

УДК 577.151.3

**Б.М. Галкін, Т.О. Філіпова**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: bgalkin@ukr.net

## **ЦИТОХРОМИ P-450: I. ЗАГАЛЬНІ І ЕВОЛЮЦІЙНІ АСПЕКТИ**

*У статті представлено огляд сучасних наукових публікацій, в яких наведені дані про молекулярну структуру, механізми монооксигеназного каталізу, генетику, систематику, еволюційне походження родин цитохромів P-450 у різних видів прокариот і еукаріот і їх біологічні функції. Проведено порівняльний аналіз родин цитохромів P-450.*

*Ключові слова: цитохром P-450, монооксигенази, гени CYP, НАДФН-цитохром P-450 редуктаза, ферредоксини, НАДН-ферредоксин редуктаза.*

Дещо більше ніж п'ятдесят років тому був відкритий цитохром P-450. Вченими Гарфінкелем і Кліненбергом [16, 21] було встановлено, що ендоплазматичний ретикулум печінки експериментальних тварин містить невідому пігментну речовину, яка, відновлюючись, приєднує окис вуглецю і утворює комплекс з максимумом поглинання при 450 нм. У 1962—1964 роках японськими вченими Омура і Сато також був знайдений та виділений цей пігмент [30, 31]. Пізніше така структура була названа P-450, а після визначення її гемопротейнової природи — цитохромом P-450. Свою назву він отримав наступним чином: латинська літера P означає, що цей пігмент був вперше знайдений у Філадельфії (Philadelphia), але літеру h було відкинуто; цифра 450 відображає максимум поглинання відновленої форми пігменту з монооксидом вуглецю. За класифікацією цей гемопротейд відноситься до цитохромів групи b. Цитохроми b містять в собі протопорфірин IX. Згодом виявилось, що цитохром P-450 є термінальною оксидазою групи ферментних комплексів, які належать до монооксигеназ (гідроксилаз). Вони поширені у живій природі, оскільки виявлені у різних живих істот від бактерій до людини [3].

Найбільш дивовижною властивістю цитохром P-450 залежних ферментів є те, що вони окиснюють велике коло природних субстратів [4, 24] і практично всі ксенобіотики [1]. Тому цитохром P-450 вивчають біохіміки,



генетики, мікробіологи, екологи, токсикологи та фармакологи. Деякий час усі монооксигенази, залежні від цитохрому P-450, які каталізували гідроксилування найрізноманітніших сполук, називалися оксидазами змішаних функцій [10].

Цитохром P-450 залежні ферменти відносяться до класу оксидоредуктаз, підкласу монооксигеназ, тому що вони каталізують пряму реакцію між своїми субстратами та киснем. Цитохром P-450 залежні ферменти приєднують один атом кисню до субстрату, другий відновлюють до води. Такі ензими називають монооксигеназами. Простетичною групою цих ферментів є гем (протогем). У гемі 4 лігандних групи порфірину утворюють комплекс із залізом, і він має плоску будову, а 5 і 6 координаційні зв'язки розташовані перпендикулярно до площини порфіринового кільця. Наприклад, у гемоглобіні 5 положення зайнято імідазольною групою гістидину, а 6 залишається незаміщеним, або заміщується киснем. Природа 5 і 6 лігандів у цитохрому P-450 остаточно не з'ясована. Відомо, що хімічні моделі ферменту, де 5 лігандом є атом сірки, а 6 — азот імідазолу, краще за все моделюють властивості цього гемопротейну. Тому, будучи за структурою гему цитохромом групи b, він відрізняється, як вже зазначалося вище, 5 аксіальним лігандом, яким є сірка цистеїну [2, 9]. Таким чином, ми бачимо, що цитохром P-450 за своїми функціями не відповідає класу цитохромів, тому Номенклатурною Комісією Міжнародного Союзу біохіміків та молекулярних біологів (NC-IUBMB) рекомендовано цей фермент називати гем-тіолатний протеїн P-450 замість цитохром P-450 [29].

Білкова частина різних ізоформ цитохрому P-450 відрізняється амінокислотним складом, але всі вони мають консервативну ділянку у кінцевій карбоксильній групі, що містить 26 амінокислотних залишків.

Існують відмінності в електрон-транспортній системі цитохрому P-450. Одні використовують НАДФН-цитохром P-450 редуктазу — це печінкові цитохроми ссавців і вони, як правило, пов'язані з катаболічними процесами. Інші використовують FAD-місткі редуктази, залізо-сірчані ферредоксини і вони, як правило, пов'язані з наднирковими залозами (мітохондріальні форми P450), що беруть участь у біосинтезі стероїдів (анаболічні процеси). Усі, крім одного з відомих бактеріальних P-450, використовують аналогічну систему. Винятком є P-450 BM-3 з *Bacillus megaterium*, що використовує НАДФН-цитохром P-450 редуктазу, яка аналогічна печінковим цитохромам ссавців [15].

Незважаючи на те, що цитохром P-450 залежні ферменти з різноманітних біологічних джерел відрізняються один від одного, існує певна послідовність реакцій, за яких гемопротейни взаємодіють з субстратами, киснем та донорами електронів [2]. Цей процес можливо уявити, як коло п'яти послідовних реакцій:

1. Взаємодія форми цитохрому P-450 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) з субстратом;



2. Відновлення утвореного фермент-субстратного комплексу в НАДФН – специфічній системі переносу електронів;

3. Взаємодія атмосферного кисню з комплексом цитохром Р-450 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) – субстрат та утворення потрійного комплексу цитохром Р-450 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) – субстрат –  $\text{O}_2$ ;

4. Активація молекулярного кисню в оксигенованому комплексі шляхом його відновлення;

5. Розпад комплексу на окисний цитохром Р-450 і окисний субстрат.

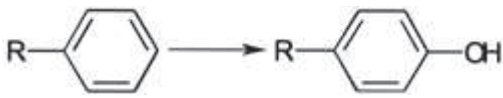
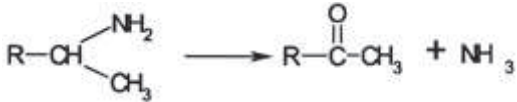
Кількість субстратів, які залучаються до монооксигеназного каталізу дуже велика, тому прийнято їх підрозділяти на певні типи реакцій (табл. 1) [7].

Таблиця 1

Типи реакцій монооксигеназного каталізу [7]

Table 1

Types of monoxygenes catalysis reactions [7]

Аліфатичне гідроксинювання	$\text{R-CH}_3 \rightarrow \text{R-CH}_2\text{OH}$
Епоксидування	$\text{R-CH=CH-R} \rightarrow \text{R-CH(O)-CH-R}$
Ароматичне гідроксинювання	
<b>Окиснювальне дезалкілювання</b>	
N-деалкілювання	$\text{R-NHCH}_3 \rightarrow \text{R-NH}_2 + \text{CH}_2\text{O}$
O-деалкілювання	$\text{R-O-CH}_3 \rightarrow \text{R-OH} + \text{CH}_2\text{O}$
S-деалкілювання	$\text{R-S-CH}_3 \rightarrow \text{R-SH} + \text{CH}_2\text{O}$
<b>N – окиснення</b>	
Первинні аміни	$\text{R-NH}_2 \rightarrow \text{RNHOH}$
Вторинні аміни	$\text{R}_1\text{R}_2\text{-NH} \rightarrow \text{R}_1\text{R}_2\text{-NOH}$
Третинні аміни	$\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{-N} \rightarrow \text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{-N=O}$
S-окиснення	$\text{R}_1\text{R}_2\text{-S} \rightarrow \text{R}_1\text{R}_2\text{-S=O}$
Дезамінування	
Десульфування	$\text{R}_1\text{R}_2\text{-C=S} \rightarrow \text{R}_1\text{R}_2\text{-C=O}$
Дегалогенування	$\text{R-CH}_2\text{CL} \rightarrow \text{R-CH}_2\text{OH}$



Виходячи з хімічної структури субстратів та продуктів їх окиснення (метаболітів), очевидно, що такі реакції можуть здійснюватися, як з ендогенними, так і з чужорідними (ксенобіотиками) сполуками. До ендогенних сполук відносяться стероїди, жовчні кислоти, жирні кислоти, простагландини, лейкотрієни, біогенні аміни, ретиноїди, гідропероксили ліпідів [4, 6, 24].

У рослин цитохром P-450 каталізує реакції окиснення ендогенних сполук, які відповідають за смак, запах та забарвлення (пігмент) квіток [3].

Цитохром P-450 метаболізує практично усі ксенобіотики. З фізіологічної точки зору, реакції гідроксилування ксенобіотиків спрямовані на захист живих систем від накопичення в них гідрофобних сполук.

Проте в багатьох випадках ці процеси призводять до появи проміжних реакційно активних метаболітів, продуктів неповного відновлення кисню, які хімічно модифікують макромолекули і стимулюють реакції перекисного окиснення ліпідів. Усе це є причиною прояву різних видів токсичності, канцерогенезу та мутагенезу [5]. Виходячи з вище написаного, можна зробити висновок, що цитохром P-450 відіграє велику роль у метаболізмі клітин живих істот.

Основним постулатом ферментативної теорії є субстратна специфічність ферментів. Вона може бути абсолютною, чи відносно широкою. Все ж таки, важко припустити, що каталітичне окиснення різних за хімічною структурою сполук може здійснюватися одним цитохром P-450 залежним ферментом. Для доказу існування цитохрому P-450 в різних ізоформах були використані його індуктори. Першою хімічною сполукою, яка потім стала класичним індуктором цитохрому P-450, є фенобарбітал (клас барбітуратів). Він активував не тільки монооксигеназні реакції, залежні від гемопротейду, але і посилював синтез самого цитохрому P-450. Потім з'ясувалося, що не всі монооксигеназні реакції активуються за тривалої дії фенобарбіталу. Наприклад, ферментні реакції, які метаболізують поліциклічні вуглеводні (бензопірен, метилхолантрен та ін.), не активуються при дії цього барбітурату, але за тривалого введення 3-метилхолантрени метаболізм поліциклічних вуглеводнів прискорювався у 2–3 рази. При цьому в мікросомах печінки експериментальних тварин з'являвся новий пігмент, який у відновленій формі зв'язувався з монооксидом вуглецю і мав максимум поглинання при 446–448 нм. Крім того, у цих форм була різна молекулярна маса. Цей новий цитохром отримав назву цитохром P-448 [8]. У подальшому було встановлено, що індукцію монооксигеназ викликає велика кількість хімічних сполук, які відносяться до різних класів органічних речовин, але всі вони мали одну властивість: усі ці сполуки були гідрофобними, тому у значних кількостях накопичувались у клітинах. Таким чином, тривалий контакт субстрату і ферменту призводить до індукції цього ензиму. Було зроблено припущення, що індукція в своїй основі носить пристосувальний характер, оскільки призводить до збільшення швидкості метаболізму ксенобіотиків, тобто до прискорення

їх елімінації з клітин [7]. Надалі було показано, що цитохром P-450 існує у множинних формах, а ці форми, в порівнянні з іншими ферментами, мають відносно невисоку субстратну специфічність. З кожним роком кількість відомих ізоформ цитохрому P-450 збільшувалась і автори, які відкривали нові форми гемопротейну, давали їм різні назви. Причому, одна і та ж ізоформа цитохрому P-450 у різних авторів носила різні найменування. Така ситуація дуже ускладнювала дослідження в цій галузі науки. Тому у кінці 80-х — на початку 90-х років ХХ століття за допомогою сучасних методів молекулярної біології і молекулярної генетики була створена уніфікована класифікація ізоформ цитохрому P-450 [17, 29]. Ця молекулярна класифікація не тільки дозволила навести лад у назвах ізоформ цитохрому P-450, але і вивчити еволюцію родин цитохромів P-450. За основу класифікації ізоформ гемопротейнів був прийнятий постулат молекулярної біології „один ген — один білок”, який в ензимології звучить як „один ген — один фермент”. Із цього постулату випливає, що всі ізоформи цитохрому P-450 кодуються різними генами, але всі гени мають спільне історичне походження. Незважаючи на те, що ізоформи цитохрому P-450 мають різні амінокислотні послідовності, все ж існують основні принципи схожості складу білкової молекули, тому ці закономірності були використані для сучасної класифікації цитохромів P-450.

Причому, певні форми P-450 можуть бути конститутивними, а інші індукцибельними. Для ізоформ цитохрому P-450 характерною особливістю є експресія генів. Методами білкової хімії (очищення ферментів, визначення їх амінокислотного складу та ін.), а також молекулярної біології (імунохімічних методів), генної інженерії (перенос гену у *E. coli* і суперекспресія, яка дає змогу накопичувати фермент для аналізу) в даний час встановлена велика кількість ізоформ цитохрому P-450 і їх генів (табл. 2).

Для позначення цитохромів P-450 використовують аббревіатуру CYP (cytochrom P-450). Гени і продукти їх експресії (mRNA, cDNA) також позначаються CYP. Усі цитохроми P-450 називаються надродинию, яка підрозділяється на родини. Сюди входять білки, які мають близько 40% подібності амінокислотного складу і позначаються цифрою (1, 2, 3 і т. ін.). Підродини — білки з амінокислотною подібністю 65%. Для їх позначення використовують літери латинського алфавіту (A, B, C і т. ін.).

Всередині підродини білки мають схожість більш ніж на 65% і це, як правило, індивідуальні ферменти (ізоформи). Вони позначаються цифрою, що стоїть після літери (1A1; 3B3; 3C4 тощо). До теперішнього моменту відомо більш ніж 175 родин цитохромів P-450 [29]. З точки зору філогенезу ця класифікація не дуже справедлива, тому що родини цитохромів P-450 хребетних отримали перші номери. Наприклад, CYP1, CYP2, CYP3, а родини бактерій отримали останні номери CYP101-175, при цьому прокаріоти більш давні організми, ніж рослини, безхребетні та хребетні.



## Кількість родин цитохромів P-450

## The number of cytochrome P-450 families

Таксономічна одиниця	Кількість видів	Кількість родин цитохромів P-450	Підродини цитохромів P-450
Хребетні	1607	69	169
Безхребетні	1675	59	338
Рослини	4266	126	464
Гриби	2570	459	1011
Протисти	247	62	119
Бактерії	905	196	409
Археї	22	12	14
Віруси	2 (мінівіруси)	2	2
Загальна	11294	977	2519

Усі родини цитохромів P-450 виконують у клітинах різних організмів свої специфічні функції. Від метаболізму ксенобіотиків до синтезу ендогенних регуляторів. Наприклад, CYP1 — знайдений у більшості хребетних, каталізує реакції метаболізму поліциклічних вуглеводнів, ароматичних амінів та індукується діоксином, метилхолантеном; CYP2 — знайдений у хребетних та безхребетних (комах), каталізує різні чужорідні сполуки; CYP3 — знайдений у хребетних, каталізує метаболізм ліків та ксенобіотиків; CYP4 — метаболізує жирні кислоти у хребетних, а у комах його функція ще досі не вивчена; CYP5 — у хребетних бере участь у біосинтезі тромбоксану A<sub>2</sub>, одного з регуляторів системи коагуляції крові, а у комах каталізує метаболізм речовин рослинного походження; CYP11, 17, 19, 21, 24, 27 — беруть участь у синтезі та метаболізмі гормонів; CYP51–CYP62 — знайдені у мікроскопічних та макроскопічних грибів; CYP101–196 знайдені у різних видів прокаріот. Більш детальну інформацію про функції родин цитохромів P-450 можна отримати у статті М.Я. Головенко [7]. Існують також різні ресурси в Інтернеті, на яких дана повна молекулярна структура всіх відомих на сьогодні родин цитохромів P-450. Структури і функції бактеріальних цитохромів P-450 будуть розглянуті і проаналізовані у наступній статті.

Успіхи у сучасній класифікації родин цитохромів P-450, яка спирається на молекулярно-біологічну і молекулярно-генетичну базу, дозволили створити філогенетичне дерево еволюції цитохромів P-450. Відомо, що функціонально подібні ферменти у філогенетично віддалених видів зберігають загальні елементи структури, але у них можуть істотно розрізнятися



послідовності. Проте загальною властивістю для таких білків є те, що вони не мають змін у амінокислотній послідовності в області активного центру. Ймовірно, будь-яка заміна на цій ділянці або змінює здатність цього ферменту до зв'язування субстрату, або призводить до втрати цього сайту, який бере участь у каталітичному процесі. Отже, передачу ознак з модифікацією можна легко оцінити за дивергенцією амінокислотної послідовності гомологічних білків, тобто на основі обчисленої кількості мутацій у кодонах. Темпи таких мутацій, які змінюють амінокислотні послідовності, різні для окремих родин. Існує багато схем, які визначають спорідненість окремих родин цитохромів Р-450. [12, 26, 28]. Найбільш відомою є схема, в якій основні родини або окремі ізоформи розбиті на вісім (I–VIII) груп. Вони послідовно пов'язані один з одним. Поділ на групи базується на гомології у поліпептидних ланцюгах. До I групи (5 генів) відносяться гемопротеїни, чотири з них присутні в організмах хребетних тварин, а СYP18 виявлений тільки у комах. Група II представлена кластером із 13 генів, що зустрічаються у рослин. Група III складається із 6 генів, і вона характерна для безхребетних тварин. До групи IV входять 5 генів, до них відносяться цитохроми Р-450, що каталізують окислення жирних кислот в організмах прокариотів і еукаріотів. Сім генів групи V кодують мітохондріальні цитохроми Р-450, що забезпечують окиснення стероїдів. Чотири гени, які відносяться до групи VI, знайдені у рослинах і є рослинними цитохромами Р-450. Шість генів групи VII були знайдені тільки у грибів. В групі VIII знаходяться 7 генів, це цитохроми Р-450, що відносяться до різних таксономічних розділів [26, 28].

Як вже було зазначено вище, цитохром Р-450 залежні монооксигенази відносяться до класу оксидоредуктаз і є ферментами аеробного метаболізму. Тому історично він міг з'явитися тільки тоді, коли у прокариотів виник аеробний обмін речовин. Найдавніша форма цитохрому Р-450 виникла десь 1 млрд. 360 млн. років тому в протерозойську еру в мезопротерозойський період [28]. Це був цитохром Р-450 ціанобактерій, який є найбільш стародавнім гемопротеїном у надродині цитохрому Р-450 [35]. В цьому періоді вміст кисню в атмосфері становив приблизно 1%. Це є так звана „точка Пастера”. Вважається, що така концентрація кисню достатня для того, щоб забезпечити стійку життєдіяльність одноклітинних аеробних організмів. Основними живими істотами в цей період були бактерії, ціанобактерії та нижчі гриби. Крім того, вже стали виникати еукаріотні клітини. Автори [26] роблять припущення, що у цьому періоді цитохром Р-450 використовувався для метаболізму холестерину в ендоплазматичному ретикулумі та мітохондріях. У прокариот немає мембранної системи і практично відсутня ця речовина, але є холестериноподібні сполуки, які носять назву гопаноїдів. В еукаріотних клітинах вже з'являється мембранна система, а мітохондрії, з точки зору симбіотичної теорії виникнення еукаріот, є предками бактерій [22]. Приблизно 900 млн. років тому з'явилися форми цитохрому Р-450, які почали брати участь у метаболізмі



ксенобіотиків. Ці ферменти носять назву мікросомальних монооксигеназ, тому що вони розташовані в ендоплазматичному ретикулумі. Приблизно 800 млн. років тому мікросомальні ферменти поділилися на дві родини: CYP1A — індуктором цієї родини є 3-метилхолантрен, бензопірен та терахлордиоксин [19]; CYP2B — індуктором цієї родини є фенобарбітал та інші барбітурати [11]. Перше прискорення темпів еволюції цитохрому P-450 відбулося десь у кінці мезозойської ери, коли виникли птахи та ссавці. Друге і останнє прискорення еволюції цього ферменту відбулося десь 65 млн. років тому у кайнозойську еру, в палеогенному періоді. Це пов'язано з бурхливим розквітом ссавців.

Цитохром P-450-залежні монооксигеназні системи можна розділити на два основних типи: мікросомальні і бактеріальні/мітохондріальні [14]. З іншого боку, класифікацію цитохром P-450-залежних систем, можна створити, виходячи з кількості їх білкових компонентів (рис.) [12]. Мітохондріальна і більша частина бактеріальних цитохром P-450- залежних систем складається з трьох білкових компонентів: флавопротеїд, в якому міститься ФАД (НАДН, НАДФН залежна редуктаза), залізо-сірчані білки (ферредоксини) і цитохром P-450. Еукаріотні мікросомальні системи цитохрому P-450 складаються тільки з двох компонентів, флавопротеїду, що містять ФАД і ФМН (НАДФН-залежна P-450 редуктаза) і цитохром P-450. Прокаріотна 2-компонентна монооксигеназна система цитохрому P-450 є у *Streptomyces carbophilus* [34]. Ця система складається з гемопротеїну P-450 і НАДН-залежної P-450 редуктази, яка містить ФАД і ФМН. Розчинна бактеріальна 1-компонентна монооксигеназна система залежна від цитохрому P-450 BM-3 (CYP102) з *Bacillus megaterium* існує як єдиний поліпептидний ланцюг з 2 функціональними доменами гему і флавіну [13]. При порівнянні амінокислотної послідовності цього поліпептидного ланцюга з функцією цієї системи було встановлено, що ці два домени більш схожі на 2-компонентну систему мікросомальних еукаріотних монооксигеназ цитохрому P-450, ніж на прокаріотну 3-компонентну систему [25].

Слід зазначити, що ця схема не враховує цитохром b5, що входить в електрон-переносний ланцюг цитохром P-450 залежної монооксигеназної системи і служить ефектором і донором електронів [20]. Таким чином, всі ці різноманітні системи мають загальну архітектуру “окиснювально-відновного домену”. Було висловлено припущення, що домен ферменту НАДФН-P-450 редуктази виник під час злиття генів флаводоксину, який є гомологічним ФМН зв'язаному сайту, і доменом ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup> редуктази, що зв'язує НАДФН і ФАД [23]. Всі ці системи побудовані за принципами функціональної аналогії. (Fe-S залізо-сірчані білки і ФМН-зв'язуючі домени флаводоксिनного типу). Таким чином, предками 2-компонентної P-450 монооксигеназної системи могли бути щонайменше три різних білка.



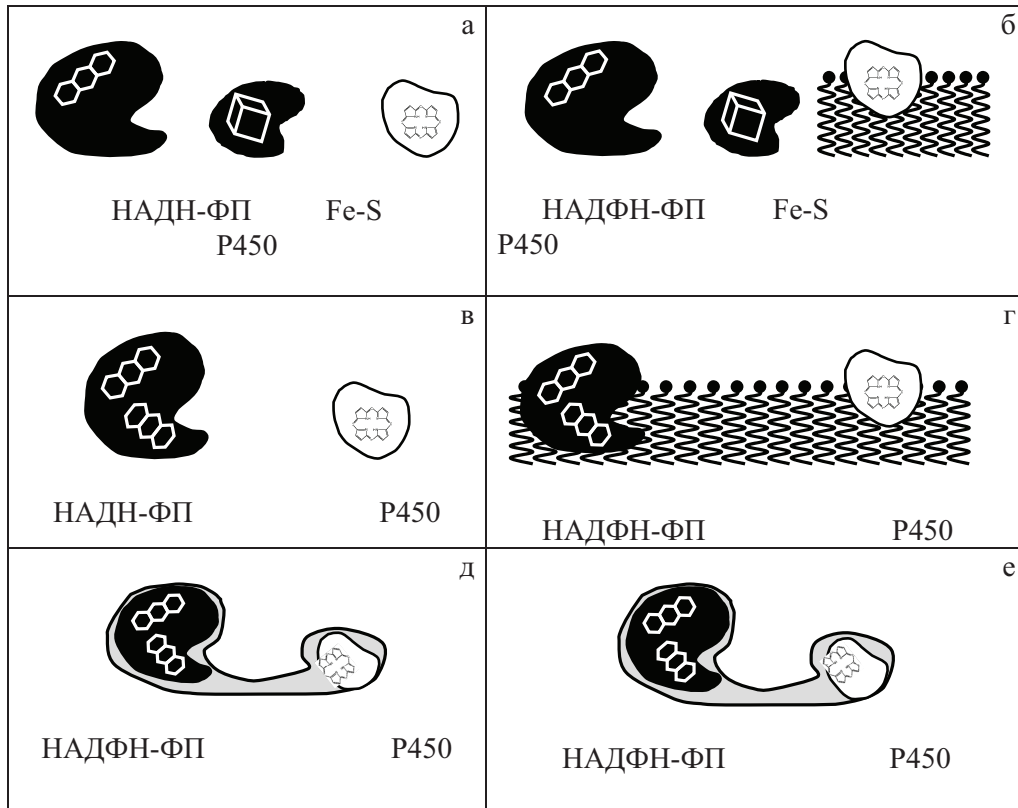


Рис. Класифікація монооксигеназних систем, що містять Р-450 [15]

(а) Бактеріальна трьохкомпонентна система (*Pseudomonas putida*); (б) мітохондріальна трьохкомпонентна система; (в) бактеріальна двокомпонентна Р-450 монооксигеназна система (*Streptomyces carbophilus*); (г) мікросомальна двокомпонентна Р-450 монооксигеназна система; (д) бактеріальна однокомпонентна Р-450 монооксигеназна система (*Bacillus megaterium* Р-450<sub>ВМ-3</sub>); (е) розчинна однокомпонентна Р-450-подібна система (NO-синтаза). НАДН-ФП, НАДФН-ФП – НАДН-, НАДФН- залежні флавопротеїни, відповідно; Fe-S – залізо-сульфурний протеїн.

Fig. Classification of P450-containing monoxygenase systems [15]

(a) Bacterial three-component system (*Pseudomonas putida*); (b) mitochondrial three-component system; (c) bacterial two-component P-450 monoxygenase system (*Streptomyces carbophilus*); (d) microsomal two-component P-450 monoxygenase system; (e) bacterial one-component P-450 monoxygenase system (*Bacillus megaterium* P-450<sub>ВМ-3</sub>); (f) soluble one-component P-450-like system (nitric oxide synthase). NADH-FP, NADPH-FP – NADH-, NADPH-dependent flavoproteins, respectively; Fe-S – iron-sulfur protein.

Злиття кодонів Р-450 і Р-450 НАДФН-редуктази, може призвести до появи 1-компонентної системи. Таким чином, система Р-450ВМ-3, повинна бути еволюційно найбільш «прогресивною». На базі цих даних можна зробити висновок, що еволюція монооксигеназної системи йшла шляхом зменшення кількості білків у цій системі. Механізми злиття прилеглих

генів предків легко собі уявити [18]. Наприклад, у *Pseudomonas sp.* гени, які кодують цитохром P-450, путідаредоксин і путідадоксин редуктазу прилягають один до одного [32]. Злиття сусідніх генів монофункціональних білків пов'язано з втратами інтронів у геномі еукаріот [27]. У ранніх предків в гені P-450 могло міститись більш ніж 100 міні-екзонів, які потім були перетворені, оскільки у древніх еукаріотних генів було встановлено 33 екзони. Показано, що існує взаємозв'язок між екзонами структурних областей НАДФН-редуктази і цитохрому P-450 [33]. В процесі еволюції, можливо, відбулася втрата деяких інтронів у цьому гені.

Встановлено, що структура НАДФН-редуктази більш консервативна, в той час, як структура ізоформ цитохромів P-450 менш консервативна.

При вивченні локалізації цитохром P-450 монооксигеназної системи також можна простежити певну еволюцію цієї системи. Так, за локалізацією у клітинах організмів цитохром P-450 монооксигеназну систему можна розділити на три групи:

1. Мікросоми печінки НАДФН—>Флавонопротеїд II—>Негеміновий Fe-білок—>Цитохром P-450—>O<sub>2</sub>

2. Мітохондрії наднирок НАДФН—>Флавонопротеїд III—>Адренодоксин > Цитохром P-450—>O<sub>2</sub>

3. Бактеріальні монооксигенази НАДФН—>Флавонопротеїд III—>Путідаредоксин—>Цитохром P-450—>O<sub>2</sub>.

Усі компоненти першої групи зв'язані з мембраною. Компоненти другої групи, крім цитохрому P-450, розчинні компоненти. Усі компоненти третьої групи розчинні.

Виходячи із вище викладеного, можна зробити наступні висновки, що цитохром P-450 монооксигеназні ферменти є одними з найдревніших видів дихальних систем. Завдяки своїм властивостям вони відіграють велику роль у обміні речовин у клітинах (від бактерій до людини). Слід зазначити, що крім друкованої інформації за даною проблемою, існують також і спеціалізовані веб-ресурси, на яких можна отримати як загальні дані, так і дані по окремим ізоформам цитохрому P-450. Найбільш інформативним є сайт <http://drnelson.uthsc.edu/cytochromeP450.html>.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Арчаков А.И. Микросомальное окисление. — М.: Наука, 1975. — 327 с.
2. Головенко Н.Я. Механизмы реакций метаболизма ксенобиотиков в биологических мембранах. — К.: Наукова думка, 1981. — 220 с.
3. Головенко Н.Я., Карасева Т.Л. Сравнительная биохимия чужеродных соединений. — К.: Наукова думка, 1983. — 200 с.
4. Головенко Н.Я., Галкин Б.Н. Цитохром P-450 зависимый путь окисления арахидоновой кислоты и ее метаболитов // Укр. биохим. ж. — 1985. — Т. 58, № 2. — С. 104–116.



5. Головенко М.Я. Ксенобіохімія — новий ступінь пізнання природи // Вісн. АН УРСР. — 1985. — № 6. — С. 24–33.
6. Головенко Н.Я., Галкін Б.Н. Биохимические механизмы простагландинсинтеза окисления ксенобиотиков // Вопр. мед.хим. — 1986. — Т. 32, № 2. — С. 9–16.
7. Головенко Н.Я. Некоторые аспекты биохимии, химии, молекулярной биологии и генетики цитохрома Р-450 // Проблемы современной токсикологии. — 2001. — Т. 4, № 3. — С. 32–40.
8. Ляхович В.В., Цырлов И.Б. Индукция ферментов метаболизма ксенобиотиков. — Новосибирск: Наука, 1981. — 240 с.
9. Метелица Д.И. Активация кислорода ферментными системами. — М.: Наука, 1982. — 256 с.
10. Парк В.Ф. Биохимия чужеродных соединений. — М.: Медицина, 1973. — 287 с.
11. Agrawal A.K., Shapiro B.H. Phenobarbital-Imprinted Overinduction of Adult Constituent CYP Isoforms // Pharmacology. — 2003. — V. 68, № 4. — P. 204–215.
12. Archakov A., Zisitsa A., Zgoda V. et al. Censterization of P 450 superfamily using the objective pair alignment method and UPGMA program // Mol. Model. — 1998. — 28, № 4. — P. 153–158.
13. Boddupalli S.S., Estabrook R.W., Julian A. Peterson J.A. Fatty Acid Monooxygenation by Cytochrome P-450BM<sub>3</sub> // J. Biol. Chem. — 1990. — V. 265, № 8. — P. 4233–4239.
14. Coon M.J., White R.E. Dioxygen Binding and Activation by Metal Centers. — Wiley, New York, 1980. — P. 73–123.
15. Degtyarenko K.N., Archakov A.I. Molecular evolution of P450 superfamily and monooxygenase systems P450-containing // FEBS Letters. — 1993. — V. 332, № 1–2. — P. 1–8.
16. Garfinkel D. Studies on pig liver microsomes // Arch. Biochem. and Biophys. — 1958. — V. 77, № 3. — P. 493–509.
17. Gonzalez F.J. The molecular biology of cytochrome P-450s // Pharmacol. Rev. — 1988. — V. 40, № 4. — P. 243–288.
18. Hardie D.G., Coggins J.R. In: Multidomain Proteins: Structure and Evolution. — Elsevier, Amsterdam, 1986. — P. 333–344.
19. Jones S.N., Jones P.G., Ibarguen H., et al. Induction of the Cypla-1 dioxin-responsive enhancer in transgenic mice // Nucleic Acids Research. — 1991. — V. 19, № 23. — P. 6547–6551.
20. Канаева И.П., Дединский И.Р., Скотселиас Е.Д., Вачманова Г.И. Archakov A.I. Comparative study of monomeric reconstituted and membrane microsomal monooxygenase systems of the rabbit liver : I. Properties of NADPH-cytochrome P450 reductase and cytochrome P450 LM2 (2B4) monomers // Arch. Biochem. and Biophys. — 1992. — V. 298, № 2. — P. 395–402.
21. Klingenberg M. Pigments of rat liver microsomes // Arch. Biochem. and Biophys. — 1958. — V. 75, № 2. — P. 376–386.



22. *Kurland C.G., Andersson S.G.E.* Origin and Evolution of the Mitochondrial Proteome // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. — 2000. — V. 64, № 4. — P. 786–820.

23. *Miles J.S.* Structurally and functionally conserved regions of cytochrome P-450 reductase as targets for DNA amplification by the polymerase chain reaction. Cloning and nucleotide sequence of the *Schizosaccharomyces pombe* cDNA // *Biochem J.* — 1992. — V. 287, № 1. — P. 195–200.

24. *Murray M.* Microsomal cytochrome P450-dependent steroid metabolism in male sheep liver // *Th J. Steroid Biochem. and Mol. Biol.* — 1991. — V. 38, № 5. — P. 611–619.

25. *Narhi L.O., Fulco A.J.* Identification and characterization of two functional domains in cytochrome P-450BM-3, a catalytically self-sufficient monooxygenase induced by barbiturates in *Bacillus megaterium* // *J. Biol. Chem.* — 1987. — V. 262, № 14. — P. 6683–6690.

26. *Nebert D.W., Gonzales F.J.* P 450 genes: Structure, evolution and regulation // *Annu. Rev. Biochem.* — 1987. — V. 56, № 3. — P. 572–593.

27. *Nebert D.W., Jones J.E, Owens J., Puga A.* In: *IOxidases and Related Redox Systems*. — Liss, New York, 1988. — P. 557–576.

28. *Nelson D.R., Strobel H.W.* Evolution of cytochrome P-450 proteins // *Mol. Biol. Evol.* — 1987. — V. 4, № 2. — P. 572–593.

29. *Nelson D., Koymans Z., Kamataki T., et al.* P 450 superfamily: update on new sequence, gene mapping, accession numbers and nomenclature // *Pharmacogenetics*. — 1996. — V. 6, № 1. — P. 1–42.

30. *Omura T., Sato R.* A new cytochrome on liver microsomes // *J. Biol. Chem.* — 1962. — V. 237, № 4. — P. 1375–1376.

31. *Omura T., Sato R.* The carbon monoxide-binding pigment on liver microsomes. II. Solubilization, purification and properties // *J. Biol. Chem.* — 1964. — V. 239, № 7. — P. 2379–2385.

31. *Peterson J.A., Lu J-Y, Geisselsoderj J., Graham-Lorencell S. et al.* Cytochrome P-450<sub>tep</sub>. Isolation and purification of the protein and cloning and sequencing of its operon // *J. Biol. Chem.* — 1992. — V. 267, № 20. — P. 14193–14203.

32. *Porter T.D. Beck T.W., Kasper Ch.B.* NADPH-cytochrome P-450 oxidoreductase gene organization correlates with structural domains of the protein // *Biochem.* — 1990. — V. 29, № 42. — P. 9814–9818.

33. *Serizawa N., Matsuoka T.* A two component-type cytochrome P-450 monooxygenase system in a prokaryote that catalyzes hydroxylation of ML-236B to pravastatin, a tissue-selective inhibitor of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase // *Biochim. Biophys. Acta.* — 1991. — V. 1084, № 1. — P. 35–40.

34. *Torres S., Fjetland C.R., Lammers P.J.* Alkane-induced expression, substrate binding profile, and immunolocalization of a cytochrome P450 encoded on the *nifD* excision element of *Anabaena 7120* // *BMC Microbiology*. — 2005. — V. 16, № 5. — P. 1–12.



**Б.Н. Галкин, Т.О. Филипова**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, e-mail: bgalkin@ukr.net

**ЦИТОХРОМЫ P-450:  
I. ОБЩИЕ И ЭВОЛЮЦИОННЫЕ АСПЕКТЫ**

**Реферат**

В статье представлен обзор современных научных публикаций, в которых приведены данные о молекулярной структуре, механизмах монооксигеназного катализа, генетике, систематике, эволюционном происхождении семейств цитохромов P-450 у разных видов прокариот и эукариот, а также их биологические функции. Проведён сравнительный анализ семейств цитохромов P-450.

**К л ю ч е в ы е с л о в а :** цитохром P-450, монооксигеназы, гены CYP, НАДФН-цитохром P-450 редуктаза, ферредоксины, НАДН-ферредоксин редуктаза.

**B.N. Galkin, T.O. Filipova**

Odesa National Mechnykov University,  
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, e-mail: bgalkin@ukr.net

**CYTOCHROME P-450S:  
I. GENERAL AND EVOLUTIONARY ASPECTS**

**Summary**

The article provided the overview of current scientific publications, in which data on the molecular structure, monooxygenase catalysis mechanisms, genetics, systematics, evolutionary genesis of cytochrome P-450 families in different prokaryotes and eukaryotes species and their biological functions were presented. A comparative analysis of cytochrome P-450 families was shown.

**Key words:** cytochrome P-450, monooxygenases, genes CYP, NADPH-cytochrome P-450 reductase, ferredoxine, NADH-ferredoxine reductase.

