

УДК 576.343:546.26.001.57

**АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ РАСЧЕТА ИЗОТОПНЫХ ЭФФЕКТОВ
УГЛЕРОДА В АВТОТРОФНОЙ КЛЕТКЕ ПО МОДЕЛИ
С ПЕРИОДИЧЕСКИ ЗАТУХАЮЩИМИ КОЛЕБАНИЯМИ
В ГЛИКОЛИТИЧЕСКОЙ ЦЕПИ**

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

В предыдущей работе [1] мы описывали модель фракционирования изотопов углерода в живой клетке с периодическими затухающими колебаниями в гликолитической цепи. Было показано, что такая модель хорошо объясняет наблюдаемые изотопные эффекты в клетке, в том числе характер распределения изотопов между фракциями, ком-

понентами, и внутримолекулярное распределение изотопов в метаболитах.

В настоящей работе анализируются результаты расчетов изотопных эффектов по указанной модели с заданной вариацией параметров, определяющих динамику метаболизма клетки и влияющих на значения изотопных эффектов и характер изотопного распределения. В качестве таких параметров были выбраны кинетический изотопный эффект в реакции декарбоксилирования пирувата α , степень деструкции пируватного пула при первичном и вторичном декарбоксилировании пирувата F_1

и $F_2 = \frac{n_{C_2}}{n_{C_2} + n_{C_3}}$, где n_{C_2} и n_{C_3} — количества C_2 - и C_3 -фрагментов, поступающих в цикл Кребса при вторичном декарбоксилировании. Параметрически задается отношение $n_{C_2}:n_{C_3}$, определяющее F_2 .

Напомним вкратце физическую суть модели. Ассимилируемый углерод из цикла Кальвина попадает в гликолитическую цепь, в которой для осуществления энергетического метаболизма происходят автоколебания, заключающиеся в попеременном переключении потоков углеродных субстратов с гликолиза на глюконеогенез. В гликолитическую фазу колебаний (нетто-ток углерода идет «вниз») распадаются углеводы, а белковое и липидное депо заполняются. В фазу глюконеогенеза (нетто-ток углерода идет «вверх») распадаются липиды и белки, а полисахариды ресинтезируются. Колебания затухающие, поскольку в процессах гликолиза и глюконеогенеза часть углерода тратится на дыхание и прирост биомассы. В результате буферная емкость полисахаридного депо, определяющая переключение с гликолиза на глюконеогенез, уменьшается. Переключения учащаются по мере сокращения потоков углеродных субстратов.

Согласно модели, в автотрофной клетке параллельно с колебаниями в гликолитической цепи изменяется концентрация некоторого интермедиата, сопрягающего цикл Кальвина с гликолитической цепью. По достижении предельной концентрации интермедиата в гликолитическую цепь поступает новая порция с исходной амплитудой. Изотопные эффекты возникают в гликолитическую фазу в процессе декарбоксилирования пирувата, который делится на первичный и вторичный. При первичном декарбоксилировании образующиеся C_2 -фрагменты целиком расходуются на синтез жирных кислот и липидных структур, синтезируемых через глиоксилатный цикл. 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 этих субстратов окисляется сопряженно с синтезом АТФ, а другая используется на синтез белков. Этот этап декарбоксилирования назван вторичным.

Возникновение эффектов в реакции декарбоксилирования пирувата приводит к появлению внутримолекулярной изотопной неоднородности в C_2 - и C_3 -фрагментах, из которых синтезируются все остальные метаболиты. Конкретное распределение изотопов в метаболитах зависит от специфичности биохимических взаимодействий и перемешивания атомов в метаболических циклах.

Варьируя параметры, определяющие динамическое состояние клетки, рассмотрим, как в соответствии с моделью меняются ее изотопные характеристики. Как следует из табл. 1 и 2, они прямо пропорциональны значению кинетического изотопного эффекта α .

На рис. 1 представлена зависимость изотопного состава углерода биомассы и ее фракций от степени превращения пула пирувата при первичном декарбоксилировании F_1 , т. е. от соотношения углеродных потоков в ветвях липидного и белкового метаболизма в фазу гликолиза. Из рис. 1 видно, что в основной части диапазона возможных значений F_1 сохраняется последовательность распределения изотопов между фракциями, которая наблюдается в автотрофных организмах [9, 10]. «Белки» больше обогащены ^{13}C , чем «липиды»¹. Однако при высоких

значениях F_1 ($F_1 > 0,8$) возможно нарушение указанной последовательности. «Углеводы» могут оказаться изотопнолегче «липидов». С ростом F_1 в области низких значений F_1 (от 0 до 0,4) происходит обогащение фракций и самой биомассы легким изотопом. В области высоких значений F_1 , напротив, фракции и биомасса обогащаются изотопом ^{13}C . Причем, начиная с некоторых значений (в данном примере при $F_1 > 0,7$), «белки» оказываются изотопнотяжелее ассимилируемого углерода (положительные значения $\delta^{13}\text{C}$).

Следует, однако, подчеркнуть, что изотопный состав углерода «белков», рассчитываемый по модели, оказывается заметно тяжелее изотопного состава углерода остальных фракций, чем это наблюдается в биомассе изученных организмов.

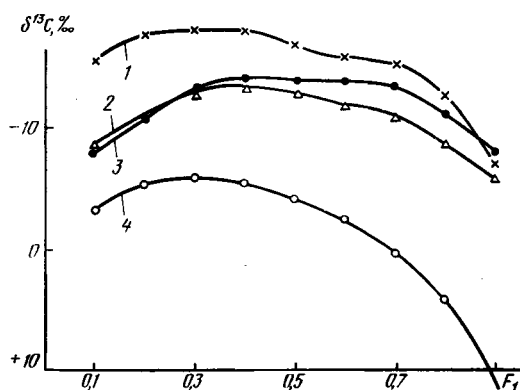


Рис. 1. Зависимость изотопного состава углерода биомассы и ее фракций от степени превращения пирувата при первичном декарбонилировании.

1 — изотопный состав углерода липидов; 2 — углеводов; 3 — биомассы в целом; 4 — белков.

Таблица 1

Зависимость изотопного распределения углерода в биомассе от кинетического изотопного эффекта α при $Q_0=1$, $F_1=0,6$; $n_{\text{C}_2}:n_{\text{C}_3}=9:1$; $m=2$; $P_1=P_2=0,0005$; $P_3=0,0020$. Значения $\delta^{13}\text{C}$ приводятся в ‰ относительно исходного углерода, для которого $\sigma^{13}\text{C}=0\text{‰}$

α	Биомасса	«Липиды»	«Белки»	«Углеводы»	CO ₂ дыхания
1,010	-4,22	-5,41	-0,80	-4,80	+0,04
1,020	-8,46	-10,70	-1,58	-9,50	+0,09
1,030	-12,56	-15,96	-2,37	-14,23	+0,13
1,040	-16,50	-21,25	-3,15	-18,87	+0,18

Табл. 3 иллюстрирует зависимость внутримолекулярного распределения изотопов углерода в метаболитах от F_1 . В «липидах» (C₂-фрагментах) максимальные внутримолекулярные изотопные различия

Таблица 2

Зависимость внутримолекулярного распределения изотопов углерода в метаболитах от кинетического изотопного эффекта α (исходные данные те же, что и в табл. 1)

α	«Липиды»		«Белки»		«Углеводы»					
	C ₁	C ₂	C ₁ (C ₄)	C ₂ (C ₃)	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄	C ₅	C ₆
1,010	-2,34	-3,38	+0,78	-2,55	-5,24	-4,83	-5,22	-7,15	-1,39	-1,39
1,020	-4,68	-16,76	+1,56	-5,10	-10,48	-9,66	-10,44	-14,3	-2,78	-2,78
1,030	-7,07	-24,95	+2,27	-8,01	-15,72	-14,60	-15,66	-21,45	-4,17	-4,17
1,040	-9,12	-33,11	+3,12	-10,20	-20,97	-19,38	-20,88	-28,64	-5,56	-5,56

¹ Здесь и в дальнейшем термины «липиды», «белки» и «углеводы» в тексте взяты в кавычки, чтобы подчеркнуть их условность, поскольку с рассматриваемой модели липиды аппроксимируются C₂-фрагментами, белки — C₄-структурами, синтезируемыми в цикле Кребса, а углеводы — C₆-структурами, образующимися при ресинтезе.

отвечают минимальным значением F_1 . Атомы, соответствующие карбоксильному углероду C_2 -фрагмента, всегда обогащены ^{12}C по сравнению с атомами, соответствующими метильному углероду. Учитывая механизм синтеза липидных компонентов [8], можно ожидать, что чередующиеся углеродные атомы в липидных структурах обладают различным содержанием изотопа ^{13}C . Распределение изотопов углерода в «белках» (C_4 -структурах) испытывает инверсию с ростом F_1 . При $F_1 < 0,5$ (конкретное значение F_1 определяется соотношением C_2 - и C_3 -фрагментов, поступающих в цикл Кребса при гликолизе, т. е. значением F_2) карбоксильный углерод «белков» оказывается изотопно легче углерода радикала. При больших значениях F_1 карбоксильный углерод «белков», напротив, обогащен ^{13}C относительно углерода радикала. Отметим, что утверждение об изотопной утяжеленности карбоксильных групп аминокислот при высоких значениях F_1 относится лишь к аминокислотам, синтез которых связан с метаболитами цикла Кребса. Вывод об изотопной облегченности карбоксильных групп «белков» при низких значениях F_1 справедлив для всех аминокислот.

Изменения изотопного состава углеродных атомов в глюкозе с возрастанием F_1 в целом подобны изменениям изотопного состава суммар-

Таблица 3

Зависимость внутримолекулярного распределения изотопов углерода в метаболитах от F_1 , $\alpha = 1,030$. Остальные исходные данные те же, что и в табл. 1

F_1	«Липиды»		«Белки»		«Углеводы»					
	C_1	C_2	$C_1 (C_4)$	$C_2 (C_3)$	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
0,1	-1,32	-29,32	-4,24	-1,89	-10,05	-9,89	-10,51	-15,18	-0,94	-0,94
0,2	-4,44	-30,75	-5,42	-4,97	-13,58	-13,31	-14,13	-20,38	-1,52	-1,52
0,4	-6,59	-29,12	-2,47	-6,25	-16,93	-16,53	-17,53	-24,41	-4,55	-4,55
0,6	-6,97	-24,95	+2,60	-7,94	-17,79	-16,70	-17,56	-23,98	-6,80	-6,80
0,8	-6,68	-19,70	+14,22	-6,24	-13,13	-12,11	-12,80	-17,21	-5,43	-5,43
0,9	-3,26	-10,93	+26,84	-4,30	-9,59	-8,83	-9,33	-12,30	-4,77	-4,77

ного углерода углеводной фракции, а характер внутримолекулярного распределения изотопов зависит от многих факторов: изотопного распределения в «белках» и «липидях», соотношения углеродных потоков при липолизе и распаде белков в ходе глюконеогенеза и специфического перемешивания атомов в фосфоглюконатном цикле. Особенности изотопного распределения в глюкозе, синтезируемой «метаболическим» путем, видны из табл. 3.

Таблица 4

Зависимость изотопного состава углерода биомассы и ее фракций от степени превращения пирувата при вторичном декарбоксилировании F_2 (соотношения C_2 - и C_3 -фрагментов, поступающих в цикл Кребса при гликолизе). Исходные данные те же, что и в табл. 3

F_2	$n_{C_2} : n_{C_3}$	Биомасса	«Липиды»	«Белки»	«Углеводы»	CO_2 дыхания
0,50	1:1	+2,03	-6,34	+15,40	+0,51	-0,33
0,67	2:1	-3,84	-11,60	+14,53	-6,57	+0,02
0,75	3:1	-8,06	-13,66	+6,68	-10,35	+0,11
0,80	4:1	-10,18	-14,60	+2,20	-12,21	+0,15
0,84	5:1	-11,26	-15,20	-0,27	-13,11	+0,14
0,86	6:1	-11,84	-15,53	-1,56	-13,61	+0,15
0,87	7:1	-12,17	-15,73	-2,21	-13,91	+0,14
0,89	8:1	-12,36	-15,87	-2,44	-14,08	+0,14
0,90	9:1	-12,46	-16,96	-2,37	-14,18	+0,13
0,91	10:1	-12,59	-16,04	-2,24	-14,32	+0,12
0,95	20:1	-12,98	-16,38	-1,09	-14,75	+0,10

Таблица 5

Инверсионные изотопные распределения углерода во фракциях биомассы. $n_{C_2}:n_{C_3} = 1:1$ ($F_2=0,5$). Остальные исходные данные те же, что и в табл. 3

F_1	Биомасса	«Липиды»	«Белки»	«Углеводы»	CO_2 дыхания
0,9	+3,51	-4,19	+33,16	-1,93	-0,21
0,8	+1,80	-5,69	+23,32	-1,71	-0,28
0,6	+1,28	-7,16	+14,62	+0,02	-0,31

состав остальных фракций этот фактор влияет опосредованно и гораздо слабее, через смешение углеродных потоков при последующих колебаниях в гликолитической цепи.

Таблица 6

Изотопный состав атомов и распределение изотопов в «углеводах» при разном числе оборотов фосфоглюконатного цикла. Исходные данные те же, что и в табл. 3

Число оборотов цикла	$\delta^{13}C, \text{‰}$					
	C_1	C_2	C_3	C_4	C_5	C_6
Исходная глюкоза	-4,39	-4,39	-21,74	-21,74	-4,39	-4,39
1	-4,39	-18,23	-13,89	-21,74	-4,39	-4,39
2	-15,45	-14,72	-15,62	-21,74	-4,39	-4,39
3	-14,92	-15,45	-15,28	-21,74	-4,39	-4,39

С ростом F_2 изотопный состав углерода биомассы и всех фракций постепенно обогащается легким изотопом. Лишь для белковой фракции при высоких значениях F_2 (в данном примере при $n_{C_2}:n_{C_3} > 13:1$) происходит некоторое уменьшение содержания ^{12}C . При низких значениях отношения $n_{C_2}:n_{C_3}$ изотопный состав биомассы и ее фракций может оказаться обогащенным ^{13}C относительно ассимилируемого углерода (табл. 4), особенно в тех случаях, когда действие параметра F_1 направлено в ту же сторону (табл. 5).

Изотопный состав углеродных атомов метаболитов с ростом F_2 меняется точно так же, как и изотопный состав суммарного углерода соответствующих фракций. Заметнее всего F_2 влияет на изотопный состав атомов «белков». Кривые характеризуются пологим максимумом (рис. 2) в области высоких значений F_2 (около 0,9). Изотопный состав атомов метаболитов остальных фракций незначительно обогащается ^{12}C с ростом F_2 . Внутримолекулярные изотопные различия в «белках» растут с увели-

чением на изотопный состав биомассы и ее фракций, является степень превращения пируватного пула при вторичном декарбоксилировании F_2 , или соотношение C_2 - и C_3 -фрагментов, поступающих в цикл Кребса при гликолизе (табл. 4). Но заметнее всего этот параметр влияет на изотопный состав «белков», что и понятно, поскольку именно продукты вторичного декарбоксилирования идут на синтез метаболитов цикла Кребса и «белков». На изотопный

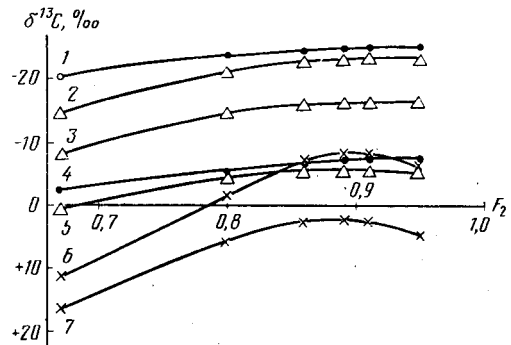


Рис. 2. Зависимость изотопного состава углерода атомов метаболитов «липидной», «белковой» и «углеводной» фракций от степени превращения пирувата при вторичном декарбоксилировании F_2 .

Изотопный состав углеродных атомов липидов (C_2 -фрагменты): 1 — карбоксильный углерод; 2 — метильный углерод; Изотопный состав углеродных атомов углеводов (C_6 -структуры — гексозы): 4 — атомы 1 и 2 глюкозидного конца гексозы; 3 — атомы 3 и 4; 5 — атомы 5 и 6; изотопный состав углеродных атомов белков (C_4 -структуры): 6 — радикальный углерод атомов 2 и 3; 7 — карбоксильный углерод атомов 1 и 4.

чением F_2 , а в метаболитах остальных фракций почти не меняются.

Специфичность биохимических превращений в фосфоглюконатном цикле проявляется в том, что число оборотов цикла влияет на изотопный состав атомов и распределение изотопов углерода в «углеводах», а через них на изотопный состав других метаболитов. В реакциях цикла на каждом обороте первый атом углерода глюкозы, начиная с глюкозидного конца, отрывается и замещается при ресинтезе гексозы более легким изотопом углерода. Изотопная характеристика последнего определяется перемешиванием двух последующих атомов [3]. Остальные три атома глюкозы в реакциях цикла не перемешиваются (табл. 6). В результате выходящая из цикла глюкоза имеет более легкий изотопный состав, чем глюкоза, поступающая в цикл, и характерное изотопное распределение (табл. 7). Поскольку после трех оборотов цикла изотопный состав перемешиваемых атомов глюкозы выравнивается, последующие обороты не приводят к существенным изменениям изотопных характеристик.

Остальные параметры — приращения фракций P_i (P_1 -«белковой», P_2 -«липидной», P_3 -«углеводной») и соотношения между ними — оказывают гораздо меньшее влияние на изотопные характеристики клетки. При малых значениях приращений биомасса изотопнолегче, так как возрастает число колебаний в гликолитической цепи (табл. 8). На изотопный состав углерода биомассы сильнее всего влияет изменение приращения белковой фракции.

Итак, из изложенного выше видно, что модель описывает весьма широкий диапазон изменений изотопных характеристик клетки. Установим, попадает ли в этот диапазон вариаций изотопный состав компонентов биомассы реальных организмов и в каком соответствии находится

Т а б л и ц а 7

Зависимость изотопного состава углерода биомассы и ее фракций ($\delta^{13}\text{C}$, ‰ относительно ассимилируемой CO_2) от числа оборотов фосфоглюконатного цикла. Исходные данные те же, что и в табл. 6

Число оборотов цикла	Биомасса	«Липиды»	«Белки»	«Углеводы»	CO_2 дыхания
1	-7,08	-11,74	+3,49	-8,41	+0,14
2	-12,46	-15,96	-2,37	-14,18	+0,13
3	-11,60	-16,03	-1,34	-12,96	+0,12

наблюдаемое внутримолекулярное распределение изотопов в метаболитах с распределением, предсказываемым моделью.

Ранее отмечалось [1], что модель позволяет описать лишь часть диапазона возможного обогащения углерода биомассы изотопом ^{12}C . Распределение изотопов углерода между фракциями описывается правильно, хотя при этом обогащенность белков ^{13}C выше, чем у изученных автотрофных организмов.

Модель позволяет описать характерное внутримолекулярное распределение изотопов в аминокислотах белковой фракции, обогащенность их карбоксильных групп изотопом ^{13}C . Наряду с этим, учитывая возможный синтез аминокислот из метаболитов гликозилатного цикла (в данной модели термин «белки» не охватывает эти аминокислоты), модель предсказывает наличие аминокислот с инверсионным распределением изотопов. Такие аминокислоты действительно встречаются [9].

Хотя распределение изотопов углерода в жирных кислотах еще не изучено, легкий изотопный состав их общего углерода объясняется, согласно модели, обогащенностью ^{12}C карбоксильного углерода C_2 -фрагментов, из которых синтезируются кислоты. Последнее согласуется с имеющимися данными [11].

Экспериментально было обнаружено, что CO_2 , выдыхаемая на свету, существенно обогащена ^{13}C по сравнению с CO_2 , выдыхаемой в

Зависимость изотопного состава углерода биомассы и ее фракций от приращения фракций P_i (P_1 -«белковой», P_2 -«липидной», P_3 -«углеводной») и соотношений между приращениями. Исходные данные те же, что и в табл. 1

P_1	P_2	P_3	$\Sigma P_i, \%$	«Липиды»	«Белки»	«Углеводы»	Биомасса
				$\delta^{13}C, \text{‰}$ ассимилированной CO_2			
0,0001	0,0001	0,0001	0,16	-20,29	-5,02	-16,76	-14,39
0,0005	0,0005	0,0005	0,65	-18,02	-3,03	-14,94	-12,30
0,0005	0,0005	0,0020	1,02	-15,96	-2,37	-14,18	-12,46
0,0010	0,0005	0,0020	1,18	-15,96	-2,29	-13,78	-12,76
0,0020	0,0005	0,0020	1,61	-15,94	-2,14	-12,87	-13,16
0,0005	0,0005	0,0020	1,02	-15,96	-2,37	-14,18	-12,46
0,0005	0,0010	0,0020	1,23	-16,02	-1,47	-13,90	-10,81
0,0005	0,0020	0,0020	1,54	-16,15	-0,95	-13,21	-8,26
0,0005	0,0005	0,0005	0,65	-18,02	-3,03	-14,94	-12,30
0,0005	0,0005	0,0020	1,02	-15,96	-2,37	-14,18	-12,46
0,0005	0,0005	0,0030	1,38	-15,96	-2,10	-13,47	-12,31

темноте [1, 14, 15]. Из-за трудности отделения CO_2 дыхания от CO_2 среды оценки весьма грубы. При изучении дыхания томатов, например, сообщалось, что утяжеление изотопного состава CO_2 , выдыхаемой на свету, составило 13‰ [1]. В других работах [9] отмечалось изотопное облегчение CO_2 на несколько промилей при переходе от светового периода к темновому. Модель объясняет изотопное утяжеление CO_2 дыхания в световой период тем, что в это время происходит биосинтез изотопнолегкой биомассы, тогда как в темноте CO_2 выделяется за счет окисления изотопнолегких эндогенных субстратов, синтезированных ранее. Вместе с тем модель не объясняет, почему в световой период, несмотря на обогащенность ^{13}C , CO_2 дыхания остается изотопнолегче углерода биомассы. Некоторые соображения по этому поводу приводятся ниже при оценке модели.

Мы рассмотрели ряд примеров, которые показывают, что модель качественно правильно описывает наблюдаемое внутримолекулярное изотопное распределение в клетке. Это свидетельствует о том, что если введенные допущения и не вполне точны, то, во всяком случае, не очень грубы, и модель пригодна для оценки изотопных распределений в еще не изученных метаболитах. Сам принцип анализа достаточно прост. Для этого необходимо проследить связь каждого углеродного атома рассматриваемого соединения с атомами продуктов реакции декарбоксилирования пирувата, изотопный состав которых может быть оценен теоретически, или, учитывая наследование углеродных скелетов при биосинтезах, использовать данные об изотопных распределениях в промежуточных метаболитах, если таковые имеются. Понятно, что количественная оценка внутримолекулярных изотопных различий может быть получена только при известных значениях динамических параметров (F_1 , $n_C:n_C$, α и др.) у изучаемого организма, зависящих не только от типа организма, но и от внешних условий.

Часто, однако, и качественных оценок достаточно для решения вопроса о путях биосинтеза метаболита. Для лизина, например, известны два пути биосинтеза в клетке — аминокадипиновый и аминокимелиновый [7]. Анализ возможных изотопных распределений показывает, что в первом случае карбоксильная группа лизина наследует карбоксильный углерод C_2 -фрагмента, обогащенный ^{12}C , во втором — карбоксильный углерод пирувата, обогащенный ^{13}C . Сопоставляя реальное распределение с теоретически возможными, можно установить доминирующий путь синтеза лизина в клетке [4].

Сведения о внутримолекулярных изотопных различиях в метаболитах открывают принципиальную возможность решить обратную задачу — получить информацию о динамическом состоянии клетки, например о последовательности функционирования гликолизатного цикла с

сопряженным синтезом жирных кислот и функционировании цикла Кребса с сопряженным синтезом аминокислот, по изотопному распределению в аминокислотах. В общем случае задача изучения динамики клеточного метаболизма по внутримолекулярным изотопным эффектам значительно сложнее прямой задачи и требует большего экспериментального обоснования модели. Пока неясен важный вопрос, как динамические параметры (F_1 , $n_{C_2}:n_{C_3}$, m и α), от которых зависит изотопное распределение в метаболитах, связаны с физиологическими характеристиками клетки, которые можно измерить. Неясно также, насколько сильно могут колебаться эти параметры в условиях гомеостаза. Как показывает анализ результатов модельных расчетов, существенные изменения в изотопных распределениях возникают при сильных изменениях динамических параметров, связанных с обменом веществ (F_1 , $n_{C_2}:n_{C_3}$). Поэтому можно ожидать, что изотопные распределения в метаболитах патологически измененных клеток будут существенно отличаться от нормальных.

Модель позволила выявить также весьма важное обстоятельство. Наиболее чувствительным к изменениям динамических параметров является изотопный состав карбоксильных атомов ди- и трикарбоновых кислот, жирных кислот и аминокислот, поскольку именно они в первую очередь отражают изотопный состав атомов пирувата, находящихся на концах рвущейся связи и испытывающих максимальные изотопные смещения. Это очень существенно, так как изотопный состав карбоксильного углерода легче всего поддается оценке.

В то же время, согласно модели, изотопный состав суммарной CO_2 , выдыхаемой клеткой, меняется очень мало и слабо (в пределах 1‰) зависит от изменения динамических параметров (табл. 1, 4, 5, 7), что говорит о малой информативности этой характеристики. Впрочем, как видно из табл. 9, изотопный состав CO_2 , выделяющейся при различных метаболических процессах, различается сильно, но пока еще нет возможности изучать его в отдельных процессах декарбоксилирования, происходящих в клетке. Следует отметить, что вывод о слабой изменчивости изотопного состава CO_2 не вполне строг, так как в какой-то мере определяется выбором модели. В рассмотренной модели с многократными колебаниями в гликолитической цепи выход CO_2 составляет 98—99% ассимилированного углерода, и поэтому изотопный состав выделяющейся CO_2 должен быть близок к изотопному составу ассимилированного углерода. В растениях же, например, прирост биомассы может достигать 10%, соответственно CO_2 дыхания может составлять 90% [6].

Рассмотрим теперь ограничения и пути совершенствования модели. Как уже отмечалось ранее [1], даже при максимально возможном числе колебаний в гликолитической цепи и возможных значениях изотопных эффектов в реакции декарбоксилирования пирувата не достигается наблюдаемый в природе уровень обогащения биомассы автотрофов легким изотопом. Нарушается наблюдаемое соотношение изотопов по

Т а б л и ц а 9

Расчет изотопного состава CO_2 дыхания ($\sigma^{13}C$, ‰). Исходные данные:
 $Q_0=1$; $F_1=0,5$; $n_{C_2}:n_{C_3}=9:1$; $m=2$; $\alpha=1,030$; $P_1=P_2=0,0005$; $P_3=0,0020$

Колебание	Декарбоксилирование		Цикл Кребса		Фосфоглюконатный цикл		Общий углерод CO_2 дыхания	
	первичное	вторичное	гликолиз	глюконеогенез	$m=1$	$m=2$		
1	-20,17	+12,53	+15,87	+6,29	-10,14	+0,40	+0,40	-2,02
2	-35,55	-2,85	+9,17	+0,68	-12,94	-4,70	-4,70	-7,50
3	-40,40	-7,70	+4,28	-4,24	-15,51	-9,49	-9,49	-12,25
4	-44,82	-12,12	-0,25	-8,81	-17,89	-15,03	-15,03	-16,16
Изотопный состав CO_2 , выдыхаемой за 4 колебания								+0,12

фракциям биомассы в сторону большего изотопного утяжеления белковой фракции.

С точки зрения физиологии клетки модель ограничивает возможный прирост биомассы 1—2 % ассимилируемой массы CO_2 ; к. п. д. фотосинтеза оказывается гораздо меньше наблюдаемого, достигающего 10 %. Согласно модели, обогащение биомассы легким изотопом происходит при биосинтезе в световой период. Это не согласуется с результатами экспериментов, показывающими, что на свету гликолиз репрессирован [5]. Согласно модели, CO_2 , выдыхаемая на свету, должна быть изотопнотяжелее ассимилируемого углерода. Экспериментального подтверждения этому не получено.

Все указанные ограничения, как легко убедиться, связаны с допущением об умножении кинетических изотопных эффектов декарбоксилирования пирувата в ходе многократных затухающих колебаний в гликолитической цепи. Отказ от этого допущения, хотя и снимает многие ограничения, требует принятия другого, а именно, что на стадии асимилиации происходит дискриминация тяжелого изотопа. Иначе невозможно объяснить наблюдаемый легкий изотопный состав углерода биомассы большинства автотрофных организмов, в частности изотопный состав белков. Правомочность этого допущения обсуждается нами в последующей работе.

В заключение хотим подчеркнуть, что мы не предлагаем готовый метод исследования углеродного метаболизма, основанный на использовании внутриклеточных изотопных эффектов. В нашу задачу входило показать, пусть на достаточно приближенной модели, принципиальные возможности изучения метаболизма автотрофной клетки посредством модельных расчетов изотопных эффектов. Для реализации этих возможностей предстоит усовершенствовать модель, оценив ее с разных точек зрения — физиологии, биохимии и энергетики клетки, экспериментально проверить предсказываемые моделью изотопные распределения в еще не изученных метаболитах и связь между изотопным распределением и особенностями динамики метаболизма. Для решения последней задачи, как указывалось, необходимо найти связи между динамическими параметрами модели и физиологическими характеристиками клетки, поддающимися экспериментальному измерению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ивлев А. А., Калошин А. Г., Королева М. Я. Изотопные эффекты углерода в углеводах и аминокислотах фотосинтезирующих организмов. — *Studia biophysica*, 1982, № 1, с. 46—54. — 2. Ивлев А. А., Князев Д. А., Калошин А. Г. Математическое моделирование фракционирования изотопов углерода в живой клетке. — *Изв. ТСХА*, 1983, вып. 2, с. 100—110. — 3. Ивлев А. А., Князев Д. А., Калошин А. Г., Радюкин Ю. Н. О распределении изотопов углерода в метаболитах цикла Кальвина и фосфоглюкоатного цикла. — *Изв. ТСХА*, 1982, вып. 5, с. 97—102. — 4. Ивлев А. А., Калошин А. Г., Радюкин Ю. Н., Шоллин А. Ф., Позднякова Т. М. Исследование фракционирования изотопов углерода аэробными гетеротрофными микроорганизмами. — *Микробиология*, 1982, № 3, с. 158—165. — 5. Карпилов Ю. С. и др. Реакции гликолиза в автотрофной клетке. Роль в фотосинтетическом метаболизме и световом дыхании. — В кн.: *Механизм фотодыхания и его особенности у растений различных типов*. Пушкино: Изд-во АН СССР, 1978, с. 90—187. — 6. Лархер В. *Экология растений*. — М.: Мир, 1978. — 7. Мэтун Дж. Биосинтез аминокислот. — В кн.: *Биогенез природных соединений*. М.: Мир, 1965, с. 3—32. — 8. Стрикленд К. Биосинтез липидов. — В кн.: *Биогенез природных соединений*. М.: Мир, 1965, с. 81—131. — 9. Abelson P. H., Hoering T. C. — *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 1961, vol. 47, p. 623—632. — 10. Degens E. T. — *Organic geochem. Heidelberg*: Springer, 1969, p. 304—329. — 11. Deniro G. J., Epstein S. — *Sci.*, 1977, vol. 197, N 4300, p. 261—267. — 12. Park R., Epstein S. — *Geochim. et Cosm. Acta*, 1960, vol. 27, p. 110—126. — 13. Park R., Epstein S. — *Plant Physiol.*, 1961, vol. 36, p. 133—138. — 14. Smith B. N. — *Plant Cell Physiol.*, 1971, vol. 12, p. 451—468. — 15. Smith B. N. — *Proc. Int. Conf. on Stable Esotopes*, 2nd, 1975, p. 287—299.

Статья поступила 22 апреля 1982 г.

SUMMARY

The results of carbon isotope effect calculations by using of the model of periodic and extinguished vibrations in glycolitic pathway are considered. Carbon isotope composition and intramolecular isotope distribution are found to be dependent on a degree of pyruvate decarboxylation at glycolises, on Krebs cycle intensity and metabolic pathways.