

УДК 577.121.4.012.5

**НАДМОЛЕКУЛЯРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА
ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ****А. Е. ЛЮБАРЕВ, Б. И. КУРГАНОВ***Научно-производственное объединение «Витамины», Москва*

На основании анализа данных по взаимодействию ферментов цикла трикарбонных кислот с внутренней мембраной митохондрий и данных по фермент-ферментным взаимодействиям предложена пространственная структура комплекса ферментов цикла трикарбонных кислот. Ключевую роль в его формировании играет α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс, адсорбирующийся на внутренней мембране митохондрий вдоль одной из своих осей симметрии третьего порядка. Во взаимодействии с мембраной участвуют два центра связывания α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, расположенные на его противоположных сторонах. Комплекс ферментов цикла трикарбонных кислот содержит одну молекулу α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса и по шесть молекул остальных ферментов цикла трикарбонных кислот, а также аспартатаминотрансферазы и нуклеозиддифосфаткиназы. Сукцинатдегидрогеназа, интегральный белок внутренней мембраны митохондрий, входит в состав якорной площадки, обеспечивающей сборку комплекса ферментов цикла трикарбонных кислот на мембране. Молекулярная масса комплекса (без учета сукцинатдегидрогеназы) равна 8 МДа. Симметрия комплекса соответствует точечной группе симметрии D_3 . Предполагается, что комплекс ферментов цикла трикарбонных кислот взаимодействует с другими мультиферментными комплексами матрикса и цепи переноса электронов.

В настоящее время общепринятыми становятся представления о том, что ферменты, катализирующие реакции одного метаболического пути, могут объединяться в мультиферментные комплексы [1, 2] (метаболоны в терминологии Шрера [3]). Физиологический смысл этого явления состоит в повышении общей скорости метаболического процесса вследствие уменьшения времени диффузии метаболических интермедиатов к активным центрам ферментов [1, 4], в компартиментализации процесса, препятствующей нежелательному вовлечению интермедиатов в другие метаболические пути [2, 5], а также в возможности управления метаболическим путем, представленным организованным комплексом, как единым целым [6—12].

В работах Кузина [13] и Шрера [14] высказано предположение о существовании надмолекулярной организации ферментов одного из важнейших метаболических путей — цикла трикарбонных кислот (ЦТК). В последние годы это предположение находит все больше подтверждений [15]. Так, накоплен обширный экспериментальный материал о белок-белковых взаимодействиях для ферментов ЦТК [16—20] и о взаимодействии большинства ферментов ЦТК с внутренней мембраной митохондрий [21—24]. Важную роль играет также то обстоятельство, что концентрация белка в матриксе митохондрий, где локализованы ферменты ЦТК, достигает 40 вес.% [15]. В этих условиях затруднена диффузия не только белковых глобул, но и таких крупных молекул, как нуклеотидные коферменты. Кроме того, расчеты, приведенные в работе Шрера [15], показывают, что среднее расстояние между внутренними поверхностями внутренней мембраны для митохондрий сердца должно составлять 15—30 нм. Это также свидетельствует в пользу того, что большая часть ферментов матрикса контактирует с внутренней мембраной.

Недавно существование надмолекулярного агрегата, содержащего пять ферментов ЦТК (фумаразу, малатдегидрогеназу, цитратсинтазу,

аконитазу и изоцитратдегидрогеназу), было обнаружено в экстракте, приготовленном путем мягкого разрушения клеток *Escherichia coli* [25]. По предварительным данным тех же авторов [25], аналогичные агрегаты существуют и в лизате митохондрий.

В настоящей работе на основании данных по фермент-ферментным взаимодействиям сделана попытка построить пространственную структуру комплекса ферментов ЦТК, связанного с внутренней мембраной митохондрий. В работе использованы данные по ферментам из сердца свиньи и быка. Однако мы считаем, что предложенные нами принципы сборки метаболона должны быть верны и для комплексов ферментов ЦТК из других источников.

ПРИНЦИПЫ ПОСТРОЕНИЯ МЕТАБОЛОНА

Цикл трикарбоновых кислот занимает центральное место в клеточном метаболизме. Цикл начинается реакцией, в которой связанная с CoA ацетильная группа — продукт деградации углеводов, жиров и аминокислот — присоединяется к оксалоацетату, образуя цитрат (стадия 1 на рис. 1). В последующих реакциях ЦТК (стадии 2—8) цитрат последовательно окисляется до оксалоацетата с образованием двух молекул углекислого газа. Образующиеся в реакциях 3, 4, 6 и 8 восстановлен-

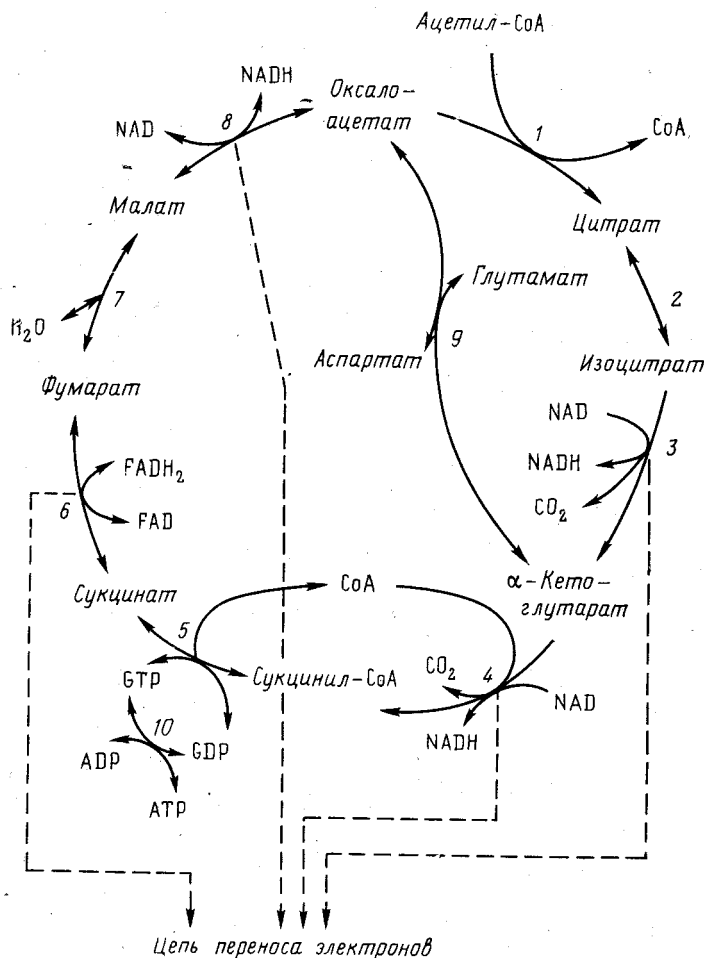


Рис. 1. Цикл трикарбоновых кислот. Номера соответствуют реакциям, катализируемым следующими ферментами: 1 — цитратсинтазой, 2 — аконитазой, 3 — изоцитратдегидрогеназой, 4 — α-кетоглутаратдегидрогеназным комплексом, 5 — сукцинаттиокиназой, 6 — сукцинатдегидрогеназой, 7 — фумаразой, 8 — малатдегидрогеназой. Указаны также реакции, катализируемые аспартаминотрансферазой (9) и нуклеозиддифосфаткиназой (10)

Таблица 1

Характеристика ферментов цикла трикарбоновых кислот из сердца млекопитающих

Номер	Фермент	К. Ф.	Источник	Молекулярная масса, кДа	Субъединичная структура	Ссылка
1	Цитратсинтаза	4.1.3.7	Свинья	98	α_2	[15]
2	Аконитаза	4.2.1.3	»	66	α	[15]
3	Изоцитратдегидрогеназа (NAD-зависимая)	1.1.1.41	»	160	$\alpha_2\beta\gamma$	[15]
4a	α -Кетоглутаратдегидрогеназа	1.2.4.2	»	216	α_2	[28]
4b	Транссукцинилаза	2.3.1.61	»	41	α	[28]
4в	Липоамиддегидрогеназа	1.6.4.3	»	108	α_2	[28]
5	Сукцинаттиокиназа	6.2.1.4	»	70	$\alpha\beta$	[15]
7	Фумараза	4.2.1.2	»	194	α_4	[15]
8	Малатдегидрогеназа	1.1.1.37	»	70	α_2	[15]
9	Аспартатаминотрансфераза	2.6.1.1	»	93	α_2	[29]
10	Нуклеозиддифосфаткиназа	2.7.4.6	Бык	103	α_6^3	[30]

ные формы коферментов окисляются далее комплексами цепи переноса электронов, расположенными во внутренней мембране митохондрий. В состав комплекса II цепи переноса электронов входит и один из ферментов ЦТК — сукцинатдегидрогеназа. Остальные ферменты ЦТК локализованы в митохондриальном матриксе.

ЦТК связан со множеством метаболических процессов. Наиболее тесно с ЦТК связаны реакции, катализируемые аспартатаминотрансферазой и нуклеозиддифосфаткиназой (реакции 9 и 10). Аспартатаминотрансфераза образует вместе с малатдегидрогеназой малат-аспартатный челнок, благодаря которому митохондрии могут окислять внемитохондриальный NADH. Экспериментально показано, что аспартатаминотрансфераза взаимодействует с ферментами ЦТК [18, 19, 26]. Нуклеозиддифосфаткиназа переносит фосфат с GTP, который образуется в сукцинаттиокиназной реакции (стадия 5), на ADP. Это основной путь использования GTP, образующегося в ЦТК [27].

Мы считаем, что комплекс ферментов ЦТК должен включать все ферменты ЦТК, а также аспартатаминотрансферазу и нуклеозиддифосфаткиназу. Сведения о молекулярных массах и субъединичной структуре этих ферментов представлены в табл. 1.

Важнейшим принципом сборки метаболона мы считаем то, что он формируется на подложках, в роли которых могут выступать биологические мембраны, структурные белки мышц и некоторые клеточные структуры [6]. Подложка содержит белок, который выполняет «якорные» функции. Фиксация на подложке обеспечивает однозначность сборки комплекса, а также создает центр управления системы, чувствительный к новым факторам управления, в первую очередь, ко «вторым посредникам» [6—12].

Далее, симметрия метаболонов, адсорбированных на мембранах, должна отражать симметрию интегральных мембранных белков, выступающих в роли «якорных площадок» [31]. В связи с этим следует отметить, что некоторые интегральные белки, в особенности белки, образующие каналы, функционируют в мембране в виде тримеров с осью симметрии третьего порядка, перпендикулярной к плоскости мембраны [32, 33]. Метаболон, формирующийся на таких интегральных белках, также должны иметь ось симметрии третьего порядка, перпендикулярную к плоскости мембраны.

При определении взаимного расположения ферментов в комплексе мы руководствовались следующими принципами [34, 35].

1. Ферменты, катализирующие следующие одна за другой реакции ЦТК, должны находиться в комплексе рядом друг с другом, т. е. иметь соответствующие центры узнавания. Такое расположение ферментов обеспечит возможность химической трансформации метаболических интермедиатов по конвейерному типу в микрокомпартементе метаболона.

Действительно, имеются данные о взаимодействии малатдегидрогеназы с фумаразой [18], цитратсинтазой [16—19] и аспаратаминотрансферазой [18, 19, 26], цитратсинтазы с аспаратаминотрансферазой [19], сукцинаттиокиназы с α -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом [20].

2. Ферменты, использующие NAD, и ферменты, регенерирующие NAD, должны находиться в контакте друг с другом. Можно полагать, что три дегидрогеназы ЦТК, использующие NAD, — изоцитратдегидрогеназа, липоамиддегидрогеназа и малатдегидрогеназа — располагаются рядом и контактируют с интегральным, связанным с мембраной белком — комплексом I цепи переноса электронов, — обеспечивающим регенерацию окисленной формы кофермента. При таком расположении NAD-зависимых ферментных систем возможна эффективная рециркуляция кофермента в микрокомпарменте комплекса.

При построении модели должны учитываться экспериментальные данные о взаимодействии ферментов, не связанных общими метаболитами. Так, было показано взаимодействие цитратсинтазы с фумаразой [18]. Аспаратаминотрансфераза при тех же условиях с фумаразой не взаимодействует. Было показано также отсутствие контакта между цитратсинтазой и α -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом [20].

α -КЕТОГЛУТАРАТДЕГИДРОГЕНАЗНЫЙ КОМПЛЕКС — ЯДРО КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Определенную трудность при построении комплекса ферментов ЦТК представляет существование значительного различия в размерах между α -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом (2,7 МДа) и остальными ферментами, молекулярная масса которых не превышает 200 кДа. Эту трудность можно преодолеть, если предположить, что α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс служит ядром комплекса ферментов ЦТК, вокруг которого собираются все остальные белки.

Сердцевину α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса составляют 24 субъединицы транссукцинилазы, образующие структуру куба с тремя осями симметрии четвертого порядка, четырьмя осями третьего порядка и шестью осями второго порядка (группа симметрии O) [28]. К ним присоединяются по шесть димеров α -кетоглутаратдегидрогеназы и липоамиддегидрогеназы [28], что приводит к понижению симметрии. Аналогичную организацию имеет и α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс из *E. coli* [28].

Точная структура α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса остается невыясненной. Вагенкнехт и соавт. [36] на основании данных по взаимодействию *in vitro* ферментов, входящих в α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс из *E. coli*, пришли к выводу, что комплекс не имеет уникальной четвертичной структуры, а представляет собой семейство структурных изомеров, общее число которых может достигать 125 000.

Однако *in vivo* α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс адсорбирован на мембране, и поэтому можно допустить, что в нативных условиях существует однозначная структура комплекса. Для митохондрий сердца млекопитающих задача по выяснению типа фиксации α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса на мембране упрощается благодаря тому обстоятельству, что размеры комплекса сравнимы с расстоянием между внутренними поверхностями внутренней мембраны митохондрий из этого источника. Размер ребра куба, образованного транссукцинилазой, составляет 11,7 нм [37]. Таким образом, длина диагонали куба (20 нм) соответствует среднему расстоянию между внутренними поверхностями внутренней мембраны митохондрий сердца (15—30 нм по данным Шрера [15]). Поэтому мы считаем, что транссукцинилаза располагается так, что две противоположные вершины куба касаются противоположных поверхностей мембраны; при этом ось симметрии третьего порядка перпендикулярна к этим поверхностям (рис. 2). Шесть молекул липоамиддегидрогеназы расположены на гранях куба и также касаются одной из поверхностей мембраны (это необходимо для обмена

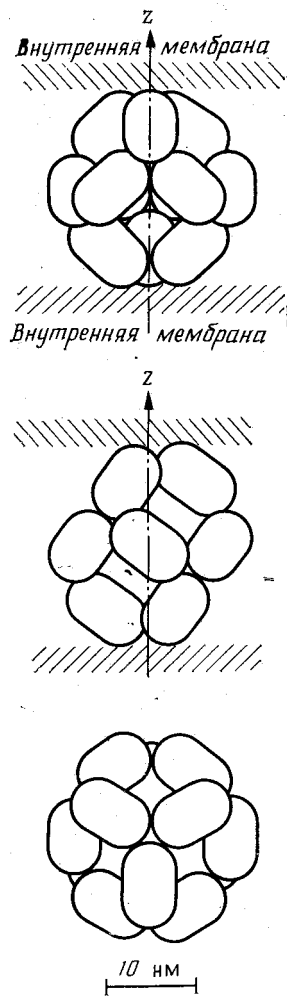


Рис. 2

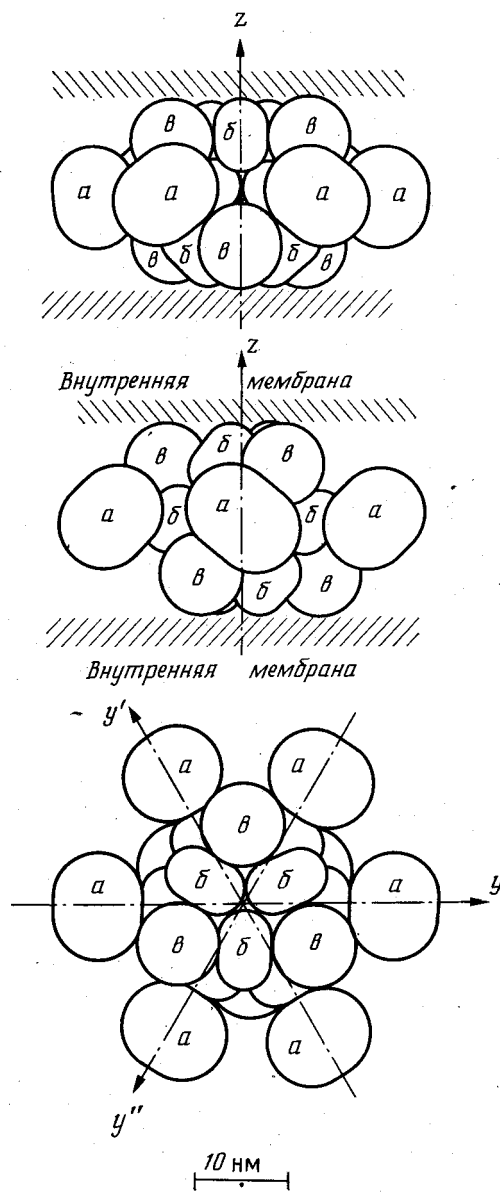


Рис. 3

Рис. 2. Структура сердцевины α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса (три проекции). Овалоидами обозначены димеры транссукцинилазы, z — ось симметрии третьего порядка

Рис. 3. α -Кетоглутаратдегидрогеназный комплекс (три проекции). Буквами обозначены: a — α -кетоглутаратдегидрогеназа, b — димер транссукцинилазы, v — липоамиддегидрогеназа; z — ось симметрии третьего порядка; y , y' и y'' — оси симметрии второго порядка

NAD и NADH с комплексом I цепи переноса электронов), а шесть молекул α -кетоглутаратдегидрогеназы прикреплены к тем ребрам куба, которые не касаются мембраны. Таким образом, α -кетоглутаратдегидрогеназный комплекс (рис. 3) имеет помимо оси симметрии третьего порядка еще три оси симметрии второго порядка (точечная группа симметрии D_3). Вокруг этой структуры и должны располагаться другие ферменты, входящие в комплекс ферментов ЦТК.

ГИПОТЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ЦИКЛА ТРИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Руководствуясь принципами, изложенными в предыдущих разделах, мы построили структурную модель комплекса ферментов ЦТК. Принято, что симметрия комплекса ферментов ЦТК относится, как и симметрия адсорбированного α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса, к точечной группе D_3 . Число асимметричных молекул каждого типа соответствует порядку группы [38], который для группы D_3 равен шести. Следовательно, комплекс должен включать по шесть молекул каждого фермента.

Структуру комплекса ферментов ЦТК можно представить в виде гексамера из шести идентичных асимметричных субъединиц (рис. 4). Каждая асимметричная субъединица (рис. 5) содержит тетрамер транссукцинилазы, по одной молекуле всех остальных ферментов и «якорный» белок (Ω).

Общий вид комплекса ферментов ЦТК показан на рис. 6. Комплекс «зажат» между противоположными поверхностями внутренней мембраны, при этом мембраны касаются все ферменты, за исключением α -кетоглутаратдегидрогеназы и аспартатаминотрансферазы. В качестве якорных белков, ответственных за сборку комплекса ферментов ЦТК на мембране, выступают интегральные белки внутренней мембраны митохондрий, в том числе сукцинатдегидрогеназа. Высота комплекса вдоль оси симметрии третьего порядка составляет 20 нм, диаметр комплекса 50 нм. Молекулярная масса (без учета сукцинатдегидрогеназы) равна 8 МДа.

Структура предложенной нами модели допускает возможность взаимодействия комплекса ферментов ЦТК с другими ферментами и мультиферментными комплексами, с которыми он связан общими метаболитами. В первую очередь это относится к комплексам цепи переноса электронов, расположенным во внутренней мембране митохондрий. Изоцитратдегидрогеназа, липоамиддегидрогеназа и малатдегидрогеназа должны контактировать с комплексом I, а сукцинаттиокиназа и фумараза — с комплексом II. Взаимодействие малатдегидрогеназы с комп-

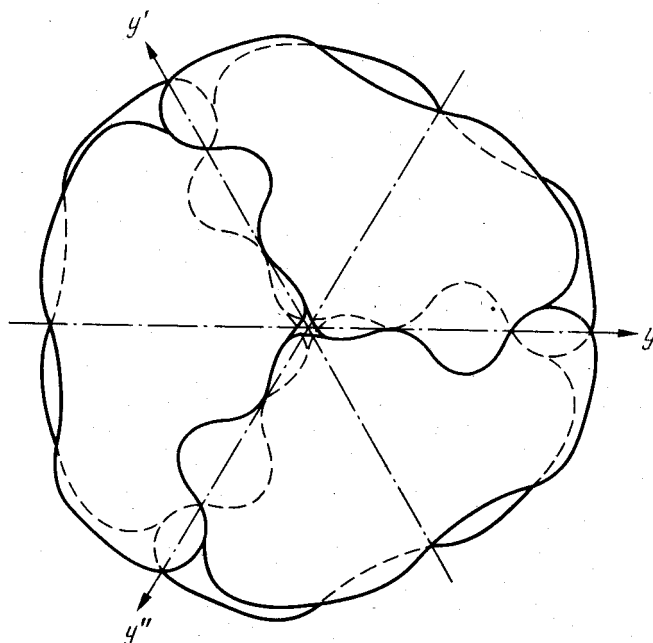


Рис. 4. Схематическое изображение гексамерной структуры комплекса ферментов цикла трикарбоновых кислот. Ось симметрии третьего порядка перпендикулярна плоскости рисунка. y , y' и y'' — оси симметрии второго порядка

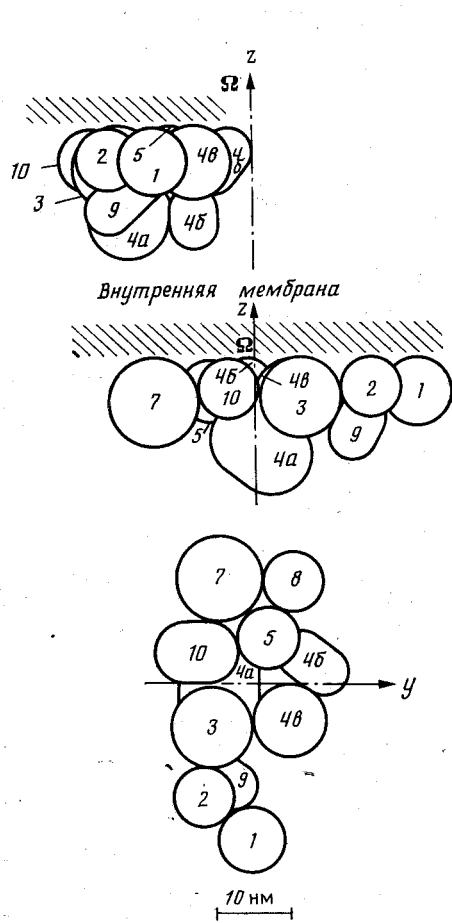


Рис. 5

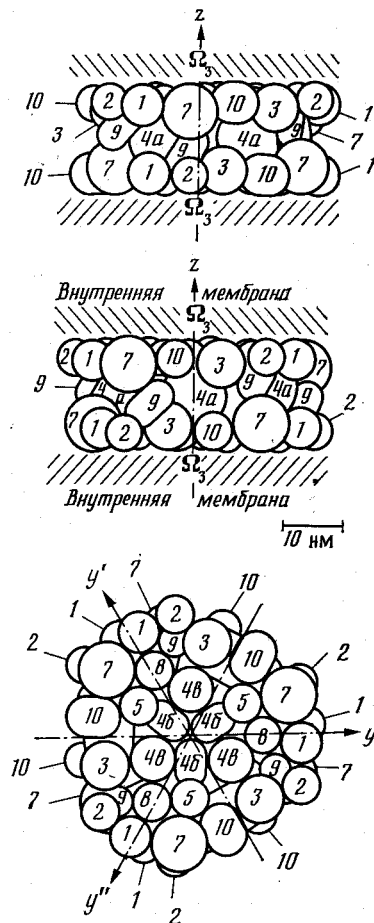


Рис. 6

Рис. 5. Асимметричная субъединица комплекса ферментов цикла трикарбоновых кислот (три проекции). Ω — «якорные» белки. Остальные обозначения см. рис. 1 и 3

Рис. 6. Гипотетическая структура комплекса ферментов цикла трикарбоновых кислот (три проекции). Ω_3 — «якорные» белки, включающие сукцинатдегидрогеназу. Остальные обозначения см. рис. 1 и 3

лексом I зафиксировано экспериментально [39]. Иными словами, комплексы цепи переноса электронов служат «якорной площадкой» для сборки комплекса ферментов ЦТК, и поэтому интегральные и периферические связанные с мембраной структуры должны соответствовать друг другу по типу симметрии. Таким образом, можно предположить, что единый ансамбль ферментов цепи переноса электронов также имеет ось симметрии третьего порядка, перпендикулярную к плоскости мембраны и совпадающую с осью симметрии комплекса ферментов ЦТК.

Кроме того, комплекс ферментов ЦТК должен взаимодействовать с другими ферментами матрикса. Для митохондрий сердца это ферменты, поставляющие в ЦТК ацетил-СоА, т. е. пируватдегидрогеназный комплекс и ферменты β -окисления жирных кислот. Цитратсинтаза — фермент, утилизирующий ацетил-СоА, расположена в нашей модели на периферии комплекса. Экспериментально показано взаимодействие цитратсинтазы как с пируватдегидрогеназным комплексом [40], так и с тиолазой [41] — ферментом, катализирующим завершающую стадию β -окисления жирных кислот.

Пируватдегидрогеназный комплекс из сердца быка обладает осью симметрии третьего порядка и по своим размерам (молекулярная масса 8,5 МДа) близок к предложенной нами модели комплекса ферментов

ЦТК [28]. Что касается ферментов β -окисления жирных кислот, то предполагается [42], что они организованы в мультиферментный комплекс. Можно допустить, что все три комплекса (комплекс ферментов ЦТК, пируватдегидрогеназный комплекс и комплекс ферментов β -окисления жирных кислот) организованы в матриксе митохондрий сердца в периодическую структуру типа гексагональной решетки.

Для митохондрий клеток других органов надмолекулярная организация ферментов матрикса может быть более сложной. Так, в митохондриях печени комплекс ферментов ЦТК должен взаимодействовать также с пируваткарбоксилазой, с глутаматдегидрогеназой и другими ферментами метаболизма аминокислот. С другой стороны, расстояние между внутренними поверхностями внутренней мембраны в митохондриях клеток печени больше, чем в митохондриях сердца [15], поэтому можно полагать, что в печени комплекс ферментов ЦТК касается мембраны только одной стороной, а другой — контактирует с ферментами матрикса.

Следует отметить, что комплекс ферментов ЦТК — это мобильная структура, находящаяся в равновесии со свободными ферментами матрикса. При переходе митохондрий от конденсированной конформации к ортодоксальной и наоборот объем матрикса претерпевает значительные изменения, что определяется энергетическим состоянием митохондрий [15]. Этот процесс несомненно влияет на равновесие между комплексом ферментов ЦТК и свободными ферментами. Высокая концентрация белка в матриксе в конденсированной конформации должна способствовать образованию метаболона. При набухании матрикса возможен частичный распад комплекса на свободные ферменты.

Другим важным фактором, определяющим формирование метаболона, являются уровни концентраций определенных метаболитов. Известно, что адсорбция ферментов на биологических мембранах чувствительна к присутствию специфических метаболитов [43]. Показано [23], что адсорбция цитратсинтазы на внутренней мембране митохондрий усиливается в присутствии низких концентраций цитрата и ослабляется в присутствии оксалоацетата, CoA, ацетил-CoA, Mg-АТФ, а также высоких концентраций цитрата (выше 5 мкМ). Поэтому можно ожидать, что завершенность сборки комплекса ферментов ЦТК на мембране будет зависеть от концентраций определенных метаболитов в матриксе митохондрий.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ВАЖНОСТЬ ОБРАЗОВАНИЯ МЕТАБОЛОНА

Сборка метаболонов приводит к образованию микрокомпартов, в которых метаболический процесс может протекать изолированно, без выделения интермедиатов в объем. Взаимодействия ферментов, входящих в состав метаболона, приводят к тому, что комплекс выступает как единая, кооперативно функционирующая система [44]. Согласованные конформационные изменения молекул ферментов в комплексе могут обеспечивать эффективное продвижение интермедиатов по конвейеру активных центров в микрокомпарте; при этом ферменты, катализирующие необратимые реакции (цитратсинтаза, изоцитратдегидрогеназа и α -кетоглутаратдегидрогеназа), могут «навязывать» необратимый характер каталитического действия всему комплексу.

Следует отметить, что поскольку комплекс ферментов ЦТК включает шестикратный набор ферментов соответствующего метаболического пути, микрокомпаратмент, образуемый метаболоном, состоит из шести отсеков. Можно условно говорить о двух «этажах» микрокомпартамента, каждый из которых состоит из трех отсеков. Каждый из отсеков содержит конвейер активных центров, способных обеспечить полное протекание метаболического цикла.

Для того чтобы цикл трикарбоновых кислот замкнулся, необходимо, чтобы оксалоацетат вернулся на первый фермент цикла — цитратсинтазу. Следовательно, структура метаболона должна быть замкнутой. Одна-

ко из рис. 5 видно, что асимметричная субъединица комплекса не замкнута, поскольку малатдегидрогеназа не контактирует с цитратсинтазой в этой субъединице. Это означает, что после однократного прохождения метаболического цикла оксалоацетат попадает на молекулу цитратсинтазы соседней субъединицы. Для того чтобы субстрат вернулся на молекулу цитратсинтазы исходной субъединицы, он должен пройти по круговому каналу три отсека одного «этажа» микрокомпартамента метаболона. Можно полагать, что функционирование отдельных отсеков микрокомпартамента (т. е. перемещение интермедиатов по каналам-отсекам) осуществляется согласованным образом. Такой режим работы микрокомпартамента можно назвать режимом работы по типу «карусели».

Для описания функционирования метаболонов, фиксированных на внутренней поверхности внутренней мембраны митохондрий, полезной, на наш взгляд, может оказаться теория автоволн [7, 8, 11, 45].

Повышение эффективности протекания метаболического пути в микрокомпарменте метаболона является не единственным преимуществом образования организованной мультиферментной структуры. Физиологический смысл формирования метаболонов, на наш взгляд, состоит прежде всего в том, что клетка получает возможность управлять метаболическим путем, представленным структурно организованным комплексом, как единым целым [6, 9, 10, 12]. Ранее было высказано предположение [7—11], что метаболон должен управляться как единое целое при помощи «вторых посредников». В литературе имеются данные о влиянии ионов Ca^{2+} [46—48] и циклического АМР [49, 50] на активность отдельных ферментов ЦТК. Однако поскольку активность большинства ферментов ЦТК измеряется только после повреждения митохондрий, увидеть воздействие этих химических сигналов на ЦТК как единую систему не удастся. В роли фактора управления может выступать также разность значений электростатического потенциала на внешней и внутренней поверхностях мембраны.

ПУТИ ПРОВЕРКИ МОДЕЛЬНОЙ СТРУКТУРЫ МЕТАБОЛОНА

Обсудим вопрос о том, какие эксперименты могут оказаться полезными для проверки предложенной структуры комплекса ферментов ЦТК.

Белок-белковые контакты в построенном нами гипотетическом комплексе ферментов ЦТК представлены в табл. 2. Особенно интересной явля-

Таблица 2

Белок-белковые контакты в комплексе ферментов цикла трикарбоновых кислот

Номер	Фермент	1	2	3	4a	4б	4в	5	7	8	9	10
1	Цитратсинтаза	—	+	—	(—)	(—)	(—)	—	(+)	(+)	(+)	—
2	Аконитаза	+	—	+	—	—	—	—	—	—	+	—
3	Изоцитратдегидрогеназа	—	+	—	+	—	+	—	—	—	+	+
4a	α -Кетоглутаратдегидрогеназа	(—)	—	+	—	(+)	(—)	—	+	+	+	+
4б	Трансукцинилаза	(—)	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)	—	—	—	—
4в	Липоамиддегидрогеназа	(—)	—	+	(—)	(+)	—	—	—	+	—	—
5	Сукцинаттнйокиназа	—	—	—	—	(+)	—	—	+	+	—	+
7	Фумараза	(+)	—	—	+	—	—	+	—	(+)	(—)	+
8	Малатдегидрогеназа	(+)	—	—	+	—	+	+	(+)	—	(+)	—
9	Аспаратамино-трансфераза	(+)	+	+	+	—	—	—	(—)	(+)	—	—
10	Нуклеозиддифосфаткиназа	—	—	+	+	—	—	+	+	—	—	—

Примечание. Знак «+» означает наличие контакта между ферментами; «(+)-» — наличие контакта доказано экспериментально; «—» — отсутствие контакта; «(—)» — возможность контактирования ферментов изучалась, получен отрицательный результат.

ется проверка предсказываемых нами контактов между ферментами, не связанными общими метаболитами, например между малатдегидрогеназой и сукцинаттиокиназой. Эти контакты нужны для стабилизации структуры комплекса.

В работе Робинсона и Шрера [51] путем мягкой обработки митохондрий ультразвуком были получены частицы, осаждаемые при 32 000 g и обладающие активностью по крайней мере пяти ферментов ЦТК. Частицы проницаемы для молекул белка, поэтому был сделан вывод, что ферменты в них адсорбированы на поверхности мембраны. Если комплекс ферментов ЦТК в этих частицах сохраняет свою нативную структуру, то подобные частицы могут служить удобным объектом для изучения надмолекулярной организации ферментов ЦТК. Подобные частицы могут также быть полезны при изучении регуляции ЦТК как единой метаболической системы. Можно предполагать, что на этой модели удастся увидеть управление комплексом ферментов ЦТК как единым целым.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Цикл трикарбоновых кислот занимает центральное место в метаболизме и тесно связан со множеством как катаболических, так и анаболических процессов. Выяснение механизмов интеграции этих метаболических путей является одной из важнейших задач физико-химической биологии. Эта задача не может быть успешно разрешена без выяснения структурной организации метаболических процессов. Важное место в иерархии уровней материальной организации и уровней контроля функционирования биологических систем занимают метаболиты, что обуславливает их исключительную роль в интеграции метаболизма.

ЛИТЕРАТУРА

1. Welch G. R. // *Progr. Biophys. Molec. Biol.* 1977. V. 32. P. 103—191.
2. Фридрих П. Ферменты: четвертичная структура и надмолекулярные комплексы. М.: Мир, 1986. 374 с.
3. Srere P. A. // *Trends Biochem. Sci.* 1985. V. 10. P. 109—110.
4. Шноль С. Э., Ермакова Е. А., Франк Г. М. В кн.: Методологические и теоретические проблемы биофизики/Под ред. Г. Р. Иваницкого. М.: Наука, 1979. С. 78—89.
5. Friedrich P. In: *Organized multienzyme systems: catalytic properties*/Welch G. R., ed. N. Y.: Acad. Press, 1985. P. 141—176.
6. Курганов Б. И. // *Биол. науки.* 1986. № 3. С. 5—8.
7. Курганов Б. И. // *Молекуляр. биология.* 1986. Т. 20. С. 369—377.
8. Kurganov B. I. // *J. Theor. Biol.* 1986. V. 119. P. 445—456.
9. Kurganov B. I. In: *Dynamics of biochemical systems. Simposia Biologica Hungarica/Damjanovich S., Keleti T., Trón L. eds.* Budapest: Akadémiai Kiadó; Amsterdam: Elsevier, 1986. V. 30. P. 231—243.
10. Курганов Б. И. // *Вестн. АМН СССР.* 1986. № 8. С. 3—8.
11. Курганов Б. И. // *Физика многочастич. систем.* 1986. Вып. 9. С. 64—73.
12. Курганов Б. И. // *Молекуляр. биология.* 1986. Т. 20. С. 1530—1538.
13. Кузин А. М. Структурно-метаболическая гипотеза в радиобиологии. М.: Наука, 1970. С. 50.
14. Srere P. A. In: *Energy metabolism and the regulation of metabolic processes in mitochondria*/Hanson R. W., Mehlman W. A., eds. N. Y.: Acad. Press, 1972. P. 79—91.
15. Srere P. A. In: *Organized multienzyme systems: catalytic properties*/Welch G. R., ed. N. Y.: Acad. Press, 1985. P. 1—61.
16. Koch-Schmidt A.-C., Mattiasson B., Mosbach K. // *Eur. J. Biochem.* 1977. V. 81. P. 71—78.
17. Srere P. A., Halper L. A., Finkelstein M. B. In: *Microenvironments and metabolic compartmentation*/Srere P. A., Estabrook R. W., eds. N. Y.: Acad. Press, 1978. P. 419—432.
18. Beeckmans S., Kanarek L. // *Eur. J. Biochem.* 1981. V. 117. P. 527—535.
19. Fahien L. A., Kmítek E. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1983. V. 220. P. 386—397.
20. Porpaczy Z., Sümegi B., Alkonyi I. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 749. P. 172—179.
21. Matlib M. A., O'Brien P. // *Arch. Biochem. Biophys.* 1975. V. 167. P. 193—202.
22. D'Souza S. F., Srere P. A. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1983. V. 724. P. 40—51.
23. Moore G. E., Gadol S. M., Robinson J. B., Srere P. A. // *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1984. V. 121. P. 612—618.
24. Буров В. И., Гривенникова В. Г. В кн.: Молекулярные механизмы и регуляция энергетического обмена. Тез. докл. Всесоюз. симпоз. Пущино, 1986, с. 4.

25. Barnes S. J., Weitzman P. D. J.//FEBS Lett. 1986. V. 201. P. 267—270.
26. Backman L., Johansson G.//FEBS Lett. 1976. V. 65. P. 39—43.
27. Jacobus W. E., Evans J. J.//J. Biol. Chem. 1977. V. 252. P. 4232—4241.
28. Oliver R. M., Reed L. J. In: Electron microscopy of proteins/Harris J. R., ed. L.: Acad. Press. 1982. V. 2. P. 1—48.
29. Barra D., Bossa F., Doonan S., Fahmy H. M. A., Martini F., Hughes G. J.//Eur. J. Biochem. 1976. V. 64. P. 519—526.
30. Colomb M. G., Chérut A., Vignais P. V.//Biochemistry. 1969. V. 8. P. 1926—1939.
31. Kurganov B. I.//J. Theor. Biol. 1984. V. 111. P. 707—723.
32. Kagawa Y.//Biochim. Biophys. Acta. 1978. V. 505. P. 45—93.
33. Klingenberg M.//Nature. 1981. V. 290. P. 449—454.
34. Курганов Б. И., Сугрובה Н. П., Мильман Л. С.//Молекуляр. биология. 1986. Т. 20. С. 41—52.
35. Kurganov B. I., Sugrobova N. P., Mil'man L. S.//J. Theor. Biol. 1985. V. 116. P. 509—526.
36. Wagenknecht T., Francis N., DeRosier D. J.//J. Mol. Biol. 1983. V. 165. P. 523—541.
37. Tanaka N., Koike K., Hamada M., Otsuka K.-I., Suematsu T., Koike M.//J. Biol. Chem. 1972. V. 247. P. 4043—4049.
38. Гольдштейн Б. Н., Корнилов В. В., Сметанич Я. С.//Молекуляр. биология. 1986. Т. 20. С. 242—249.
39. Sütegi B., Srere P. A.//J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 15040—15045.
40. Sütegi B., Alkonyi I.//Biochim. Biophys. Acta. 1983. V. 749. P. 163—171.
41. Sütegi B., Gilbert H. F., Srere P. A.//J. Biol. Chem. 1985. V. 260. P. 188—190.
42. Sütegi B., Srere P. A.//J. Biol. Chem. 1984. V. 259. P. 8748—8752.
43. Kurganov B. I. In: Organized multienzyme systems: catalytic properties/Welch G. R., ed. N. Y.: Acad. Press, 1985. P. 241—270.
44. Welch G. R., Berry M. N. Ibid. P. 419—447.
45. Кринский В. И., Михайлов А. С. Автоволны. М.: Знание, 1984. 64 с.
46. McCormack J. G., Denton R. M.//Biochem. J. 1980. V. 190. P. 95—105.
47. Ezawa I., Ogawa E.//J. Biochem. 1979. V. 85. P. 65—74.
48. Кулинский В. И., Колтакова Т. В. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1984. Т. 97. В. 8. С. 188—189.
49. Кулинский В. И., Труфанова Л. В. Докл. АН СССР. 1975. Т. 224. С. 1439—1441.
50. Кулинский В. И., Кунцевич А. К., Труфанова Л. В. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1981. Т. 91. В. 8. С. 33—34.
51. Robinson J. B., Srere P. A.//J. Biol. Chem. 1985. V. 260. P. 10800—10805.

Поступила в редакцию
4.II.1987

SUPRAMOLECULAR ORGANIZATION OF TRICARBOXYLIC ACID CYCLE ENZYMES

A. E. LYUBAREV, B. I. KURGANOV

All-Union Vitamin Research Institute, Moscow

In virtue of analysis of data on the interaction of tricarboxylic acid cycle enzymes with the mitochondrial inner membrane and data on the enzyme-enzyme interactions, the spatial structure for the tricarboxylic acid cycle enzyme complex (tricarboxylic acid cycle metabolon) is proposed. The α -ketoglutarate dehydrogenase complex, adsorbed on the mitochondrial inner membrane along one of its 3-fold symmetry axes, plays the key role in the formation of metabolon. Two association sites of the α -ketoglutarate dehydrogenase complex located on opposite sides of the complex participate in the interaction with the membrane. The tricarboxylic acid cycle enzyme complex contains one molecule of the α -ketoglutarate dehydrogenase complex and six molecules of each of the other enzymes of the tricarboxylic acid cycle, as well as aspartate aminotransferase and nucleosidediphosphate kinase. Succinate dehydrogenase, the integral protein of the mitochondrial inner membrane, is a component of the anchor site responsible for the assembly of metabolon on the membrane. The molecular mass of the complex (ignoring succinate dehydrogenase) is of $8 \cdot 10^6$ daltons. The metabolon symmetry corresponds to the D_3 point-symmetry group. It is supposed, that the tricarboxylic acid cycle enzyme complex interacts with other multienzyme complexes of the matrix and the electron transfer chain.