

А. А. ИВЛЕВ, М. Я. КОРОЛЕВА, А. Г. КАЛОШИН

О ВОЗМОЖНОМ МЕХАНИЗМЕ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИЗОТОПНЫХ ЭФФЕКТОВ УГЛЕРОДА В АВТОТРОФАХ

(Представлено академиком А. И. Опариным 18 III 1974)

Найдено (¹, ²), что автотрофные организмы обогащены изотопом C^{12} относительно ассимилируемой CO_2 . Показано (³), что эта облегченность не связана с фракционированием при фотосинтетическом поглощении CO_2 . Обнаруженное неравномерное распределение изотопов углерода в аминокислотах (²) не является следствием процессов разделения изотопов, сопровождающих ассимиляцию. Однако в (³) не была выяснена причина наблюдаемых изотопных различий и возможный механизм, приводящий к неравномерному распределению изотопов в биохимических компонентах клетки.

Наша работа посвящена анализу возможного механизма фракционирования изотопов углерода в метаболических процессах автотрофных организмов.

Поскольку при ассимиляции CO_2 облегчения не бывает, можно заключить, что накопление легкого изотопа C^{12} в организме происходит при диссимиляции органических соединений, сопровождаемой удалением изотопнотяжелой CO_2 .

Предваряя анализ изотопного фракционирования в организме, отметим, что в циклических процессах не происходит итогового умножения изотопных эффектов, так как при каждом обороте происходит перемещение субстратов, и вследствие этого эффекты, возникшие в ходе первичного прохождения вещества, уничтожаются (⁴).

В автотрофных организмах путь ассимилированного из среды углерода начинается в реакциях цикла Кальвина. Опыты с $C^{14}O_2$ показывают (⁵), что вначале метка накапливается в карбоксильной группе фосфоглицериновой кислоты и в положениях третьего и четвертого атомов углерода глюкозы, т. е. в местах наиболее вероятного попадания экзогенного углерода. При большем времени экспозиции происходит рандомизация метки по всему углеродному скелету молекул. Причиной рандомизации являются транскетотазные реакции цикла. Аналогичная картина должна иметь место и в распределении изотопа C^{13} . Следовательно, реакции цикла Кальвина приводят к гомогенизации изотопного состава. Между тем имеющиеся экспериментальные данные показывают (²), что в аминокислотах, наследующих распределение изотопов от продуктов цикла Кальвина, изотопные различия сохраняются. Это можно объяснить поступлением в цикл Кальвина двух неодинаковых по изотопному составу потоков углерода: «тяжелого» — из среды и «легкого» — из метаболического фонда. Таким образом, наблюдаемые в продуктах цикла Кальвина изотопные эффекты являются результатом динамического равновесия двух потоков углерода, используемого для биосинтеза соединений цикла.

Рассмотрим возможные места фракционирования изотопов углерода в метаболических процессах. Будем полагать, что первоначально поглощаемая из среды CO_2 по изотопному составу тождественна биогенному углероду и эффекты разделения изотопов при ассимиляции отсутствуют.

Тогда углерод глюкозы будет иметь такой же изотопный состав, как и CO_2 . Суммарное действие процессов полимеризации глюкозы и последующего гликолиза углеводов также не приводит к изменению изотопного состава. Последнее доказывается результатами опытов по гетеротрофному выращиванию на глюкозе *Chlorella* и *E. coli* (2). Средний изотопный состав углерода карбоксила и радикала образующегося пирувата не отличался от изотопного состава глюкозы. Однако при декарбоксилировании пирувата фракционирование возможно. Действительно, в процессе аэробного дыхания часть пирувата подвергается деструкции. Этот процесс сопровождается изотопными эффектами, которые по экспериментальным оценкам составляют 2–3‰ (2). В результате неразложившийся пируват оказывается обогащенным изотопом C^{13} , а образующиеся C_2 -фрагменты — изотопом C^{12} . Существенным является то, что путь углерода при декарбоксилировании раздваивается (схема 1). C_2 -фрагменты идут в основном на синтез компонентов липидной фракции, а неразложившийся пируват используется в основном на синтез аминокислот и белков. Это обуславливает экспериментально наблюдаемую последовательность уменьшения содержания C^{13} в белковой, углеводной и липидной фракциях, соответственно.

В химии изотопов мощным приемом дополнительного обогащения и разделения изотопов служит заворот фракции с повторным их прохождением через разделительную систему. Аналогичный механизм фракционирования, по-видимому, реализуется в автотрофных организмах.

Поток «легкого» углерода в виде C_2 -фрагментов поступает в глиоксилатный цикл (схема 1). Одним из продуктов цикла является щавелевоуксусная кислота (ЩУК), которая при декарбоксилировании превращается в пируват. Последний в ходе реакций гликолиза, по осуществляемых в обратном направлении, превращается в глюкозу. Глюкоза, синтезируемая по этой метаболической ветви, имеет более легкий изотопный состав, характерный для C_2 -фрагментов.

Другая ветвь метаболического пути углерода связана с функционированием цикла Кребса и белково-углеводным обменом. Изотопный состав и характер окисляемых в цикле Кребса субстратов меняется в зависимости от того, в световой или темновой стадии фотосинтеза происходит дыхание. В световой период при ассимиляции CO_2 происходит интенсивный синтез углеводов, в том числе образующихся метаболическим путем, и липидов. При этом расходуется большое количество C_2 -фрагментов, необходимых также для функционирования цикла Кребса. Результатом является глубокое расщепление пирувата. При большей степени превращенности неразложившийся пируват обогащается тяжелым изотопом. Следовательно, при окислении пирувата в световой период организм будет выделять CO_2 , обогащенную C^{13} . Соответственно утяжеленными окажутся аминокислоты, которые синтезируются из субстратов цикла Кребса.

Белково-углеводный обмен осуществляется через ЩУК, являющуюся одним из продуктов цикла. Однако его интенсивность, по-видимому, значительно меньше липидно-углеводного обмена (4, 7), т. е. пополнение метаболического фонда глюкозы за счет изотопнолегкого субстрата, проходящего через глиоксилатный цикл, превышает поток аналогичного субстрата, утяжеленного по C^{13} , по белково-углеводной цепи. Можно, следовательно, предположить, что образующаяся метаболическим путем глюкоза будет иметь более легкий изотопный состав, чем изотопный состав исходной углекислоты.

Таким образом, роль глиоксилатного цикла в изотопном фракционировании заключается в обеспечении заворота легкой фракции на синтез углеводов. Последующий гликолиз и декарбоксилирование пирувата сопровождаются умножением однократного эффекта, возникшего на предыдущем витке. Цикл Кребса обеспечивает вывод из организма в виде CO_2 углерода, обогащенного C^{13} . Этим объясняется облегченность изотопного

выдыхаемая углекислота значительно тяжелее общего углерода организма.

Предлагаемый механизм фракционирования изотопов углерода в автотрофных организмах позволяет объяснить следующие экспериментальные данные. 1. Обогащенность легким изотопом C^{12} организма и биохимических фракций в отдельности; наблюдаемую во всех изученных объектах величину относительной обогащенности изотопом C^{13} липидной, углеводной и белковой фракций. 2. Природу и механизм возникновения псевдоизотопных эффектов в аминокислотах (¹). 3. Связь величин изотопных эффектов с интенсивностью метаболических процессов (⁶). 4. Характер изменения изотопного состава CO_2 , выдыхаемой в световой и темновой период фотосинтеза (¹, ²). Суточные вариации изотопного состава углерода среды над растительными массивами (⁹).

Авторы выражают глубокую признательность доктору биологических наук С. Э. Шнолю за полезные замечания и обсуждение работы.

Всесоюзный научно-исследовательский
геологоразведочный нефтяной институт
Москва

Поступило
12 III 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ P. Park, S. Epstein, *Geochim. et cosmochim. acta*, v. 21, 110 (1961). ² P. H. Abel-son, T. C. Hoering, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 47, 623 (1961). ³ А. А. Ивлев, М. Я. Королева, *ДАН*, т. 214, № 1, 219 (1974). ⁴ С. З. Рогинский, С. Э. Шноль, *Изотопы в биохимии*, Изд. АН СССР, 1963. ⁵ М. Кальвин, *Углеродный цикл при фотосинтезе*, сборн. *Современные проблемы биохимии*, ИЛ, 1957, стр. 446. ⁶ H. Craig, *Geochim. et cosmochim. acta*, v. 3, 53 (1953). ⁷ В. Л. Крегович, *Основы биохимии растений*, 1972. ⁸ Е. К. Алимova, А. Г. Аствацатурьян и др., *Усп. совр. биол.*, в. 3, 352 (1972). ⁹ Ch. D. Keeling, *Geochim. et cosmochim. acta*, v. 13, № 4 (1958).