

УДК 550.41:577.37: 553.492: 576.8

МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ДИЗАЙН И БИОМИМЕТИЧЕСКИЙ КАТАЛИЗ АРХАИЧЕСКОГО ХЕМОАВТОТРОФНОГО ЦИКЛА ФИКСАЦИИ CO₂

С.А. Маракушев, О.В. Белоногова

(Институт проблем химической физики РАН, 142432 Московская область, г. Черноголовка; e-mail: tarak@cat.icp.ac.ru)

На основе современных метаболических путей филогенетически древних *Bacteria* и *Archaea* предложен новый биомиметический дизайн архайческой хемоавтотрофной фиксации CO₂ (CO₂ archaic fixation – CAF). Конкуренция между архайческими циклами фиксации CO₂ в составе CAF-цикла должна обуславливать естественный химический отбор циклов в гидротермальных условиях древней Земли. Рассмотрены физико-химические условия формирования активированных тиоэфиров типа CH₃CO~SCH₃ (аналоги ацетил-коэнзима А), активирующих интермедиаты циклов фиксации CO₂.

Ключевые слова: хемоавтотрофная фиксация CO₂, автокаталитические циклы, химический естественный отбор, углеводороды, биомиметический минеральный катализ, химический потенциал, алкилтиоэфиры органических кислот.

Существуют четыре главных пути фиксации двуокиси углерода: цикл Кальвина–Бенсона–Бассама (КББ) (восстановительный пентозофосфатный цикл), восстановительный цитратный (ВЦ) цикл (цикл Арнона), 3-гидроксипропионатный (3-ГП) цикл и восстановительный ацетил-коэнзим А (АКА) путь (путь Вуда–Люнгалла). В последнее время в архейском субдомене *Crenarchaeota* выявлены еще два пути – 3-гидроксипропионатный/4-гидроксипропионатный (3-ГП/4-ГБ)-цикл, являющийся аналогом 3-ГП-цикла, и восстановительный дикарбоксилатный/4-гидроксипропионатный (ВД/4-ГБ) цикл [1–4]. Энергетически затратный КББ-цикл, встречающийся только в бактериях и эукариотах, и АКА-путь осуществляют фракционирование стабильных изотопов углерода с высокими значениями δ¹³C, что свидетельствует об их более высоком эволюционном развитии и в данной работе не рассматриваются. Согласно теории хемоавтотрофного происхождения архайческого метаболизма [5–8], мы предложили модель зарождения и самоорганизации архайческой хемоавтотрофной системы фиксации CO₂ в виде сопряженных между собой циклов (ВЦ и 3-ГП) в парагенезисе с углеводородами как источниками углерода для интермедиатов цикла в гидротермальном геохимическом окружении древней Земли [9, 10].

Биомиметический архайческий комбинаторный цикл

Циклы 3-ГП/4-ГБ и ВД/4-ГБ совместно с циклами ВЦ и 3-ГП представляют собой автокаталитическую систему реакционных путей, комбинация частей кото-

рых создает конкретные автотрофные системы фиксации CO₂ (HCO₃⁻) в экстремофильных прокариотах, сокращенная схема которых, согласно [2], с добавлением всех реакций фиксации CO₂ в циклах представлена на рис. 1. При комбинации метаболических элементов этой конструкции происходит формирование различных метаболических циклов: I + IV создает 3-ГП/4-ГБ, I + V – 3-ГП, II + VI – ВЦ и III + IV – ВД/4-ГБ-циклы.

Комбинация путей	I + IV	I + V	II + VI	III + IV
Цикл	3-ГП/4-ГБ	3-ГП	ВЦ	ВД/4-ГБ

В принципе, возможны и другие комбинации этих шести специфических путей (I, II, III, VI, V, VI), что следует из диверсификации, наблюдаемой в других архайских метаболических путях трансформации соединений углерода [11]. Очевидно, что наиболее эффективна комбинация III и VI путей с ассимиляцией трех молекул CO₂ и одной молекулы HCO₃⁻, представляющая собой ВЦ-цикл, дополненный этапами карбоксилирования ацетил-СоА до пирувата и фосфоенолпирувата до оксалоацетата, биомиметическая модель которого рассмотрена нами в работах [9, 10]. Важнейшая особенность стратегии развития этих четырех хемолитотрофных путей ассимиляции неорганического углерода – трансформация сукцинил-СоА в ацетил-СоА, и наоборот. Циклы 3-ГП и 3-ГП/4-ГБ абсолютно тождественны на важнейших этапах карбоксилирования ацетил-СоА и пропионил-СоА

(рис. 1), осуществляемого универсальным ферментом ацетил-СоА–пропионил СоА карбоксилазой. Как следует из рис. 1, только в цикле ВЦ происходит карбоксилирование сукцинил-СоА, тогда как в остальных трех циклах осуществляется карбоксилирование ацетил-СоА, что обуславливает принципиальное различие этих систем. Рассматривая составы этих четырех метаболических путей как термодинамическую систему С–Н–О и учитывая описанные выше последние биохимические данные, можно представить (рис. 2) усовершенствованную обобщенную гипотетическую схему архаической фиксации CO₂ (CO₂ archaic fixation cycle – САF-цикл). Для упрощения в эту схему не включены стадии последовательной изомеризации (изоцитрат–аконитат–цитрат (ВЦ-цикл), метилмалонат–сукцинат (3-ГП-цикл) и метилмалонат–4-гидроксипропионат–кротонат–3-гидроксипропионат–ацетоацетат (3-ГП/4-ГБ- и ВД/4-ГБ-циклы)), представляющие собой последние ступени регенерации циклов. Поэтому путь регенерации, приводящий к удвоению архаических циклов 3-ГП/4-ГБ и ВД/4-ГБ, представлен реак-

цией (СН₂)₂(СООН)₂ (сукцинат) + Н₂ = СН₃СОСН₂СООН (ацетоацетат) + Н₂О = 2СН₃СООН (ацетат). Цикл ВД/4-ГБ имеет общее с ВЦ-циклом звено (оксалоацетат → малат → фумарат → сукцинатное) с одинаковой последовательностью реакций. В 3-ГП-цикле последовательность реакций противоположна (сукцинат → фумарат → малат). В результате фиксации двух молекул СО₂ один оборот циклов ВЦ, 3-ГП/4-ГБ и ВД/4-ГБ приводит к образованию одной молекулы ацетата, а оборот 3-ГП-цикла – к молекуле глиоксилата. Таким образом, САF-цикл, развиваясь в восстановительном направлении, приводит к удвоению компонентов цикла из абиогенного СО₂ и электронов (Н₂), и это свойство определяет цикл как автокаталитическую сеть [6, 7]. Эти комбинированные восстановительные циклы проявляются на уровне биосинтетической автокаталитической сети, являющейся самоподдерживающимся устойчивым к внешним воздействиям механизмом для синтеза всех биохимических предшественников. Ядро цикла (СН₂)₂(СООН)₂ + Н₂ = (СН₂)₂(СООН)₂– является «редокс-переключате-

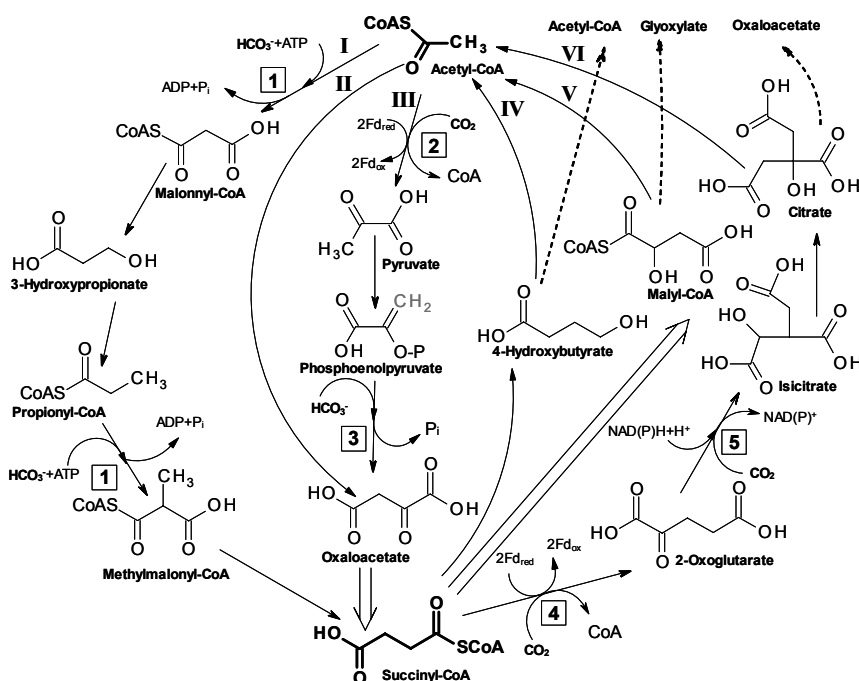


Рис. 1. Общая модифицированная схема, по данным [2], представляющая возможные варианты развития четырех хемоавтотрофных путей фиксации CO₂ (восстановительный цитратный (ВЦ), 3-Гидроксипропионатный (3-ГП), 3-Гидроксипропионатный/4-гидроксипропионатный (3-ГП/4-ГБ) и восстановительный дикарбоксилатный/4-гидроксипропионатный (ВД/4-ГБ) циклы). Римскими цифрами обозначены последовательности реакций циклов, комбинацией которых создаются полные циклы фиксации CO₂. Пунктирными линиями обозначены продукты CO₂ фиксации, высвобождаемые этими циклами. Цифрами в квадратах обозначаются конкретные реакции карбоксилирования, осуществляемые ферментами: 1. Ацетил-СоА/Пропионил-СоА карбоксилаза (ЕС: 6.3.4.15 2.7.1.33); 2. Пируват синтаза (ЕС: 1.2.7.1); 3. Фосфоенолпируват карбоксилаза (ЕС: 4.1.1.31); 4. 2-Оксоглутарат: ферредоксин оксидоредуктаза (ЕС: 1.2.7.3); 5. Исоцитрат дегидрогеназа (ЕС: 1.1.1.42). Пустая стрелка от оксалоацетата до сукцинил-СоА обозначает общую последовательность реакций малат → фумарат → сукцинат для ВЦ- и ВД/4-ГБ-циклов. Пустая стрелка от сукцинил-СоА до малил-СоА обозначает обратную последовательность реакций сукцинат → фумарат → малат

лем», отвечающим определенным редокс-условиям гидротермального окружения и определяющим выбор направления потока электронов. В зависимости от величины химического потенциала водорода реакции в САФ-цикле пойдут в направлении циклов 3-ГП или ВЦ (ВД/4-ГБ), а конкуренция между ними создает устойчивость всего САФ-цикла к изменению редокс-условий в гидротермальной системе и возможности его дальнейшего развития. Ацетат и сукцинат – центральные анаэробные интермедиаты всех четырех архайских хемоавтотрофных циклов (рис. 2), вступающие в реакции фиксации CO_2 . Ацетат карбоксилируется с образованием малоната (циклы 3-ГП, 3-ГП/4-ГБ) и пирувата (цикл ВД/4-ГБ), а сукцинат – с образованием 2-оксoglutarата (ВЦ-цикл). Очевидно, что увеличение концентрации субстратов этих реакций в результате окисления углеводородных гидротермальных флюидов будет сдвигать равновесие этих реакций вправо, приводя к внедрению атома углерода в состав молекул сукцината и ацетата. Эти реакции фиксации CO_2 как инициирующие запускают автокаталитические циклы. Конкуренция между архайскими хемоавтотрофными циклами в составе САФ-цикла

в различных физико-химических условиях древней Земли должна была приводить к химическому естественному отбору.

Энергетика САФ-цикла

В представленной биомиметически построенной системе восстановительный потенциал обеспечивается реакциями с молекулярным водородом. В современных метаболических системах водород переносится не прямым образом, а при участии гидрид-переносчиков, подобно НАДН*, а на первых стадиях происхождения жизни перенос водорода мог осуществляться прямым переносом или посредством таких гидрид-переносчиков, как тиолы или хиноны. Независимо от способа водородного переноса его энергия и направление определяются двухэлектронным восстановительным потенциалом пар компонентов САФ-цикла. Значения свободной энергии Гиббса ключевых реакций САФ-цикла в стандартных условиях ($P = 1$ бар, $T = 298$ К) приведены в таблице.

В гидротермальных системах отсутствие ферментов в САФ-цикле компенсируется каталитическим паргенезисом минералов [15], в ряде случаев биоми-

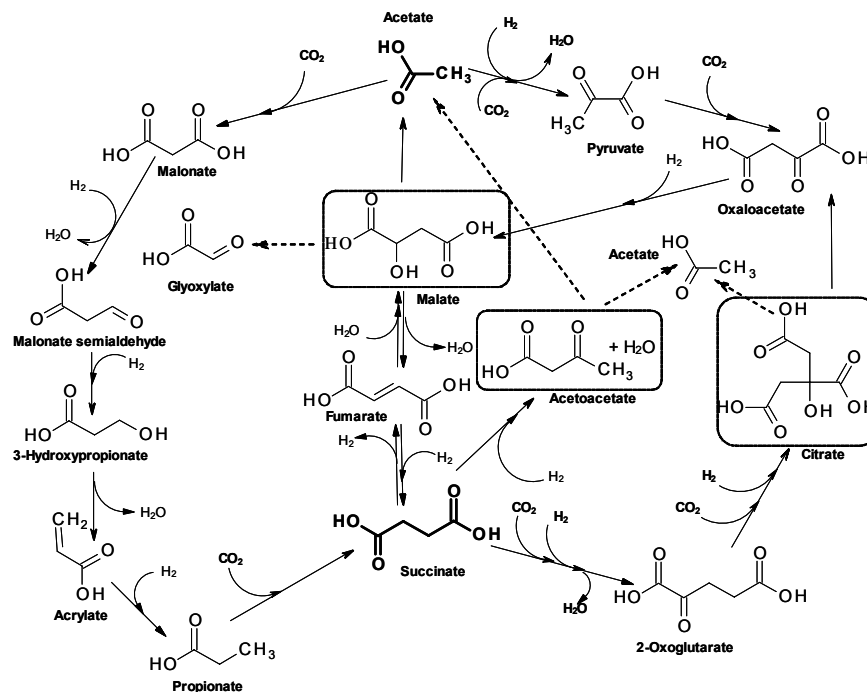


Рис. 2. Предлагаемая схема архайской хемоавтотрофной фиксации CO_2 (САФ-цикл), рассматриваемая как термодинамическая система С–Н–О, биомиметически моделирующая все четыре, представленные на рис. 1, циклы. Вместо бикарбонат иона приведены молекулы CO_2 . Пунктирные линии обозначают продукт, высвобождающийся после одного оборота цикла; метаболиты, завершающие циклы, обведены: малат распадается на ацетат и глиоксилат (3-ГП-цикл), цитрат – на оксалоацетат и ацетат (ВЦ-цикл), ацетоацетат + H_2O – на два ацетата (циклы 3-ГП/4-ГБ и ВД/4-ГБ)

* Никотинамидадениндинуклеотид.

Свободные энергии Гиббса реакций циклов ВЦ, ВД/4-ГБ, 3-ГП и 3-ГП/4-ГБ (рис. 2) в водных растворах по константам, приведенным в работах [12–14]. Жирным шрифтом выделены реакции распада циклов, жирным курсивом - суммарные реакции циклов

Ключевые реакции архаических ВЦ + ВД/4-ГБ-циклов	ΔG^0_{298} , кДж/моль
$\text{CH}_3\text{COOH(ацетат)} + \text{CO}_2 + \text{H}_2 = \text{CH}_3(\text{CO})\text{COOH(пируват)} + \text{H}_2\text{O}$	25,96
$\text{CH}_3(\text{CO})\text{COOH(пируват)} + \text{CO}_2 + \text{H}_2 = \text{CH}_2\text{CO}(\text{COOH})_2(\text{оксалоацетат})$	-217,88
$\text{CH}_2\text{CO}(\text{COOH})_2(\text{оксалоацетат}) + \text{H}_2 = \text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})(\text{COOH})_2(\text{малат})$	-65,23
$\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})(\text{COOH})_2(\text{малат}) = (\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{фумарат}) + \text{H}_2\text{O}$	3,49
$(\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{фумарат}) + \text{H}_2 = (\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{сукцинат})$	-106,4
$(\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{сукцинат}) + \text{CO}_2 + \text{H}_2 = (\text{CH}_2)_2\text{CO}(\text{COOH})_2(2\text{-оксоглутарат}) + \text{H}_2\text{O}$	23,74
$(\text{CH}_2)_2\text{CO}(\text{COOH})_2(2\text{-оксоглутарат}) + \text{CO}_2 + \text{H}_2 = (\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})_3(\text{цитрат})$	-27,59
$(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{OH})(\text{COOH})_3(\text{цитрат}) = \text{CH}_2\text{CO}(\text{COOH})_2(\text{оксалоацетат}) + \text{CH}_3\text{COOH(ацетат)}$	2,61
$2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 = \text{CH}_3\text{COOH(ацетат)} + 2\text{H}_2\text{O}$	-169,38
Ключевые реакции архаических 3-ГП + 3-ГП/4-ГБ-циклов	ΔG^0_{298} , кДж/моль
$\text{CH}_3\text{COOH(ацетат)} + \text{CO}_2 = \text{CH}_2(\text{COOH})_2(\text{малонат})$	48,11
$\text{CH}_2(\text{COOH})_2(\text{малонат}) + 3\text{H}_2 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH(пропионат)} + 2\text{H}_2\text{O}$	-184,09
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH(пропионат)} + \text{CO}_2 = (\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{сукцинат})$	32,60
$(\text{CH}_2)_2(\text{COOH})_2(\text{сукцинат}) = (\text{CH})_2(\text{COOH})_2(\text{фумарат}) + \text{H}_2$	106,40
$(\text{CH})_2(\text{COOH})_2(\text{фумарат}) + \text{H}_2\text{O} = \text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})(\text{COOH})_2(\text{малат})$	-3,49
$\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})(\text{COOH})_2(\text{малат}) = \text{CH}_3\text{COOH(ацетат)} + \text{OCH-COOH(глиоксилат)}$	14,51
$2\text{CO}_2 + 2\text{H}_2 = \text{OCHCOOH(глиоксилат)} + \text{H}_2\text{O}$	14,04
$2\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 = \text{CH}_3\text{COOH(ацетат)} + 2\text{H}_2\text{O}$	-169,38

метически сходным с железо-серными кластерами некоторых ферментов современных путей фиксации (фумарат-редуктаза, СО-дегидрогеназа и др.). Такие минеральные темплат-подобные структуры способны адсорбировать реагенты и таким образом уменьшать энтропийный фактор химических реакций. На рис. 3 приведена диаграмма химических потенциалов кислорода и сероводорода, на которой показаны области термодинамической устойчивости (фации) минералов молибдена, вольфрама, ванадия, никеля и железа в газовой фазе при 500°C. Все моновариантные равновесия являются окислительно-восстановительными буферами, определяющими редокс-обстановку окружающей среды. Так молибденовые и вольфрамовые

равновесия соответствуют восстановительным условиям, тогда как ванадиевое равновесие



как и область устойчивости метастабильного грейгита (рис. 3, Fe_3S_4 , пунктирные линии), определяют высоко окислительные условия.

Основной реакцией инициации фиксации CO_2 считается реакция синтеза тиоэфира ацетата (аналога ацетил-СоА) из СО и H_2S в геохимическом гидротермальном окружении [17]. В экспериментах, моделирующих реакции восстановительных путей при высоких гидротермальных температурах, показано, что водная суспензия соосажденных NiS и FeS транс-

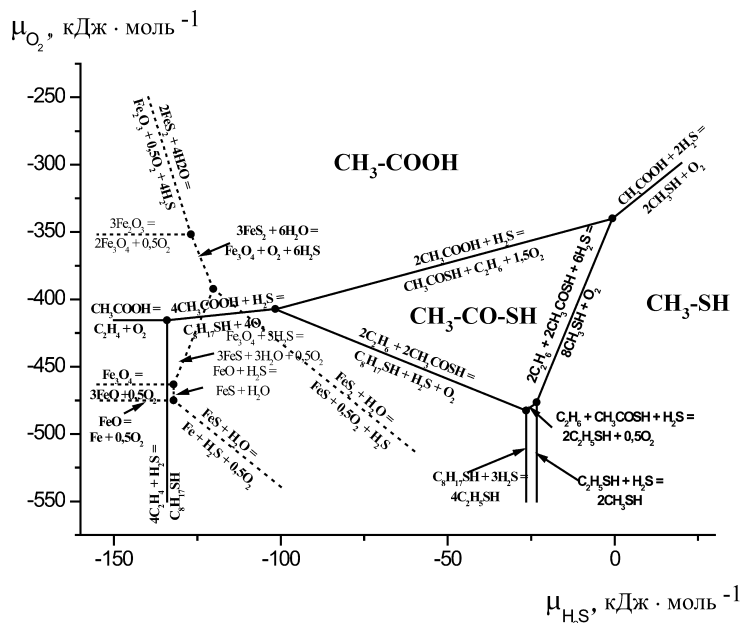


Рис. 4. Фазовая диаграмма C-H-O-S системы как функция химических потенциалов кислорода и сероводорода при 500°C (по константам [19, 20]), демонстрирующая газофазную трансформацию углеводородов (этилен, этан) в алкилтиолы, ацетат и тиоацетат. Пунктирными линиями нанесена система Fe-H-O-S (обозначения на рис. 3)

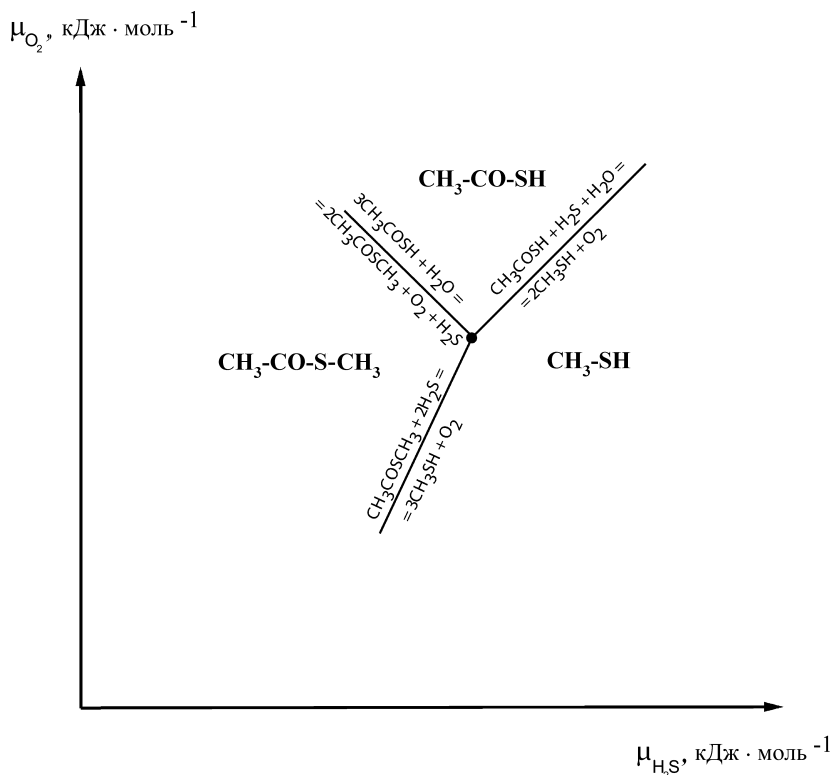


Рис. 5. Фации метилтиола (CH₃SH), тиоацетата (CH₃COSH) и макроэргического тиоэфира CH₃CO~SCH₃ в фазовом пространстве химических потенциалов кислорода (μ_{O₂}) и сероводорода (μ_{H₂S})

CH₃-CO-CH₂-CO~SCH₃ (метильный тиоэфир ацетоацетата) + H₂O → CH₃-CO~SCH₃ (метильный тиоэфир ацетата) + CH₃COOH (ацетат) – циклы 3-ГП/4ГБ и ВД/4-ГБ.

Метильные тиоэфиры оксалоацетата и ацетата являются катализаторами, способствующими образованию интермедиатов САФ-цикла (см. рис. 2). Эта каталитическая квазистационарная система (согласно

[25]) превращается в автокаталитическую, если продукты реакций становятся или катализаторами или каталитическими интермедиатами. Когда продукты синтезируемого из углеводов анаэробического материала для циклов (ацетат и сукцинат, согласно

[10]) находятся в избытке, все компоненты этих автокаталитических систем развиваются экспоненциально, что вычлняет рассматриваемую автокаталитическую систему из окружающей среды и приводит к ее автономности.

Работа выполнена при финансовой поддержке Президиума РАН (программа фундаментальных исследований № 24, подпрограмма 1: «Происхождение биосферы и эволюция гео-биологических систем»).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Berg I.A., Kockelkorn D., Buckel W., Fuchs G. // Science. 2007. **318**, P. 1782.
2. Huber H., Gallenberger M., Jahn U. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. **105**. P.7851.
3. Teufel, R., Kung, J.W., Kockelkorn, D. et al. // J.Bacteriol. 2009. **191**. N 14. P. 4572.
4. Ramos-Vera H.W., Berg I.A., Fuchs G. // J. Bacteriol. 2009. **191**. N 13. P. 4286.
5. Wachtershauser G. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1990. **87**. P. 200.
6. Morowitz H.G. // Complexity. 1999. **4**. N 6. P. 39.
7. Smith E., Morowitz H.G. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 2004. **101**. N 36. P. 13168.
8. Martin W., Russell M.J. // Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 2007. **362**. P. 1887.
9. Маракушев С.А. // Доклады РАН. 2008. **418**. № 3. С. 412.
10. Marakushev S. A., Belonogova O. V. // J. Theoret. Biol. 2009. **257**. P. 588.
11. Verhees C.H., Kengen S.W.M., Tuininga J. E., et al. // Biochem. J. 2003. **375**. P. 231.
12. Miller S., Smith-Magowan D. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1990. **19**. N 4. P. 1049.
13. Mavrovouniotis M. L. // J. Biol. Chem. 1991. **266**. N 22. P. 14440.
14. Amend, J.P., Shock, E.L. // FEMS Microbiol. Rev. 2001. **25**. P. 175.
15. Cody G.D., Boctor N.Z., Brandes J.A. et al. // Geochim. Cosmochim. Acta. 2004. **68**. P. 2185.
16. Robie R.A., Hemingway B.S. Thermodynamic Properties Substances at 298.15 K and 1 Bar (105 Pascals) Pressure and Higher Temperatures. US Geological Survey Bulletin. 1995. Washington.
17. Heinen W., Lauwers A. M. // Orig. Life Evol. Biosph. 1996. **26**. P. 131.
18. Huber C., Wachtershauser G. // Science. 1997. **276**. P. 245.
19. Stull D.R., Westram E.F., Sinke G.C. The chemical thermodynamics of organic compounds. N.Y.; L., Sydney, Toronto, 1969.
20. Караетьянц М.Х., Караетьянц М.Л. Основные термодинамические константы неорганических и органических веществ. М., 1968.
21. Proskurowski G., Lilley M.D., Seewald J.S. et al. // Science. 2008. **319**. P. 604.
22. Konn C., Charlou J.L., Donval J.P. et al. // Chemical Geology. 2009. **258**. P. 299.
23. Marakushev A.A., Marakushev S.A. // Lithol. Miner. Res. 2008. **43**. С. 454.
24. Baltscheffsky H. Chemical Evolution and the Origin of Life. Amsterdam, 1971. P. 466.
25. Lindahl P.A. // Orig. Life Evol. Biosph. 2004. **34**. P. 371.

Поступила в редакцию 20.01.10

METABOLIC DESIGN AND BIOMIMETIC CATALYSIS OF ARCHAIC CHEMOAUTOTROPHIC CO₂ FIXATION CYCLE

S.A. Marakushev, O.V. Belonogova

(Institute of problem of chemical physics RAS, Chernogolovka, Moscow region)

On the base of *Bacteria* and *Archaea* contemporary metabolic pathways, which have an ancient phylogenetic roots, a new biomimetic design of archaic autocatalytic chemoautotrophic cycle of CO₂ fixation (CAF cycle) was proposed. The competition between archaic chemoautotrophic cycles inside of CAF cycle should lead to chemical natural selection of cycles in hydrothermal conditions of the ancient Earth. Physical and chemical conditions of formation activated thioesters of CH₃CO~SCH₃ type (analogues acetyl-coenzyme A), activating of assimilation CO₂ fixation cycles intermediates are considered.

Key words: *chemoautotrophic CO₂ fixation, autocatalytic cycles, chemical natural selection, hydrocarbons, biomimetic mineral catalysis, chemical potentials, organic acid alkylthioethers.*

Сведения об авторах: Маракушев Сергей Алексеевич – вед. науч. сотр. лаб. радиоспектрометрии макромолекул Института проблем химической физики РАН, докт. биол. наук (marak@cat.icp.ac.ru); Белоногова Ольга Васильевна – науч. сотр. лаб. радиоспектрометрии макромолекул Института проблем химической физики РАН, канд. хим. наук (ovbel@icp.ac.ru).