

Спиртовое брожение, которое лежит в основе чудесного и, по-видимому, самопроизвольного процесса превращения простого виноградного сока в возбуждающее вино, с древних времен привлекало внимание естествоиспытателей.

Артур Гарден, *Alcoholic Fermentation* (Спиртовое брожение), 1923

14

Гликолиз, глюконеогенез и пентозофосфатный путь

14.1. Гликолиз 66

14.2. Метаболические пути, питающие гликолиз 86

14.3. Превращение пирувата в анаэробных условиях: брожение 90

14.4. Глюконеогенез 97

14.5. Пентозофосфатный путь окисления глюкозы 107

В метаболизме растений, животных и многих микроорганизмов глюкоза занимает центральное место. Молекула глюкозы богата энергией и поэтому используется клетками в качестве «топлива». Полное окисление глюкозы до углекислого газа и воды сопровождается изменением свободной энергии, равным -2840 кДж/моль. В клетках глюкоза запасается в виде высокомолекулярных соединений — крахмала или гликогена, что позволяет накапливать большое количество гексозных звеньев и при этом сохранять сравнительно низкую осмолярность цитозоля. При увеличении энергетических затрат клетки глюкоза высвобождается из внутриклеточных запасов и используется для продуцирования АТФ аэробным или анаэробным путем.

Глюкоза — не только прекрасный источник энергии, но и универсальный предшественник, из которого в реакциях биосинтеза образуется множество интермедиатов. Например, бактерия *Escherichia coli* производит из глюкозы углеродные скелеты всех аминокислот, нуклеотидов, коферментов, жирных кислот и других продуктов, не-

обходимых ей для роста. Для полного понимания метаболических процессов с участием глюкозы необходимо было бы рассмотреть сотни или даже тысячи различных реакций. В клетках животных и в клетках сосудистых растений глюкоза претерпевает превращения трех основных типов: 1) запасается в виде полисахаридов или сахарозы; 2) путем гликолиза окисляется до трикарбоновых соединений (пирувата) с образованием АТФ и различных интермедиатов метаболизма; 3) по пентозофосфатному (фосфоглюконатному) пути окисляется до рибозо-5-фосфата, необходимого для синтеза нуклеиновых кислот и NADPH, участвующего в восстановительных реакциях биосинтеза (рис. 14-1).

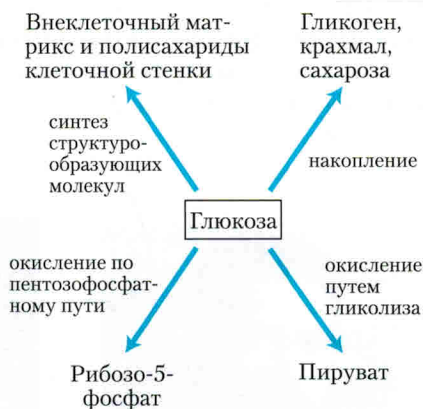


Рис. 14-1. Основные пути использования глюкозы в клетке. Глюкоза претерпевает и другие превращения, однако в большинстве клеток наиболее существенные количества глюкозы расходуются именно по этим трем самым важным направлениям.

Те организмы, которые не могут получить глюкозу из других источников, должны синтезировать ее самостоятельно. Фотосинтезирующие организмы образуют глюкозу из атмосферного CO_2 , превращая его триозу и далее в глюкозу. Нефотосинтезирующие клетки производят глюкозу из более простых трех- и четырехуглеродных предшественников в глюконеогенезе (процессе, обратном гликолизу), где эффективно используются многие гликолитические ферменты.

В данной главе мы остановимся на отдельных реакциях гликолиза, глюконеогенеза и пентозофосфатного пути и обсудим функциональное значение каждого из этих путей. Кроме того, мы рассмотрим различные превращения пирувата, образующегося в результате гликолиза; к ним относятся процессы брожения, используемые многими организмами в анаэробных условиях для получения АТФ, а человеком — для промышленного производства этилового спирта, молочной кислоты и других важных продуктов. Мы также разберем метаболические пути, поставляющие для гликолиза различные сахара из моно-, ди- и полисахаридов. Обсуждение метаболизма глюкозы продолжается в гл. 15, где рассматриваются процессы анаболизма и катаболизма, связывающие глюкозу с гликогеном. Механизмы регуляции метаболизма мы проиллюстрируем на примере реакций синтеза и деградации углеводов. Пути биосинтеза полисахаридов внеклеточного матрикса и клеточных стенок из глюкозы обсуждаются в гл. 20.

14.1. Гликолиз

В процессе **гликолиза** (от греч. *glykys* — сладкий или сахар и *lysis* — разрушение) происходит последовательное ферментативное расщепление молекул глюкозы с образованием двух молекул трехуглеродного соединения пирувата. Часть высвобождающейся в этом процессе свободной энергии запасается в виде АТФ и NADH. Из всех метаболических путей последовательность реакций гликолиза была установлена первой, и он, по видимому, изучен лучше всего. Начиная с открытия Эдуардом Бухнером в 1897 г. ферментации в дрожжевом экстракте и вплоть до установления полного метаболического пути в дрожжах (работы Отто Варбурга и Ганса Эйлера-Челпина) и в мышцах (работы Густава Эмбдена и Отто Мейергофа) в 1930-х гг. основное направление биохимических исследований было сконцентрировано на реакциях гликолиза в дрожжевом экстракте и мышцах. Изменение научных взглядов под влиянием данного открытия было сформулировано Жаком Лебом в 1906 г.:

«Благодаря открытию Бухнера биология освободилась еще от одного мифа. Разложение сахара на CO_2 и спирт нельзя считать проявлением «принципа витализма», как в расщепление тростникового сахара инвертазой. История данного вопроса поучительна, поскольку не позволяет считать, что те или иные проблемы находятся вне нашего понимания лишь по той причине, что они пока еще не нашли своего объяснения.»



Ганс Эйлер-Челпин,
1873–1964



Густав Эмбден,
1874–1933



Отто Мейергоф,
1884–1951

Исследование процесса гликолиза стимулировало развитие методов очистки ферментов, позволило осознать роль коферментов, например НАД, а также выявить ключевую метаболическую функцию АТР и других фосфорилированных соединений. Были очищены и детально изучены гликолитические ферменты из многих видов организмов.

Гликолиз — практически универсальный центральный путь катаболизма глюкозы; в большинстве клеток в этом процессе происходит преобразование основных количеств углеродсодержащих соединений. В некоторых клетках и тканях накапливающих (например, эритроцитах, мозговом веществе почки, головном мозге, сперме) гликолитическое расщепление глюкозы — это единственный источник метаболической энергии. Некоторые ткани растений, служащие для накопления крахмала (картофельные клубни), а также ряд водных растений (например, водяной гиацинт) получают большую часть необходимой им энергии в процессе гликолиза; многие анаэробные организмы полностью зависят от гликолиза.

Брожение — это общий термин, обозначающий анаэробное разложение глюкозы или других органических питательных веществ с целью высвобождения энергии, запасаемой в виде АТР. Поскольку живые организмы существуют в бескислородной атмосфере, анаэробное разложение глюкозы, возможно, самый древний биологический механизм, позволяющий получать энергию из органических молекул. В процессе эволюции данная последовательность химических превращений полностью сохранилась. Гликолитические ферменты позвоночных очень похожи на своих гомологов у дрожжей и грибов, как по аминокислотной последовательности, так и по третичной структуре. У организмов разных видов гликолиз различается лишь деталями регуляции и судьбой образующегося пирувата. При этом термодинамические принципы и типы регуляторных механизмов, определяющих гликолизом, такие же, как и для других метаболических путей в клетке. Итак, гликолиз играет важную роль в химии жизни и как фундаментальный процесс он удобен для изучения общих принципов метаболизма.

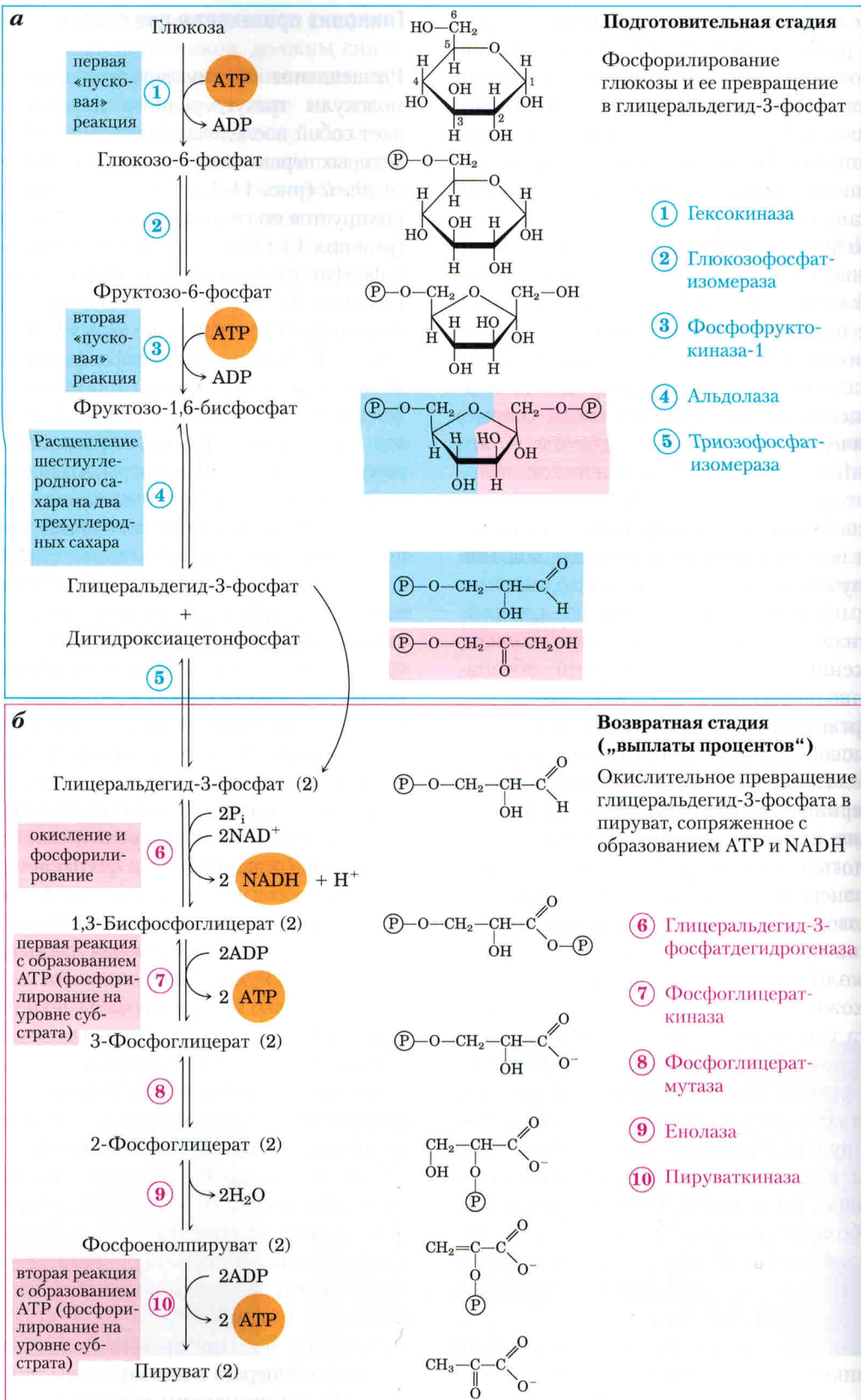
Прежде чем начать изучение отдельных стадий гликолиза, взглянем на этот процесс в целом.

Гликолиз протекает в две стадии

Расщепление шестиуглеродной глюкозы на две молекулы трехуглеродного пирувата представляет собой последовательность из 10 реакций, из которых первые пять называют *подготовительной стадией* (рис. 14-2, а). Сначала глюкоза фосфорилируется по гидроксильной группе у атома С-6 (реакция ①). Образующийся при этом D-глюкозо-6-фосфат превращается в D-фруктозо-6-фосфат (реакция ②), который в свою очередь тоже фосфорилируется — теперь по атому С-1 — с образованием D-фруктозо-1,6-бисфосфата (реакция ③). В обеих реакциях фосфорилирования донором фосфорильной группы служит АТР. Поскольку все производные сахаров, образующиеся в процессе гликолиза, — D-изомеры, мы посчитали возможным здесь опустить в названиях соединений букву D, за исключением тех случаев, когда важно подчеркнуть их стереохимические свойства.

Фруктозо-1,6-бисфосфат распадается с образованием двух трехуглеродных молекул — дигидроксиацетонфосфата и глицеральдегид-3-фосфата (реакция ④; именно эта стадия «лизиса» дает название всему процессу). Затем в результате изомеризации дигидроксиацетонфосфата образуется вторая молекула глицеральдегид-3-фосфата (реакция ⑤); на этом заканчивается первая стадия гликолиза. Далее мы с химической точки зрения обсудим подробнее, насколько важную роль играет стадия изомеризации (реакция ②) для фосфорилирования и разрушения связи С—С в реакциях ③ и ④. Обратите внимание, что до стадии расщепления глюкозы на трехуглеродные соединения расходуются две молекулы АТР; несколько позже эти затраты АТР будут не только компенсированы, но и перекрыты. Итак, на подготовительной стадии гликолиза энергия, заключенная в АТР, увеличивает потенциальную энергию интермедиатов; углеродные цепи всех расщепляемых гексоз превращаются в один и тот же продукт — глицеральдегид-3-фосфат.

Вторая (возвратная) стадия гликолиза (стадия «выплаты процентов») сопровождается высвобождением энергии (рис. 14-2, б). Каждая молекула глицеральдегид-3-фосфата окисляется и фосфорилируется под действием неорганического фосфата (не АТР!) с образованием 1,3-бисфосфоглицерата (реакция ⑥). При превращении двух молекул 1,3-бисфоглицерата в две молекулы пирувата (реакции ⑦–⑩) происходит высвобождение энергии.



В результате сопряженного фосфорилирования четырех молекул ADP большая часть этой энергии накапливается в виде АТФ. Общий выход АТФ в процессе гликолиза, однако, составляет не четыре, а лишь две молекулы на одну молекулу глюкозы, поскольку две молекулы АТФ расходуются на подготовительной стадии. Кроме того, энергия, высвобождающаяся на второй стадии гликолиза, запасается в виде двух молекул NADPH в расчете на одну молекулу глюкозы.

В процессе гликолиза происходят превращения трех разных типов: 1) расщепление углеродного скелета глюкозы с образованием пирувата; 2) фосфорилирование ADP до АТФ под действием высокоэнергетических фосфорилированных соединений, образующихся при гликолизе; 3) перенос гидрид-иона на NAD⁺ с образованием NADH.

Превращения молекулы пирувата. За исключением нескольких интересных случаев среди бактерий у всех остальных организмов образующийся в результате гликолиза пируват претерпевает дальнейшие превращения по одному из трех основных путей катаболизма. У аэробных организмов и в тканях при аэробных условиях гликолиз — это всего лишь первая стадия полного расщепления глюкозы (рис. 14-3). При окислении пирувата образуется ацетогруппа ацетилкофермента А, а карбоксильная группа пирувата превращается в CO₂. Далее ацетогруппа полностью окисляется до CO₂ в цикле лимонной кислоты (рис. 16). Эти процессы сопровождаются переносом электронов на молекулу O₂ с образованием H₂O в митохондриях. Энергия, высвобождаемая

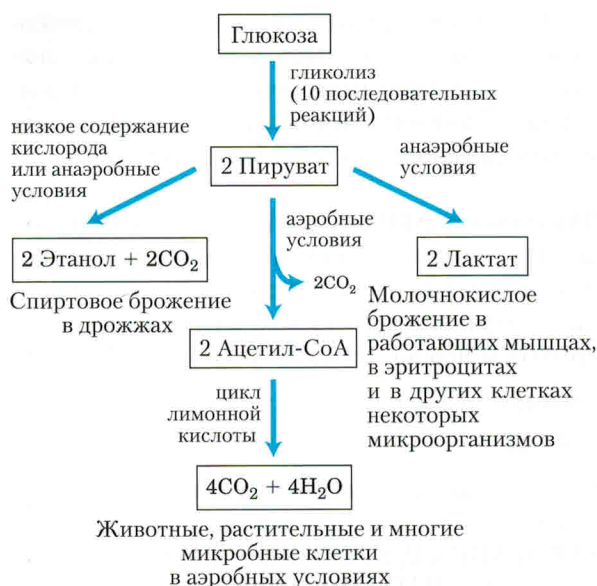


Рис. 14-3. Возможные пути катаболизма пирувата, образующегося в результате гликолиза. Пируват, кроме того, служит предшественником во многих реакциях анаболизма, которые здесь не изображены.

при переносе электронов, является движущей силой образования АТФ в митохондриях (гл. 19).

Второй возможный путь превращения пирувата — его восстановление до лактата в процессе **молочнокислого брожения**. При интенсивной работе мышц в условиях недостатка кислорода (**гипоксия**) NADH не может вновь превращаться в NAD⁺, однако NAD⁺ как акцептор электронов необходим для дальнейшего окисления пирувата. В таких условиях пируват восстанавливается до лактата, принимая электроны от NADH, в результате чего образуется NAD⁺, необходимый для продолжения гликолиза. Некоторые типы клеток и тканей (например, клетки сетчатки и эритроциты) превращают глюкозу в лактат даже в аэробных условиях; кроме того, некоторые микроорганизмы также образуют лактат в процессе гликолиза в анаэробных условиях (рис. 14-3).

На третьем основном пути катаболизма пируват превращается в этиловый спирт. Превращение пирувата в этанол и CO₂ в некоторых тканях растений, у определенных видов беспозвоночных, простейших и микроорганизмов (например, у пекарских дрожжей) при недостатке кислорода или в анаэробных условиях называют **спиртовым брожением** (рис. 14-3).

Рис. 14-2. Две стадии гликолиза. На подготовительной стадии (а) из каждой молекулы глюкозы образуются две молекулы глицеральдегид-3-фосфата; обе эти молекулы претерпевают дальнейшие превращения на возвратной стадии. б — конечным продуктом второй стадии гликолиза является пируват. На первой стадии гликолиза на одну молекулу глюкозы расходуются две молекулы АТФ, а на второй стадии образуются четыре молекулы АТФ, что в сумме приводит к образованию двух молекул АТФ на каждую молекулу глюкозы, превращенную в пируват. Энергия реакций на схеме соответствует нумерации в тексте; ферменты, катализирующие соответствующие реакции, перечислены справа. Помните, что каждая фосфорильная группа, обозначенная здесь как P, несет два отрицательных заряда (—PO₃²⁻).

При добавлении цитрата скорость клеточного дыхания часто увеличивает- ся, а при этом потребление кислорода даже значительно больше, чем мог- ло бы быть при полном окислении цитрата... Поскольку лимонная кислота участвует в каталитических реакциях в тканях, возможно, она расходуется в одной реакции, но вновь образуется в последующих реакциях.

Х. А. Кребс и В. А. Джонсон, из статьи в журнале *Enzymologia*, 1937

Цикл лимонной кислоты

- 1.1. Образование ацетил-CoA — активированного ацетата 182
- 1.2. Реакции цикла лимонной кислоты 188
- 1.3. Регуляция цикла лимонной кислоты 208
- 1.4. Глюкоксилатный цикл 211

Кажemy видели в гл. 14, некоторые клетки по-лучают энергию (АТФ) в результате броже-ния, т. е. расщепляют глюкозу в отсутствие кислорода. Для большинства эукариотических клеток и многих бактерий, живущих в аэробных условиях и окисляющих органические молеку-лы до CO_2 и воды, гликолиз — это лишь первая стадия полного окисления глюкозы. При этом образуется при гликолизе, окисля-ясь далее до CO_2 и H_2O , а не восстанавливается до этилового спирта или другого продук-та брожения. Эту аэробную фазу катаболизма в биологии называют **дыханием**. В более общем биохимическом, или макроскопическом, смы-сле под дыханием подразумевают потребление кислорода и выделение углекислого газа много-клеточными организмами. Однако в биохимии и физиологии этот термин используют в более узком смысле — для описания молекулярных процессов окисления O_2 и выделения CO_2 клеткой; дан-ный процесс точнее можно назвать **клеточным дыханием**.

Клеточное дыхание включает три основные стадии (рис. 16-1). На первой стадии топливные органические молекулы глюкоза, жирные кислоты и некоторые аминокислоты окисляются до двух-

углеродных фрагментов, а именно до ацетогруппы ацетилкофермента А (ацетил-CoA). Далее (на вто-рой стадии) ацетогруппа поступает в цикл лимон-ной кислоты, где ферментативным путем окисля-ется до CO_2 ; высвобождающаяся при этом энергия сохраняется в форме восстановленных перенос-чиков электронов NADH или FADH_2 . На третьей стадии клеточного дыхания эти восстановленные формы коферментов в свою очередь окисляются, при этом образуются протоны (H^+) и электроны, которые затем передаются по цепи переноса элек-тронов, иначе называемой дыхательной цепью, на финальный акцептор электронов — молекулярный кислород. Процесс переноса электронов называет-ся окислительным фосфорилированием (гл. 19) и сопровождается выделением большого количества энергии, которая запасается в форме АТФ. Клеточ-ное дыхание гораздо сложнее, чем гликолиз; приня-то считать, что в ходе эволюции дыхание появилось намного позже гликолиза — после возникновения цианобактерий. Метаболическая активность ци-анобактерий сыграла важную роль в повышении содержания кислорода в атмосфере Земли, что и стало поворотным пунктом в эволюции.

В первую очередь мы рассмотрим превра-щение пирувата в ацетогруппу, а затем обратим-ся к изучению включения ацетогруппы в **цикл лимонной кислоты**, иначе называемый **циклом трикарбоновых кислот** или **циклом Кребса** — по имени открывшего его Ханса Кребса. Далее остановимся на изучении реакций цикла Кребса и участвующих в нем ферментов. Поскольку ин-термедиаты цикла Кребса выводятся из цикла в качестве предшественников для синтеза других веществ, мы рассмотрим некоторые пути вос-

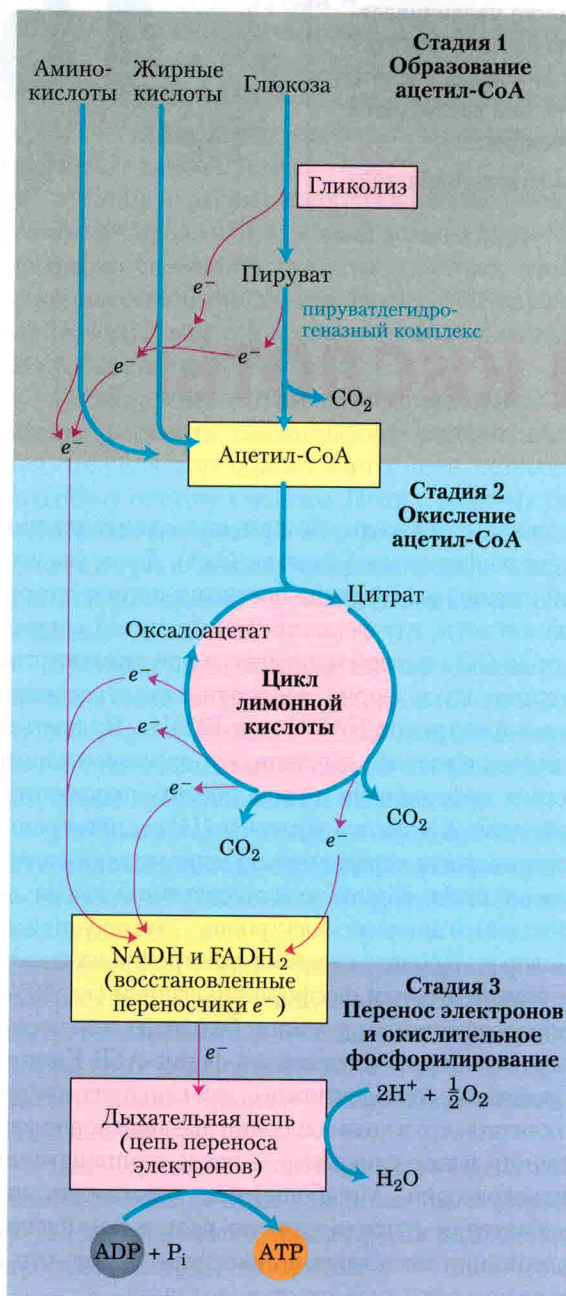


Рис. 16-1. Катаболизм белков, жиров и углеводов в трехстадийном процессе клеточного дыхания. Стадия 1 — окисление жирных кислот, глюкозы и некоторых аминокислот приводит к образованию ацетил-СоА. Стадия 2 — окисление ацетогрупп в цикле лимонной кислоты включает четыре реакции, сопряженные с удалением электронов. Стадия 3 — электроны с помощью NADH и FADH_2 поступают в дыхательную цепь (цепь переноса электронов в митохондриях или на плазматической мембране у бактерий), восстанавливая в итоге O_2 до H_2O . Поток электронов обеспечивает образование АТФ.



Ханс Кребс, 1900–1981

полнения этих интермедиатов. Цикл лимонной кислоты — ключевой в метаболизме: к нему ведут пути катаболизма, от него начинаются пути анаболизма и его регуляция осуществляется в ответствии с другими метаболическими путями. Заключительная часть данной главы посвящена глиоксислатному пути — последовательности метаболических реакций для синтеза запасных триацилглицеринов у некоторых животных организмов, в которой используются отщепляемые реакции и ферменты, задействованные в цикле лимонной кислоты.

16.1. Образование ацетил-СоА — активированного ацетата

У аэробных организмов глюкоза и другие углеводы, а также жирные кислоты и многие аминокислоты в цикле лимонной кислоты и в дыхательной цепи окисляются в итоге до CO_2 и H_2O . Однако, прежде чем войти в цикл лимонной кислоты, углеродный скелет сахара или жирной кислоты должен быть разрушен с образованием ацетогруппы ацетилкофермента А, которая в большей части топливных молекул вступает в цикл именно в этой форме. Многие аминокислоты начинают этот путь аналогичным образом, хотя некоторые из них разлагаются до других интермедиатов цикла. Для начала рассмотрим окисление пирувата, образованного в процессе гликолиза из глюкозы или других углеводов до ацетил-СоА и CO_2 под действием пируватдегидрогеназного (ПДГ) комплекса, который состоит из множества копий трех ферментов, локализован в митохондриях эукариотических клеток и в цитозоле бактерий.

Тщательное изучение этого ферментного комплекса полезно по нескольким причинам. Пируватдегидрогеназный комплекс представляет собой классический и известный в деталях пример полиферментного комплекса, в котором интермедиаты остаются связанными с молекулами ферментов по мере превращения субстрата в конечный продукт. В данном процессе принимают участие пять кофакторов, четыре из которых — производные витаминов. На примере этого ферментного комплекса можно также показать, каким образом комбинация ковалентной модификации и аллостерической регуляции позволяет точно регулировать поток метаболитов через определенную стадию пути. Наконец, пируватдегидрогеназный комплекс выступает в качестве прототипа двух других важных ферментных комплексов — α -кетоглутаратдегидрогеназы в цикле Кребса и дегидрогеназы α -кетокислот в дыхательной цепи в процессе окисления некоторых аминокислот (см. рис. 18-28). Удивительное сходство белковой структуры этих трех комплексов, потребность в кофакторах и механизмы реакций — все это однозначно говорит об их эволюционном родстве.

Пируват окисляется до ацетил-СоА и CO_2

Суммарная реакция окислительного декарбоксилирования, катализируемая пируватдегидрогеназным комплексом, представляет собой необратимый процесс окисления, при котором карбоксильная группа пирувата удаляется в виде молекулы CO_2 , а оставшихся атомов углерода формируют ацетил-группу ацетилкофермента А (рис. 16-2). образу-

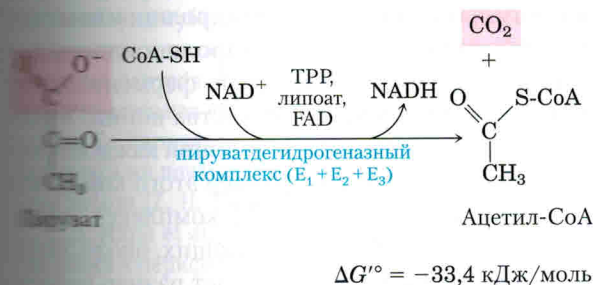


Рис. 16-2. Суммарная реакция, катализируемая пируватдегидрогеназным комплексом. В тексте обсуждаются ферменты, участвующие в данной реакции, и три кофактора, входящие в состав комплекса.

ющийся в этой реакции NADH поставляет в дыхательную цепь гидрид-ион (:H^-), который переносит два электрона на кислород или у анаэробных организмов на другой акцептор электронов (нитрат или сульфат) (рис. 16-1). Перенос электронов от NADH на кислород в итоге приводит к образованию 2,5 молекул АТФ в расчете на пару электронов. Необратимость реакции, катализируемой пируватдегидрогеназным комплексом, была подтверждена с помощью экспериментов с изотопной меткой: данный комплекс не способен присоединять к ацетил-СоА радиоактивно меченный CO_2 с образованием меченного по карбоксильной группе пирувата.

В работе пируватдегидрогеназного комплекса участвуют пять коферментов

Дегидрирование и декарбоксилирование пирувата с образованием ацетил-СоА (рис. 16-2) требуют последовательного участия трех различных ферментов и пяти различных коферментов, или простетических групп — тиаминпирофосфата (TPP), флавинадениндуклеотида (FAD), кофермента А (СоА, который иногда обозначают как CoA-SH , что подчеркивает роль его SH-группы), никотинамидадениндуклеотида (NAD) и липоевой кислоты (липоата). Среди необходимых компонентов данной каталитической реакции четыре витамина, которые человек должен получать с пищей: тиамин (для TPP), рибофлавин (для FAD), ниацин (для NAD) и пантотенат (для СоА). Мы уже говорили о роли FAD и NAD в качестве переносчиков электронов (гл. 13), а с TPP мы сталкивались ранее как с коферментом пируватдекарбоксилазы (см. рис. 14-14).

Кофермент А (рис. 16-3) содержит реакционноспособную тиоловую группу ($-\text{SH}$), которая играет важнейшую роль в осуществлении функции СоА в качестве переносчика ацильной группы в ряде метаболических реакций. Ацил ковалентно связывается с тиолом, образуя **тиоэфир**. Благодаря большим величинам стандартной свободной энергии гидролиза тиоэфиров (см. рис. 13-6, 13-7) они способны переносить ацильные группы и передавать их различным акцепторным молекулам. Таким образом, ацил, связанный с коферментом А, можно рассматривать в качестве «активированной» группы.

Пятый кофактор пируватдегидрогеназного комплекса **липоат** (рис. 16-4) содержит две

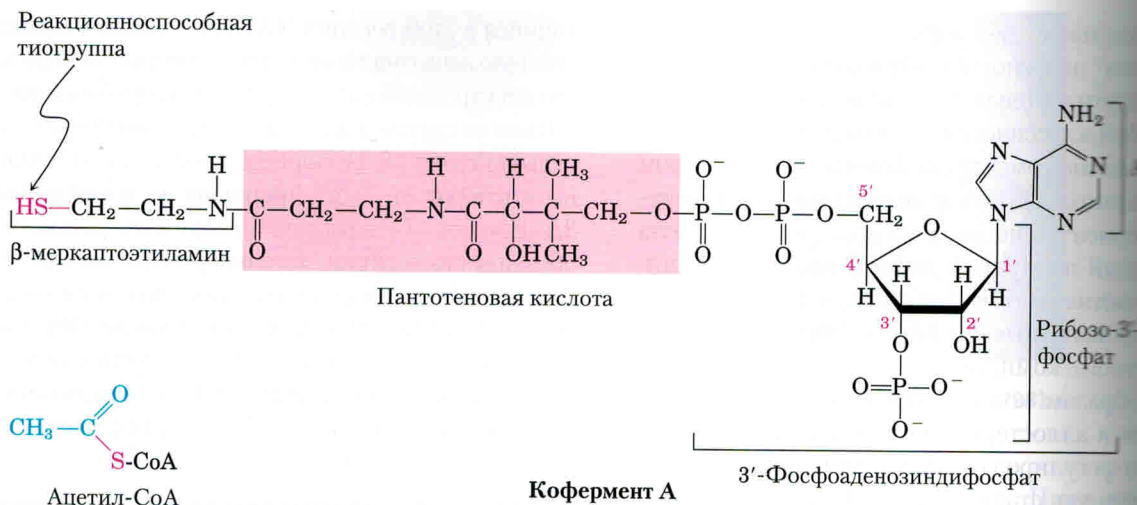


Рис. 16-3. Кофермент А (CoA). К гидроксиду пантотеновой кислоты присоединен фосфоэфирной связью модифицированный остаток ADP, по ее карбоксилу — амидной связью β -меркаптоэтиламин. 3'-Гидроксил остатка ADP связан с фосфорильной группой, которая в свободном ADP отсутствует. SH-группа меркаптоэтиламина может связываться с ацетогруппой ацетилкофермента А (ацетил-CoA; внизу слева), образуя тиозфир.

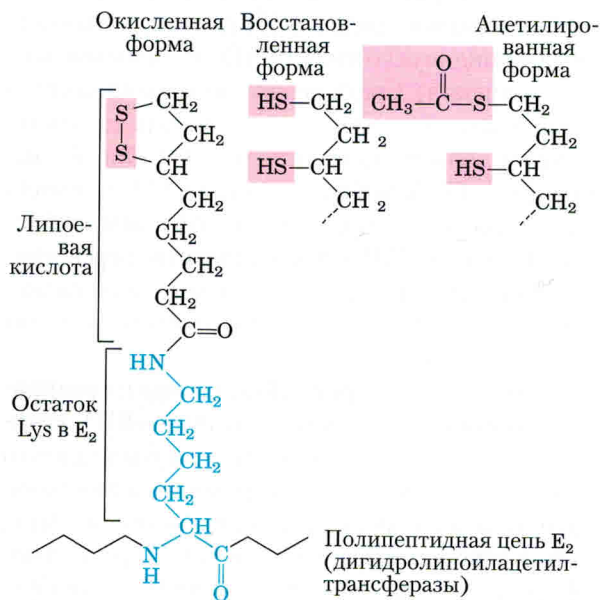


Рис. 16-4. Липоевая кислота (липоат) образует амидную связь с остатком лизина. Липоиллизиновая группа является простетической группой дигидролипоилацетилтрансферазы (фермента E₂ в комплексе ПДГ). Липоильная группа может существовать в окисленной (дисульфидной) и восстановленной (дитиоловой) форме и поэтому способна действовать как переносчик водорода и ацетильных (или других ацильных) групп.

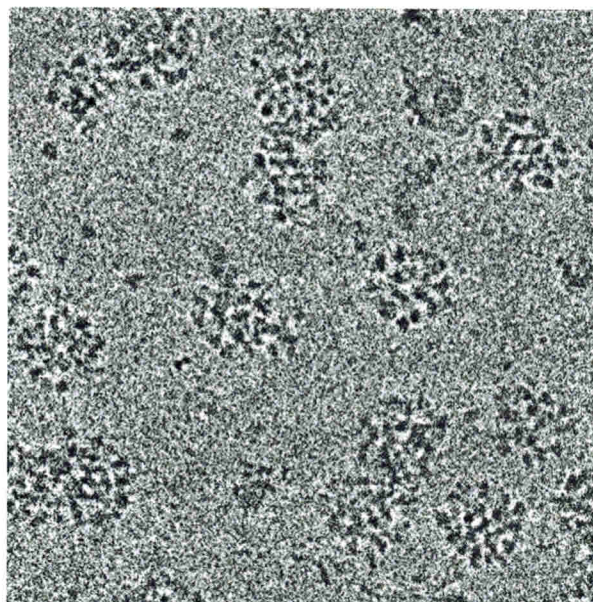
тиоловые группы, которые могут обратимо окисляться, образуя дисульфидную связь ($-S-S-$), аналогичную дисульфидному мостику между двумя остатками Cys в белках. Благодаря способности подвергаться окислительно-восстановительным превращениям липоат может выполнять функцию переносчика как водорода и ацильной группы, что мы увидим далее.

Пируватдегидрогеназный комплекс состоит из трех разных ферментов

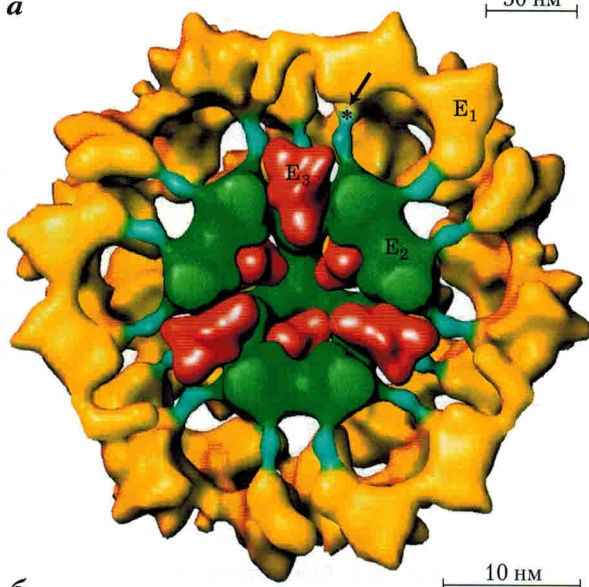
В ПДГ-комплекс входят три фермента: пируватдегидрогеназа (E₁), дигидролипоилацетилтрансфераза (E₂) и дигидролипоилдегидрогеназа (E₃), причем каждый фермент присутствует в виде множества копий. У разных видов организмов число копий каждого фермента и, следовательно, размер этого комплекса различаются. Диаметр ПДГ-комплекса, выделенного из тканей млекопитающих, около 50 нм, что более чем в 5 раз превышает размер рибосомы, и его можно «увидеть» в электронный микроскоп (рис. 16-5, а). В ферментном комплексе быка 60 одинаковых копий E₂ образуют периферический додекаэдр (ядро), диаметр которого

составляет около 25 нм (рис. 16-5, б). Ядро ферментного комплекса в клетках *Escherichia coli* содержит 24 копии E_2 . Белок E_2 служит участком закрепления липоата, образующего амидную связь с ϵ -аминогруппой остатка Lys (рис. 16-4). В белке E_2 три функционально различных домена (рис. 16-5, в): N-концевой липоильный домен, содержащий остатки Lys; центральный домен, отвечающий за связывание E_1 и E_3 ; а также внутреннее ядро — ацилтрансферазный домен, содержащий активный центр ацилтрансферазы. ПДГ-комплекс дрожжей имеет единственный липоильный домен, с которым связывается липоат, в ферментных комплексах млекопитающих два таких домена, а в клетках *E. coli* их обнаружено три (рис. 16-5, в). Домены в молекуле E_2 разделены линкерными последовательностями длиной от 20 до 30 аминокислотных остатков, из которых характерно высокое содержание

Рис. 16-5. Пируватдегидрогеназный комплекс. а — криоэлектронная микрофотография ПДГ-комплекса из почки быка. При проведении криоэлектронной микроскопии биологические образцы исследуют при экстремально низких температурах, что позволяет избежать артефактов обезвоживания, фиксации и окрашивания. б — трехмерное изображение ПДГ-комплекса, позволяющее увидеть строение субъединиц: пируватдегидрогеназы (E_1), дигидролипоеилтрансферазы (E_2) и дигидролипоеилдегидрогеназы (E_3). Изображение создано на основе обработки большого числа снимков, аналогичных а, а также по данным кристаллографического исследования отдельных субъединиц. Ядро комплекса (выделено зеленым цветом) состоит из 60 молекул E_2 , организованных в 20 тримеров, образующих пентагональный додекаэдр. Липоильные домены E_2 (синие) направлены наружу и достигают активных центров молекул E_1 (желтые), окружающих ядро. Некоторые субъединицы E_3 (красные) также связаны с ядром, при этом подвижное плечо E_2 может достигнуть их активных центров. Звездочкой обозначен участок, в котором липоильная группа прикрепляется к липоильному домену E_2 . Направленная к читателю внешняя половина комплекса не показана. Данная модель была предложена в работе [Z. H. Zhou et al. (2001)]; в другой модели [J. A. J. Milne et al. (2002)] субъединицы E_3 расположены ближе к периферии комплекса (см. дополнительную литературу). в — белок E_2 содержит домены трех типов, разделенные короткими полипептидными линкерами: каталитический ацилтрансферазный домен, домен связывания E_1 и E_3 , а также один или несколько липоильных доменов.

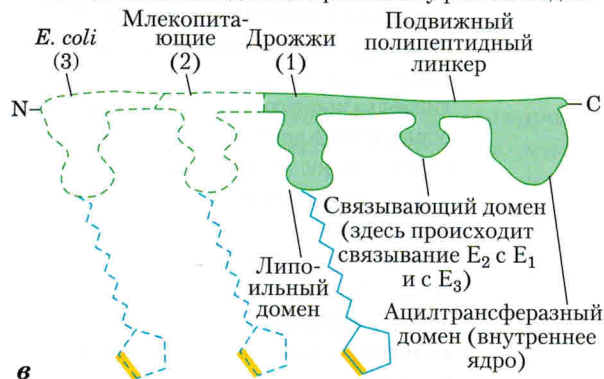


а



б

Число липоильных доменов различно у разных видов.



в