

УДК 616.8-003.8, 577.125, 577.121

Оксана МАЛАНЧУК¹, Іван ГУТ², Валерій ФІЛОНЕНКО¹

РЕГУЛЯЦІЯ БІОСИНТЕЗУ КоА В НОРМІ ТА ПРИ ПАТОЛОГІЇ

¹ Інститут молекулярної біології і генетики, НАН України,
Київ, Україна, malanchook@ukr.net

² Інститут структурної та молекулярної біології,
Університетський коледж Лондона,
Велика Британія, i.gout@ucl.ac.uk

Коензим А (КоА) важливий кофактор у всіх живих організмах, а його тіоефірні похідні (ацетил-СоА, малоніл-КоА, ГМГ-КоА, пропіоніл-КоА, сукциніл-КоА і т. п.) залучені до різноманітних анаболічних і катаболічних процесів, алостеричних регуляторних взаємодій, регуляції експресії генів тощо. Біосинтез КоА – консервативний біосинтетичний шлях від прокаріот до еукаріот і складається з п'яти ферментативних реакцій, які потребують наявності пантотенової кислоти, цистеїну та АТФ. Внутрішньоклітинний рівень КоА та його похідних змінюється у відповідь на позаклітинні стимули, стрес і метаболіти, а також за патологічних станів, як онкологічні захворювання, метаболічні розлади, нейродегенеративні процеси. Подано сучасне бачення механізмів біосинтезу КоА, ролі КоА та його похідних у регуляції фізіологічних процесів, їхньої дерегуляції за різних патологічних станів, що є підґрунтям для розробки нових діагностичних і терапевтичних підходів.

Ключові слова: біосинтез КоА, похідні КоА, регуляція біосинтезу КоА, таргетна терапія

Кофермент А (КоА) є універсальним переносником активованих ацил-радикалів у клітинах живих організмів, що зумовлює ключову роль цієї молекули в ліпідно-вуглеводному й енергетичному обміні. Крім того, КоА залучений до процесів ацилювання білків і до регуляції активності та/або субклітинної локалізації компонентів сигнальних шляхів, транскрипційних факторів, іонних каналів тощо [1]. Незважаючи на велику кількість даних літератури щодо ролі КоА та його похідних у клітинному метаболізмі, протягом останніх 20 років значення КоА як ключового регулятора стало поступово виходити за межі його класичної ролі в метаболічних

процесах. Значна кількість розрізнених, але інтригуючих відкриттів, сприяли відродженню інтересу до КоА. Важливим фактором, який став основою відродження досліджень КоА, було з'ясування механізмів біосинтезу та його регуляції, а також ідентифікація генів ензимів залучених у процес його біосинтезу. Це відкрило шлях до нових уявлень щодо біохімічних і фізіологічних функцій не тільки за допомогою генних маніпуляцій на клітинних моделях і на рівні цілих організмів [2–4], а й також з використанням специфічних інгібіторів [5, 6].

De novo біосинтез КоА в клітинах ссавців

Кофермент А – життєво необхідна та незамінна сполука для всіх живих організмів. Відомо, що близько 4% всіх відомих сьогодні ферментів використовують КоА як облігативний кофактор [1]. Крім того, КоА та його похідні безпосередньо залучені до понад 100 різноманітних метаболічних реакцій: біосинтез жирних кислот, кетонів тіл і холестерину (малоніл-КоА і ГМГ-КоА), метаболізм амінокислот (пропіоніл-КоА і сукциніл-КоА), окиснення жирних кислот (ацил-КоА і ацетил-КоА), біосинтез нейротрансмітера ацетилхоліну (ацетил-КоА), і ацетилювання гістонів і регуляції експресії генів (ацетил-КоА) та є джерелом 4'-фосфопантетеїну, який є простетичною групою білків-переносників жирних кислот, полікетидів і нерибосомальних пептид-синтаз (рис. 1).

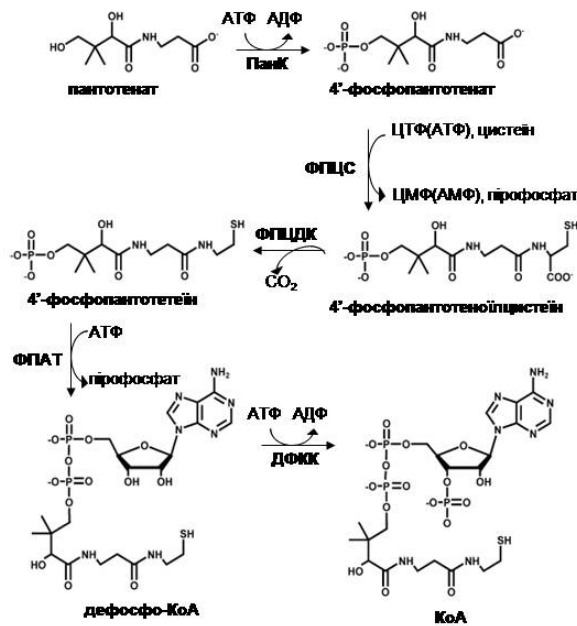


Рис. 1. Функції КоА та КоА похідних у клітинах ссавців

Біосинтез КоА з пантотенової кислоти, яка загальновідома як вітамін В₅, є консервативним біосинтетичним шляхом, який наявний у всіх живих організмах, і складається з п'яти ферментативних реакцій (рис.2). Першу реакцію, фосфорилювання пантотенату до 4'-фосфопантотенату каталізує пантотенаткіназа (ПанК). Наступний крок – конденсація 4'-фосфопантотенату з амінокислотою цистеїном за допомогою 4'-фосфопантотеноїлцистеїн синтази (ФПЦС). Третьою ферментативною реакцією є декарбоксілювання 4'-фосфопантотеноїлцистеїну з утворенням 4'-фосфопантотеніну, яка опосередковується 4'-фосфопантотеноїлцистеїн декарбоксилазою (ФПЦДК). Два останні етапи біосинтезу – це приєднання АМФ до 4'-фосфопантотеніну з утворенням дефосфо-КоА та фосфорилювання дефосфо-КоА з утворенням коферменту А. Ці дві реакції відбуваються у прокариот і рослин двома окремими ферментами – фосфопантотенін-аденінлілтрансферазою (ФПАТ) та дефосфо-КоА кіназою (ДФКК), відповідно. У грибів і тварин ці дві активності поєднані в одному біфункціональному ферменті ФПАТ/ДФКК, що отримав додаткову назву КоА-синтаза (CoASY) [1]. Гени, які кодують ферменти біосинтезу КоА у бактерій, рослин і ссавців, були лише нещодавно ідентифіковані та схарактеризовані. Заразом самі ферменти, регуляція біосинтетичного шляху та їхня роль у фізіології клітин та організмів залишаються мало вивченими.

Пантотенаткіназа (ПанК) – це перший фермент у шляху біосинтезу КоА. Всі відомі пантотенат кінази мають на 80% ідентичний каталітичний домен, до якого з N-кінця прикріплюють неспоріднені подовження, довжина яких може сягати від кількох до 100-200 амінокислотних залишків [1]. У ссавців три гени кодують чотири різних ізоформи ПанК (*PANK1*, *PANK2*, *PANK3* та *PANK4*), які диференційно відповідають на алостеричну регуляцію за типом зворотного зв'язку з боку КоА або його похідних, потенційно дають змогу їм діяти як метаболічні датчики [7]. У цьому контексті логічно, що ізоформи ПанК ссавців мають різну субклітинну локалізацію, що допомагає зберігати гомеостаз КоА в різних субклітинних компартментах. Незважаючи на певні особливості локалізації та регуляторні властивості ізоформ ПанКу ссавців, механізми функціональної компенсації задіяні в КоА біосинтезі, оскільки у нокаутних мишей, які позбавлені експресії окремих генів, Pank проявляється відносно помірний фенотип [7]. Однак подвійний нокаут летальний вже для ембріона (Pank1/Pank3 і Pank2/Pank3), або такі тварини вмирають невдовзі після народження (Pank1/Pank2) [7], що ілюструє фундаментальну значимість КоА.

Ферменти, які використовують другу та третю реакції біосинтезу КоА, досліджені дуже мало. З'ясували, що гени, які кодують 4'-фосфопантотеноїл-цистеїн-синтазу (ФПЦС) та фосфопантотеноїл-цистеїн-декарбоксилазу (ФПЦДК) (рис. 2),



Рис. 2. Схема біосинтезу коферменту А з пантотенату (вітамін В5), цистеїну і АТФ та ферменти, які його використовують

існують в одиничних копіях у геномі людини [8]. Кристалографічні дослідження свідчать, що функціональною формою ФПЦС є димер, який складається з двох ідентичних мономерних субодиниць [1]. Натомість ФПЦДК функціонує як тример за даними кристалографії, кожен мономер якого зв'язаний із флавіновим мононуклеотидним кофактором [1].

Четверту та п'яту реакції біосинтезу коферменту А у ссавців та інших тварин каталізує 4'-фосфопантетеїн-аденеліл-трансфераза/дефосфо-КоА кінза (ФПАТ/ДФКК), яка також має спрощену назву КоА-синтаза. Характерна особливість цього білка – наявність у його складі двох каталітичних центрів, які переносять аденеліловий залишок з АТФ до 4'-фосфопантетеїну з утворенням дефосфо-КоА та подальше фосфорилювання дефосфо-КоА із утворенням КоА (див. рис. 2).

Перше повідомлення щодо існування біфункціонального ферменту, що виконує останні реакції біосинтезу КоА, з'явилося ще в 1983 р. Воррал та Тубс ізолювали з печінки свині фермент молекулярної маси приблизно 57 кДа, який мав ФПАТ і ДФКК каталітичну активності. Внаслідок того, що кінцевим продуктом цього ферменту є КоА, він отримав спрощену назву – КоА-синтаза [9]. Тоді не вдалося ідентифікувати відповідний ген і визначити амінокислотну послідовність цього білка, а отже, виконання двох останніх реакцій біосинтезу КоА одним біфункціональним ферментом залишилось остаточно не доведеним.

кДНК КоА-синтази ссавців ми вперше ідентифікували та схарактеризували у 2002 р. під час скринування кДНК бібліотеки ембріонів миші, спрямованого на

пошук білків партнерів кінази рибосомного білка S6 (S6K) методом двогібридної системи дріжджів [10], а також ще двома незалежними групами дослідників із використанням інших методичних підходів [8, 11].

Регуляція біосинтезу КоА

Рівень КоА і його тіоефірних похідних регулюється різними позаклітинними стимулами, у тім числі факторами росту, гормонами метаболічного гомеостазу, поживними речовинами, внутрішньоклітинними метаболітами, а також у відповідь на стрес. Давно відомо, що голодування, а також гіполіпідемічні препарати – глюкагон і глюкокортикоїди – збільшують загальний рівень КоА [12–14]. З іншого боку, виявили, що інсулін, глюкоза, жирні кислоти і піруват знижують рівень внутрішньоклітинного КоА [15, 16]. Зміни в рівні КоА також спостерігаються за таких патологічних станів: діабет, синдром Рейє, онкопатології, дефіцит вітаміну В₁₂ і серцева гіпертрофія [12, 17–21]. Важливо зазначити, що більшість з цих досліджень було проведено в 60–80-х роках минулого століття, тому є потреба підтвердити та продовжувати ініційовані дослідження з використанням чутливіших методів.

Молекулярні механізми регуляції внутрішньоклітинного рівня КоА і співвідношення КоА/похідні КоА поки не дуже зрозумілі. Більшість досліджень було зосереджено на вивченні регуляції двох ферментів, які лімітують швидкість біосинтезу КоА – ПанК і КоА-синтази. Відомо щонайменше два механізми, які можуть регулювати біосинтез КоА на рівні ПанК, серед яких регуляція активності різних ізоформ пантотенат кінази за принципом зворотного зв'язку кінцевими продуктами шляху – КоА та його тіоестерами [22, 23] та регуляція рівня транскрипції мРНК різних ізоформ ПанК у відповідь на певні екзогенні стимули та метаболіти [24].

Враховуючи, що внутрішньоклітинний рівень КоА/похідних КоА регулюється гормонами, поживними речовинами та внутрішньоклітинними метаболітами, ми ініціювали дослідження перехресту між шляхами сигнальної трансдукції і регуляцією біосинтезу КоА. Ми вперше виявили, що КоА-синтаза формує комплекси з низкою білків, які є компонентами сигнальних шляхів клітини, серед яких кіназа рибосомного білка S6 (S6K) [25], p85 α регуляторна субодинаця ФІЗ кінази (PI3K) [26], фосфатаза Shp2PTP та тирозинкіназа Src [27], і адаптерний білок процесивних тілець (P-bodies) EDC4 [28]. З'ясовано, що деякі з цих взаємодій модулюють фактори росту, або ж чутливі до стресових умов. Крім того, з'ясувалося, що активність і функції КоА-синтази регулюються на рівні післятрансляційних модифікацій. Фосфорилування КоА-синтази представниками родини Src тирозинових кіназ важливе для її взаємодії з p85 α [26]. З іншого боку, дефосфорилування КоА-синтази фосфатазою Shp2PTP *in vitro* призводить до підвищення її ФПАТ активності [29].

Натомість взаємодія КоА-синтази з EDC4, яка також регулюється факторами росту і змінюється за умов стресу, суттєво пригнічує її ДФКК активність *in vitro* [28].

Внутрішньоклітинний вміст КоА в клітинах ссавців

Добре відомо, що рівень коферменту А є нерівномірним всередині клітини і змінюється від одного компартменту до іншого. Особливо високий рівень КоА є в пероксисомах і мітохондріях, де концентрації оцінюють від 0,7 мМ і 2,2–5,0 мМ, відповідно. Цитозольні концентрації КоА значно нижчі і коливаються від 0,02 до 0,14 мМ у різних тканинах і органах [30, 31]. Накопичення КоА в субклітинних компартментах передбачає два варіанти його біосинтезу і транспортування всередині клітини. Перший варіант припускає існування механізму біосинтезу КоА в цитозолі, пероксисомах і мітохондріях і, відповідно, всі ферменти біосинтезу КоА мають бути наявні в цих субклітинних компартментах. Інший варіант передбачає збірку біосинтетичного комплексу лише в цитозолі у відповідь на різні позаклітинні стимули та стреси, а потім відбувається транспортування синтезованого КоА в різні компартменти. В літературі є кілька повідомлень про можливість транспортування КоА в мітохондрії, виділені з дріжджів і клітин ссавців [32].

Сьогодні даних про те, як відбувається та регулюється деградація КоА також дуже мало, а відомості щодо ферментів, які виконують цю деградацію *in vivo* залишаються гіпотетичними. Відомо, що КоА може бути дефосфорильованим із утворенням дефосфо-КоА і цю реакцію може виконувати лізосомальна фосфатаза [33]. Альтернативно, КоА може бути гідролізованим із розщепленням фосфодіестерного зв'язку з утворенням 4'-фосфопантетеїну та 3',5'-аденозін-мононуклеотиду і таку реакцію може виконувати нуклеотид-пірофосфатаза, що є ензимом, який асоційований із плазматичною мембраною [34]. Деградувати КоА може також пероксисомальна фосфодіестераза відома як нудікс (Nudix) гідролаза. Нудікс гідролази є родиною широко розповсюджених ферментів, що елімінують токсичні метаболіти нуклеотидів та ймовірно, регулюють їхню концентрацію та розподілення [35]. Цей ензим є активним щодо КоА та ацил-КоА, а продуктами гідролізу у цьому випадку є 3',5'-аденозін монофосфати та 4'-фосфопантетеїн або ж ацил-фосфопантетеїн похідні у випадку гідролізу ацил-КоА [35].

Регуляція деградації КоА залишається майже не дослідженою. Існують дані, що рівень деградації КоА корелює з підвищеним вмістом жирних кислот [36]. Біохімічна природа регуляції деградації КоА в цих умовах невідома, хоча зазначена вище нуклеотид-пірофосфатаза має схильність щодо ацил-КоА [34]. Утворення ацил-КоА залежить від кількості жирних кислот у цитозолі, відповідно, деградація цитозольних молекул може лімітувати його накопичення. Всупереч цьому припущенню, сер-

цева тканина трансгенних мишей із надекспресією ацил-КоА-синтази накопичувала тригліцериди, що призводило до її гіпертрофії, розладнання функціонування серця та ранньої смерті тварин [37].

Деградація 4'-фосфопантетеїну до пантотенату, який може бути повторно використаний для біосинтезу КоА та цистеаміну, який є попередником таурину та гіпотаурину, а також задіяний у метаболізмі глутатіону, є важливим шляхом метаболізму КоА. Цю біохімічну реакцію виконує родина асоційованих із плазматичною мембраною, позаклітинних пантетеїназ, які отримали назву Ваніни. Генетичні та біохімічні дані засвідчують протекторну функцію цього білка за оксидативного стресу, що, скоріше за все, пов'язано з біосинтезом цистеаміну, який є антиоксидантом [38, 39, 63]. Цей метаболічний шлях є унікальним прикладом функціонування КоА-похідного 4'-фосфопантетеїну як проміжної сполуки в синтезі іншої молекули.

Дерегуляція КоА біосинтезу при нейродегенеративних захворюваннях

Нещодавно виявлено, що причиною комплексу спадкових патологічних синдромів, обумовлених нейродегенерацією у людини, є мутація в гені *hPANK2*, який кодує одну з ізоформ ферменту ПанК. Ці аутосомнорецесивні патології назвали нейродегенерації асоційовані з пантотенат кіназою (ПКАН) і належать до групи нейродегенерацій мозку асоційовану з накопиченням заліза (рис. 3) [90]. Унікальною особливістю ПанК2 ізоформи є те, що в клітинах людини вона локалізована в міто-

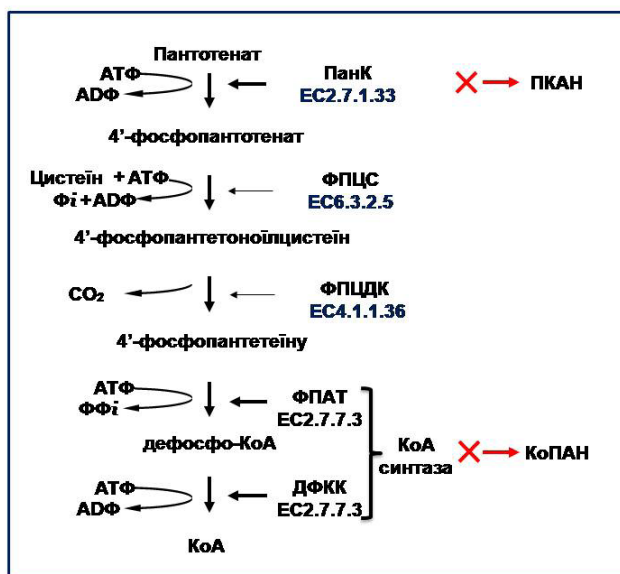


Рис. 3. Мутації генів ПанК та КоА-синтази спричиняють нейродегенерацію мозку асоційовану з накопиченням заліза

хондріальному матриксі [41]. Для детального вивчення цієї хвороби було зроблено спробу створити модель захворювання в організмі миші. Однак аналіз трансгенних тварин із делетованим ортологом *hPANK2* гена не виявив у них синдромів, які є характерні для хворих на ПКАН, а саме накопичення заліза в базальних гангліях, порушень моторики у вигляді дистонії, дизартрії, розладів інтелекту та порушень ходи. Натомість основними фізіологічними порушеннями у *mPanK2^{-/-}* тварин було незначне відставання в рості, дегенерація сітківки ока та азооспермія, що призвела до стерильності у самців [42].

Відсутність симптомів, притаманних трансгенним мишам із делецією гена *PanK2* у людей хворих на ПКАН може бути пов'язано з тим, що у таких хворих виявлено точкові міссенс, але не нуль мутації в гені *PANK2*. Отже, можливо, що ділянки білка, які відповідають за розвиток цих симптомів залишилися функціональними. Крім того, хворих на ПКАН системно не досліджували на наявність нормального сперматогенезу, оскільки при розвитку хвороби в ранньому віці пацієнти зазвичай не доживають до статевого дозрівання, а даних про наявність нащадків у пацієнтів із розвитком хвороби у пізньому віці немає. Пояснити ж відсутність ПКАН синдромів у мишей з нуль мутацією в ортологічному гені складніше. Одне з можливих пояснень – розбіжності в профілях експресії різних ізоформ пантотенаткінази в органах миші та людини, що може означати, що продукти ортологічних генів не є функціонально ідентичними у цих двох видів. Леонарді зі співавторами виявили на рівні мРНК, що тоді як ПанК2 є домінуючою ізоформою пантотенаткінази в мозку людини, її експресія в мозку миші значно нижча, а домінуюча форма в нервовій тканині миші ПанК3. Водночас рівень експресії ПанК2 у спермі миші найвищий порівняно з іншими ізоформами, тоді як в спермі людини ця ізоформа не є кількісно домінуючою [42].

Відкриття в 2014 р. нової форми нейродегенерації мозку асоційовану з накопиченням заліза, відомої як КоА асоційована нейродегенерація (КоПАН), що асоціюється з КоА-синтазою та порушенням кінцевих етапів біосинтезу КоА (рис. 3), додало рішучої підтримки важливій ролі коферменту в функції нейронів і розвитку нейродегенеративних захворювань [43]. Позаяк ПанК2 і КоА-синтаза є асоційованими з мітохондріями в організмі людини, тому виникає важливе питання, чи пониження рівня КоА в мітохондріях є першопричиною порушення функції нейронів. Незважаючи на невирішені механістичні питання з ПКАН, є обнадійливі перспективи для терапії пантотенаткіназо-асоційованих нейродегенерацій, які можуть бути реалізовані завдяки пошуку синтетичних сполук, які зможуть обходити ферментативні блоки в біосинтезі КоА.

Узагальнюючи, можна зробити припущення, що клітини мозку, сперматогенні клітини, а також клітини сітківки ока найчутливіші до нестачі КоА, зумовлені порушення *de novo* КоА біосинтезу. Причини такої чутливості невідомі.

Біосинтез КоА як мішень для нових терапевтичних препаратів

Молекулярні шляхи біосинтезу КоА розглядають як потенційні мішені для створення нових діагностичних і терапевтичних підходів. Зокрема, Салібо зі співавторами дослідили потенціал розробки антималярійних сполук, спрямованих на пригнічення біосинтезу КоА у різних видів *Plasmodium* [44]. Інша група вчених, яку очолив Щалквийк, намагалась підібрати хіміко-біологічний інструментарій для інгібування Ванінів [6], а Стросс і співавтори визначили структурні та біохімічні відмінності між бактеріальними та людськими ферментами біосинтезу КоА, а також ідентифікували специфічні ділянки деяких ферментів як мішені в дизайні антимікробних препаратів [5].

Проведення високоєфективних структуро-орієнтованих скринів допомогло визначити вибірккові та потужні *in vitro* інгібітори PanK типу I *Mycobacterium tuberculosis* (MtPanK1). На жаль, ці сполуки виявилися неефективними *in vivo*. Також є відомості про інгібітори ФПЦС і ФПЦД, але сьогодні їх клінічно не застосовують.

Альтернативний підхід до селективного інгібування ферменту, який розробляють з 40-х років ХХ ст., є розробка похідних пантотенової кислоти (anti-Pans), які можуть бути антиметаболітами КоА (anti-CoAs) [5, 6]. Ці сполуки не дають змоги каталітично чутливому тіолу включатися в структуру КоА або, навпаки, включають шкідливі реакційно здатні частинки, що в обох випадках призводить до утворення молекул, які інтерферують з КоА-залежними процесами. N-заміщені пантотенаміди, N5-Pan (N-pentylpantothenamide) і N7-Pan (N-heptylpantothenamide) найефективніші інгібітори росту бактерій, що виявлені сьогодні [5, 6]. Ці сполуки були також досліджені як антиплазмодійні агенти, але вони ефективні тільки коли Ванінові пантотенази неактивні або інгібовані. Високороздільні таргетні скринінги активності пантотеїнази дали підстави ідентифікувати зворотні, конкурентні інгібітори ванінів *in vitro* та визначити оптимальні головні компоненти серед отриманих інгібіторів з IC50 в наномолярному діапазоні [6]. Наступні дослідження виявили, що антибіотики пантотенаміди також можуть бути субстратами для цих ферментів, що інгібітори Ванінів можуть захищати ці сполуки від гідролізу. Отож, інгібітори Ванінів знайшли альтернативне потенційне використання в комбінованій терапії з антиметаболітами КоА.

ВИСНОВКИ ТА НЕВИРШЕНІ ПИТАННЯ

Після молекулярного клонування генів, які кодують ферменти біосинтезу КоА, виявлення асоціації біосинтезу КоА з нейродегенеративними процесами та усвідомлення перспектив розробки нових антибактеріальних препаратів на підставі особливих відмінностей КоА біосинтезу в прокариот і ссавців дослідження в цьому напрямі особливо актуальні. Треба зберегти цей імпульс і продовжувати інтенсивні дослідження механізмів регуляції біосинтезу КоА в різних організмах, його субклітинної локалізації та визначення механізмів, за допомогою яких підтримуються субклітинні пули, критичний аналіз їхньої ролі в різних КоА-залежних процесах. Важливим моментом у цьому контексті є використання інноваційних підходів, сучасних технологій і методів для проведення точних вимірювань рівнів КоА/похідних КоА на клітинному та субклітинному рівнях, для моніторингу утворення багатоензимного комплексу КоА біосинтезу, а також для розробки нових моделей досліджень. Визначення ролі КоА і його похідних у нормі та патології є важливим завданням на майбутнє.

БІБЛІОГРАФІЧНІ ПОСИЛАННЯ

1. Leonardi, R., Zhang, Y.M., Rock, C.O., Jackowski, S., 2005. Coenzyme A: back in action. *Prog. Lipid. Res.* 44 (2-3), 125-153.
2. Rubio, S., Larson, T.R., Gonzalez-Guzman, M., Alejandro, S., Graham, I.A., Serrano, R. et al., 2006. An Arabidopsis mutant impaired in coenzyme A biosynthesis is sugar dependent for seedling. *Plant Physiol* 140(3), 830-843.
3. Garcia, M., Leonardi, R., Zhang, Y.M., Rehg, J.E., Jackowski, S., 2012. Germline deletion of pantothenate kinases 1 and 2 reveals the key roles for CoA in postnatal metabolism. *PLoS ONE*. 7, e40871.
4. Nakamura, T., Pluskal, T., Nakaseko, Y., Yanagida, M., 2012. Impaired coenzyme A synthesis in fission yeast causes defective mitosis, quiescence-exit failure, histone hypoacetylation and fragile DNA. *Open Biol* 2, 120117.
5. Moolman, W.J.A., de Villiers, M., Strauss, E., 2015. Recent advances in targeting coenzyme A biosynthesis and utilization for antimicrobial drug development. *Biochem. Soc. Trans.* 42, 1080–1086.
6. Schalkwijk, J., Jansen, P., 2014. Chemical biology tools to study pantetheinases of the vanin family. *Biochem. Soc. Trans.* 42, 1052–1055.

7. Dansie, L.E., Reeves, S., Miller, K., Zano, S.P., Frank, M., Pate, C. et al., 2014. Physiological roles of pantothenate kinases. *Biochem. Soc. Trans.* 42, 1033–1036.
8. Daugherty, M., Polanuyer, B., Farrell, M., 2002. Complete reconstitution of the human coenzyme A biosynthetic pathway via comparative genomics. *J. Biol. Chem.* 277 (24): 21431-21439.
9. Worrall, D.M., Tubbs, P.K., 1983. A bifunctional enzyme complex in coenzyme A biosynthesis: purification of pantetheine phosphate adenyltransferase and dephospho-CoA kinase. *Biochem. J.* 215(1), 153-157.
10. Zhyvoloup, A., Nemazanyy, I., Babich, A., Panasyuk, G. et al., 2002. Molecular cloning of CoA Synthase. The missing link in CoA biosynthesis. *J. Biol. Chem.* 277(25), 22107-22110.
11. Aghajanian, S., Worrall, D.M., 2002. Identification and characterization of the gene encoding the human phosphopantetheineadenyltransferase and dephospho-CoA kinase bifunctional enzyme (CoA synthase). *Biochem. J.* 365(1), 13-18.
12. Kerbey, A.L., Radcliffe, P.M., Randle, P.J., 1977. Diabetes and the control of pyruvate dehydrogenase in rat heart mitochondria by concentration ratios of adenosine triphosphate/adenosine diphosphate, of reduced/oxidized nicotinamide-adenine dinucleotide and of acetyl-coenzyme A/coenzyme A. *Biochem. J.*, 164, 509–519.
13. Horie, S., Isobe, M., Suga, T., 1986. Changes in CoA pools in hepatic peroxisomes of the rat under various conditions. *J. Biochem.* 99(5), 1345–52.
14. Smith, C.M., Savage, C.R., 1980. Regulation of coenzyme A biosynthesis by glucagon and glucocorticoid in adult rat liver parenchymal cells. *Biochem. J.* 188(1), 175–84.
15. Robishaw, J.D., Berkich, D., Neely, J.R., 1982. Rate-limiting step and control of coenzyme A synthesis in cardiac muscle. *J. Biol. Chem.* 257(18), 10967–72.
16. Berge, R.K., Hosøy, L.H., Farstad, M.N., 1984. Influence of dietary status on liver palmitoyl-CoA hydrolase, peroxisomal enzymes, CoASH and long-chain acyl-CoA in rats. *Int. J. Biochem.* 16(4), 403–10.
17. Zhou, B., Westaway, S.K., Levinson, B., Johnson, M.A., Gitschier, J., Hayflick S.J., 2001. A novel pantothenate kinase gene (PANK2) is defective in Hallervorden-Spatz syndrome. *Nat. Genet.* 28(4), 345–349.
18. McAllister, R.A., Fixter, L.M., Campbell, E.H., 1988. The effect of tumour growth on liver pantothenate, CoA, and fatty acid synthetase activity in the mouse. *Br. J. Cancer* 57, 83–86.
19. Brass, E.P., Tahiliani, A.G., Allen, R.H., Stabler, S.P., 1990. Coenzyme A metabolism in vitamin B-12-deficient rats. *J. Nutr.* 120(3), 290–297.

20. Corkey, B.E., Hale, D.E., Glennon, M.C., Kelley, R.I., Coates, P.M., Kilpatrick, L. et al., 1988. Relationship between unusual hepatic acyl coenzyme A profiles and the pathogenesis of Reye syndrome. *J. Clin. Invest.* 82(3), 782–788.
21. Reibel, D.K., Uboh, C.E., Kent, R.L., 1983. Altered coenzyme A and carnitine metabolism in pressure-overload hypertrophied hearts. *Am. J. Physiol.* 244(6), 839–843.
22. Rock, C.O., Calder, R.B., Karim, M.A., Jackowski, S., 2000. Pantothenate kinase regulation of the intracellular concentration of coenzyme A. *J. Biol. Chem.* 275 (2), 1377-1383.
23. Hong, B.S., Senisterra, G., Rabeh W.M. et al., 2007. Crystal structures of human pantothenate kinases. Insights into allosteric regulation and mutations linked to a neurodegeneration disorder. *J. Biol. Chem.* 282(38), 27984-27993.
24. Ramaswamy, G., Karim, M.A., Murti, K.G., Jackowski, S., 2004. PPARalpha controls the intracellular coenzyme A concentration via regulation of PANK1alpha gene expression. *J. Lipid Res.* 45(1), 17-31.
25. Breus, O.S., Panasyuk, G., Gout, I., Nemazanyy, I.O., Filonenko, V., 2008. Proline rich regions of coenzyme A synthase a and b interact with SH3 domains of signaling proteins in vitro. *Biopolimery ta klityna [Biopolymers and cell]* 24(2), 123-128.
26. Breus, O., Panasyuk, G., Gout, I.T., Filonenko, V., Nemazanyy, I., 2009. CoA synthase is in complex with p85alphaPI3K and affects PI3K signaling pathway. *BiochemBiophys Res Commun.* 385(4), 581-585.
27. Breus, O., Gout, I.T., Filonenko, V., Nemazanyy, I., Panasyuk, G., 2009. CoA Synthase influences adherence- independent growth and survival of mammalian cells in vitro. *Biopolymers and Cell* 25(5), 384-389.
28. Gudkova, D., Panasyuk, G., Nemazanyy, I. et al., 2012. EDC4 interacts with and regulates the dephospho-CoA kinase activity of CoA synthase. *FEBS Lett.* 586(20), 3590-3595.
29. Breus, O., Panasyuk, G., Gout, I.T., Filonenko, V., Nemazanyy, I., 2010. CoA Synthase is phosphorylated on tyrosines in mammalian cells, interacts with and is dephosphorylated by Shp2PTP. *Mol. Cell. Biochem.* 335(1-2), 195-202.
30. Idell-Wenger, J.A., Grotyohann, L.W., Neely, J.R., 1978. Coenzyme A and carnitine distribution in normal and ischemic hearts. *J. Biol. Chem.* 253, 4310–4318.
31. Williamson, J.R., Corkey, B.E., 1979. Assay of citric acid cycle intermediates and related compounds--update with tissue metabolite levels and intracellular distribution. *Methods Enzymol.* 55, 200–222.

32. Tahiliani, A.G., 1989. Dependence of mitochondrial coenzyme A uptake on the membrane electrical gradient. *J. Biol. Chem.* 264(31), 18426–32
33. Bremer, J., Wojtczak, A., Skrede, S., 1972. The leakage and destruction of CoA in isolated mitochondria. *Eur. J. Biochem.* 25(1), 190-197.
34. Franklin, J.E., Trams, E.G., 1971. Metabolism of coenzyme A and related nucleotides by liver plasma membranes. *Biochim. Biophys. Acta.* 26(1), 105-116.
35. Gasmi, L., McLennan, A.G., 2001. The mouse *Nudt7* gene encodes a peroxisomal nudix hydrolase specific for coenzyme A and its derivatives. *Biochem. J.*, 357, 33-38.
36. Lopaschuk, G.D., Neely, J.R., 1987. Coenzyme A degradation in the heart: effects of diabetes and insulin. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 19(3), 281-288.
37. Chiu, H.C., Kovacs, A., Ford, D.A. et al., 2001. A novel mouse model of lipotoxic cardiomyopathy. *J. Clin. Invest.* 107(7), 813-822.
38. Maras, B., Barra, D., Duprè, S., Pitari, G., 1999. Is pantetheinase the actual identity of mouse and human vanin-1 proteins? *FEBS Lett.* 19(3): 149-152.
39. Pitari, G., Malergue, F., Martin, F. et al., 2000. Pantetheinase activity of membrane-bound Vanin-1: lack of free cysteamine in tissues of Vanin-1 deficient mice. *FEBS Lett.* 483(2-3), 149-154.
40. Zhou, B., Westaway, S.K., Levinson, B. et al., 2001. A novel pantothenate kinase gene (*PANK2*) is defective in Hallervorden-Spatz Syndrome. *Nat. Genet.* 28(4), 345-349.
41. Leonardi, R., Zhang, Y.M., Lykidis, A. et al., 2007. Localization and regulation of mouse pantothenate kinase 2. *FEBS Lett.* 581(24), 4639-4644.
42. Kuo, Y.M., Duncan, J.L., Westaway, S.K. et al., 2005. Deficiency of pantothenate kinase 2 (*Pank2*) in mice leads to retinal degeneration and azoospermia. *Hum. Mol. Genet.*, 14(1), 49-57.
43. Dusi, S., Valletta, L., Haack, T.B., Tsuchiya, Y., Venco, P., Pasqualato, S. et al., 2014. Exome sequence reveals mutations in CoA synthase as a cause of neurodegeneration with brain iron accumulation. *Am. J. Hum. Genet.* 94, 11–22.
44. Saliba, K.J., Spry, C., 2014. Exploiting the coenzyme A biosynthesis pathway for the identification of new antimalarial agents: the case for pantothenamides. *Biochem. Soc Trans.* 42, 1087–1093.

SUMMARY

*Oksana MALANCHUK*¹, *Ivan GOUT*², *Valeriy FILONENKO*¹

REGULATION OF COA BIOSYNTHESIS IN NORM AND PATHOLOGY

¹ *Institute of Molecular Biology and Genetics, NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine, malanhook@ukr.net*

² *Institute of Structural and Molecular Biology, University College London, London, U.K., i.gout@uci.ac.uk*

Coenzyme A was discovered in 1947 and six years later the Nobel Prize was awarded to F. Lipmann for this discovery. Since that time, CoA and a diverse range of its thioester derivatives have been the focus of intense investigations, which revealed their essential roles in the various pathways of cellular metabolism, posttranslational modifications, signal transduction and gene expression, as well as dysregulation in human pathologies. The biochemistry of CoA biosynthesis was deciphered more than 30 years ago and shown to be universal in all branches of life. Subsequently, the importance of CoA/CoA derivatives was uncovered for diverse cellular functions. These include the biosynthesis of fatty acids, ketone bodies and cholesterol (malonyl-CoA and HMG-CoA); amino acid metabolism (propionyl-CoA and succinyl-CoA); fatty acid oxidation (acyl-CoA and acetyl-CoA); biosynthesis of neurotransmitter acetylcholine (acetyl-CoA); and acetylation of histones and regulation of gene expression (acetyl-CoA). Molecular cloning of genes for the CoA biosynthetic pathway, initially in bacteria and then in yeast and mammals, has provided researchers with essential tools for bioinformatics and mutational studies, expression of recombinant proteins and structural analysis, examining subcellular localization of the CoA biosynthetic enzymes and generation of transgenic animal models, etc. Finally, the association of the CoA biosynthetic pathway with neurodegeneration in the beginning of this century has given a new dimension to this field of research. Initially, inactivating mutations in pantothenate kinase 2 (PANK2) were linked to the NBIA disorder (neurodegeneration with brain iron accumulation) and recently, CoA synthase (COASY) was also found to be a disease-associated gene in patients with NBIA. In this review, we describe the current understanding of the CoA biosynthetic pathway, provide an overview of enzymes implicated in CoA biosynthesis, their regulation and potential for the targeting therapy.

Key words: *CoA biosynthesis, CoA derivatives, CoA-synthase, regulation of CoA biosynthesis*

Стаття надійшла 09. 06 2015

Після доопрацювання 25. 06. 2015

Прийнята до друку 02. 07. 2015