернее в более эффективном его использовании. Использовать кислород достаточно эффективно самостоятельно они не имели возможности ввиду отсутствия

на том этапе необходимых специфических органелл. Выход для прокариотических клеток появился благодаря существованию бактерий (прогенот). Прокариоты поглощали (фагоцитировали) бактерии, при этом не убивая их. И использовали затем в качестве окислительных центров. В свою очередь бактерии получали часть пищи, поглощаемой прокариотами. Симбиотические отношения существовали между прогенотами и прокариотами миллионы лет. В это время с помощью процесса горизонтального переноса наследственной информации (конъюгации) бактерии передали прокариотам значительную часть своего генетического материала. Так со временем появились митохондрии, утра-

тив способность к самостоятельному существованию. Несмотря на то, что митохондрии имеют собственную ДНК, они все равно используют вспомогательные белки, синтезируемые на матрице мРНК, которая в свою очередь синтезируется с помощью уже ядерной ДНК. Более 95% митохондриальных белков кодируется ядром, что объясняется бедностью генома предшественников митохондрий — прогенот.

Центральное понятие эволюции митохондрий — приобретение ими новой системы импорта белков, которая играет ключевую роль в транспорте белковых и небелковых молекул в митохондрию и из нее. Многие компоненты белковой транспортной системы присутствовали у общего прокариотического предка — LEGO. И были заимствованы митохондриями. Мы будем рассматривать эволюцию протеинового комплекса дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Этот вид дрожжей лишен митохондриального порина (который также иногда называют зависимый от напряжения анион-селективный канал). Это указывает, что связывание субстрата с вторичным рецептором Tom22 или с рецептором Tom40, по всей видимости, обеспечивало достаточную специфичность связываемых белков. Большое количество исследований показывает, что Tom20 предпочитительно распознает предварительную последовательность белков, тогда как для Tom70 предпочтительными являются митохондриальные белки-носители (MCP). Стоит отметить, что самые недавние анализы протеома митохондрий показали — импорт многих белков, в том числе и тех, что содержат предварительную последовательность, также проходят через узнавание Tom70. Кроме того, некоторых обзорах существует информация о степени связывания и видах субстратов с рецепторами ATOM46 и ATOM69 в митохондриальных аппаратах трипаносом. Хотя перечисленные рецепторы не проявляют свойств строгой специфичности в выборе анализируемого субстрата, все-таки некоторые предпочтения в этом у них есть. Рецепторы Tom20 и ATOM46 отдают предпочтение гидрофильным белкам, содержащим предварительную последовательность. Рецепторы Tom20 у дрожжей и у растений имеют, по всей видимости, схожие функции и предпочтения в субстратах, хотя и представляют разные домены. Однако, растительный Tom20 имеет обратную топологию, что показывает разные эволюционные пути, начинающиеся от общего древнего предка. В то же время рецепторы ATOM69 в митохондриях трипаносом имеет повторяющиеся домены ARMs, которые не были обнаружены у других представителей эукариот. Зеркальная ситуация наблюдается в рецепторах Tom70, ATOM69 и OM64, которые имеют разные доменные структуры, но при этом схожи в предпочтениях к субстрату. Все эти различия в строении и функциях рецепторов отражают сложные эволюционные взаимодействия, происходящие

на протяжении всего филогенеза и развития структур митохондриального аппарата клеток.

### Общие для всех структуры

Рассмотрим общие типы мембранных структур для митохондрий всех тканей эукариот. Митохондрии — двумембранные полуавтономные органоиды, которые могут иметь эллиптическую, сферическую, нитевидную, палочковидную форму, она может изменяться с течением времени. Митохондрии имеют размеры от 0.2 до 2 микрометров в ширину и от 2 до 10 мкм в длину. На световой микроскопии имеют вид мелкого размера зерен и нитей.

Митохондрии, как мы уже сказали, состоят из двух мембран: внутренней и внешней, которые разделены межмембранным пространством. Наружная мембрана по своим свойствам напоминает плазмолемму, т.к. обладает высокой селективной избирательностью для молекулярных комплексов массой до 10 000 дальтон. Такая проницаемость обеспечивается большим количеством рецепторов и каналов, часть из которых были уже рассмотрены в предыдущем разделе. Рассмотрим наиболее важные, по нашему мнению, белки внешней мембраны. Наиболее значимым для переноса белков и низкомолекулярных соединений является так называемый порин, или, если озвучить его полное название — зависимый от напряжения анионный канал (VDAC). Порин имеет несколько изоформ, которые соответственно образуют различные гетеро- и гомополимеры. Основные функции порина — это перенос транспортной РНК и метаболитов через мембраны. Структура VDAC представлена белком цилиндрической,  $\beta$ -бочкообразной формы. Состоит из 19 антипараллельных  $\beta$ -пластинок, которые пронизаны порами с диаметром около 3,8 нм. По последним исследованиям можно увидеть, что N-конец порина имеет нуклеотид связывающий сайт, принимающий участие в импорте транспортной РНК. Во время исследования митохондрий пекарских дрожжей *S. cerevisiae* было обнаружено, что при возникновении мутаций в структуре генов, кодирующих VDAC, ослаблялся импорт ДНК в изолированных популяциях дрожжей. Но ослабление, однако, было частичным. Что наводит на мысль о том, как порин может действовать во время импорта не в одиночку. С ним в тандеме в импорте ДНК участвует предшественник  $\beta$ -субъединицы F1F0 АТФ-синтетазы. Он локализуется на внешней мембране. Говоря о пространстве между мембранами, стоит упомянуть другие переносчики ДНК: Cu-связывающий белок (CuBP). CuBP участвует в проведении электронов через первую дыхательную цепь. Мутации в гене, кодирующем CuBP, приводят к снижению уровня импорта ДНК. Следует сказать, что в импорте ДНК и других соединений помимо перечисленных рецепто-

ров принимают участие белки Om14 и 2-я субъединица, входящая в комплекс 3-ей дыхательной цепи. Qcr2 входит в состав порина. Перейдем к теме импорта ДНК через внутреннюю мембрану, который осуществляется с помощью белков семьи MCF. Если точнее, с помощью адениннуклеотидтранслоказы (ANT). АТЕ применяется митохондриями для переноса большого числа кофакторов и метаболитов, в том числе для переноса АДФ. Примечательно, что приведенные утверждения справедливы только для митохондрий растений. У животных связи между активностью ANT и импортом ДНК не обнаружено. Для дрожжей при ингибировании ANT наблюдалось частичное снижение уровня импорта ДНК. Это косвенно указывает на факт, что ANT является не единственным белком, импортирующим ДНК из цитозоля клетки. Еще один белок, используемый митохондриями для поглощения макромолекул — TFAM. Он связывается с мтДНК, а точнее с его доменом, обеспечивающим перенос в митохондрии — PTD, protein transduction domain, а также сигналом митохондриальной локализации — MTS, matrix targeting signal.

Мы много писали о конкретных белках, которые используются митохондриями для своих транспортных нужд. Теперь поговорим о двух основных механизмах, используемых митохондриальными мембранами для узнавания субстратных единиц. Первый — узнавание N-концевых сигнальных последовательностей, также называемых отщепляемыми препоследовательностями. N-концевые последовательности можно охарактеризовать большим содержанием гидрофобных фрагментов и аминокислот, заряженных положительно. При взаимодействии с митохондриальной мембраной происходит образование амфифильной  $\alpha$ -спирали. Та-

кая структура препоследовательности обеспечивает ее узнавание белками мембраны. Своим названием последовательности обязаны тем, что они располагаются на N-конце белка. Перед импортом в матрикс белок в цитоплазме связывается с рядом факторов, которые поддерживают его в развернутом состоянии (например, фактор MSF). После присоединения MSF-фактора белок образует еще более массивное соединение с Hsp90 и Hsp70. Связывание с этими шаперонами позволяет не случиться внезапному сворачиванию и агрегации белка-предшественника. Другой способ импорта белка в митохондрии не так широко используется, поэтому подробнее будет рассмотрен в других статьях данного цикла. Ранее мы сказали о существовании рецепторов группы Tom: Tom22, Tom40 и Tom70. TOM расшифровывается как “транслоказный комплекс наружной митохондриальной мембраны” (translocase of outer membrane). TOM белки состоят из больших доменов — цитозольного и трансмембранного. Кроме того, рецептор Tom22 имеет концевой C-домен, обращенный в межмембранное пространство. Белки группы TOM обеспечивают импорт, если не подавляющего, то большого количества белков, и активно участвуют в транспорте митохондрий.

Данная работа была посвящена лишь небольшому количеству мембранных структур и входит в масштабный цикл по изучению строения и функций энергетических станций клетки — митохондрий. В более поздних статьях мы рассмотрим вопросы импорта белка, их предгидролизного и постгидролизного преобразования, сам процесс гидролиза, а также важные патологические состояния, связанные с нарушением импорта и обработки белков.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Deirdre Nolfi-Donagan, Andrea Braganza, Sruti Shiva, Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement, *Redox Biology*, Volume 37, 2020, 101674, ISSN2213–2317, <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101674>.
2. Yin F, Boveris A, Cadenas E. Mitochondrial energy metabolism and redox signaling in brain aging and neurodegeneration. *Antioxid Redox Signal*. 2014 Jan 10;20(2):353–71. doi: 10.1089/ars.2012.4774. Epub 2012 Sep 5. PMID: 22793257; PMCID: PMC3887431.
3. Goraczyniak, R.M., and Augustyniak, H. (1991) Properties of lupin mitochondrial plasmid like DNAs and nucleotide sequence of a new minicircular DNA, *Plant Sci.*, 79, 173–179.
4. Koulintchenko, M., Konstantinov, Y., and Dietrich, A. (2003) Plant mitochondria actively import DNA via the permeability transition pore complex, *EMBO J.*, 22, 1245–1254.
5. Yehezkel, G., Abu-Hamad, S., and Shoshan-Barmatz, V. (2007) An N-terminal nucleotide-binding site in VDAC1: involvement in regulating mitochondrial function, *J. Cell. Physiol.*, 212, 551–561.
6. Keeney, P.M., Quigley, C.K., Dunham, L.D., Papageorge, C.M., Iyer, S., Thomas, R.R., Schwarz, K.M., Trimmer, P.A., Khan, S.M., Portell, F.R., Bergquist, K.E., and Bennett, J.P. Jr. (2009) Mitochondrial gene therapy augments mitochondrial physiology in a Parkinson’s disease cell model, *Hum. Gene Ther.*, 20, 897–907.
7. Calvo, S.E., Clauser, K.R., and Mootha, V.K. (2016) MitoCarta2.0: an updated inventory of mammalian mitochondrial proteins, *Nucleic Acids Res.*, 44, 1251–1257.
8. Moczko, M., Bomer, U., Kubrich, M., Zufall, N., Honlinger, A., and Pfanner, N. (1997) The intermembrane space domain of mitochondrial Tom22 functions as a trans bindingsite for preproteins with N-terminal targeting sequences, *Mol. Cell. Biol.*, 17, 6574–6584.
9. Model, K., Meisinger, C., Prinz, T., Wiedemann, N., Truscott, K. N., Pfanner, N., and Ryan, M. T. (2001) Multistep assembly of the protein import channel of the mitochondrial outer membrane, *Nat. Struct. Biol.*, 8, 361–370.

10. Kutik, S., Stojanovski, D., Becker, L., Becker, T., Meinecke, M., Kruger, V., Prinz, C., Meisinger, C., Guiard, B., Wagner, R., Pfanner, N., and Wiedemann, N. (2008) Dissecting membrane insertion of mitochondrial  $\beta$ -barrel proteins, *Cell*, 132, 1011–1024.
11. Boldogh, I.R., Nowakowski, D.W., Yang, H.C., Chung, H., Karmon, S., Royes, P., and Pon, L.A. (2003) A protein complex containing Mdm10p, Mdm12p, and Mmm1p
12. Becker, T., Pfannschmidt, S., Guiard, B., Stojanovski, D., Milenkovic, D., Kutik, S., Pfanner, N., Meisinger, C., and Wiedemann, N. (2008) Biogenesis of the mitochondrial TOM complex: Mim1 promotes insertion and assembly of signal anchored receptors, *J. Biol. Chem.*, 283, 120–127.
13. Chacinska, A., Rehling, P., Guiard, B., Frazier, A.E., Schulze Specking, A., Pfanner, N., Voos, W., and Meisinger, C. (2003) Mitochondrial translocation contact sites: separation of dynamic and stabilizing elements in formation of a TOM TIM preprotein supercomplex, *EMBO J.*, 22, 537–5381.
14. Shiota, T., Mabuchi, H., Tanaka Yamano, S., Yamano, K., and Endo, T. (2011) In vivo protein interaction mapping of a mitochondrial translocator protein Tom22 at work, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 15179–15183.
15. Mokrancjac, D., Popov Celeketic, D., Hell, K., and Neupert, W. (2005) Role of Tim21 in mitochondrial translocation contact sites, *J. Biol. Chem.*, 280, 23437–23440.
16. D’Silva, P.R., Schilke, B., Hayashi, M., and Craig, E.A. (2008) Interaction of the Jprotein heterodimer, Pam18/Pam16, of the mitochondrial import motor with the translocon of the inner membrane, *Mol. Biol. Cell*, 19, 424–432.
17. Mokrancjac, D., Berg, A., Adam, A., Neupert, W., and Hell, K. (2007) Association of the Tim14 Tim16 subcomplex with the TIM23 translocase is crucial for function of the mitochondrial protein import motor, *J. Biol. Chem.*, 282, 18037–18045.
18. Gebert, M., Schrempp, S.G., Mehnert, C.S., Heiβwolf, A.K., Oeljeklaus, S., Ieva, R., Bohnert, M., von der Malsburg, K., Wiese, S., Kleinschroth, T., Hunte, C., Meyer, H.E., Haferkamp, I., Guiard, B., Warscheid, B., Pfanner, N., and van der Laan, M. (2012) Mgr2 promotes coupling of the mitochondrial presequence translocase to partner complexes, *J. Cell Biol*, 197, 595–604.
19. Gammage, P.A., Rorbach, J., Vincent, A.I., Rebar, E.J., and Minczuk, M. (2014) Mitochondrially targeted ZFNs for selective degradation of pathogenic mitochondrial genomes bearing large scale deletions or point mutations, *EMBO Mol. Med.*, 6, 458–466.
20. Van Steeg, H., Oudshoorn, P., Van Hell, B., Polman, J.E., and Grivell, L.A. (1986) Targeting efficiency of a mitochondrial presequence is dependent on the passenger protein, *EMBO J.*, 5, 3643–3650.
21. Hancock, K., and Hajduk, S. L. (1990) The mitochondrial tRNAs of *Trypanosoma brucei* are nuclear encoded, *J. Biol. Chem.*, 265, 19208–19215.
22. Tschopp, F., Charriere, F., and Schneider, A. (2011) In vivo study in *Trypanosoma brucei* links mitochondrial transfer RNA import to mitochondrial protein import, *EMBO Rep.*, 12, 825–832.
23. Delage, L., Duchene, A. M., Zaepfel, M., and Marechal Drouard, L. (2003) The anticodon and the D domain sequences are essential determinants for plant cytosolic tRNA<sup>Val</sup> import into mitochondria, *Plant J.*, 34, 623–633.
24. Entelis, N., Kieffer, S., Kolesnikova, O., Martin, R., and Tarassov, I. (1998) Structural requirement of tRNA<sup>Lys</sup> for its import into yeast mitochondria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95, 2838–2843.
25. Каменский П.А. (2007) Импорт тРНК в митохондрии дрожжей: роль предшественника митохондриальной лизил тРНК синтетазы и функция импортируемой тРНК в митохондриальном матриксе, Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук.
26. Орищенко К.Е., Софронова Ю.К., Чупахин Е.Г., Лунев Е.А., Мазунин И.О. (2016) Импорт нуклеазы Cas9 в митохондрии, *Гены и клетки*, 11, 100–105.
27. Tabbi Anneni I, Helies8Toussaint C, Morin D, et al. Prevention of heart failure in rats by trimetazidine treatment: a consequence of accelerated phospholipid turnover? *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304: 100389.
28. Lopaschuk GD. Pharmacologic rationale for trimetazidine in the treatment of ischemic heart disease. *Am J Cardiovasc Drugs* 2003; 3(Suppl.1): 2186.
29. Bell GI, Kayano T, Buse GB, et al. Molecular biology of mam8 malian glucose transporters *Diabetes Care* 1990; 13: 1988208.
30. Lopaschuk GD, Barr R, Thomas PD, Dyck JR. Beneficial effects of trimetazidine in ex vivo working ischemic hearts are due to a stimulation of glucose oxidation secondary to inhibition of long8chain 38ketoacyl coenzyme a thiolase. *Circ Res* 2003; 93: e3387.
31. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyru8vate and alloxan diabetes and starvation, on the uptake and meta8bolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J* 1964; 93: 652865.
32. Rupp H, Zarain8Herzberg A, Maisch B. The use of partial fatty acid oxidation inhibitors for metabolic therapy of angina pectoris and heart failure. *Herz* 2002; 27: 621836.
33. El Bannani H, Bernard M, Baertz D. Changes in intracellular sodium and pH during ischemia8reperfusion are attenuated by trimetazidine: comparison between low8 and zero8flow ischemia. *Cardiovasc Res* 2000; 47: 688896.

© Цехомский Александр Вячеславович ( aastartov12@mail.ru ), Ковтуновская Ирина Владимировна ( kovtunovskaya12@mail.ru ).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»