

УДК 576.343:546.26.001.57

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ФРАКЦИОНИРОВАНИЯ ИЗОТОПОВ УГЛЕРОДА В ЖИВОЙ КЛЕТКЕ

А. А. ИВЛЕВ, Д. А. КНЯЗЕВ, А. Г. КАЛОШИН
(Кафедра неорганической и аналитической химии)

Ранее было показано [1], что модель с периодически затухающими колебаниями в гликолитической цепи качественно правильно объясняет большинство изотопных эффектов углерода в живой клетке, в том числе обогащение биомассы автотрофных организмов легким изотопом ^{12}C , межкомпонентные изотопные различия биохимических фракций, внутримолекулярное распределение изотопов углерода в метаболитах и эффекты дыхания.

Экспериментально было подтверждено [9], что основным элементом механизма изотопного фракционирования углерода в клетке является кинетический изотопный эффект реакции декарбоксилирования пирувата. Отмечена также связь изотопного распределения в метаболитах со специфичностью ферментативных превращений и с перемешиванием атомов в метаболических циклах [3, 4].

Неясно, однако, способна ли модель описать наблюдаемые изотопные эффекты количественно и как связано изотопное распределение в метаболитах с динамикой функционирования клетки. Ответы на эти вопросы могут быть получены только путем математического анализа модели, которому и посвящается данная работа.

Вкратце физическая суть модели заключается в следующем. В гликолитической цепи каждой клетки происходят реципрокные колебания, состоящие из двух фаз — гликолиза и глюконеогенеза [6]. В фазу гликолиза полисахаридное депо разряжается, а белковое и липидное заполняются (нетто-ток углерода идет вниз). Гликолиз охватывает всю цепь метаболических превращений — от собственно гликолитических реакций до синтеза липидов и белков. В фазу глюконеогенеза, наоборот, происходят липолиз и распад белков, а углеводное депо заполняется, но лишь частично, поскольку часть исходной порции ассимилированного углерода расходуется на дыхание и прирост биомассы (нетто-ток углерода идет «вверх»). Переключение метаболизма клетки с одного состояния на другое контролируется емкостью углеводного депо через концентрацию гексозомонофосфатов. Поскольку углеводное депо в конце каждого колебания (в конце фазы глюконеогенеза) заполняется не полностью, его буферная емкость снижается и предельная концентрация гексозомонофосфатов, контролирующая переключение в состоянии гликолиза, достигается быстрее, а потоки уменьшаются. Появляются затухающие колебания, продолжающиеся до тех пор, пока не будет достигнута предельная концентрация некоторого интермедиата, возрастающая (или убывающая) параллельно с колебаниями в гликолитической цепи. Ее достижение служит сигналом к сопряжению цикла Кальвина с гликолитической цепью и к поступлению в полисахаридное депо «свежей» порции ассимилированного углерода.

Изотопные эффекты возникают в реакции декарбоксилирования пирувата в гликолитическую фазу каждого колебания. Повторное про-

хождение порции ассимилированного углерода в ходе затухания колебаний через гликолитическую цепь сопровождается умножением кинетических изотопных эффектов реакции декарбоксилирования пирувата. В соответствующее число раз увеличиваются все изотопные различия, в том числе обогащение биомассы и всех ее фракций изотопом ^{12}C .

Чтобы описать наблюдаемое распределение изотопов углерода в аминокислотах [7], как следует из анализа изотопного распределения в метаболитах цикла Кребса [4], необходимо допустить, что липидное и белковое депо в фазу гликолиза заполняются неодновременно. Соответственно декарбоксилирование пирувата, снабжающее субстратами эти процессы, мы разделяем на первичное и вторичное. При первичном декарбоксилировании все образующиеся C_2 -фрагменты идут в глиоксилатный цикл и на синтез жирных кислот. Цикл Кребса и связанный с ним синтез белков репрессированы.

По окончании синтеза липидов продукты реакции декарбоксилирования пирувата (C_2 -, C_3 -фрагменты и CO_2) в соотношении, определяемом энергетическими потребностями клетки, поступают в цикл Кребса, где одна часть углерода субстратов окисляется с сопряженным синтезом АТФ, другая используется на синтез белков. Этот этап декарбоксилирования пирувата назван вторичным. Регуляция описанной последовательности процессов, по-видимому, осуществляется через концентрацию АТФ или восстановителя, которые снижаются при синтезе липидов и увеличиваются при функционировании цикла Кребса.

Математический анализ модели изотопного фракционирования состоял в следующем. Для узлов смешения потоков субстратов на центральных метаболических путях, включающих цикл Кальвина, гликолитическую цепь, в том числе реакцию декарбоксилирования пирувата и реакцию Вуда—Веркмана, цикл Кребса, глиоксилатный цикл и фосfogлюконатный цикл, составлялся материальный и изотопный баланс (рис. 1). Причем для метаболитов, находящихся в этих узлах, баланс сводился по каждому атому с учетом специфичности ферментативных превращений и перемешивания атомов в реакциях цикла [13, 14].

Баланс составлялся последовательно для фазы гликолиза и фазы глюконеогенеза.

Прежде чем перейти к рассмотрению результатов анализа, остановимся на схеме материальных потоков (рис. 1) и соотношениях материального и изотопного баланса.

Примем порцию углерода Q_0 , поступающую из цикла Кальвина в гликолитическую цепь, за единицу (1 моль). Будем считать, что изотопный состав этой порции такой же, как и ассимилируемой CO_2 .

Рассмотрим стадию гликолиза, i -е колебание. Порция углерода, поступающая из углеводного депо на i -е колебание, равна Q_i . Ветвле-

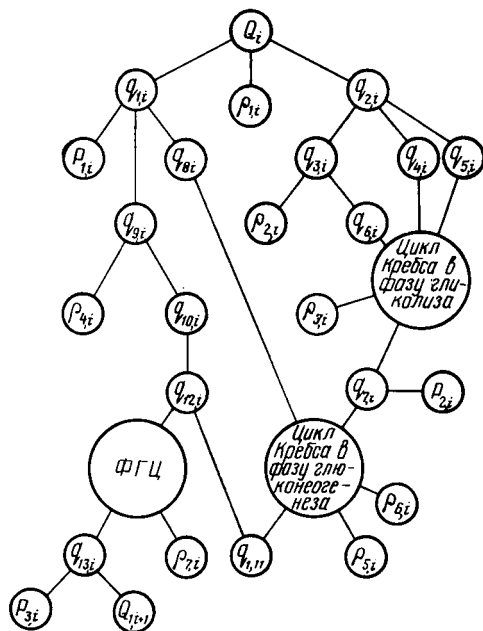


Рис. 1. Блок-схема потоков углеродных субстратов в клетке на i -м колебании в модели с многократными колебаниями в гликолитической цепи. Обозначения см. в тексте.

ние углеродного потока возникает при декарбоксилировании пирувата.

При первичном декарбоксилировании со степенью превращения F_1 появляются три потока (рис. 1):

$$\text{CO}_2 \quad p_{1, i} = \frac{1}{3} F_1 Q_i, \quad (1)$$

$$\text{C}_2\text{-фрагментов} \quad q_{1, i} = \frac{2}{3} F_1 Q_i, \quad (2)$$

$$\text{C}_3\text{-фрагментов} \quad q_{2, i} = (1 - F_1) Q_i. \quad (3)$$

Значение F_1 варьировало от 0 до 1. Постоянные коэффициенты в уравнениях учитывают стехиометрию потоков в атомных долях относительно единичного мольного потока исходных субстратов. Для расчета изотопных составов атомов в продуктах первичного декарбоксилирования пирувата необходимо знать кинетический изотопный эффект α , определяемый как отношение констант скоростей реакции декарбоксилирования изотопных форм пирувата. Поскольку теоретическое значение α для реакций декарбоксилирования оценивалось в пределах 1,03—1,08 [10—13], а экспериментально обнаруживались и меньшие значения — до $\alpha = 1,01$ [9, 13], показатель α рассматривался как варьируемый параметр с диапазоном, определяемым экспериментальными и теоретическими данными. Это обосновывается еще и тем, что в разных клетках разрыв С—С-связи может вносить неодинаковый вклад в лимитирующую скорость стадию. Следовательно, эффективные значения α в клетках разных организмов могут различаться.

Изотопный состав атомов в продуктах реакции декарбоксилирования пирувата будет меняться согласно следующим выражениям [2]:

$$\text{CO}_2 \quad \delta^{13}\text{C}_{\text{CO}_2} = a_{1, 1} = \left\{ \frac{l[1 - (1 - F_1)^{1/\alpha}]}{(1 - 2q)F_1 + q[1 - (1 - F_1)^{1/\alpha}]} - 1 \right\} \cdot 10^3, \quad (4)$$

C₂-фрагмент CH₃—CO—SKoA (C₁—C₂)

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_1(\text{C}_2)} = a_{2, 1} = \left\{ \frac{lF_1}{(1 - 3q)F_1 + 2q[1 - (1 - F_1)^{1/\alpha}]} - 1 \right\} \cdot 10^3, \quad (5)$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_2(\text{C}_2)} = a_{3, 1} = a_{1, 1},$$

C₃-фрагмент CH₃—CO—COOH (C₁—C₂—C₃)

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_1(\text{C}_3)} = a_{4, 1} = \left\{ \frac{l(1 - F_1)^{1/\alpha}}{(1 - 3q)(1 - F_1) + 2q(1 - F_1)^{1/\alpha}} - 1 \right\} \cdot 10^3, \quad (6)$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_2(\text{C}_3)} = a_{5, 1} = \left\{ \frac{l(1 - F_1)^{1/\alpha}}{(1 - 2q)(1 - F_1) + q(1 - F_1)^{1/\alpha}} - 1 \right\} \cdot 10^3, \quad (7)$$

$$\delta^{13}\text{C}_{\text{C}_3(\text{C}_3)} = a_{6, 1} = a_{5, 1},$$

$$\text{здесь } l = [^{13}\text{C}/^{12}\text{C}], \text{ а } q = \frac{[^{13}\text{C}/^{12}\text{C}]}{1 + [^{13}\text{C}/^{12}\text{C}]}.$$

Для удобства расчета введены буквенные обозначения изотопного состава атомов продуктов декарбоксилирования и все атомы пронумерованы (первый нижний индекс). Второй нижний индекс «1» означает первичное декарбоксилирование, F_1 — степень превращения пирувата при первичном декарбоксилировании.

Тогда с учетом изотопного состава соответствующих атомов субстратов $h_{h, i-1}$, поступающих из предыдущего ($i - 1$)-го колебания, изотопный состав атомов продуктов первичного декарбоксилирования на i -м колебании определяется как

$$b_{h, i} = a_{h, i} + h_{h, i-1}. \quad (8)$$

Образовавшиеся C_2 -фрагменты идут на синтез липидов (жирных кислот и в глиоксилатный цикл), изотопный состав которых определяется как

$$x_i = \frac{b_{2,i} + b_{3,i}}{2}. \quad (9)$$

Учитывая, что структуры, синтезируемые через C_2 -фрагменты, составляют основу липидной фракции биомассы организмов, здесь и в дальнейшем термин «липиды» будем относить именно к этой части липидной фракции, а ее изотопный состав аппроксимировать изотопным составом C_2 -фрагментов (этот термин взят в кавычки).

CO_2 , образовавшаяся при первичном декарбоксилировании $p_{1,i}$ (рис. 1), выдыхается с изотопным составом $b_{1,i}$. Остаточный пируват подвергается вторичному декарбоксилированию со степенью превращения F_2 ($0 < F < 1$) и вновь образуются три потока (рис. 1):

$$CO_2 \quad q_{3,i} = \frac{1}{3} F_2 q_{2,i}, \quad (10)$$

$$C_2\text{-фрагментов} \quad q_{4,i} = \frac{2}{3} F_2 q_{2,i}, \quad (11)$$

$$C_3\text{-фрагментов} \quad q_{5,i} = (1 - F_2) q_{2,i}. \quad (12)$$

Степень превращения F_2 при вторичном декарбоксилировании зависит от соотношения C_2 - и C_3 -фрагментов, поступающих в цикл Кребса, которое определяется энергетикой клетки, так как оно задает число оборотов цикла. Если число C_2 -фрагментов, поступающих в цикл, обозначить n_{C_2} , а число C_3 -фрагментов n_{C_3} , то значение F_2 выразится как

$$F_2 = \frac{n_{C_2}}{n_{C_2} + n_{C_3}}. \quad (13)$$

Изотопный состав атомов продуктов вторичного декарбоксилирования с учетом выражений (4—7) можно записать

$$CO_2 \quad \delta^{13}C_{q_{3,i}} = C_{1,i} = b_{6,i} + a_{1,2}, \quad (14)$$

$$C_2\text{-фрагменты} \quad \delta^{13}C_{1,q_{4,i}} = C_{2,i} = b_{4,i} + a_{2,2}, \quad (15)$$

$$\delta^{13}C_{2,q_{4,i}} = C_{3,i} = b_{5,i} + a_{3,2}, \quad (16)$$

$$C_3\text{-фрагменты} \quad \delta^{13}C_{1,q_{5,i}} = C_{4,i} = b_{4,i} + a_{4,2}, \quad (17)$$

$$\delta^{13}C_{2,q_{5,i}} = C_{5,i} = b_{5,i} + a_{5,2}, \quad (18)$$

$$\delta^{13}C_{3,q_{5,i}} = C_{6,i} = b_{6,i} + a_{6,2}. \quad (19)$$

Здесь $a_{k,2}$ — изотопный состав углеродных атомов в продуктах декарбоксилирования пирувата; k — номер атома; 2 — вторичное декарбоксилирование.

Часть потока CO_2 — $q_{6,i}$ — связывается с C_3 -фрагментами в реакции Вуда — Веркмана и поступает в цикл Кребса в виде C_4 -структур (оксалоацетата). Значение этого потока, определяемое стехиометрией реакции, записывается

$$q_{6,i} = \frac{1}{3} q_{5,i}. \quad (20)$$

Остальная часть CO_2 выдыхается клеткой

$$p_{2,i} = q_{3,i} - q_{6,i}. \quad (21)$$

Итак, в цикле Кребса в фазу гликолиза смешиваются три изотопно-различающихся потока субстратов. Из цикла выводятся метаболиты,

являющиеся генетическими предшественниками большинства аминокислот и некоторых других компонентов.

Из стехиометрии реакций цикла следует, что количество образующихся в цикле метаболитов равно количеству поступивших в цикл C_4 -структур, т. е.

$$q_7, i = q_6, i + q_5, i, \quad (22)$$

а количество выдыхаемой в цикле углекислоты — количеству окисляемых C_2 -фрагментов

$$p_3, i = q_4, i. \quad (23)$$

Для оценки изотопного распределения углерода в аминокислотах, синтезируемых из метаболитов цикла Кребса, необходимо учитывать специфичность взаимодействий и перемешивание атомов в реакциях цикла. Подробно это описано в работе [4], здесь приводятся окончательные выражения. Для одного оборота цикла изотопный состав C_4 -структуры записывается

$$d_{1, i}^{n=1} = d_{4, i}^{n=1} = 0,5 (C_{5, i} + C_{3, i}), \quad (24)$$

$$d_{2, i}^{n=1} = d_{3, i}^{n=1} = 0,5 (C_{6, i} + C_{2, i}). \quad (25)$$

Для n оборотов цикла

$$d_{1, i}^n = d_{4, i}^n = 0,5 (d_{5, i}^{n-1} + C_{3, i}), \quad (26)$$

$$d_{2, i}^n = d_{3, i}^n = 0,5 (d_{6, i}^{n-1} + C_{2, i}), \quad (27)$$

где $d_{1, i}^n$ и $d_{4, i}^n$ относятся к карбоксильным атомам углерода, а $d_{2, i}^n$ и $d_{3, i}^n$ — к радикальным атомам C_4 -структуры. Отношение $n_{C_2} : n_{C_3}$, а следовательно, n задавались как варьируемые параметры. Было, однако, показано [4], что при $n > 10$ распределение изотопов в метаболитах цикла становится стационарным.

У большинства организмов синтез аминокислот в основном связан с функционированием цикла Кребса. Поэтому изотопный состав углерода белковой фракции у них определяется изотопным составом углерода метаболитов цикла, аппроксимируемых C_4 -структурами. С учетом этого определим термином «белки» ту часть белковой фракции, которая синтезируется через метаболиты цикла. Чтобы подчеркнуть условность принятого термина «белки», в тексте он будет заключен в кавычки.

Таким образом, суммарный изотопный состав углерода «белков» определяется как

$$y_i = 0,5 (d_{1, i}^n + d_{2, i}^n), \quad (28)$$

а изотопный состав CO_2 , выдыхаемой в цикле Кребса, как

$$x_i = \frac{C_{1, i} + C_{6, i} + \sum (d_{1, i}^{n-1} + d_{2, i}^{n-1})}{2n}. \quad (29)$$

Рассмотрим фазу глюконеогенеза. При липолизе и распаде «белков», происходящих при изменении направления потоков субстратов, часть углерода «липидов» и «белков», образовавшихся при гликолизе, идет на прирост биомассы. Для простоты анализа доли потока на прирост соответствующих фракций мы считали постоянными независимо от колебаний. Соотношение этих долей принималось таким, как и соотношение фракций в биомассе исследуемых организмов. Впрочем предусматривалась возможность варьирования этого соотношения и абсолютных значений отборов на прирост. На рис. 1 доля на прирост липидов обозначена P_1 , а на прирост белков — P_2 .

При β -окислении жирных кислот, которыми мы аппроксимируем липиды, образуются C_2 -фрагменты с приблизительно таким же изотоп-

ным распределением, как и в C_2 -фрагментах, использованных на их синтез (с точностью до поправок на изотопные эффекты в процессах липогенеза и липолиза) [15].

χ -я часть оставшегося потока $q_{8, i}$ тратится на окисление в цикле Кребса

$$q_{8, i} = (q_{1, i} - P_{1, i}) \chi. \quad (30)$$

Остальная часть потока $q_{9, i}$ идет в глиоксилатный цикл

$$q_{9, i} = (q_{1, i} - P_{1, i}) \cdot (1 - \chi), \quad (31)$$

из которого выводится сукцинат, превращающийся в оксалоацетат. Последний служит предшественником фосфоенолпирувата (ФЕП). При этом 1/4 часть потока выводится из клетки в виде CO_2 , образующейся при декарбоксилировании оксалоацетата.

Количество ФЕП, образовавшегося в ходе липидо-углеводного обмена, равно

$$p_{10, i} = \frac{3}{4} q_{9, i}, \quad (32)$$

а количество выделившейся CO_2

$$p_{4, i} = \frac{1}{4} q_{9, i}. \quad (33)$$

Изотопный состав суммарного углерода ФЕП определится как

$$\omega_i = \frac{b_{3, i} + 2b_{2, i}}{3}. \quad (34)$$

Изотопный состав CO_2 равен $b_{3, i}$.

Катаболизм белков в ходе белково-углеводного обмена осуществляется через цикл Кребса. Вначале белки превращаются в промежуточные продукты цикла, которые окисляются в малат. Последний выходит из митохондрий, окисляется в цитоплазме в оксалоацетат с последующим образованием ФЕП под действием цитоплазматической ФЕП-карбоксикиназы. Как и в случае липидно-углеводного обмена, в ФЕП превращается лишь 3/4 потока окисляемых белков, остальная часть выделяется из клетки с CO_2 при декарбоксилировании оксалоацетата. Количество ФЕП ресинтеза при белково-углеводном обмене равно

$$q_{11, i} = (q_{7, i} - P_{2, i}) \cdot 3/4, \quad (35)$$

а изотопный состав суммарного углерода ФЕП, образовавшегося при белково-углеводном обмене,

$$\varepsilon_i = \frac{d_{1, i}^n + 2d_{2, i}^n}{3}. \quad (36)$$

Количество выделившейся CO_2 при превращении оксалоацетата в ФЕП составляет

$$p_{5, i} = \frac{1}{4} (q_{7, i} - P_{2, i}), \quad (37)$$

ее изотопный состав — $d_{1, i}^n$.

Кроме того, в фазу глюконеогенеза в цикле Кребса образуется CO_2 за счет окисления C_2 -фрагментов, поступивших в него при β -окислении жирных кислот,

$$p_{6, i} = q_{8, i} \quad (38)$$

с изотопным составом x_i .

Таким образом, общий метаболический фонд ФЕП в фазу глюконеогенеза складывается из ФЕП, образованного при липидно- и белково-углеводном обмене,

$$q_{12, i} = q_{10, i} + q_{11, i}. \quad (39)$$

Распределение изотопов углерода в нем определяется следующими соотношениями:

$$\begin{aligned} f_{1, i} &= (b_{2, i} q_{10, i} + d_{2, i}^n q_{11, i}) \frac{1}{q_{12, i}}, \\ f_{2, i} &= f_{1, i}, \\ f_{3, i} &= (b_{3, i} q_{10, i} + d_{1, i}^n q_{11, i}) \frac{1}{q_{12, i}}, \end{aligned} \quad (40)$$

а изотопный состав суммарного углерода фонда ФЕП ресинтеза равен

$$v_i = \frac{f_{3, i} + 2f_{1, i}}{3}. \quad (41)$$

Далее по пути обращенного гликолиза ФЕП ресинтеза превращается в глюкозо-6-фосфат (Г6Ф), последний — в крахмал. Однако прежде чем превратиться в крахмал, поток углерода проходит фосфоглюконатный цикл, в котором происходит частичное окисление Г6Ф и синтез пятиуглеродных сахаров — рибоз, идущих на синтез нуклеотидов и акцептора CO_2 — РидФ. По некоторым оценкам [5] в фосфоглюконатном цикле окисляется до 10 % углеродного потока, что приблизительно соответствует двум оборотам цикла. Число оборотов фосфоглюконатного цикла m задавалось параметрически и варьировало от 1 до 3.

Количество Г6Ф, прошедшего через фосфоглюконатный цикл, равно

$$q_{13, i} = \left(\frac{5}{6}\right)^m q_{12, i}. \quad (42)$$

Количество CO_2 , образующейся на промежуточном m_j -м обороте цикла,

$$p_{7, i}^{m_j} = \frac{1}{6} q_{12, i} \left(\frac{5}{6}\right)^{m_j - 1}. \quad (43)$$

Общее количество CO_2 , образовавшейся за m оборотов фосфоглюконатного цикла, определяется

$$p_{7, i} = \sum_{m_j=1}^m p_{7, i}^{m_j}. \quad (44)$$

Детальный анализ изотопного распределения углерода в Г6Ф после прохождения фосфоглюконатного цикла дан в работе [3], поэтому мы ограничимся приведением окончательных выражений.

Распределение изотопов углерода в Г6Ф после фосфоглюконатного цикла можно записать

при $m = 1$	при $m > 1$
$g_{1, i}^1 = 0,2 (4f_{2, i} + f_{1, i}),$	$g_{1, i}^m = 0,2 (4g_{2, i}^{m-1} + g_{1, i}^{m-1}),$
$g_{2, i}^1 = 0,2 (4f_{3, i} + f_{2, i}),$	$g_{2, i}^m = 0,2 (4g_{3, i}^{m-1} + g_{2, i}^{m-1}),$
$g_{3, i}^1 = 0,2 (3f_{3, i} + 2f_{2, i}),$	$g_{3, i}^m = 0,2 (3g_{3, i}^{m-1} + 2g_{2, i}^{m-1}),$
$g_{4, i} = f_{3, i},$	$g_{4, i}^m = f_{3, i},$
$g_{5, i} = f_{2, i},$	$g_{5, i}^m = f_{2, i},$
$g_{6, i} = f_{1, i},$	$g_{6, i}^m = f_{1, i}.$

(45)

Изотопный состав суммарного углерода Г6Ф после промежуточного оборота цикла представим в виде

$$r_i^{m_j} = \frac{1}{6} \sum_k^6 g_{k, i}^{m_j}, \quad (46)$$

Пример расчета материального баланса потоков углерода в клетке по модели с многократными колебаниями в гликолитической цепи

<i>i</i> -е колебание	$q_{1, i}$	$q_{2, i}$	$q_{3, i}$	$q_{4, i}$	$q_{5, i}$	$q_{6, i}$	$q_{7, i}$	$q_{8, i}$	$q_{9, i}$
1	0,3333	0,5000	0,1500	0,0500	0,3000	0,0167	0,6673	0,3333	0,2995
2	0,0628	0,0942	0,0283	0,0094	0,0565	0,0031	0,0126	0,0628	0,0560
3	0,0112	0,0167	0,0050	0,0017	0,0100	0,0006	0,0022	0,0112	0,0095
4	0,0013	0,0019	0,0016	0,0002	0,0012	0,0001	0,0003	0,0013	0,0007

	$q_{10, i}$	$q_{11, i}$	$q_{12, i}$	$q_{13, i}$	$p_{1, i}$	$p_{2, i}$	$p_{3, i}$	$p_{4, i}$	$p_{5, i}$
1	0,2246	0,0496	0,2743	0,1904	0,1667	0,1333	0,3000	0,0749	0,0333
2	0,0420	0,0091	0,0511	0,0355	0,0314	0,0251	0,0565	0,0140	0,0063
3	0,0072	0,0013	0,0084	0,0059	0,0056	0,0045	0,0100	0,0024	0,0011
4	0,0005	0	0,0005	0,0003	0,0006	0,0005	0,0012	0,0002	0,0001

	$p_{6, i}$	$p_{7, i}$	$p_{\Sigma, i}$	$P_{1, i}$	$P_{2, i}$	$P_{3, i}$	P_i	Q_i
1	0,3333	0,0838	0,8085	0,0005	0,0005	0,0020	0,0030	0,1884
2	0,0628	0,0156	0,1520	0,0005	0,0005	0,0020	0,0030	0,0335
3	0,0112	0,0026	0,0267	0,0005	0,0005	0,0020	0,0030	0,0039
4	0,0013	0,0002	0,0028	0,0005	0,0002	0,0003	0,0010	0

Примечание. Здесь и в табл. 2 исходные данные: $Q_0=1$, $F_1=0,5$, $n_{C_2}:n_{C_3}=9:1$, $m=2$, $P_1=P_2=0,0005$, $P_3=0,0020$; обозначения даны в тексте.

а изотопный состав CO_2 , выделяющейся на m_j -м обороте цикла, $g_{1, i}^{m-1}$.
Изотопный состав углерода фонда крахмала на i -м колебании с точностью до изотопных эффектов полимеризации глюкозы равен

$$z_i = r_i^{m_j=m}. \quad (47)$$

Термин «углеводы» здесь и в дальнейшем мы относим к крахмалу, составляющему основу углеводной фракции биомассы растений, а изотопный состав последнего аппроксимируем изотопным составом Г6Ф (термин в тексте взят в кавычки).

Доля углеродного потока на прирост «углеводной» фракции при i -м колебании обозначена $P_{3, i}$, тогда количество углерода при следующем $(i+1)$ -м колебании равно

$$Q_{i+1} = q_{13, i} - P_{3, i}. \quad (48)$$

Изотопный состав углерода биомассы, образовавшейся на i -м колебании, определяется согласно выражению

$$\theta_i = \frac{P_{1, i} x_i + P_{2, i} y_i + P_{3, i} z_i}{P_{1, i} + P_{2, i} + P_{3, i}}. \quad (49)$$

Общее количество CO_2 , выдыхаемой в ходе колебания, равно

$$p_{\Sigma i} = \sum_{k=1}^7 p_{k, i}. \quad (50)$$

Ее изотопный состав

$$\psi_i = \frac{p_{1,i} b_{1,i} + p_{2,i} C_{1,i} + p_{3,i} x_i + p_{4,i} b_{3,i} + p_{5,i} d_{1,i}^n + p_{6,i} x_i + \sum_{m_j=1}^m p_{7,i}^{m_j} q_{1,i}^{m_j}}{p_{\Sigma,i}} \quad (51)$$

Изотопный состав пирувата на $(i+1)$ -м колебании, используемый для определения $b_{k,i}$ в выражении (8), записывается

$$h_{k,i} = 0,5 (g_{k,i}^m + f_{k,i}), \quad (52)$$

номер атома k меняется от 1 до 6.

Для получения интегральных характеристик, определяющих потоки углерода в клетке и их изотопный состав, необходимо суммирование по всем колебаниям. Тогда можно записать следующие соотношения, описывающие изотопные составы углерода «липидов»:

$$\delta^{13}C_x = \frac{\sum_i P_{1,i} x_i}{\sum_i P_{1,i}}, \quad (53)$$

углерода «белков»

$$\delta^{13}C_y = \frac{\sum_i P_{2,i} y_i}{\sum_i P_{2,i}}, \quad (54)$$

углерода «углеводов»

$$\delta^{13}C_z = \frac{\sum_i P_{3,i} z_i}{\sum_i P_{3,i}}, \quad (55)$$

Таблица 2

Результаты расчета межкомпонентного и внутримолекулярного распределения изотопов углерода по модели с многократными колебаниями в гликолитической цепи ($\delta^{13}C$ в ‰ относительно ассимилируемой CO_2)

i-е колебания	C ₁	C ₂	Общий C	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	Общий C
	$b_{5,i}$	$b_{3,i}$	x_i	$d_{1,i}^9$	$d_{2,i}^9$	$d_{3,i}^9$	$d_{4,i}^9$	y_i
	«Липиды» (C ₂)			«Белки» (C ₄)				
1	+0,46	-20,17	-9,86	+6,29	+0,12	+0,12	+6,29	+3,09
2	-5,15	-25,81	-15,47	+0,68	-5,72	-5,72	+0,68	-2,52
3	-10,27	-30,52	-20,39	-4,24	-10,84	-10,84	-4,24	-7,52
4	-15,03	-34,89	-4,96	-8,81	-15,60	-15,60	-8,81	-12,20
Σ_i	-7,50	-27,84	-17,67	-0,07	-5,40	-5,40	-0,07	-2,78
колебания	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆	Общий C	ξ
	$g_{1,i}^2$	$g_{2,i}^2$	$g_{3,i}^2$	$g_{4,i}^2$	$g_{5,i}^2$	$g_{6,i}^2$	z_i	
	«Углеводы» (C ₆)			«Биомасса»				
1	-11,60	-11,67	-12,40	-18,36	+0,40	+0,40	-8,87	-7,04
2	-16,75	-16,00	-16,94	-23,53	+4,70	+4,70	-13,77	-12,18
3	-21,47	-19,95	-21,08	-8,22	-9,49	-9,49	-18,29	-16,85
4	-27,74	-5,34	-26,74	-34,89	-14,03	-15,03	-4,13	-21,40
Σ_i	-13,61	-12,98	-13,74	-19,01	-1,73	-1,73	-10,47	-10,80

углерода биомассы

$$\xi = \frac{P_1 \delta^{13} C_x + P_2 \delta^{13} C_y + P_3 \delta^{13} C_z}{P_1 + P_2 + P_3}, \quad (56)$$

$$\text{здесь } P_1 = \sum_i P_{1,i}, P_2 = \sum_i P_{2,i}, P_3 = \sum_i P_{3,i},$$

CO₂ дыхания

$$\gamma = \frac{\sum_i \psi_i p_{\Sigma,i}}{\sum_i p_{\Sigma,i}}. \quad (57)$$

Проиллюстрируем описанную математическую модель примером, представленным в табл. 1 и 2 и на рис. 2. Из результатов расчета видно, что в соответствии с физическими представлениями, заложенными в модель (рис. 2, табл. 1), она описывает затухающие колебания, выражающиеся в быстром сокращении потоков субстратов, участвующих в метаболических колебаниях. Это ограничивает число возможных колебаний (4—5) в зависимости от прироста фракций, а следовательно, и предельное обогащение биомассы легким изотопом ¹²C, которое несколько ниже наблюдаемого. Отметим (табл. 2), что в результате умножения кинетических изотопных эффектов в ходе автоколебаний изотопный состав образующихся на каждом колебании биоконпонентов и биомассы в целом обогащается на 5% изотопом ¹²C, меняясь за четыре колебания от -7 до -21,4‰. В итоге изотопный состав образующейся за четыре колебания биомассы в среднем равен -10,8‰.

Модель правильно описывает наблюдаемое распределение изотопов между фракциями биомассы [8]. Содержание ¹²C в липидах больше, чем в углеводах, в последних больше, чем в белках. Модель также описывает обогащенность карбоксильных групп аминокислот изотопом ¹³C относительно углерода радикального остатка [7], предсказывает обогащенность карбоксильных групп жирных кислот изотопом ¹²C и чередование изотопно-легких и изотопно-тяжелых атомов углерода вдоль их скелета. Последнее согласуется с наблюдавшейся в эксперименте обогащенностью карбоксильного углерода C₂-фрагментов изотопом ¹²C [9].

Из результатов расчета следует, что молекулы глюкозы, образующейся при глюконеогенезе, обладают своеобразным распределением изотопов. В ходе колебаний изотопный состав трех атомов с глюкозидного конца молекулы меняется, а трех других остается постоянным.

Таким образом, модель позволяет объяснить наблюдаемую картину распределения изотопов углерода в клетке автотрофных организмов и предсказать распределение изотопов в неизученных биоконпонентах.

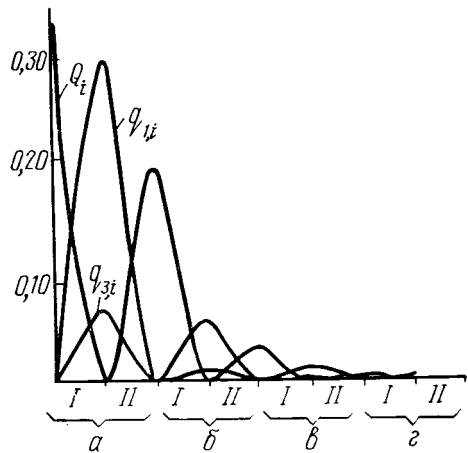


Рис. 2. Динамика затухания колебаний потоков углеродных субстратов по данным расчета табл. 1. Все потоки в долях от $Q_0=1$ (Q_0 — ассимилированная порция углерода, поступающая в гликолитическую цепь).

Q_i — поток «углеводов», $q_{1,i}$ — поток «липидов», $q_{3,i}$ — поток «белков»; $\alpha, \beta, \beta, \gamma$ — равно 1, 2, 3 и 4-му колебаниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивлев А. А. Фракционирование изотопов углерода в процессах жизнедеятельности организмов в разные фазы геологической истории Земли.—Журн. общей биологии, 1980, т. 41, № 6, с. 901—917.—
2. Ивлев А. А., Князев Д. А., Калошин А. Г. Соотношения внутримолекулярного распределения изотопов углерода при декарбоксилировании пирувата.—Биофизика, 1982, № 5.—
3. Ивлев А. А., Князев Д. А., Калошин А. Г., Радюкин Ю. Н. О распределении изотопов углерода в метаболитах цикла Кальвина и фосфоглюконатного цикла.—Изв. ТСХА, 1982, вып. 5, с. 97—101.—
4. Ивлев А. А., Князев Д. А., Калошин А. Г., Радюкин Ю. Н. О распределении изотопов углерода в метаболитах глиоксилатного цикла и цикла Кребса.—Изв. ТСХА, 1982, вып. 4, с. 76—82.—
5. Ленинджер А. Биохимия. М.: Мир, 1974.—
6. Сельков Е. Е. Временная организация энергетического метаболизма и клеточные часы.—В сб.: Регуляция энергетического обмена и физиологическое состояние организма. М.: Наука, 1978, с. 15—32.—
7. Abelson P. H., Hoering T. C.—Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1961, vol. 47, N 5, p. 623—632.—
8. Degens E. T.—In: Organic geochemistry. Heidelberg: Springer, 1969, p. 304—329.—
9. Deniro M. J., Epstein S.—Sci., 1977, vol. 197, N 4300, p. 261—267.—
10. Frank J., Kuo D. J., Monse E. U.—J. Am. Chem. Soc., 1978, vol. 100, p. 2872—2878.—
11. Melander L., Saunders W. H.—Reaction rates of isotopic molecules. N. Y.: Wiley, Interscience Publ., 1980.—
12. O'Leary M. H.—Biochem. Biophys. Res. Comm., 1976, vol. 73, p. 613—616.—
13. O'Leary M. H.—J. Am. Chem. Soc., 1972, vol. 94, p. 626—630.—
14. Park R., Epstein S.—Geochim. et Cosm. Acta, 1960, vol. 27, p. 110—126.—
15. White R. H.—Biochem., 1980, vol. 19, p. 15—19.

Статья поступила 22 апреля 1982 г.

SUMMARY

The mathematical analysis of the model of the carbon isotope fractionation in an autotrophic cell consisted in making up systems of equations of material and isotope balance for the points of mixing flows of carbon substrates in central metabolic paths. With metabolites present in these points the balance was achieved for each atom, taking into consideration specific features of enzymatic interactions and mixing of atoms in cycles reactions. A concrete example shows that the model allows to provide quantitative description of intramolecular isotope distribution in metabolites and of other isotope effects within the cell.