

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИСЛАМА
КАРИМОВА**

АЗИМОВ Ш.Ш., РАСУЛОВА Д.Н., РАЗИКОВА М.Ф.

“БИОХИМИЯ”



**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ
ПО ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ
Ташкент 2022**

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИСЛАМА КАРИМОВА**

**ФАКУЛЬТЕТ “ИНЖЕНЕРНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ”
КАФЕДРА “БИОТЕХНОЛОГИЯ”**



**УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ ПОСОБИЕ
ПО ПРАКТИЧЕСКИМ ЗАНЯТИЯМ
ПО ПРЕДМЕТУ:
“БИОХИМИЯ”**

Области знаний: 300000- Производство техническая сфера
Области образования: 320000- Технологии производства
Направление образования: 60710200- Биотехнология
(специальность)

Ташкент - 2022

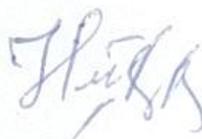
- ① Учебно-методическое пособие по практическим занятиям по дисциплине “Биохимия” Азимов Ш.Ш., Расулова Д.Н., Разикова М.Ф. - Ташкент.: ТГТУ, 2022.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Назаров Ташкентский Государственный Технический университет имени И. Каримова, зав. каф. “Биотехнология”, доцент
Комолхон Каримович
Нурмухамедова Ташкентский Химико-Технологический институт, доцент
Вазира кафедры “Биотехнология”
Захриддинова

Данное учебно-методическое пособие было рассмотрено на заседании кафедры “Биотехнология” ТДТУ, факультета “Инженерных технологий” и рекомендовано для обсуждения на совете факультета. Протокол № ____ – 2022 года

Заведующий кафедрой, доц.



Назаров К.К.

Данное учебно-методическое пособие рассмотрено на совете факультета ТДТУ “Инженерных технологий” и рекомендовано к обсуждению в совете Университета. Протокол № ____ 2022

Председатель совета факультета, доц.



Эльмуродова Д.Б.

Секретарь учебно-методического совета



Мамбетов Н.М.

Пептидами называются соединения, образованные из аминокислот с помощью пептидных связей. Условно считают, что пептиды содержат менее 50 АК, а более длинные полипептиды уже относят к белкам.

Структурные особенности пептидов:

1. Пептиды могут содержать D-аминокислоты, так, антибиотик пенициллин содержит L-цис и D-вал (рис. 3.7)

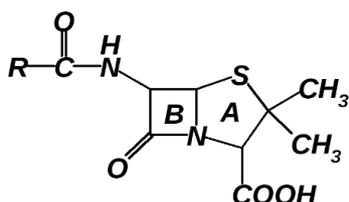


Рис. 3.7 Строение антибиотика пенициллина – циклического депептида

2. Пептиды могут содержать аналоги АК, например депептид карнозин представляет собой β-аланин-гистидин.
3. Пептиды образуют циклические структуры. Эту особенность можно видеть в молекулах пенициллина, грамицидина, валиномицина и других.
4. В состав пептидов могут входить небелковые АК, например, грамицидин содержит орнитин – более короткий гомолог лизина.

Физико-химические свойства пептидов определяются аминокислотным составом, то есть пептиды могут быть нейтральными или заряженными, проявлять кислотные или основные свойства, они имеют изоэлектрическую точку и поэтому могут быть разделены электрофоретическими методами или же хроматографически.

В природе существует два вида пептидов, один из которых синтезируется и выполняет физиологическую роль в процессе жизнедеятельности организма, другой образуется за счет химического или ферментативного гидролиза белков в организме или вне его. Пептиды, образующиеся в процессе гидролиза вне организма (*in vitro*), широко используются для анализа аминокислотной последовательности белков.

Ферментативное образование пептидов происходит в желудочно-кишечном тракте человека в процессе переваривания белков пищи. Оно начинается в желудке под действием пепсина, гастриксина и заканчивается в желудке под действием пепсина, гастриксина и заканчивается в кишечнике при участии трипсина, химотрипсина, амино- и карбоксипептидаз. Распад

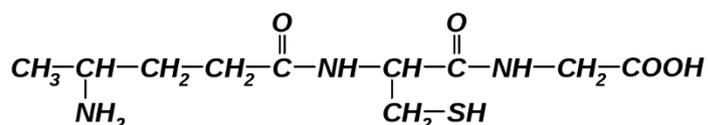
коротких пептидов завершается ди- и трипептидами с образованием свободных аминокислот, которые расходуются на синтез белков и других активных соединений.

Для многих природных пептидов установлена структура и роль. На рис. 3.7 отображены физиологическое значение и функциональная роль наиболее распространенных групп пептидов, от которых зависят здоровье человека и органолептические и санитарно-гигиенические свойства пищевых продуктов.

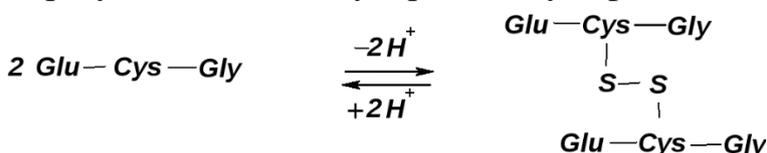


Рис. 3.8 Важнейшие группы пептидов
ПРОТЕКТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ

Одним из наиболее распространенных соединений с протекторными свойствами является трипептид глутатион (γ -глутамилцистеинилглицин). Глутатион содержится во всех животных, растениях, бактериях, однако наибольшее его количество встречается в дрожжах и зародыше пшеницы. Вступая в окислительно-восстановительные реакции, глутатион выполняет функцию протектора, предохраняющего свободные –SH группы от окисления.



Он принимает на себя действие окислителя, «защищая» тем самым белки или, например, аскорбиновую кислоту. При окислении глутатиона образуется межмолекулярная дисульфидная связь:



Глутатион принимает участие в транспорте аминокислот через мембраны клеток, обезвреживает соединения ртути, ароматические углеводороды, перекислые соединения, предотвращает заболевание костного мозга и развитие катаракты глаз.

ПЕПТИДЫ ЧАСТО ЯВЛЯЮТСЯ ГОРМОНАМИ

В отличие от глутатиона, пептидные гормоны выполняют более специфические функции. Классификацию гормонов проводят либо по месту их образования, либо по месту действия, то есть по функции (см. табл. 1)

Таблица 1. Важнейшие пептидные гормоны

Название гормона	Место образования	Химическая природа	Биологическое действие
Соматостатин	Гипоталамус	14 АК, лин.	Регулятор роста
Окситоцин	Гипофиз	9 АК, цикл	Сокращение матки, выделение молока
Вазопрессин	Гипофиз	9 АК, цикл	Повышает давление крови
Антиотезин-П	Легкие	Лин. октапептид	Регулирует кровяное давление
Инсулин	Поджелудочная железа	51 АК, 2 цепи полипептида	Снижает уровень глюкозы в крови
Глюкагон	Поджелудочная железа	29 АК, лин.	Повышает уровень глюкозы в крови
Гастрин	Слизистая желудка	17 АК, лин.	Стимулирует секрецию HCl
Кальцитонин	Щитовидная железа	12 АК, цикл	Снижает уровень Ca^{++}

Пептиды – нейромедиаторы

Нейромедиаторы – это химические соединения, регулирующие передачу нервных импульсов в нервной системе. К ним относятся, например, ацетилхолин, некоторые АК, а также открытые в 1975 г. Пептиды, называемые энкефалинами, или опиатными пептидами. Первое их название связано с тем, что они находятся в ткани мозга, а второе – объясняет их обезболивающее действие, сходное с эффектом веществ из опия. Наиболее известны и изучены два энкефалина: тир-гли-гли-фен-мет и тир-гли-гли-фен-лей (часто их называют просто мет- и лей-энкефалин).

Другой тип опиатных (обезболивающих) пептидов также был обнаружен в мозгу – они называются эндорфинами. Эти более длинные пептиды (от 13 до 30 АК) получили свое название за анальгетическое действие,

сходное с эффектом морфина. В отличие от экефалинов, эндорфины имеют более сложное физиологическое действие и оказывают не только обезболтвающее действие, но влияют и на поведение.

Пептиды – токсины

Среди пептидных токсинов наиболее известны токсины ядовитых грибов. Так, бледная поганка *Amanita phalloides* содержит пептидные токсины аманитин и феллоидин, а также ряд токсинов, объединяемых общим названием – аматоксины. Они содержатся в этих грибах в высоких концентрациях, например аматоксины – до 0,4 мг на 1 г массы гриба. Если учесть, что смертельная доза для человека составляет около 5-7 мг, то есть один-два съеденных грибы могут вызвать смерть.

Все токсины этого вида – циклические пептиды. Токсическое действие аматоксинов связано с нарушением синтеза РНК в клетках, а фаллоидин нарушает целостность мембраны клеток печени – гепатоцитов.

Пептидные токсины из ядов пчел (*Apis mellifera*) Апамин – линейный пептид из 18 АК, влияет на работу кальциевых каналов в мембранах, меллитин – пептид из 22 АК – вызывает ионную проводимость в мембранах, а третий – МСД-пептид вызывает аллергические и воспалительные реакции.

Пептидные токсины из ядов змей по числу АК можно отнести к белковым веществам, но их традиционно рассматривают как пептиды. Среди них различают более короткие – по 60-62 АК и более длинные – до 71-74 АК. Эти токсины, как правило, действуют на мембраны нервных клеток или аксионов, нарушая их нормальное функционирование, но в малых концентрациях, так же как и токсины яда пчел, используются как эффективные лекарственные средства против ряда заболеваний, связанных с нервно-мышечными расстройствами.

Яд скорпионов содержит пептидные нейротоксины из 15-16 АК, которые замедляют передачу нервных импульсов. Уникальным свойством яда скорпионов является способность его токсинов избирательно действовать только на один из классов животных: млекопитающих, насекомых или ракообразных. К собственному токсину у скорпиона существует врожденный иммунитет.

Пептидные токсины морских беспозвоночных – моллюсков, медуз, актиний, анемон – содержат около 50АК и, подобно токсинам из яда скорпионов, влияют на натриевые каналы электровозбудимых мембран.

Пептиды – антибиотики

Пенициллин – его структура приведена выше – широко известный антибиотик, используемый при различных инфекционных заболеваниях.

Грамицидин содержит около 10 АК, имеет циклическую структуру, разностороннюю биологическую активность, например разрушает биологические мембраны. Бацитрацин – нарушает синтез клеточной стенки бактерий, приводя их к гибели. Актиномицины связываются с молекулой ДНК и нарушают ее функционирование.

Вазоактивные пептиды

К группе пептидов, оказывающих влияние на тонус сосудов (вазоактивные), относятся брадикинин, каллидин и ангиотензин. Первый пептид содержит 9 остатков аминокислот, второй – 10, а третий – 8. Все они синтезируются из неактивных белковых предшественников в результате процесса посттрансляционной модификации.

Пептиды – буферы

В мышцах различных животных и человека обнаружены депептиды – карнозин и ансерин, выполняющие буферные функции за счет входящего в их состав имидазольного кольца гистидина. Отличительной особенностью пептидов является присутствие в них остатка β-аланина:

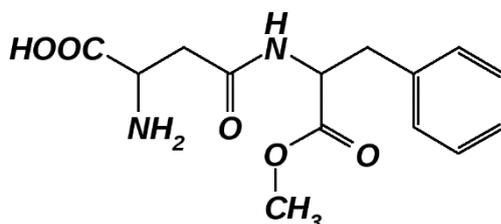
H₂N – аланил-β – L-гистидин – COOH карнозин

В-аланил – N-метил – L-гистидин. ансерин

Карнозин и ансерин являются составной частью экстрактивных веществ мяса. Содержание их в последнем достигает 0,2-0,3% от сырой массы продукта.

Вкусовые пептиды

Наиболее важными соединениями этой группы являются сладкие и горькие пептиды. В производстве мороженого, кремов в качестве подсластителей или усилителей вкуса используется аспартам, представляющий собой метиловый эфир L-α-аспартил-L-фенилаланина:



Аспартам слаще сахарозы в 180 раз, однако при длительном хранении и тепловой обработке сладость уменьшается. Подсластитель противопоказан больным фенилкетонурией. Пептиды горького вкуса образуются при распаде белков в сырах и молоке при участии протеаз молочнокислых бактерий. Они представляют собой низкомолекулярные гидрофобные соединения, содержащие от 2 до 8 остатков аминокислот полипептидных цепей α_S-казеина и β_S-казеина. Многие из горьких пептидов содержат N-концевую

циклизованную глутаминовую кислоту. По мере гидролиза пептидов горький вкус таких соединений обычно исчезает.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Какие виды пептидов существуют в природе?
2. Что такое протекторные пептиды?
3. Перечислите важнейшие пептидные гормоны?

И белки, и пептиды – это соединения, построенные из остатков аминокислот. Различия между ними количественные.

Условно считают, что:

- пептиды содержат в молекуле до 100 аминокислотных остатков (что соответствует молекулярной массе до 10 000), а
- белки – свыше 100 аминокислотных остатков (молекулярная масса от 10 000 до нескольких миллионов).

В свою очередь в группе пептидов принято различать:

- олигопептиды (низкомолекулярные пептиды), содержащие в цепи не более 10 аминокислотных остатков, и
- полипептиды, в состав цепи, которых входит до 100 аминокислотных остатков.

Для макромолекул с числом аминокислотных остатков, приближающимся или немного превышающим 100, понятия полипептидов и белков практически не разграничиваются и часто являются синонимами.

По пространственной структуре белки делятся на два больших класса:

- Глобулярные
- Фибриллярные.

ГЛОБУЛЯРНЫЕ БЕЛКИ.

Для глобулярных белков более характерна альфа-спиральная структура, а цепи их изогнуты в пространстве так, что макромолекула приобретает форму сферы.

Глобулярные белки растворяются в воде и солевых растворах с образованием коллоидных систем.

Примеры глобулярных белков – альбумин (яичный белок), глобин (белковая часть гемоглобина), миоглобин, почти все ферменты.

ФИБРИЛЛЯРНЫЕ БЕЛКИ.

Для фибриллярных белков более характерна бета-структура. Как правило, они имеют волокнистое строение, не растворяются в воде и солевых растворах.

К ним относятся многие широко распространённые белки - бетта-кератин (волосы, роговая ткань), бетта-фиброин (шёлк), миоинозин (мышечная ткань), коллаген (соединительная ткань).

КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ ПО РАСТВОРИМОСТИ И БИОЛОГИЧЕСКИМ ФУНКЦИЯМ.

Классифицировать белки по растворимости предложил академик Д.Н.Прянишников. Он установил, что альбумины растворимы в воде, глобулины – в растворах солей, проламины – в 60-80° спирте, глютелины – в слабых (0,2%) растворах щелочей или разбавленных кислотах. Эти белки нерастворимы в спирте, водных растворах солей и воде. Последней группой в этой классификации являются протеиноиды – они растворимы только в крепких минеральных кислотах. Представим характеристику лишь некоторых из этих белков.

В зависимости от биологических функций различают каталитически активные белки, белки-гормоны, белки – регуляторы активности генома, защитные белки, токсические белки, транспортные белки, мембранные белки, сократительные белки, рецепторные белки, белки-ингибиторы ферментов, белки вирусных оболочек, запасные белки и др.

КЛАССИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ, ОСНОВАННАЯ НА ИХ РАСТВОРИМОСТИ

Классификация белков, основанная на их растворимости, была введена в 1907–1908 гг. и используется до сих пор, особенно в клинической биохимии (таблица 1). Строго установленных границ между классами не существует. Например, четкое разграничение между альбуминами и глобулинами невозможно, если исходить только из их растворимости в воде и солевых растворах. Поэтому глобулины подразделяют на псевдоглобулины, легко растворимые в воде, и эуглобулины, нерастворимые в воде, свободной от солей.

Таблица 1. Классификация белков, основанная на их растворимости

Альбумины	Растворимы в воде и солевых растворах. Не имеют особенностей в смысле содержания отдельных аминокислот
Глобулины	Слаборастворимы в воде, но хорошо растворимы в солевых растворах. Не имеют особенностей в смысле содержания отдельных аминокислот
Проламины	Растворимы в 70-80%-ном этаноле, но нерастворимы в воде и в абсолютном этаноле. Богаты аргинином
Гистоны	Растворимы в солевых растворах
Склеропротеины	Нерастворимы в воде и солевых растворах. Повышено содержание глицина, аланина и пролина

СВОЙСТВА

1. Белки являются амфотерными соединениями, сочетают в себе основные и кислотные свойства, определяемые радикалами аминокислот.

Различают кислые, основные и нейтральные белки.

2. **Буферность** - способность белков отдавать и присоединять H^+ , один из самых мощных буферов — гемоглобин в эритроцитах, поддерживающий рН крови на постоянном уровне.

3. **Растворимость в воде.** Глобулярные белки растворимы. Фибриллярные белки нерастворимы

4. **Активность.** Есть белки необычайно химически активные (ферменты), есть химически неактивные.

5. **Устойчивость.** Есть устойчивые к воздействию различных условий внешней среды и крайне неустойчивые. Внешние факторы (изменение температуры, солевого состава среды, рН, радиация) могут вызывать нарушение структурной организации молекулы белка. Денатурация может быть: обратимой.

6. **Денатурация** - процесс утраты трехмерной конформации, присущей данной молекуле белка. Причиной денатурации является разрыв связей, стабилизирующих определенную структуру белка. Изменение пространственной конфигурации приводит к изменению свойств белка и, как следствие, делает невозможным выполнение белком свойственных ему биологических функций.

7. **Процесс восстановления структуры белка** после денатурации называется **ренатурацией**. Если восстановление пространственной конфигурации белка невозможно, то денатурация называется необратимой.

ОСТАНОВИМСЯ НА НЕКОТОРЫХ ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ ЭТОЙ ГРУППЫ БЕЛКОВ:

- белки-регуляторы активности генома. К ним относятся протамины и гистоны, они просты по строению и в отличие от большинства белков имеют щелочной характер. Функция протаминов заключается в том, что они придают ДНК стабильную, компактную форму и обеспечивают ее транспорт, например, ДНК сперматозоидов. Функции гистонов: комплексообразование молекул ДНК друг с другом, усиление закручивания и стабилизации ДНК, стабилизация РНК, нейтрализация отрицательных зарядов фосфатных групп ДНК, угнетение или стимуляция синтеза ДНК, торможение синтеза РНК, освобождение РНК с ДНК.

- транспортные белки. Типичными представителями этой группы белков являются альбумин сыворотки крови, альбумин молока (лактальбумин), альбумин мышц (миоальбумин), лейкозин пшеницы, ржи и ячменя, легуменин

гречихи и сои, рицин касторовых бобов. Молекулярная масса альбуминов человека и крысы равна 65000, коровы – 67000, лошади – 70000. Содержание альбумина (лат. albumen - белок) в сыворотке крови составляет 40-50 г/л.

Пептидами называются соединения, образованные из аминокислот с помощью пептидных связей. Условно считают, что пептиды содержат менее 50 АК, а более длинные полипептиды уже относят к белкам.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

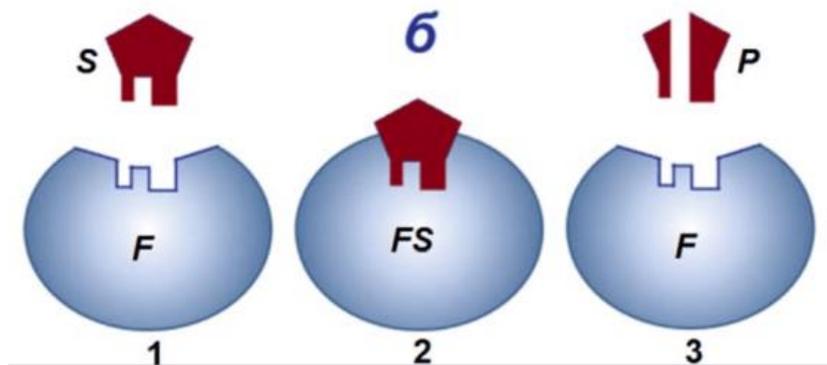
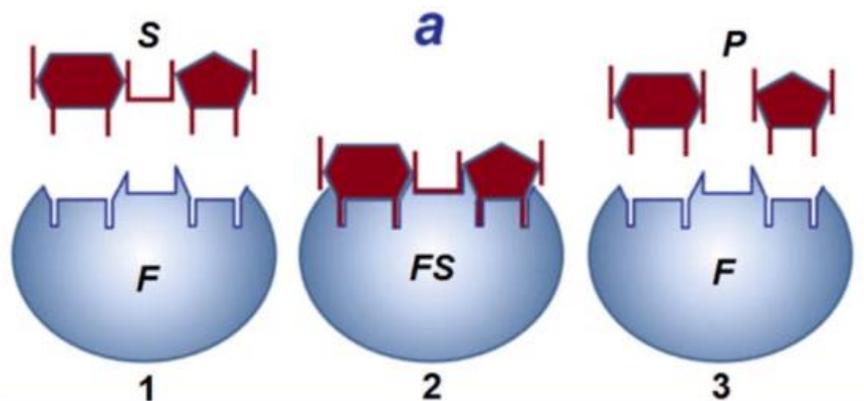
1. Что такое белки?
2. Что такое фибриллярные белки?
3. Что такое глобулярные белки?

Кинетика ферментов - это изучение скоростей химических реакций, катализируемых ферментами. В кинетике ферментов измеряется скорость реакции и исследуется влияние изменения условий реакции. Изучение кинетики фермента таким образом может выявить каталитический механизм этого фермента, его роль в метаболизме, как контролируется его активность и как лекарственное средство или модификатор (ингибитор или активатор) может повлиять на скорость.

Фермент (E) обычно представляет собой белковую молекулу, которая стимулирует реакцию другой молекулы, ее субстрата (ов). Он связывается с активным центром фермента с образованием комплекса фермент-субстрат ES и превращается в комплекс фермент-продукт EP, а оттуда в продукт P через переходное состояние ES*. Последовательность этапов известна как механизм:



В этом примере рассматривается простейший случай реакции с одним субстратом и одним продуктом. Такие случаи существуют: например, мутаза, такая как фосфоглюкомутаза, катализирует перенос фосфогруппы из одного положения в другое, а изомеразы - это более общий термин для фермента, который катализирует любую реакцию с одним субстратом и одним продуктом, такую как триозофосфатизомераза. Однако такие ферменты не очень распространены, и их значительно больше, чем ферментов, которые катализируют реакции с двумя субстратами и двумя продуктами: к ним относятся, например, NAD-зависимые дегидрогеназы, такие как алкогольдегидрогеназа, которая катализирует окисление этанола NAD⁺. Реакции с тремя или четырьмя субстратами или продуктами встречаются реже, но они существуют. Нет необходимости, чтобы количество продуктов было равно количеству субстратов; например, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа имеет три субстрата и два продукта.



Когда ферменты связывают несколько субстратов, таких как дигидрофолатредуктаза (показана справа), кинетика ферментов может также показать последовательность, в которой эти субстраты связываются, и последовательность, в которой высвобождаются продукты. Примером ферментов, которые связывают один субстрат и выделяют несколько продуктов, являются протеазы, которые расщепляют один белковый субстрат на два полипептидных продукта. Другие соединяют два субстрата вместе, такие как ДНК-полимераза, связывающая нуклеотид с ДНК. Хотя эти механизмы часто представляют собой сложную последовательность этапов, обычно существует один *этап, определяющий скорость*, который определяет общую кинетику. Этот этап, определяющий скорость, может быть химической реакцией или изменением конформации фермента или субстратов, таких как те, которые участвуют в выделении продукта (продуктов) из фермента.

Знание структуры фермента полезно при интерпретации кинетических данных. Например, структура может подсказать, как субстраты и продукты связываются во время катализа; какие изменения происходят во время

реакции; и даже роль определенных аминокислотных остатков в механизме. Некоторые ферменты значительно изменяют форму в процессе механизма; в таких случаях полезно определить структуру фермента с аналогами связанного субстрата и без них, которые не подвергаются ферментативной реакции.

Не все биологические катализаторы являются белковыми ферментами: катализаторы на основе РНК, такие как рибозимы и рибосомы, необходимы для многих клеточных функций, таких как сплайсинг и трансляция РНК. Основное различие между рибозимами и ферментами заключается в том, что РНК-катализаторы состоят из нуклеотидов, тогда как ферменты состоят из аминокислот. Рибозимы также выполняют более ограниченный набор реакций, хотя механизмы и кинетика их реакций могут быть проанализированы и классифицированы теми же методами.

В реакции, катализируемой ферментом, используются точно такие же реагенты и образуются точно такие же продукты, что и в некатализируемой реакции. Как и другие катализаторы, ферменты не изменяют положения равновесия между субстратами и продуктами. Однако, в отличие от некатализируемых химических реакций, реакции, катализируемые ферментами, демонстрируют кинетику насыщения. При заданной концентрации фермента и относительно низких концентрациях субстрата скорость реакции линейно возрастает с концентрацией субстрата; молекулы фермента в значительной степени свободны для катализа реакции, а увеличение концентрации субстрата означает увеличение скорости, с которой молекулы фермента и субстрата сталкиваются друг с другом. Однако при относительно высоких концентрациях субстрата скорость реакции асимптотически приближается к теоретическому максимуму; активные центры фермента почти все заняты субстратами, что приводит к насыщению, а скорость реакции определяется внутренней скоростью оборота фермента. Концентрация субстрата на полпути между этими двумя предельными случаями обозначается K_m . Таким образом, K_m - это концентрация субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимальной скорости.

Два важных свойства кинетики фермента - это то, насколько легко фермент может быть насыщен субстратом, и максимальная скорость, которую он может достичь. Знание этих свойств позволяет предположить, что фермент может делать в клетке, и может показать, как фермент будет реагировать на изменения в этих условиях.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое кинетика ферментов?
2. Когда ферменты связывают несколько субстратов?
3. Свойства кинетики ферментов?

Факторы, влияющие на скорость ферментативной реакции, влияют также и на активность ферментов. К ним относят:

1. концентрация субстрата и фермента,
2. условия протекания реакции (температура, рН среды, давление),
3. наличие активаторов и ингибиторов.

Рассмотрим их более подробно.

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ СУБСТРАТА.

В 1913 г. Михаэлис и Ментен показали, что скорость ферментативной реакции не прямо пропорциональна концентрации субстрата. При увеличении концентрации субстрата и постоянной концентрации фермента скорость вначале увеличивается линейно (а – реакция первого порядка), затем переходит в реакцию смешанного порядка (б), затем стремится к максимальной скорости (в – реакция нулевого порядка) (рис. 2).



Рис. 2. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.

Для описания зависимости скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата было предложено уравнение Михаэлиса-Ментен:

$$v = v_{\max} \cdot [S] / K_s + [S]$$

где v_{\max} – максимальная скорость, $[S]$ – концентрация субстрата, K_s – константа диссоциации фермент-субстратного комплекса.

Преобразуя это уравнение, делением на $[S]$, можно получить:

$$v = v_{\max}/1 + K_S/[S]$$

Следует отметить, что уравнение Михаэлиса-Ментен не учитывает влияние на скорость ферментативного процесса продуктов реакции. Бриггс и Холдейн модифицировали это уравнение, введя константу Михаэлиса K_m .

В результате Бриггс и Холдейн получили уравнение:

$$v = v_{\max} / 1 + K_m/[S]$$

Если $K_m = [S]$, то по уравнению $v = v_{\max} / (1+1) = v_{\max} / 2$. Это означает, что K_m численно равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине от максимальной величины.

K_m – это мера сродства данного субстрата к ферменту: если K_m велика, это означает, что потребуется много субстрата для достижения $1/2 \cdot v_{\max}$ (реакция идет медленно); низкая величина K_m указывает на то, что для насыщения фермента достаточно небольшое количество субстрата. Итак, K_m большая – низкое сродство S к E, K_m малая – высокое сродство S к E.

Таким образом, применяя данные уравнения, можно количественно характеризовать эффективность действия ферментов.

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ФЕРМЕНТА.

При условии избытка субстрата скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна концентрации фермента. Эта зависимость подчиняется уравнению прямой $v = k \cdot [E]$.

ВЛИЯНИЕ pH СРЕДЫ.

Ферменты, как и белки, имеют заряженные группы. Общий заряд молекулы фермента зависит от pH среды. Для каждого фермента существует оптимальное значение pH среды, при котором он проявляет максимальную активность (рис. 3). Любые отклонения вправо и влево от оптимума pH изменяет заряд фермента, вплоть до достижения изоэлектрической точки (ИЭТ), что приводит к потере каталитических свойств. Большинство ферментов проявляет максимальную активность в узком диапазоне pH. Например, для пепсина оптимум pH 1,5-2,5, для трипсина – 7,8-8,6.

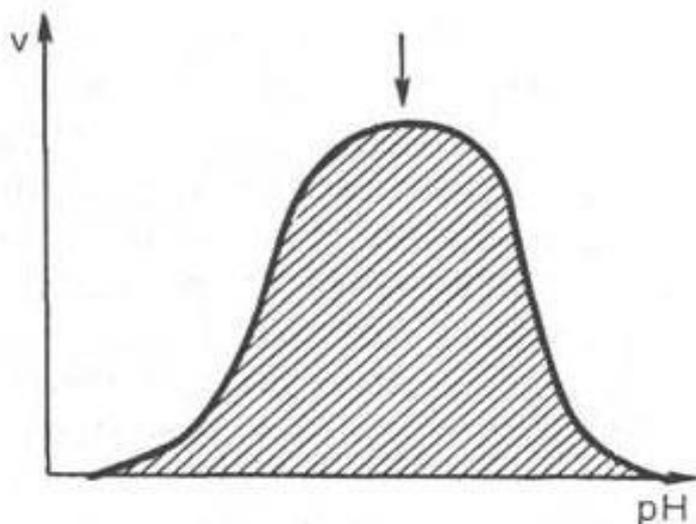


Рис. 3. Зависимость скорости ферментативной реакции от pH среды.

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ.

Известно, что скорость химической реакции повышается в 2-4 раза при повышении температуры на каждые 10°C. Однако из-за белковой природы ферментов повышение температуры приведет к тепловой денатурации фермента и снижению скорости реакции. Оптимальная температура – это та температура, при которой скорость реакции максимальна. Для ферментов растений $t_{\text{опт}}$ – 45-50 °С, ферментов теплокровных - 37 °С. Исключение миокиназа мышц выдерживает нагревание до 100 °С.

ВЛИЯНИЕ АКТИВАТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ.

Активаторы – вещества, повышающие активность ферментов.

Примеры активаторов: чаще катионы - Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , K^+ , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} ; реже анионы – Cl^- ; иногда белки.

Свойства активаторов:

- формируют АЦ фермента (Mg^{2+} , Zn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}),
- облегчают образование фермент-субстратного комплекса (Mg^{2+} , Mn^{2+})
- стабилизируют нативную структуру фермента,
- защищают функциональные группы АЦ фермента от повреждения, например глутатион и цистеин восстанавливают SH-группы активного центра.

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ.

Ингибиторы (И) – вещества, понижающие активность ферментов.

Классификация ингибиторов ферментов. Ингибиторы делят на неспецифические и специфические. Специфические ингибиторы бывают необратимые и обратимые, а среди обратимых выделяют конкурентные (изостерические) и неконкурентные (аллостерические).

Неспецифические ингибиторы (соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи) вызывают денатурацию фермента. Их действие не связано с механизмом ферментативного катализа.

Действие специфических ингибиторов связано с механизмом ферментативного катализа.

При необратимом ингибировании образуется прочный комплекс фермента и ингибитора. Даже если удалить ингибитор из среды, та часть молекул фермента, которая успела связаться с ингибитором остается неактивной длительное время, и ингибирование становится необратимым.

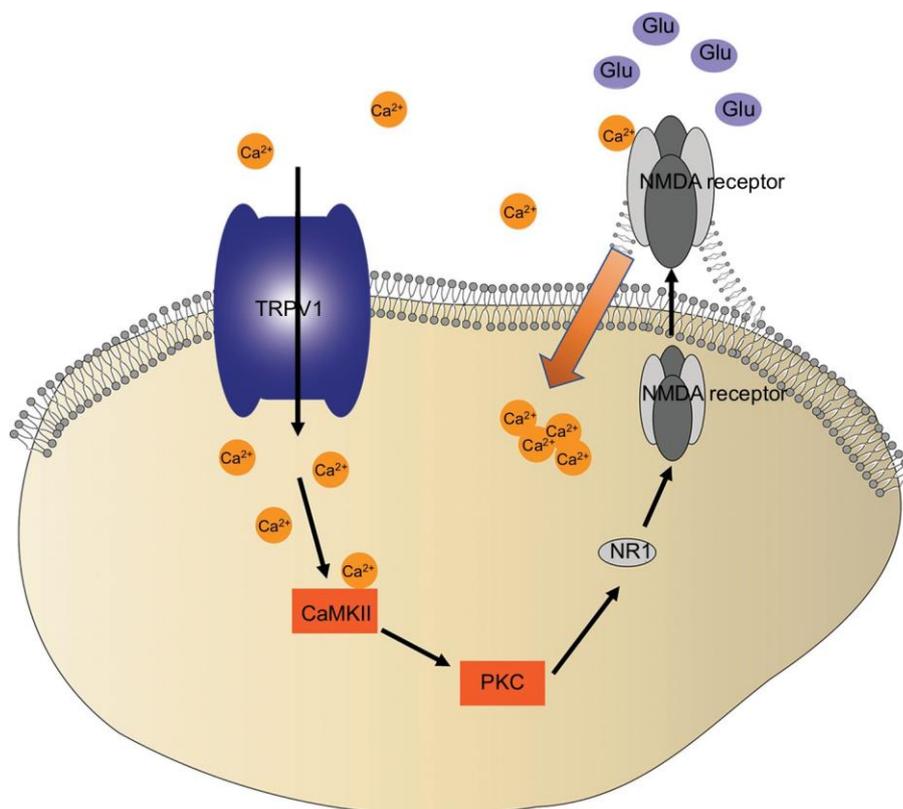
ПРИМЕРЫ НЕОБРАТИМЫХ ИНГИБИТОРОВ:

1. Ингибиторы металлосодержащих ферментов – HCN, KCN, CO, NaN₃ – влияют на активность ферментов дыхательной цепи, препятствуя переносу электронов на кислород, поэтому их называют дыхательными ядами.

2. Вещества, связывающие SH-группы активного центра, например моноиодацетат, соединения ртути и мышьяка.

3. Вещества, связывающие OH-группы серина в активном центре, например, фосфорорганические соединения – боевые отравляющие вещества.

При обратимом ингибировании образуется непрочный комплекс фермента и ингибитора, способный распасться, в результате чего фермент вновь становится активным. Обратимые ингибиторы бывают конкурентные и неконкурентные.



Конкурентный ингибитор очень похож на субстрат и фермент не может их различить, т.е. I и S конкурируют за активный центр фермента.

В результате связывания конкурентного ингибитора с активным центром фермента падает концентрация фермент-субстратных комплексов и скорость реакции уменьшается. Однако для активного центра фермента все же лучше подходит субстрат. Поэтому при достаточно большой концентрации субстрата его молекулы начнут вытеснять ингибитор из АЦ фермента, увеличится число молекул фермент-субстратного комплекса и скорость реакции увеличится. Таким образом, путем увеличения концентрации субстрата можно нейтрализовать действие конкурентного ингибитора и достичь максимальной скорости реакции.

Неконкурентные ингибиторы не имеют структурного сходства с субстратом и часто связываются не с АЦ фермента, а с каким-либо другим участком фермента (часто с аллостерическим центром). Поэтому ингибитор может присоединяться как к свободному ферменту, так и к фермент-субстратному комплексу, в обоих случаях инактивируя фермент.

Неконкурентное ингибирование может быть следствием нескольких способов взаимодействия фермента и ингибитора:

1) Блокирование ферментов ионами тяжелых металлов (Hg^{2+} , Pb^{2+} и др.), которые присоединяются к сульфгидрильным группам полипептидной цепи; солями синильной кислоты, оксидом углерода (II), которые присоединяются к железосодержащим простетическим группам.

2) Присоединение ингибитора к аллостерическому центру, что вызывает такие изменения в структуре фермента, которые передаются в активный центр и нарушают его строение, вызвав инактивацию фермента.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

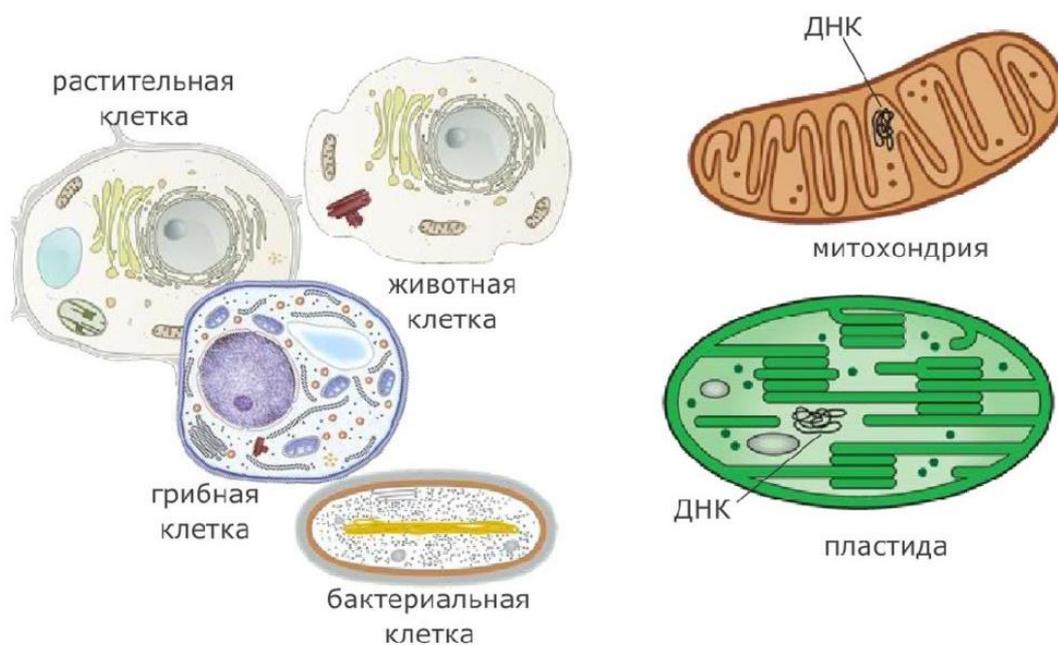
1. Какие факторы, влияют на скорость ферментативной реакции?
2. Что такое активаторы?
3. Приведите примеры необратимых ингибиторов?

Нуклеиновая кислота (от лат. *nucleus* — ядро) — высокомолекулярное органическое соединение, биополимер(полинуклеотид), образованный остатками нуклеотидов. Нуклеиновые кислоты ДНК и РНК присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению, передаче и реализации наследственной информации.

- В 1847 из экстракта мышц быка было выделено вещество, которое получило название «инозиновая кислота». Это соединение стало первым изученным нуклеотидом. В течение последующих десятилетий были установлены детали его химического строения. В частности, было показано, что инозиновая кислота является рибозид-5'-фосфатом, и содержит N-гликозидную связь.
- В 1868 году швейцарским химиком Фридрихом Мишером при изучении некоторых биологических субстанций было открыто неизвестное ранее вещество. Вещество содержало фосфор и не разлагалось под действием протеолитических ферментов. Также оно обладало выраженными кислотными свойствами. Вещество было названо «нуклеином». Соединению была приписана брутто-формула $C_{29}H_{49}N_9O_{22}P_3$.
- Уилсон обратил внимание на практическую идентичность химического состава «нуклеина» и открытого незадолго до этого «хроматина» — главного компонента хромосом. Было выдвинуто предположение об особой роли «нуклеина» в передаче наследственной информации.
- В 1889 г Рихард Альтман ввел термин «нуклеиновая кислота», а также разработал удобный способ получения нуклеиновых кислот, не содержащих белковых примесей.
- Левин и Жакоб, изучая продукты щелочного гидролиза нуклеиновых кислот, выделили их основные составляющие — нуклеотиды и нуклеозиды, а также предложили структурные формулы, верно описывающие их химические свойства.
- В 1921 году Левин выдвинул гипотезу «тетрануклеотидной структуры ДНК», оказавшуюся впоследствии ошибочной.
- В 1935 году Клейн и Танхаузер с помощью фермента фосфатазы провели мягкое фрагментирование ДНК, в результате чего были получены в кристаллическом состоянии четыре ДНК-образующих нуклеотида. Это открыло новые возможности для установления структуры этих соединений.

- В 1940-е годы научная группа в Кембридже под руководством Александра Тодда проводит широкие синтетические исследования в области химии нуклеотидов и нуклеозидов, в результате которых были установлены детали химического строения и стереохимии нуклеотидов. За этот цикл работ Александр Тодд был награждён Нобелевской премией в области химии в 1957 году.
- В 1951 году Чаргаффом была установлена закономерность содержания в нуклеиновых кислотах нуклеотидов разных типов, получившая впоследствии название Правила Чаргаффа.
- В 1953 году Уотсоном и Криком установлена вторичная структура ДНК, двойная спираль

Нуклеиновые кислоты легко деградируют под действием особого класса ферментов — нуклеаз. В связи с этим при их выделении важно обработать лабораторное оборудование и материалы соответствующими ингибиторами. Так, например, при выделении РНК широко используется такой ингибитор рибонуклеаз, как DEPC.



Нуклеиновые кислоты хорошо растворимы в воде, практически нерастворимы в органических растворителях. Очень чувствительны к действию температуры и критическим значениям уровня рН. Молекулы ДНК с высокой молекулярной массой, выделенные из природных источников, способны фрагментироваться под действием механических сил, например, при перемешивании раствора. Нуклеиновые кислоты фрагментируются ферментами — нуклеазами.

Полимерные формы нуклеиновых кислот называют полинуклеотидами. Различают четыре уровня структурной организации нуклеиновых кислот: первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры.

Первичная структура представляет собой цепочки из нуклеотидов, соединяющихся через остаток фосфорной кислоты (фосфодиэфирная связь).

Вторичная структура — это две цепи нуклеиновых кислот, соединённые водородными связями. Стоит отметить, что цепи соединяются по типу «голова-хвост» (3' к 5'), по принципу комплементарности (азотистые основания находятся внутри этой структуры).

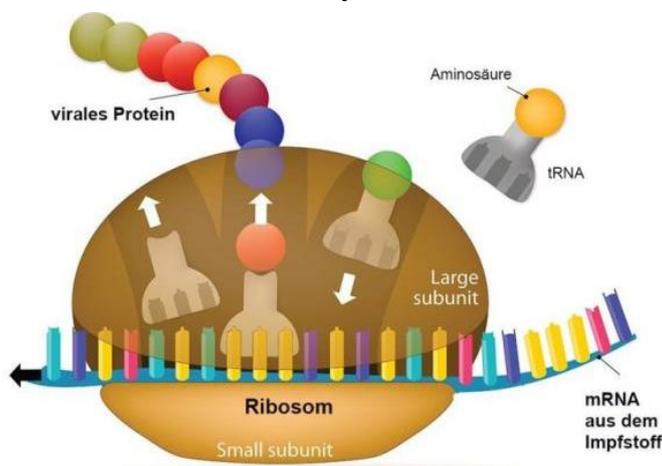
Третичная структура, или же спираль, образуется за счет радикалов азотистых оснований (образуются водородные дополнительные связи, которые и сворачивают эту структуру, тем самым обуславливая её прочность).

И, наконец, четвертичная структура — это комплексы гистонов и нитей хроматина.

Поскольку в нуклеотидах существует только два типа гетероциклических молекул, рибоза и дезоксирибоза, то и имеется лишь два вида нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК).

Мономерные формы также встречаются в клетках и играют важную роль в процессах передачи сигналов или запасании энергии. Наиболее известный мономер РНК — АТФ, аденозинтрифосфорная кислота, важнейший аккумулятор энергии в клетке.

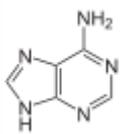
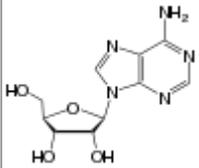
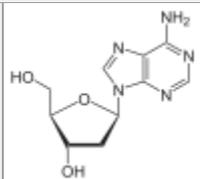
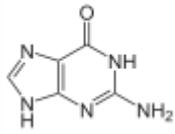
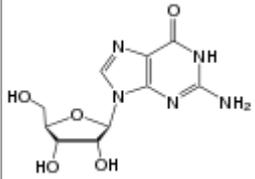
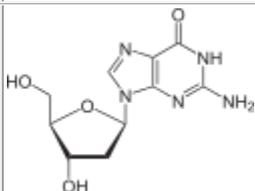
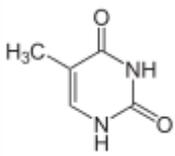
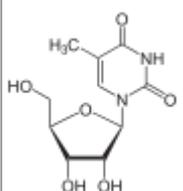
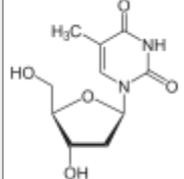
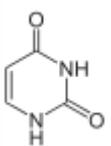
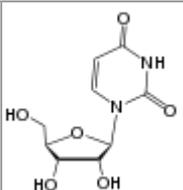
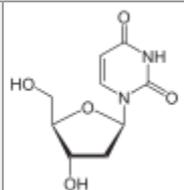
Нуклеозиды - это гликозиламины, которые можно рассматривать как нуклеотиды безфосфатной группы. Нуклеозид состоит просто из нуклеинового основания (также называемого азотистым основанием) и пятиуглеродистого сахара (рибозы или 2'-дезоксирибозы), тогда как нуклеотид состоит из нуклеинового основания, пятиуглеродистого сахара и

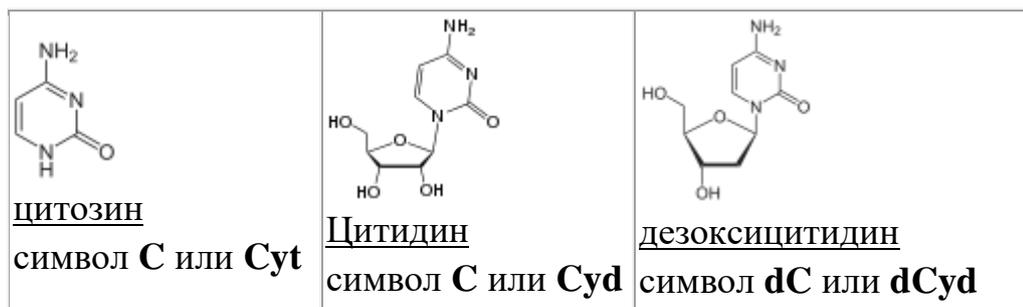


одной или нескольких фосфатных групп. В нуклеозиде аномерный углерод связан гликозидной связью с N9 пурина или

N1 пиримидина. Нуклеотиды являются молекулярными строительными блоками ДНК и РНК.

Причина использования 2 символов, более коротких и более длинных, заключается в том, что более короткие лучше подходят для контекстов, где явное устранение неоднозначности является излишним (поскольку контекст устраняет неоднозначность), а более длинные - для контекстов, где явное устранение неоднозначности считается необходимым или разумным. Например, при обсуждении длинных последовательностей нуклеиновых оснований в геномах система символов CATG гораздо предпочтительнее системы символов Cyt-Ade-Thy-Gua, но в обсуждениях, где вероятность путаницы выше, можно использовать однозначные символы.

Азотистое основание	Рибонуклеозид	Дезоксирибонуклеозид
 <u>аденин</u> символ A или Ade	 <u>аденозин</u> символ A или Ado	 <u>дезоксиаденозин</u> символ dA или dAdo
 <u>гуанин</u> символ G или Gua	 <u>гуанозин</u> символ G или Guo	 <u>дезоксигуанозин</u> символ dG или dGuo
 <u>тимин</u> (5-метилурацил) символ T или Thy	 <u>5-метилуридин</u> (риботимидин) символ M⁵u	 <u>тимидин</u> (дезокситимидин) символ dT или dThd (дата: T или Thd)
 <u>урацил</u> символ U или Ura	 <u>уридин</u> символ U или Urd	 <u>дезоксиуридин</u> символ dU или dUrd



В медицине несколько аналогов нуклеозидов используются в качестве противовирусных или противоопухолевых средств. Вирусная полимераза включает эти соединения с неканоническими основаниями. Эти соединения активируются в клетках путем превращения в нуклеотиды. Их вводят в виде нуклеозидов, поскольку заряженные нуклеотиды не могут легко проникать через клеточные мембраны.

В молекулярной биологии существует несколько аналогов сахарной основы. Из-за низкой стабильности РНК, которая склонна к гидролизу, используется несколько более стабильных альтернативных аналогов нуклеозидов/нуклеотидов, которые правильно связываются с РНК. Это достигается за счет использования другого основного сахара. Эти аналоги включают заблокированные нуклеиновые кислоты (LNA), морфолино и пептидные нуклеиновые кислоты (PNA).

При секвенировании используются дидезоксинуклеотиды. Эти нуклеотиды обладают неканоническим сахаром дидезоксирибозой, в котором отсутствует 3'-гидроксильная группа (которая принимает фосфат). Поэтому он не может связываться со следующим основанием и обрывает цепь, поскольку ДНК-полимеразы не могут отличить его от обычного дезоксирибонуклеотида.

Нуклеотиды представляют собой органические молекулы, состоящие из нуклеозида и фосфата. Они служат мономерными единицами полимеров нуклеиновых кислот – дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и рибонуклеиновой кислоты (РНК), которые являются важными биомолекулами во всех формах жизни на Земле. Нуклеотиды поступают с пищей, а также синтезируются печенью из обычных питательных веществ.

Нуклеотиды состоят из трех молекул-субъединиц: нуклеиновой основы, пятиуглеродистого сахара (рибозы или дезоксирибозы) и фосфатной группы, состоящей из одного-трех фосфатов. Четырьмя нуклеотидными основаниями в ДНК являются гуанин, аденин, цитозин и тимин; в РНК вместо тимина используется урацил.

Нуклеотиды также играют центральную роль в метаболизме на фундаментальном, клеточном уровне. Они обеспечивают химическую

энергию

—

В

форме нуклеозидтрифосфатов, аденозинтрифосфата (АТФ), гуанозинтрифосфата (GTP), цитидинтрифосфата (CTP) и уридинтрифосфата (UTP) — по всей клетке для многих клеточных функций, требующих энергии, в том числе: синтеза аминокислот, белка и клеточной мембраны, перемещение клетки и частей клетки (как внутри, так и межклеточно), деление клетки и т. Д.^[2] Кроме того, нуклеотиды участвуют в передаче клеточных сигналов (циклический гуанозинмонофосфат или цГМФ и циклический аденозинмонофосфат или цАМФ) и включены в важные кофакторы ферментативных реакций (например, кофермент А, FAD, FMN, NAD и NADP⁺).

В экспериментальной биохимии нуклеотиды могут быть радиоактивно мечены с использованием радионуклидов с получением радионуклеотидов.

Нуклеотид состоит из трех отличительных химических субъединиц: пятиуглеродной молекулы сахара, нуклеотидного основания (два из которых вместе называются нуклеотидной стороной) и одной фосфатной группы. При соединении всех трех нуклеотидов нуклеотид также называют "нуклеозидным монофосфатом", "нуклеозиддифосфатом" или "нуклеозидтрифосфатом", в зависимости от того, сколько фосфатов составляет фосфатную группу.

В нуклеиновых кислотах нуклеотиды содержат либо пуриновое, либо пиримидиновое основание, то есть молекулу нуклеинового основания, также известную как азотистое основание, и называются *рибо*— нуклеотидами, если сахар представляет собой рибозу, или дезоксирибо— нуклеотидами, если сахар представляет собой дезоксирибозу. Отдельные молекулы фосфата последовательно соединяют молекулы сахарного кольца в двух соседних нуклеотидных мономерах, тем самым соединяя нуклеотидные мономеры нуклеиновой кислоты в длинную цепь. Эти соединения цепей молекул сахара и фосфата создают "основную" цепь для одно- или двойной спирали. В любой одной цепи химическая ориентация (направленность) соединений цепи проходит от 5 '-конца до 3 '-конца что относится к пяти углеродным сайтам на молекулах сахара в соседних нуклеотидах. В двойной спирали две нити ориентированы в противоположных направлениях, что обеспечивает спаривание оснований и комплементарность между парами оснований, что важно для репликации или транскрибирования закодированной информации, содержащейся в ДНК.

Нуклеиновые кислоты представляют собой полимерные макромолекулы, собранные из нуклеотидов, мономерных

единиц нуклеиновых кислот. Пуриновые основания аденин и гуанин и пиримидиновое основание цитозин встречаются как в ДНК, так и в РНК, в то время как пиримидиновые основания тимин (в ДНК) и урацил (в РНК) встречаются только в одном. Аденин образует пару оснований с тимином с двумя водородными связями, в то время как гуанин образует пару оснований с цитозином с тремя водородными связями.

Нуклеотиды могут быть синтезированы различными способами как *in vitro*, так и *in vivo*.

В пробирке, защитные группы могут быть использованы во время лабораторного производства нуклеотидов. Очищенный нуклеозид защищают для создания фосфорамидита, который затем можно использовать для получения аналогов, не встречающихся в природе, и / или для синтеза олигонуклеотида.

В естественных условиях нуклеотиды могут быть синтезированы *de novo* или переработаны с помощью путей утилизации. Компоненты, используемые в синтезе нуклеотидов *de novo*, получают из биосинтетических предшественников углеводного и аминокислотного обмена, а также из аммиака и диоксида углерода. Недавно было также продемонстрировано, что клеточный метаболизм бикарбоната может регулироваться передачей сигналов mTORC1. Печень является основным органом *de novo* синтеза всех четырех нуклеотидов. Синтез пиримидинов и пуринов *De novo* происходит двумя различными путями. Пиримидины сначала синтезируются из аспартата и карбамоилфосфата в цитоплазме с образованием общей кольцевой структуры-предшественника оротовой кислоты, с которой ковалентно связана фосфорилированная рибозильная единица. Пурины, однако, сначала синтезируются из сахарной матрицы, на которой происходит синтез кольца. Для справки, синтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов осуществляется несколькими ферментами в цитоплазмеклетки, а не в пределах определенной органеллы. Нуклеотиды подвергаются распаду, так что полезные части могут быть повторно использованы в реакциях синтеза для создания новых нуклеотидов.

Нуклеопротеины - это белки, конъюгированные с нуклеиновыми кислотами (ДНК или РНК). Типичные нуклеопротеины включают рибосомы, нуклеосомы и вирусные нуклеокапсидные белки.

Нуклеопротеины имеют тенденцию быть положительно заряженными, облегчая взаимодействие с отрицательно заряженными цепями нуклеиновых кислот. Третичные структуры и биологические функции многих нуклеопротеинов понятны. Важные методы определения структуры

нуклеопротеинов включают дифракцию рентгеновских лучей, ядерный магнитный резонанс и криоэлектронную микроскопию.

Наиболее распространенными дезоксирибонуклеопротеинами являются нуклеосомы, компонентом которых является ядерная ДНК. Белки, объединенные с ДНК, представляют собой гистоны и протамины; образующиеся в результате нуклеопротеины расположены в хромосомах. Таким образом, вся хромосома, то есть хроматин у эукариот, состоит из таких нуклеопротеинов.

В эукариотических клетках ДНК связана примерно с равной массой гистоновых белков в высококонденсированном нуклеопротеиновом комплексе, называемом хроматином.^[14] Дезоксирибонуклеопротеины в таком комплексе взаимодействуют, образуя мультипротеиновый регуляторный комплекс, в котором промежуточная ДНК закольцована или намотана. Дезоксирибонуклеопротеины участвуют в регуляции репликации и транскрипции ДНК.

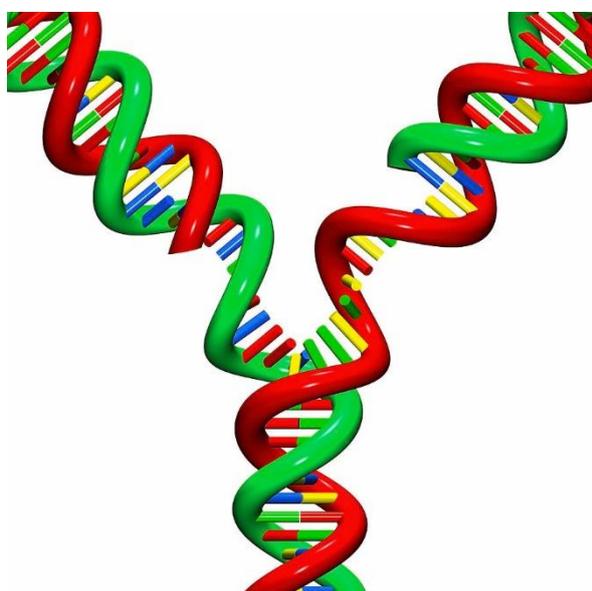
КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое нуклеиновая кислота?
2. Что такое нуклеозиды?
3. Что такое нуклеопротеины?

РЕПЛИКАЦИЯ

Репликация – синтез дочерней молекулы ДНК на матрице родительской молекулы ДНК, который происходит в процессе деления клетки.

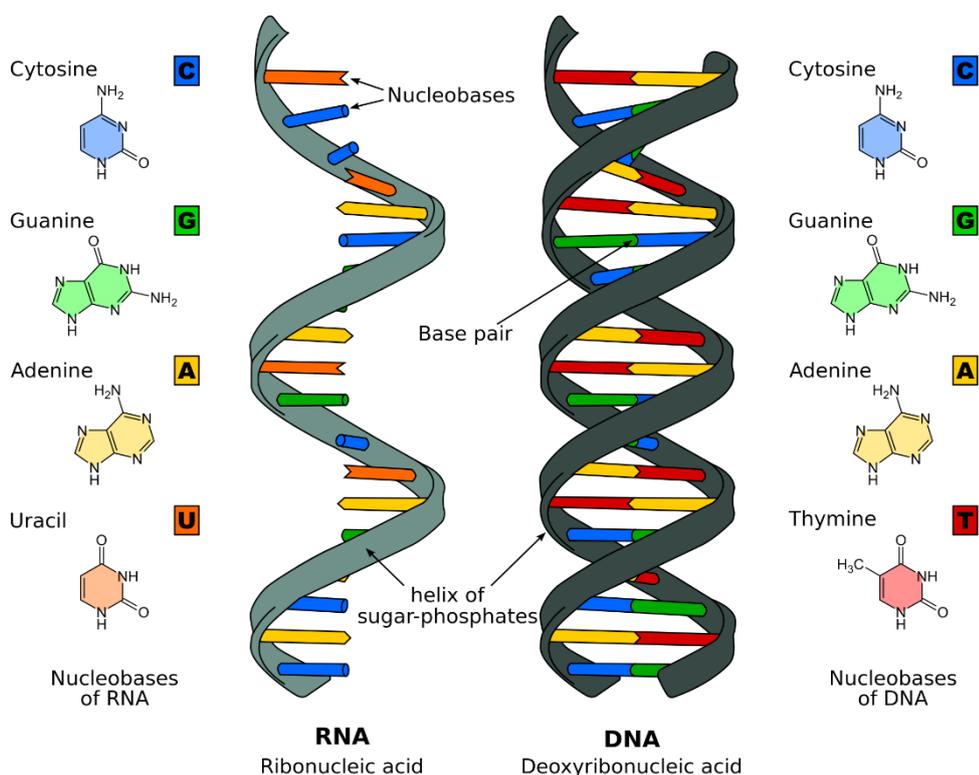
Спиральные цепи в молекуле ДНК соединяются водородными связями. Они очень слабые и легко разрываются. Цепи расходятся, и каждая из них служит матрицей, на которой с помощью особых ферментов собирается соответствующая ей новая спиральная цепь. В результате получают две дочерние молекулы ДНК. В каждой из них одна нить происходит из материнской молекулы, а другая синтезирована по комплементарному принципу – по принципу соответствия.



На рисунке представлен процесс репликации – передача наследственной информации при делении клетки. Связи между азотистыми основаниями водородные. Они весьма слабые, легко разрываются и легко образуются, что очень важно в биохимических процессах. Итак, водородные связи разрываются, ветви молекулы ДНК расходятся. Обратим внимание на самую верхнюю строчку с основаниями, к которым уже присоединились комплементарные (10 строчка снизу). До разрыва связей на том месте соединялись цитозин С и гуанин G. После разрыва связей слева к основанию цитозин С присоединился гуанин G, а к противоположному концу справа к гуанину G присоединился цитозин С. Таким образом на месте одной пары С – G образовались две точно такие же пары. Теперь обратим внимание на самую нижнюю строчку. До разрыва связей в том месте соединялись тимин Т и аденин А. После разрыва водородных связей и разделения ветвей слева к тимину Т присоединился аденин А, а справа к аденину А присоединился тимин Т. Таким образом, вместо одной пары Т – А образовались две такие же пары. Такая точность копирования определяется принципом комплементарности. Впоследствии к азотистым основаниям присоединяются остатки фосфорной кислоты и сахар дезоксирибоза. Так из одной молекулы ДНК появляются две аналогичные молекулы.

ТРАНСКРИПЦИЯ

Транскрипция – синтез молекулы РНК на матрице ДНК. Другими словами, это перенос генетической информации с ДНК на РНК. Нити молекулы ДНК разделяются, и одна из них служит матрицей, на основании которой строится молекула РНК. В этой новой молекуле азотистые основания соответствуют основаниям молекулы-матрицы. Например, если в молекуле ДНК на определенном месте находится аденин, то в стоящейся молекуле РНК ему соответствует тимин. А поскольку между основаниями существует взаимно однозначное соответствие (аденин соответствует тимину, гуанин соответствует цитозину), то это и означает перенос информации с одной молекулы на другую. Та нить ДНК, которая служит матрицей для синтеза РНК, называется смысловой. Вторая нить ДНК не кодирует белки и поэтому называется некодирующей, или бессмысленной. Синтез нити РНК на молекуле ДНК осуществляет фермент РНК-полимераза. Он синтезирует до 50 нуклеотидов в секунду.



На рисунке показан процесс транскрипции – перенос генетической информации с ДНК на РНК. Ветви молекулы ДНК разделились. К одиночным азотистым основаниям присоединяются основания, комплементарные им. Таким образом, информация о последовательности азотистых оснований, идущих вдоль кодирующей ветви ДНК, передается на молекулу РНК. Правда, на РНК это уже будет последовательность не оснований, идущих вдоль ветви ДНК, а оснований, комплементарных им.

ТРАНСЛЯЦИЯ

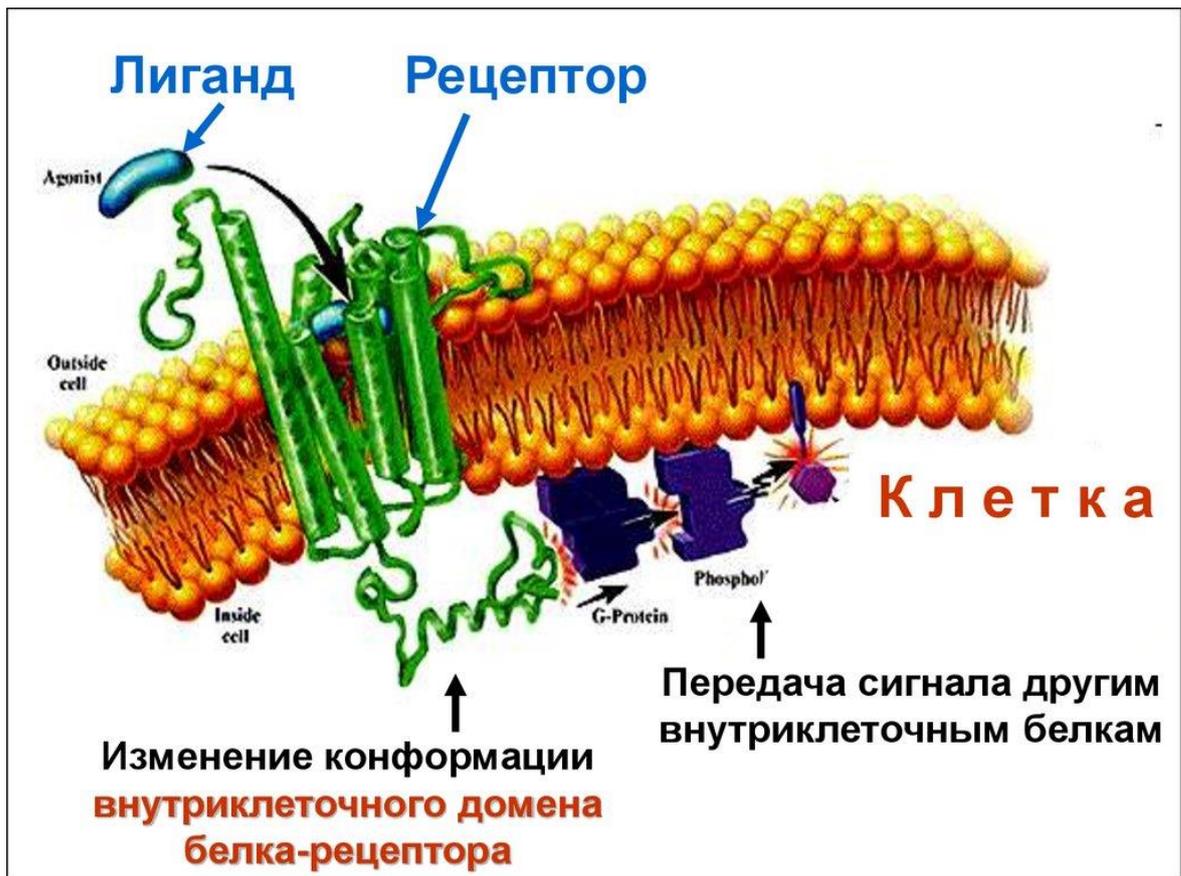
Трансляция – синтез белка на матрице иРНК при участии рибосом.

Белок синтезируется, т.е. составляется из отдельных аминокислот, в специальных органеллах – органах клетки. Они называются рибосомами. Тело рибосомы складывается из рибосомальных РНК.

Итак, в процессе транскрипции информационная РНК с матрицы молекулы ДНК копирует информацию о последовательности аминокислот в конкретном белке. Она проходит сквозь поры ядра и входит в рибосому. В свою очередь, транспортные РНК несут с собой аминокислоты и движутся к рибосомам. Причем, каждый вид тРНК предназначен для переноса определенной аминокислоты. Как и в жизни: легковые машины возят людей, самосвалы – щебень, грузовики – мешки с картошкой. На одном конце транспортной РНК находится аминокислота, на другом – антикодон. В рибосоме антикодон транспортной РНК соединяется с соответствующим кодоном информационной РНК, и аминокислота остается в рибосоме. К ней будет прикрепляться другая аминокислота, причем, в той последовательности, в какой находится соответствующий кодон информационной РНК. Таким образом, последовательность аминокислот в цепочке внутри рибосомы будет повторять последовательность кодонов информационной РНК, а значит, и последовательность кодонов в ДНК.

СХЕМА СБОРКИ БЕЛКА

На рисунке представлен процесс трансляции – сборка белка с помощью рибосом. Слева изображена молекула ДНК. Обратим внимание на левую ветвь. На ней закодирована информация, какие аминокислоты и в какой последовательности должны соединяться на определенном участке белка. Молекула РНК в процессе транскрипции копирует информацию: кодону ААА соответствует кодон UUU, кодону GCG – кодон CGC, кодону ATG – кодон UAC. Кодоны последовательно располагаются на молекуле информационной РНК в соответствии с их расположением в молекуле ДНК. Информационная РНК проходит сквозь поры ядерной мембраны и входит в рибосому. Повторять последовательность кодонов информационной РНК, а значит, и последовательность кодонов в ДНК.



Транспортные РНК, на которых прикреплены соответствующие аминокислоты, собирают их в цепочку. К кодону UUU в молекуле информационной РНК присоединяется транспортная РНК, у которой на одном конце находится антикодон AAA, комплементарный кодону UUU, несущий фенилаланин (в таблице аминокислоту следует искать по кодону иРНК, а не по антикодону тРНК). Информационная РНК продвигается по рибосоме.

Теперь на очереди кодон CGC. К нему присоединяется транспортная РНК с антикодоном GCG на одном конце и аргинином на другом. Аргинин прикрепляется к фенилаланину. Наконец, наступает очередь кодона UAC. К нему подстраивается транспортная РНК с антикодоном AUG и тирозином, который становится третьим компонентом строящегося белка. Таким образом, аминокислоты на данном участке молекулы белка выстроились в соответствии с информацией, которая была записана в молекуле ДНК.

МОЛЕКУЛА ДНК ВЫПОЛНЯЕТ ТРИ ОСНОВНЫЕ ФУНКЦИИ.

1. Хранение наследственной информации. Порядок расположения кодонов в молекуле ДНК определяет порядок расположения аминокислот в молекуле белка, т.е. его первичную структуру. Организмы различаются между собой составом белков. Именно белки определяют свойства клеток и всего организма. Поэтому молекулы ДНК, в которых заключена вся информация о белках, содержат информацию о всех свойствах и признаках организма.

2. Передача наследственной информации следующему поколению. Эта передача осуществляется в процессе репликации.

3. Передача наследственной информации из ядра в цитоплазму. Этот процесс называется транскрипцией.

Различные виды РНК играют различную роль в процессе трансляции – в синтезе белков.

1. Транспортные РНК доставляют аминокислоты к месту сборки белков – в рибосому.

2. Информационная РНК содержит информацию о последовательности аминокислот в белке.

3. Рибосомальные РНК участвуют в сборке белка из отдельных аминокислот на основе иРНК.

Важнейшее открытие биологии XX века – универсальность генетического кода. Оно шокировало ученых. Оказывается, генетический код один для всех живых организмов на Земле: и для человека, и для цветка, и для мельчайшей бактерии.

Генетический код – универсальный, т.е. един для всех живых организмов на Земле.

Единство генетического кода – важнейший аргумент в пользу утверждения, что все живые существа на Земле объединяет единый путь эволюции.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое репликация?
2. Что такое трансляция?
3. Какие функции выполняет молекула ДНК?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ - 7.	ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СВОЙСТВА УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ.	СТРУКТУРА УГЛЕВОДОВ И	И И
------------------------------	--	-----------------------------	--------

СТРОЕНИЕ УГЛЕВОДОВ И УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ

Моносахариды, их олигомеры (олигосахариды) и полимеры (полисахариды) составляют класс **углеводов**.

Моносахариды (глюкоза, фруктоза, рибоза) представляют собой альдегиды или кетоны, содержащие две или более ОН-группы, общей формулой $(\text{C}_n\text{H}_{2n}\text{O})_n$. Кроме гидроксильных и карбонильных групп они могут содержать тиольные, карбоксильные, аминогруппы и др.

Полисахариды (целлюлоза, крахмал, гликоген, хитин) являются продуктами поликонденсации моносахаридов. Полисахариды, построенные из остатков одного и того же моносахарида, называются *гомополисахаридами*, а полисахариды, содержащие остатки различных моносахаридов, – *гетерополисахаридами*.

Олигосахариды (сахароза, лактоза) составляют промежуточную группу между моно- и полисахаридами и содержат от 2-х до 10 моносахаридных остатков.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ УГЛЕВОДОВ:

1) энергетическая – углеводы служат источником энергии для организма. При окислении 1 г углеводов выделяется 17,6 кДж (4,2 ккал) энергии. Следует отметить, что сахара являются главным источником быстро мобилизуемой энергии, так как в процессе пищеварения они легко переводятся в форму, пригодную для удовлетворения энергетических потребностей клеток;

2) строительная – целлюлоза входит в состав клеточных стенок растений, хитин обнаруживается в клеточной стенке грибов и в наружном скелете членистоногих, гликопротеиды – соединения углеводов с белками – входят в состав хрящевой и костной ткани животных;

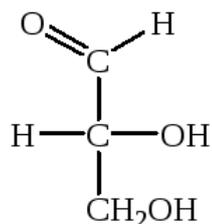
3) запасная – выражается в том, что крахмал накапливается клетками растений, а гликоген – клетками животных. Эти вещества служат для клеток и организмов источником глюкозы, которая легко высвобождается по мере необходимости;

4) защитная – гепарин – ингибитор свертывания крови; слизи, выделяемые различными железами и богатые углеводами, предохраняют пищевод, кишечник, желудок, бронхи от механических повреждений, препятствуют проникновению в организм бактерий и вирусов; камеди,

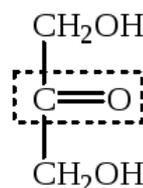
выделяющиеся в местах повреждения стволов и ветвей, защищают деревья и кустарники от проникновения инфекций через раны;

5) составная часть жизненно важных веществ – входят вместе с белками в состав ферментов, входят в состав ДНК, РНК, АТФ, участвуют в синтезе коферментов НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД⁺.

Простейшие из моносахаридов ($n = 3$) называются *триозами*. К ним относятся глицеральдегид и дигидроксиацетон. Глицеральдегид назван *альдозой*, так как он содержит альдегидную группу, а дигидроксиацетон – *кетозой*, поскольку в его состав входит кетогруппа.

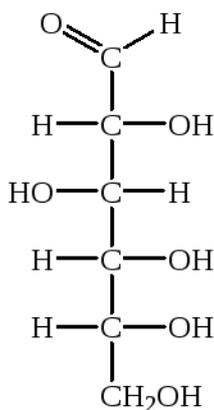


D-глицеральдегид

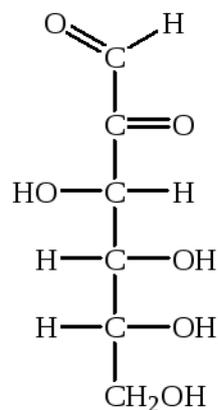


дигидроксиацетон

Моносахариды с четырьмя, пятью и шестью атомами углерода называются соответственно тетрозами, пентозами и гексозами. Так, из гексозных сахаров *D*-глюкоза является альдозой, а *D*-фруктоза – кетозой.

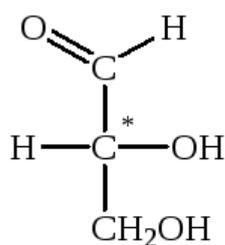


D-глюкоза

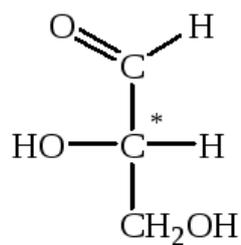


D-фруктоза

Природные моносахариды обладают оптической активностью, причем величина удельного вращения является характерным параметром моносахарида. Все моносахариды, за исключением дигидроксиацетона, содержат один или более асимметрических атома углерода. Простейшей альдозой, имеющей один асимметрический атом углерода, является глицеральдегид, существующий в двух стереоизомерных формах – *D*- и *L*-изомеров.

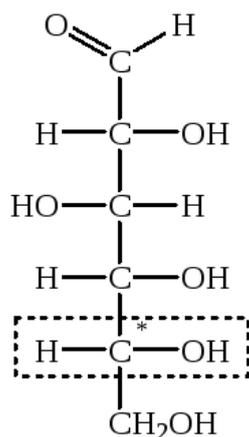


D-глицеральдегид

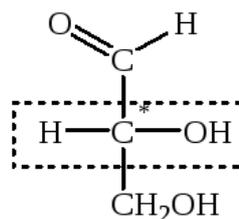


L-глицеральдегид

Моносахариды, содержащие два и более асимметрических атома углерода, относятся к *D*- или *L*-ряду в зависимости от конфигурации асимметрического атома углерода, наиболее удаленного от альдегидной или кетогруппы. Моносахарид (изображенный в проекциях Фишера) относят к *D*-ряду, если OH-группа асимметрического атома углерода, наиболее удаленного от альдегидной или кетогруппы, находится справа, а атом водорода – слева, как в *D*-глицеральдегиде. Если OH-группа асимметрического атома углерода, наиболее удаленного от альдегидной или кетогруппы, находится слева, а атом водорода – справа, как в *L*-глицеральдегиде, моносахарид относят к *L*-ряду.



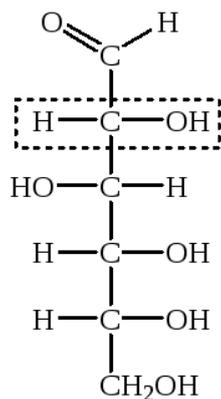
D-глюкоза



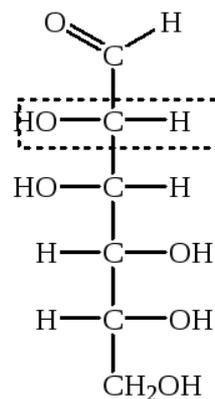
D-глицеральдегид

Простейшей кетозой, имеющей один асимметрический атом углерода, является тетроза – тетрулоза.

Два моносахарида, отличающиеся только по конфигурации одного определенного атома углерода, называются *эпимерами*. Например, *D*-глюкоза и *D*-манноза являются эпимерами по второму углеродному атому, а *D*-глюкоза и *D*-галактоза – эпимерами по четвертому углеродному атому.



D-глюкоза



D-манноза

Ниже изображены альдозы *D*-ряда, родоначальником которых является *D*-глицериновый альдегид (рис. 27).

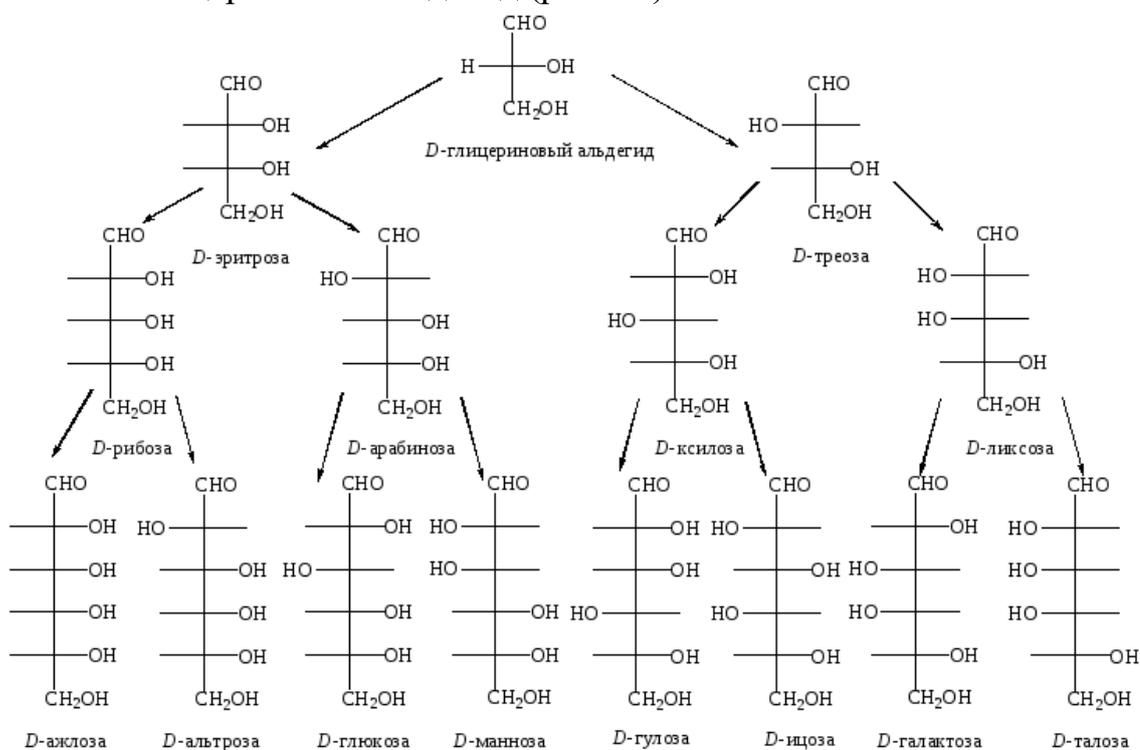


Рис. 27. Альдозы *D*-ряда

На рис.28 изображены кетозы *D*-ряда.

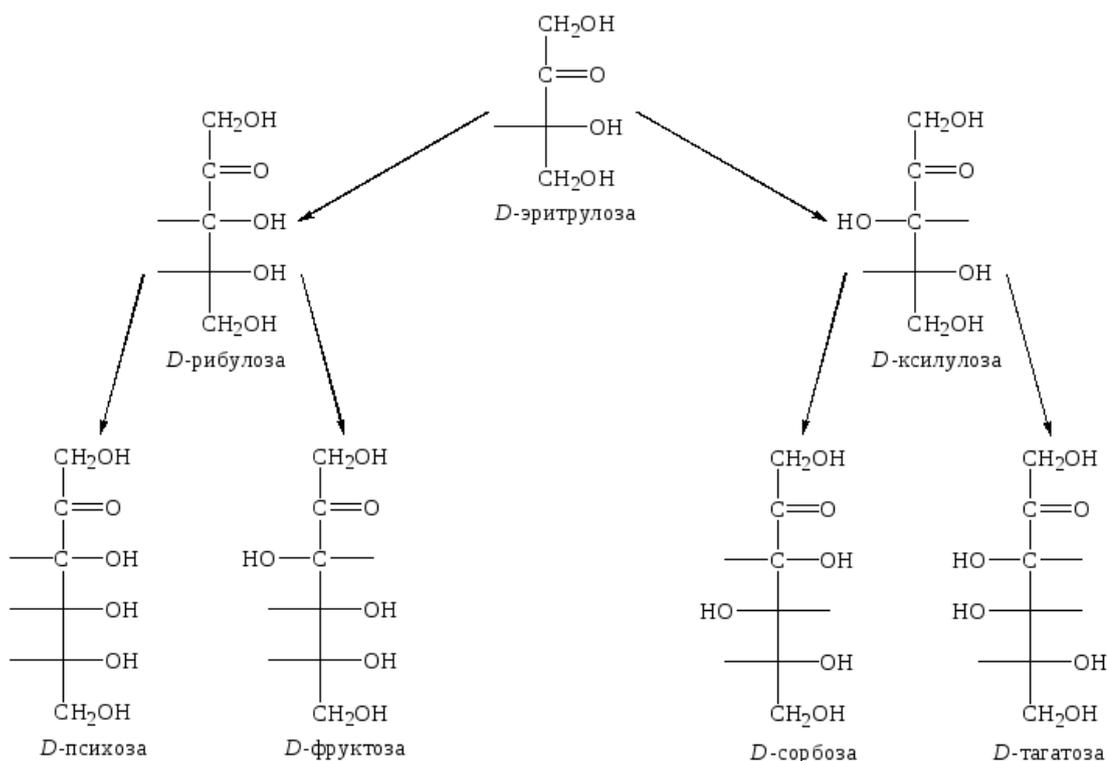


Рис. 28. Кетозы *D*-ряда

Приведенные выше структуры моносахаридов являются *ациклическими*. Однако моносахариды могут образовывать циклические структуры в результате взаимодействия карбонильной группы моносахарида с одной из его гидроксильных групп. Альдегидная группа обладает высокой реакционной способностью и может реагировать с -ОН-группой с образованием циклического *полуацетала*. Так, альдегидная группа при С1 атоме в молекуле глюкозы с открытой цепью реагирует с -ОН-группой при С5 атоме этой же молекулы, образуя внутримолекулярный полуацеталь (рис. 29). Образованный таким образом 6-членный циклический сахар называется *пиранозой* из-за его сходства с пираном.

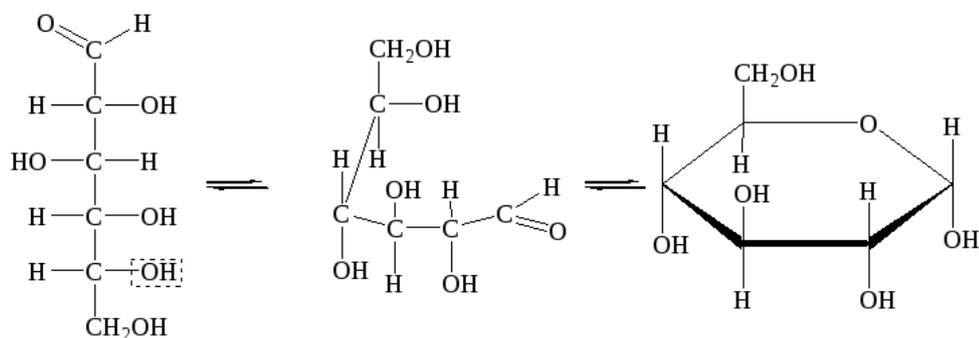
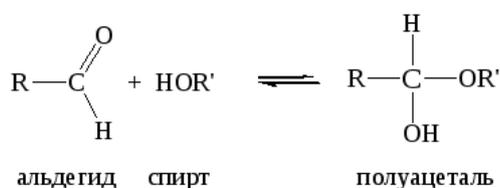
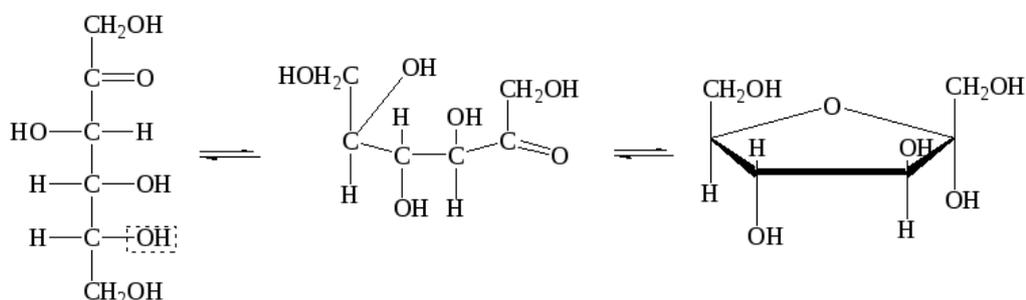
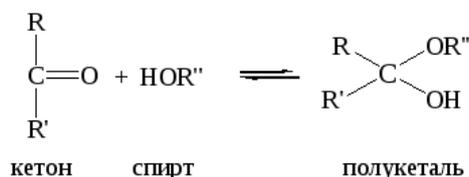


Рис. 29. Образование полуацеталей у альдоз

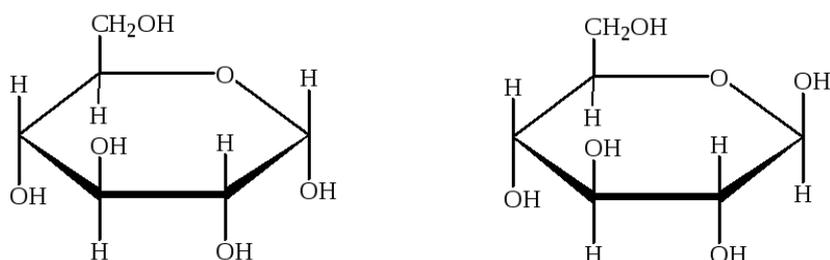
Подобно этому кетогруппа может реагировать с $-\text{OH}$ -группой с образованием циклического *полукетала* (рис. 30). Так, кетогруппа при C2 атоме фруктозы с открытой цепью взаимодействует с $-\text{OH}$ -группой при C5 атоме с образованием внутримолекулярного полукетала. Этот 5-членный циклический сахар называется *фуранозой* из-за его сходства с фураном. У альдоз фуранозный цикл образуется с участием OH -группы при C4 атоме.

Рис. 30. Образование полуацеталей у кетоз



При циклизации альдоз и кетоз возникает новый хиральный центр при C1 и C2 атомах, ранее входивших в состав альдегидной и кетогруппы соответственно. Это влечет за собой появление еще одной пары стереоизомеров (аномеров) для каждого моносахарида, которые отличаются

друг от друга по конфигурации C1 (C2 у кетоз) карбонильного атома и называются **α - и β -изомерами (аномерами)**. Символ α означает, что -ОН-группа при C1 (C2 у кетоз) атоме расположена под плоскостью кольца, а символ β означает, что эта -ОН-группа находится над плоскостью кольца. C1 (C2 у кетоз) атом, находящийся в центре полуацетальной группы и непосредственно связанный с двумя атомами кислорода, называется **аномерным углеродным атомом**, а гидроксил, образующийся при C1 (C2 у кетоз) атоме в результате циклизации моносахарида, называется **полуацетальным**. Он резко отличается по свойствам от других -ОН-групп молекулы и легко может замещаться на другие нуклеофильные группы с образованием различных производных моносахаридов. Циклические формы моносахаридов принято изображать в формулах Хеуорса, так как проекционные формулы Фишера дают весьма смутное представление о трехмерной структуре моносахаридов. Нижнюю часть кольца (жирные линии) представляют выступающей к наблюдателю, а противоположный край – лежащим за плоскостью рисунка. Примерная плоскость кольца перпендикулярна плоскости бумаги. Эти формулы однозначно указывают конфигурацию молекулы, но не отображают взаимного пространственного расположения групп, присоединенных к кольцу. Поэтому для изображения пространственной структуры моносахаридов применяются конформационные формулы:



α -D-глюкоза β -D-глюкоза

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОНОСАХАРИДОВ

- **Реакции карбонильной группы.** Несмотря на то, что в таутомерной смеси моносахаридов равновесие смещено в сторону циклических (полуацетальных и полукетальных) форм, некоторое количество ациклической формы присутствует в растворе, что позволяет сахарам вступать в реакции, характерные для альдегидов и кетонов.
- **Окисление моносахаридов:**
 - биологическое окисление до этилового спирта;

– получение альдоновых кислот. Под действием молекулярных брома, хлора, йода при pH=5 альдозы окисляются до соответствующих лактонов, которые затем медленно гидролизуются с образованием свободных кислот;

– важное значение для выяснения строения сахаров имеет реакция избирательного окисления α -гликольной группировки, которая протекает под действием йодной кислоты и периодатов. Кроме α -гликолей, окислению периодатом подвергаются α -гидроксикарбонильные соединения, α -аминоспирты, α -кетоальдегиды и α -дикетоны.

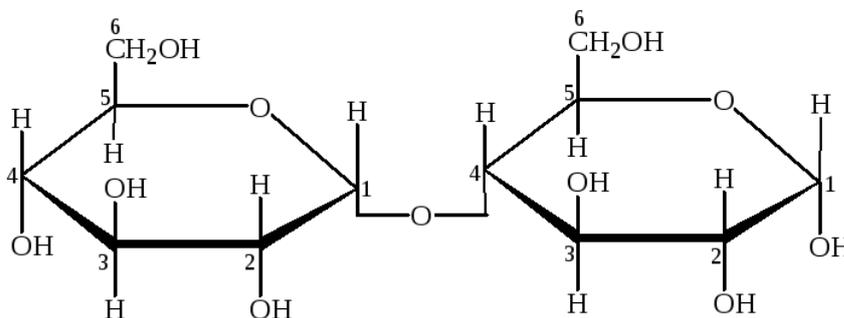
- **Действие кислот и оснований.** Альдозы и кетозы изомеризуются и распадаются с образованием различных продуктов, причем альдозы более устойчивы к воздействиям кислот и оснований, чем кетозы.

- **Реакция образования циклических ацеталей.**

ГЛИКОЗИДНАЯ СВЯЗЬ И ОЛИГОСАХАРИДЫ

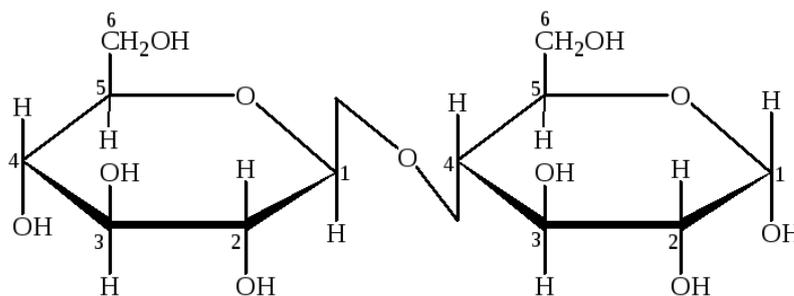
В молекулах олиго- и полисахаридов моносахаридные звенья соединены между собой *гликозидной связью*, в образовании которой участвуют полуацетальный гидроксил одного и любой гидроксил, в том числе и полуацетальный, другого моносахаридного остатка. Гликозидная связь образуется при взаимодействии двух моносахаридов в ходе реакции дегидратации. Гликозидные связи легко гидролизуются в присутствии кислот или под действием ферментов.

Для обозначения гликозидной связи необходимо указывать положение гидроксила при первом аномерном углеродном атоме (α - или β -), а также номер углеродного атома в молекуле второго остатка моносахарида. Например, $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидная связь в мальтозе сформирована между атомом кислорода при первом углеродном атоме в α -положении одного остатка α -D-глюкозы и углеродным атомом в положении 4 второго остатка β -D-глюкозы:



α -D-глюкозид

($\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидная связь)

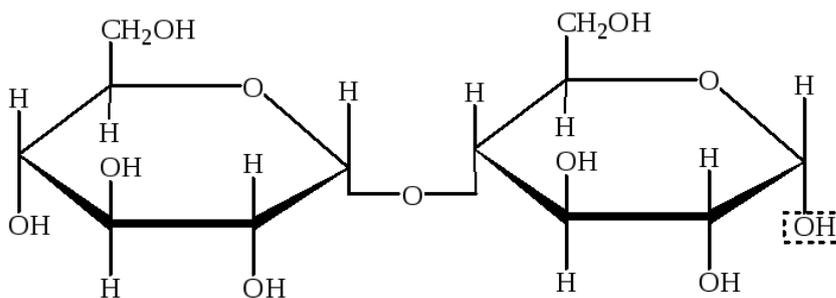


β -D-глюкозид

($\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидная связь)

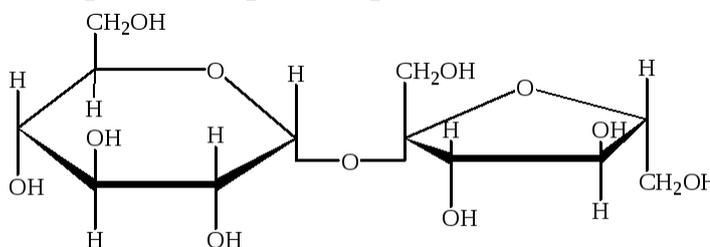
Наиболее часто в природных полисахаридах встречаются гликозидные связи типа $\alpha(1\rightarrow4)$, $\alpha(1\rightarrow6)$, $\beta(1\rightarrow4)$, $\beta(1\rightarrow3)$, а мономерами служит D-глюкоза.

Если один из концевых моносахаридных остатков олигосахарида содержит полуацетальный гидроксил, который может находиться как в α -, так и β -форме, олигосахарид называется **восстанавливающим**, или **редуцирующим**. Примером могут служить дисахариды мальтоза и лактоза.



мальтоза

Если же в образовании гликозидной связи между остатками моносахаридов участвуют оба полуацетальных гидроксила двух моносахаридов, такой олигосахарид не содержит концевой полуацетальный гидроксил и называется **невосстанавливающим**, или **нередуцирующим**. К ним относятся дисахариды сахароза и трегалоза.



сахароза

ПОЛИСАХАРИДЫ

В природе углеводы встречаются в основном в форме полисахаридов. Они представляют собой длинные полимерные цепочки, которые построены из остатков моносахаридов, соединенных между собой гликозидными связями. Полисахариды присутствуют во всех клетках и выполняют в них структурную, рецепторную, защитную функции, а также играют роль запасных веществ. В состав полисахаридов могут входить различные моносахариды. Полисахариды, построенные из остатков одного и того же моносахарида, называются **гомополисахаридами**, а полисахариды, содержащие остатки различных моносахаридов, – **гетерополисахаридами**. Чаще всего в составе полисахаридов встречается *D*-глюкоза. Нередко полисахариды имеют заместители неуглеводной природы – остатки серной, фосфорной или органических кислот.

Полисахариды различаются также по типу гликозидной связи, молекулярной массе и степени разветвленности макромолекул. Молекулярная масса полисахаридов колеблется в широких пределах – от нескольких тысяч до нескольких миллионов дальтон.

Большинство полисахаридов имеют тривиальные названия, связанные с источником, из которого они были выделены, например целлюлоза, крахмал, хитин. Основой более строгой номенклатуры служит моносахаридный состав полисахарида: *D*-глюканом называется полисахарид, построенный из остатков *D*-глюкозы.

Крахмал преобладает в клетках растений, микроводорослей, некоторых бактерий. Состоит из двух компонентов; α -амилозы и амилопектина. α -Амилоза представляет собой линейный полимер α -*D*-глюкозы (1000–4000 звеньев), остатки которой соединены с помощью $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидных связей. При этом в молекуле появляется большая свобода вращения вокруг связей C1–O и O–C4, и цепочка образует стабильную спираль с шестью остатками глюкозы на один виток. Молекулы йода по своим размерам точно подходят к центральной полости этой спирали и образуют комплекс, обуславливающий приобретение темно-синей окраски растворами α -амилозы при йодно-крахмальном тесте.

Амилопектин состоит из цепей поли- α -*D*-глюкозы с $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями, образующих остов молекулы. От этих цепей отходят боковые ветви, присоединенные к основной цепи $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями. Ветви являются более короткими цепочками $\alpha(1\rightarrow4)$ -глюкозида, содержащего 12 остатков *D*-глюкозы, и мешают основной цепи образовывать

спираль. Амилопектин в отличие от α -амилозы имеет разветвленную структуру и вместе с α -амилозой образует сложную сеть. Молекулы амилопектина содержат сотни тысяч остатков α -D-глюкозы, являясь одними из самых крупных природных молекул.

Гликоген преобладает в клетках животных, грибов и некоторых бактерий. Гликоген состоит из остатков α -D-глюкозы, соединенных $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидными связями. Его структура сильно напоминает структуру амилопектина, но у гликогена боковые ветви, присоединенные к основной цепи $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидными связями, расположены значительно чаще, чем у амилопектина, т. е. гликоген отличается от амилопектина большей разветвленностью и более плотной упаковкой молекулы. У гликогена отсутствует спиральная структура, и его молекулы еще более «открыты» действию ферментов.

Клеточные стенки растений обладают необычайной прочностью, и в процессе роста растения меняют свою структуру и состав. Основными компонентами клеточных стенок растений являются полисахариды, среди которых преобладает **целлюлоза**, в значительной степени определяющая архитектуру клеточной стенки. Этот гомополисахарид является самым распространенным углеводом на Земле (древесина содержит ~ 50% целлюлозы).

Мономерами целлюлозы служат остатки β -D-глюкозы, соединенные в длинные цепочки (до 10 000 остатков глюкозы в каждой) с помощью $\beta(1\rightarrow4)$ -гликозидных связей. В такой молекуле отсутствует полная свобода вращения вокруг C1–O и O–C4-связей, и полимер приобретает конформацию, благоприятную для образования межцепочечных поперечных водородных связей в случае, когда цепочки располагаются антипараллельно. В результате молекулы целлюлозы объединяются в *микрофибриллы* толщиной 10 - 25 нм. Они перевиваются и образуют тонкие нити, которые, в свою очередь, могут обматываться одна вокруг другой, как пряжи в канате, формируя *макрофибриллы*. Каждая макрофибрилла имеет толщину ~0,5 мкм и длину 6 - 8 мкм. Прочность их сопоставима с прочностью стальной проволоки. Кроме того, отдельные участки микрофибрилл имеют упорядоченное строение и придают клеточной стенке кристаллические свойства.

Таким образом, целлюлоза за счет сложности своей структуры и высокой упорядоченности выполняет в растении защитную и опорную функции. В таком виде полисахариды недоступны действию собственных ферментов, и целлюлоза не может использоваться растением как резервное

вещество. Только некоторые бактерии, грибы, простейшие обладают ферментными системами, способными расщеплять целлюлозу.

Хитин – один из наиболее распространенных в природе полисахаридов – каждый год на Земле в живых организмах образуется и разлагается около 10 гигатонн хитина.

Выполняет защитную и опорную функции, обеспечивая жесткость клеток – содержится в клеточных стенках грибов.

Главный компонент экзоскелета членистоногих.

Также хитин образуется в организмах многих других животных – разнообразных червей, кишечнополостных и т. д.

Во всех организмах, вырабатывающих и использующих хитин, он находится не в чистом виде, а в комплексе с другими полисахаридами, и очень часто ассоциирован с белками.

Пектиновые вещества, или пектины, – полисахариды, образованные остатками главным образом галактуроновой кислоты. Присутствуют во всех высших растениях, особенно много их во фруктах и в некоторых водорослях. Пектины, являясь структурным элементом растительных тканей, способствуют поддержанию в них тургора, повышают засухоустойчивость растений, устойчивость овощей и фруктов при хранении. Используются в пищевой промышленности в качестве структурообразователей (гелеобразователей), загустителей, а также в медицинской и фармацевтической промышленности в качестве физиологически активных веществ с полезными для организма человека свойствами.

Агароза – полисахарид из красных водорослей, представляет собой разветвленную цепь из галактозы и 3,6-ангидрогалактозы с $\beta(1\rightarrow4)$ типом связи, в точках ветвления $\beta(1\rightarrow3)$. Является водорастворимым полисахаридом, защищает водоросли от высыхания. Используется в микробиологии как гелевая основа питательных сред (агар-агар).

Декстран – компонент слизи некоторых бактерий, предохраняющий их от высыхания. Представляет собой полимер глюкозы, связанной преимущественно в положении $\alpha(1\rightarrow6)$, а в точках ветвления в положении $\alpha(1\rightarrow3)$. В воде декстран образует вязкие слизи или гели, из которых путем введения поперечных связей получают гидрофильные сорбенты для хроматографии – «сефадекс». Растворимый декстран находит применение в качестве заместителя плазмы при переливании крови.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И АНАЛИЗА ПОЛИСАХАРИДОВ

Природные полисахариды очень разнообразны по своей структуре, поэтому не существует единых подходов к их выделению из биологического материала. Легче всего выделять экзогенные полисахариды, так как они

находятся вне клетки. Для этого клетки осаждают, а из раствора удаляют белки и низкомолекулярные полипептиды. Затем осуществляют экстракцию полисахаридов разбавленными растворами солей или органических кислот и их осаждение этанолом или другими органическими растворителями, смешивающимися с водой.

Эндогенные полисахариды (резервные и структурные) выделяют из биологического материала после гомогенизации клеток, что усложняет методику их выделения. В остальном процедура выделения эндогенных полисахаридов аналогична таковой для экзогенных полисахаридов.

Определение структуры полисахаридов является достаточно сложной задачей. Для выделения полисахарида высокой степени чистоты его несколько раз переосаждают из раствора. После этого проводят кислотный или ферментативный гидролиз полисахарида, продуктами которого являются олиго- и моносахариды. Полученный гидролизат анализируют на присутствие моно-, олиго- и полисахаридов с помощью цветных реакций, а также хроматографических методов либо подвергнутый химической модификации гидролизат анализируют методами хроматомасс-, ЯМР-спектроскопии, электрофореза и др.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. На какие классы делятся углеводы?
2. Какими свойствами обладают моносахариды?
3. Дайте понятие определению хитин?

СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН

Биологические мембраны - общее название функционально активных поверхностных структур, ограничивающих клетки (клеточные, или плазматические мембраны) и внутриклеточные органеллы (мембраны митохондрий, ядер, лизосом, эндоплазматического ретикулума и др.). Они содержат в своем составе липиды, белки, гетерогенные молекулы (гликопротеины, гликолипиды) и в зависимости от выполняемой функции многочисленные минорные компоненты: коферменты, нуклеиновые кислоты, антиоксиданты, каротиноиды, неорганические ионы и т. п.

Согласованное функционирование мембранных систем – рецепторов, ферментов, транспортных механизмов - помогает поддерживать гомеостаз клетки и в то же время быстро реагировать на изменения внешней среды.

К ОСНОВНЫМ ФУНКЦИЯМ БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН МОЖНО ОТНЕСТИ:

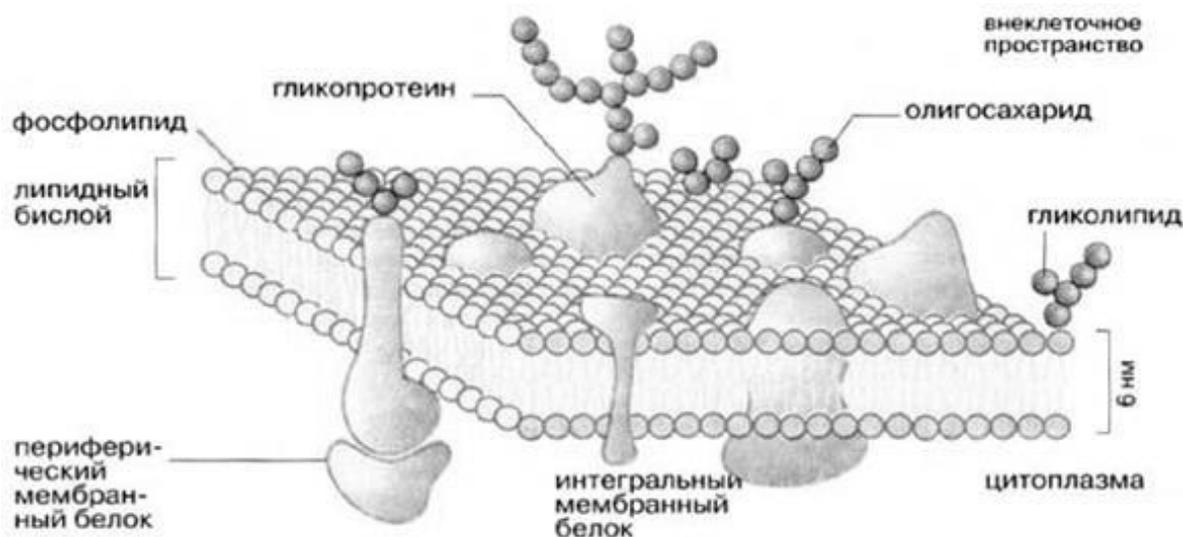
- отделение клетки от окружающей среды и формирование внутриклеточных компартментов (отсеков);
- контроль и регулирование транспорта огромного многообразия веществ через мембраны;
- участие в обеспечении межклеточных взаимодействий, передаче внутрь клетки сигналов;
- преобразование энергии пищевых органических веществ в энергию химических связей молекул АТФ.

Молекулярная организация плазматической (клеточной) мембраны у всех клеток примерно одинакова: она состоит из двух слоев липидных молекул с множеством включенных в нее специфических белков. Одни мембранные белки обладают ферментативной активностью, тогда как другие связывают питательные вещества из окружающей среды и обеспечивают их перенос в клетку через мембраны. Мембранные белки различают по характеру связи с мембранными структурами. Одни белки, называемые *внешними или периферическими*, прочно связаны с поверхностью мембраны, другие, называемые *внутренними или интегральными*, погружены внутрь мембраны. Периферические белки легко экстрагируются, тогда как интегральные белки могут быть выделены только при помощи детергенов или органических растворителей. На рис. 4 представлена структура плазматической мембраны.

Внешние, или плазматические, мембраны многих клеток, а также мембраны внутриклеточных органелл, например, митохондрий, хлоропластов удалось выделить в свободном виде и изучить их молекулярный состав. Во всех мембранах имеются полярные липиды в количестве, составляющем в зависимости от типа мембран от 20 до 80% ее массы, остальное приходится главным образом на долю белков. Так, в плазматических мембранах животных клеток количество белков и липидов, как правило, примерно одинаково; во внутренней митохондриальной мембране содержится около 80% белков и только 20% липидов, а в миелиновых мембранах клеток мозга наоборот, около 80% липидов и только 20% белков.

Липидная часть мембран представляет собой смесь различного рода полярных липидов. Полярные липиды, к числу которых относятся фосфоглицеролипиды, сфинголипиды, гликолипиды не запасаются в жировых клетках, а встраиваются в клеточные мембраны, причем в строго определенных соотношениях.

Рис. 4. Структура плазматической мембраны



Все полярные липиды в мембранах постоянно обновляются в процессе метаболизма, при нормальных условиях в клетке устанавливается динамическое стационарное состояние, при котором скорость синтеза липидов равна скорости их распада.

В мембранах животных клеток присутствуют в основном фосфоглицеролипиды и в меньшей степени сфинголипиды; триацилглицеролы обнаруживаются лишь в следовых количествах. Некоторые мембраны животных клеток, в особенности наружная

плазматическая мембрана, содержит значительные количества холестерина и его эфиров (рис.5).

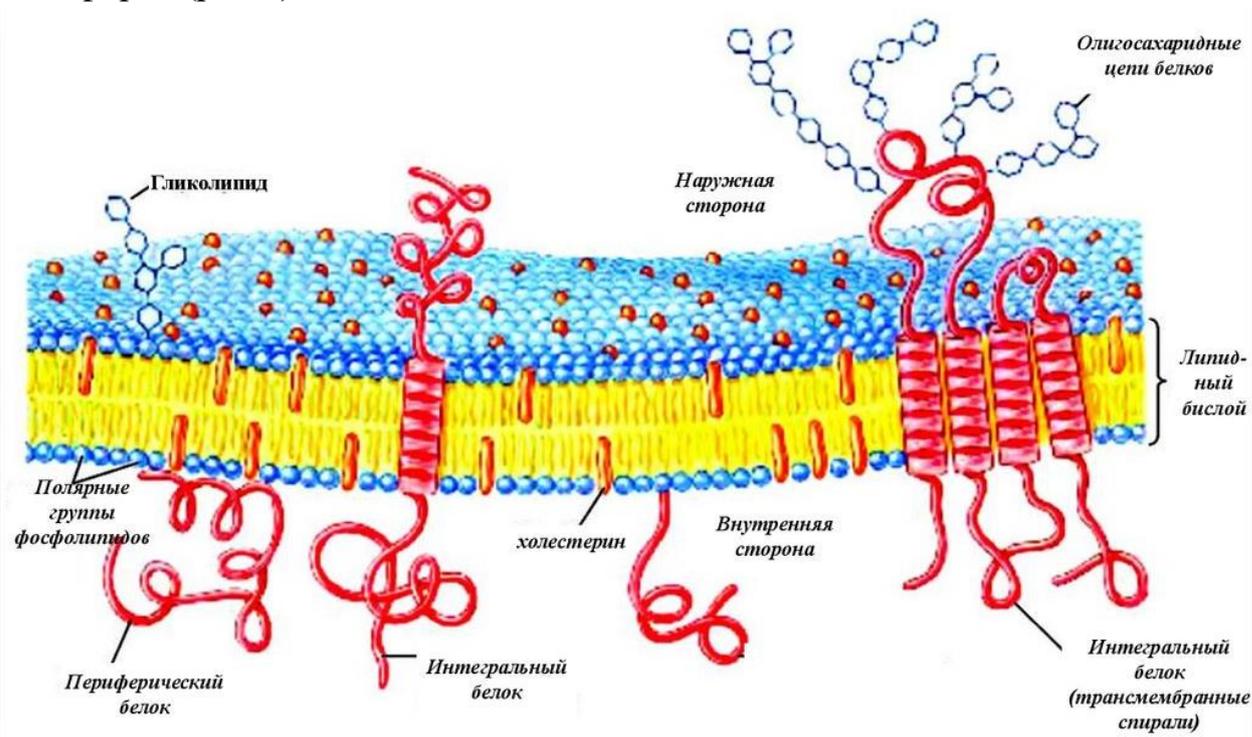


Рис.5. Мембранные липиды

В настоящее время общепринятой моделью строения мембран является жидкостно-мозаичная, предложенная в 1972 году С. Синджером и Дж. Николсоном.

Согласно ей белки можно уподобить айсбергам, плавающим в липидном море. Как уже указывалось выше, существуют 2 типа мембранных белков: интегральные и периферические. Интегральные белки пронизывают мембрану насквозь, они являются *амфипатическими молекулами*. Периферические белки не пронизывают мембрану и связаны с ней менее прочно. Основной непрерывной частью мембраны, то есть ее матриксом, служит полярный липидный бислой. При обычной для клетки температуре матрикс находится в жидком состоянии, что обеспечивается определенным соотношением между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами в гидрофобных хвостах полярных липидов.

Жидкостно-мозаичная модель предполагает также, что на поверхности расположенных в мембране интегральных белков имеются R-группы аминокислотных остатков (в основном гидрофобные группы, за счет которых белки как бы «растворяются» в центральной гидрофобной части бислоя). В то же время, на поверхности периферических, или внешних белков, имеются в основном гидрофильные R-группы, которые притягиваются к гидрофильным

заряженным полярным головкам липидов за счет электростатических сил. Интегральные белки, а к ним относятся ферменты и транспортные белки, обладают активностью только в том случае, если находятся внутри гидрофобной части бислоя, где они приобретают необходимую для проявления активности пространственную конфигурацию (рис.6). Следует еще раз подчеркнуть, что ни между молекулами в бислое, ни между белками и липидами бислоя не образуется ковалентных связей.

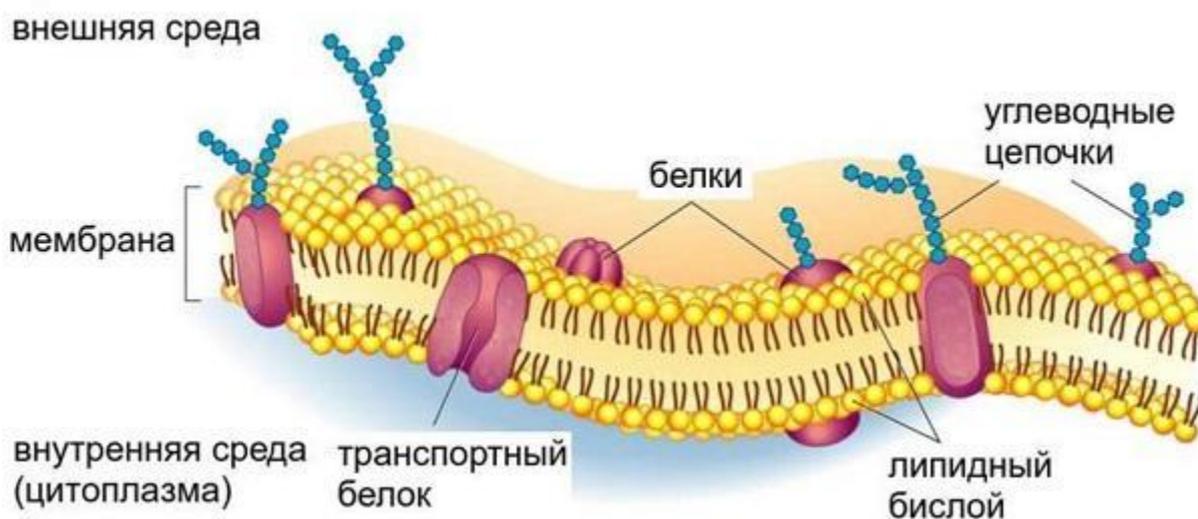


Рис.6. Мембранные белки

Мембранные белки могут свободно перемещаться в латериальной плоскости. Периферические белки буквально плавают на поверхности бислойного «моря», а интегральные белки, подобно айсбергам, почти полностью погружены в углеводородный слой.

В большинстве своем мембраны ассиметричны, то есть имеют неравноценные стороны. Эта ассиметричность проявляется в следующем:

- во-первых, в том, что внутренняя и внешняя стороны плазматических мембран бактериальных и животных клеток различаются по составу полярных липидов. Так, например, внутренний липидный слой мембран эритроцитов человека содержит в основном фосфатидилэтаноламин и фосфатидилсерин, а внешний – фосфатидилхолин и сфингомиелин.

- во-вторых, некоторые транспортные системы в мембранах действуют только в одном направлении. Например, в мембранах эритроцитов имеется транспортная система («насос»), перекачивающая ионы Na^+ из клетки в окружающую среду, а ионы K^+ - внутрь клетки за счет энергии, освобождающейся при гидролизе АТФ.

- в-третьих, на внешней поверхности плазматических мембран содержится очень большое число олигосахаридных группировок,

представляющих собой головки гликолипидов и олигосахаридные боковые цепи гликопротеинов, тогда как на внутренней поверхности плазматической мембраны олигосахаридных группировок практически нет.

Ассиметричность биологических мембран сохраняется за счет того, что перенос индивидуальных молекул фосфолипидов с одной стороны липидного бислоя на другую очень затруднен по энергетическим соображениям.

Полярная молекула липида способна свободно перемещаться на своей стороне бислоя, но ограничена в возможности перескочить на другую сторону.

Подвижность липидов зависит от относительного содержания и типа присутствующих ненасыщенных жирных кислот. Углеводородная природа жирнокислотных цепей сообщает мембране свойства текучести, подвижности.

В присутствии цис-ненасыщенных жирных кислот силы сцепления между цепями слабее, чем в случае одних насыщенных жирных кислот, и липиды сохраняют высокую подвижность и при низкой температуре.

На внешней стороне мембран имеются специфические распознающие участки, функция которых состоит в распознавании определенных молекулярных сигналов. Например, именно посредством мембраны некоторые бактерии воспринимают незначительные изменения концентрации питательного вещества, что стимулирует их движение к источнику пищи; это явление носит название **хемотаксиса**.

Мембраны различных клеток и внутриклеточных органелл обладают определенной специфичностью, обусловленной их строением, химическим составом и функциями. Выделяют следующие основные группы мембран у эукариотических организмов:

- плазматическая мембрана (наружная клеточная мембрана, плазмалемма),
- ядерная мембрана,
- эндоплазматический ретикулум,
- мембраны аппарата Гольджи, митохондрий, хлоропластов, миелиновых оболочек,
- возбудимые мембраны.

У прокариотических организмов помимо плазматической мембраны существуют внутрицитоплазматические мембранные образования, у гетеротрофных прокариот они называются *мезосомами*. Последние образуются впячиванием внутрь наружной клеточной мембраны и в некоторых случаях сохраняют с ней связь.

Мембрана эритроцитов состоит из белков (50%), липидов (40%) и углеводов (10%). Основная часть углеводов (93%) связана с белками, остальная – с липидами. В мембране липиды расположены асимметрично в отличие от симметричного расположения в мицеллах. Например, кефалин

находится преимущественно во внутреннем слое липидов. Такая асимметрия поддерживается, по-видимому, за счет поперечного перемещения фосфолипидов в мембране, осуществляемого с помощью мембранных белков и за счет энергии метаболизма.

Во внутреннем слое эритроцитарной мембраны находятся в основном сфингомиелин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, в наружном слое – фосфатидилхолин. Мембрана эритроцитов содержит интегральный гликопротеин *гликофорин*, состоящий из 131 аминокислотного остатка и пронизывающий мембрану, и так называемый белок полосы 3, состоящий из 900 аминокислотных остатков. Углеводные компоненты гликофорина выполняют рецепторную функцию для вирусов гриппа, фитогемагглютининов, ряда гормонов. В эритроцитарной мембране обнаружен и другой интегральный белок, содержащий мало углеводов и пронизывающий мембрану. Его называют *туннельным белком* (компонент а), так как предполагают, что он образует канал для анионов. Периферическим белком, связанным с внутренней стороной эритроцитарной мембраны, является *спектрин*.

Миелиновые мембраны, окружающие аксоны нейронов, многослойны, в них присутствует большое количество липидов (около 80%, половина из них – фосфолипидов). Белки этих мембран важны для фиксации лежащих друг над другом мембранных солев.

Мембраны хлоропластов. Хлоропласты покрыты двухслойной мембраной. Наружная мембрана имеет некоторое сходство с таковой у митохондрий. Помимо этой поверхностной мембраны в хлоропластах имеется внутренняя мембранная система – *ламеллы*. Ламеллы образуют или уплощенные пузырьки – тилакоиды, которые, располагаясь друг над другом, собираются в пачки (граны) или формируют мембранную систему стромы (ламеллы стромы). Ламеллы гран и стромы наружной стороне мембраны тилакоидов сосредоточены гидрофильные группировки, галакто- и сульфоллипидов. Фитольная часть молекулы хлорофилла погружена в глобулу и находится в контакте с гидрофобными группами белков и липидов. Порфириновые ядра хлорофилла в основном локализованы между соприкасающимися мембранами тилакоидов гран.

Внутренняя (цитоплазматическая) мембрана бактерий по структуре сходна с внутренними мембранами хлоропластов и митохондрий. В ней локализованы ферменты дыхательной цепи, активного транспорта; ферменты, участвующие в образовании компонентов мембраны. Преобладающим компонентом бактериальных мембран являются белки: соотношение белок/липид (по массе) равно 3:1. Наружная мембрана грамотрицательных

бактерий по сравнению с цитоплазматической содержит меньшее количество различных фосфолипидов и белков. Обе мембраны различаются по липидному составу. Во внешней мембране находятся белки, образующие поры для проникновения многих низкомолекулярных веществ. Характерным компонентом наружной мембраны является также специфический липополисахарид. Ряд белков наружной мембраны служит рецепторами для фагов.

Мембрана вирусов. Среди вирусов мембранные структуры характерны для содержащих нуклеокапсид, который состоит из белка и нуклеиновой кислоты. Это «ядро» вирусов окружено мембраной (оболочка). Она также состоит из двойного слоя липидов с включенными в него гликопротеинами, расположенными в основном на поверхности мембраны. У ряда вирусов (микровирусы) в мембраны входит 70-80% всех белков, остальные белки содержатся в нуклеокапсиде.

Таким образом, мембраны клеток представляют собой очень сложные структуры; составляющие их молекулярные комплексы образуют упорядоченную двумерную мозаику, что придает поверхности мембран биологическую специфичность.

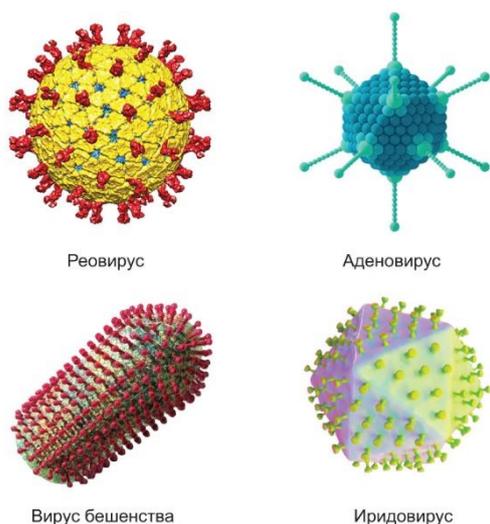


Рис. 25.3. Форма вирионов

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое биологические мембраны?
2. Перечислите функции биологических мембран?
3. Чем является спектрин?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ - 9.	ВИТАМИНЫ. СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ.
------------------------------	--

Витамины — низкомолекулярные, разнообразные по химическому строению органические вещества, принимающие участие во многих реакциях клеточного метаболизма. В отличие от белков, жиров и углеводов витамины 1- не являются структурными компонентами клетки; 2 - не используются в качестве источника энергии. Большинство витаминов не синтезируются в организме человека и животных, но некоторые синтезируются микрофлорой кишечника и тканями в минимальных количествах, поэтому основным источником витаминов является пища.

Витамины — вещества нестойкие, они легко разрушаются высокой температурой, действием сильных гидроксидов, кислородом воздуха, ионизирующими излучениями и другими факторами.

Витамины были открыты в конце XIX столетия благодаря работам русских ученых Н.И. Лунина и В.В. Пашутина, впервые показавших необходимость для полноценного питания кроме белков, жиров и углеводов еще каких-то неизвестных веществ. Н.И. Лунин провел эксперимент на 2 группах мышей, одну из которых он кормил цельным молоком, а другую — смесью из белков, жиров и углеводов молока. Вторая группа мышей стала болеть, отставать в росте и развитии.

В 1912 году польский ученый Коземир Функ, изучая компоненты, входящие в состав шелухи риса и предохраняющие от болезни бери-бери, и полагая, что в их состав должны входить аминные группировки, предложил назвать эти неизвестные вещества витаминами, т.е. аминами жизни.

Известно 3 состояния, связанные с витаминами:

- 1 – авитаминоз - полное отсутствие витаминов в кормах.
- 2 - гиповитаминоз - недостаток витаминов в кормах.
- 3 – гипервитаминоз – избыточное поступление витаминов с кормом

КЛАССИФИКАЦИЯ ВИТАМИНОВ

По химическому строению и физико-химическим свойствам (в частности, по растворимости) витамины делят на 2 группы.

А. Водорастворимые

Витамин В₁ (тиамин); Витамин В₂ (рибофлавин); Витамин РР (никотиновая кислота, нико-тинамид, витамин В₃);

Пантотеновая кислота (витамин В₅); Витамин В₆ (пиридоксин); Биотин (витамин Н); Фолиевая кислота (витамин В_с, В₉); Витамин В₁₂ (кобаламин); Витамин С (аскорбиновая кислота); Витамин Р (биофлавоноиды).

Б. Жирорастворимые

Витамин А (ретинол);

Витамин D (холекальциферол);

Витамин Е (токоферол);

Витамин К (филлохинон).

Водорастворимые витамины при их избыточном поступлении в организм, будучи хорошо растворимыми в воде, быстро выводятся из организма.

Жирорастворимые витамины хорошо растворимы в жирах и легко накапливаются в организме при их избыточном поступлении с пищей. Их накопление в организме может вызвать расстройство обмена веществ, называемое гипер-витаминозом, и даже гибель организма.

А. Водорастворимые витамины

1. Витамин В₁ (тиамин).

Структура витамина включает пиримидиновое и тиазоловое кольца, соединённые метиновым мостиком.



Витамин В₁ (тиамин)

Источники.

Витамин В₁ - первый витамин, выделенный в кристаллическом виде К. Функом в 1912 г. Он широко распространён в продуктах растительного происхождения (оболочка семян хлебных злаков и риса, горох, фасоль, соя и др.). В организмах животных витамин В₁ содержится преимущественно в виде дифосфорного эфира тиамин (ТДФ); он образуется в печени, почках, мозге, сердечной мышце путём фосфорилирования тиамин при участии тиаминкиназы и АТФ.

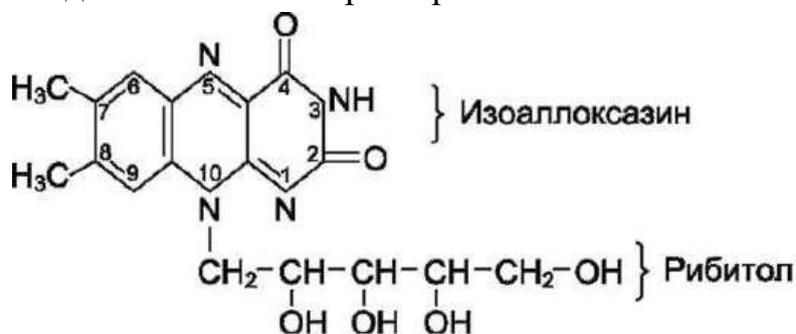
Суточная потребность взрослого человека в среднем составляет 2-3 мг витамина В₁. Но потребность в нём в очень большой степени зависит от состава и общей калорийности пищи, интенсивности обмена веществ и интенсивности работы. Преобладание углеводов в пище повышает потребность организма в витамине; жиры, наоборот, резко уменьшают эту

потребность. Биологическая роль витамина В₁ определяется тем, что в виде ТДФ он входит в состав как минимум трёх ферментов и ферментных комплексов: в составе пируват- и α-кетоглутаратдегидрогеназных комплексов он участвует в окислительном декарбок-силировании пирувата и α-кетоглутарата; в составе транскетолазы ТДФ участвует в пентозофосфатном пути превращения углеводов.

Основной, наиболее характерный и специфический признак недостаточности витамина В₁ - полиневрит, в основе которого лежат дегенеративные изменения нервов. Вначале развивается болезненность вдоль нервных стволов, затем - потеря кожной чувствительности и наступает паралич (бери-бери). Второй важнейший признак заболевания - нарушение сердечной деятельности, что выражается в нарушении сердечного ритма, увеличении размеров сердца и в появлении болей в области сердца. К характерным признакам заболевания, связанного с недостаточностью витамина В₁, относят также нарушения секреторной и моторной функций ЖКТ; наблюдают снижение кислотности желудочного сока, потерю аппетита, атонию кишечника.

2. Витамин В₂ (рибофлавин).

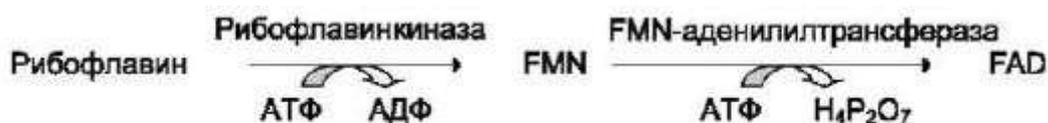
В основе структуры витамина В₂ лежит структура изоаллоксазина, соединённого со спиртом рибитолом.



Витамин В₂

Рибофлавин представляет собой кристаллы жёлтого цвета (от лат. *flavos* - жёлтый), слабо растворимые в воде.

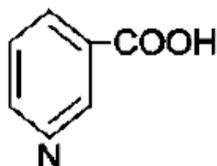
Главные источники витамина В₂ - печень, почки, яйца, молоко, дрожжи. Витамин содержится также в шпинате, пшенице, ржи. Частично человек получает витамин В₂ как продукт жизнедеятельности кишечной микрофлоры. Суточная потребность в витамине В₂ взрослого человека составляет 1,8-2,6 мг. Биологические функции. В слизистой оболочке кишечника после всасывания витамина происходит образование коферментов FMN и FAD по схеме:



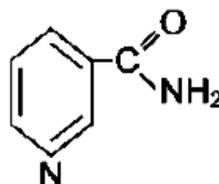
Коферменты FAD и FMN входят в состав флавиновых ферментов, принимающих участие в окислительно-восстановительных реакциях.

Клинические проявления недостаточности рибофлавина выражаются в остановке роста у молодых организмов. Часто развиваются воспалительные процессы на слизистой оболочке ротовой полости, появляются длительно незаживающие трещины в углах рта, дерматит носогубной складки. Типично воспаление глаз: конъюнктивиты, васкуляризация роговицы, катаракта. Кроме того, при авитаминозе B₂ развиваются общая мышечная слабость и слабость сердечной мышцы.

3. Витамин PP (никотиновая кислота, никотина-мид, витамин B₃)



Никотиновая кислота



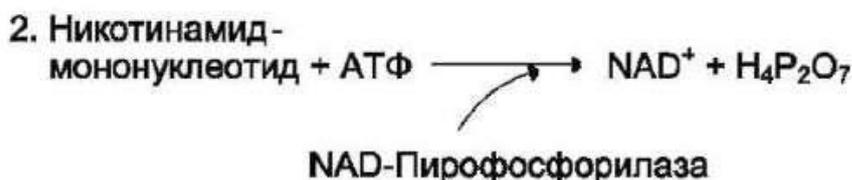
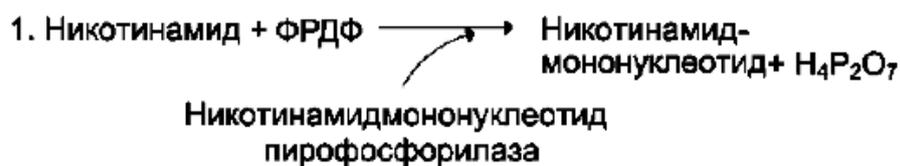
Никотинамид

Витамин PP

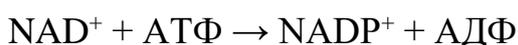
Источники.

Витамин PP широко распространён в растительных продуктах, высоко его содержание в рисовых и пшеничных отрубях, дрожжах, много витамина в печени и почках крупного рогатого скота и свиней. Витамин PP может образовываться из триптофана (из 60 молекул триптофана может образоваться 1 молекула никотинамида), что снижает потребность в витамине PP при увеличении количества триптофана в пище. Суточная потребность в этом витамине составляет для взрослых 15-25 мг, для детей - 15 мг.

Биологические функции. Никотиновая кислота в организме входит в состав NAD и NADP, выполняющих функции коферментов различных дегидрогеназ (см. раздел 2). Синтез NAD в организме протекает в 2 этапа:



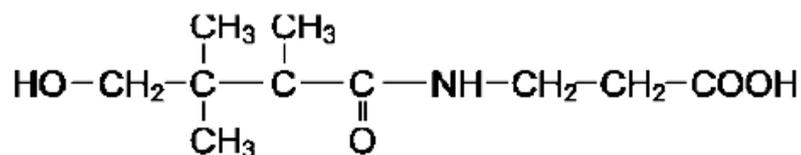
NADP образуется из NAD путём фосфорилирования под действием цитоплазматической NAD-киназы.



Недостаточность витамина PP приводит к заболеванию «пеллагра», для которого характерны 3 основных признака: дерматит, диарея, деменция («три Д»). Пеллагра проявляется в виде симметричного дерматита на участках кожи, доступных действию солнечных лучей, расстройств ЖКТ (диарея) и воспалительных поражений слизистых оболочек рта и языка. В далеко зашедших случаях пеллагры наблюдают расстройства ЦНС (деменция): потеря памяти, галлюцинации и бред.

4. Пантотеновая кислота (витамин В)

Пантотеновая кислота состоит из остатков D-2,4-дигидрокси-3,3-диметилмасляной кислоты и β -аланина, соединённых между собой амидной связью:



2,4-Дигидрокси-3,3-диметил-
масляная кислота β -Аланин

Пантотеновая кислота - белый мелкокристаллический порошок, хорошо растворимый в воде. Она синтезируется растениями и микроорганизмами, содержится во многих продуктах животного и растительного происхождения (яйцо, печень, мясо, рыба, молоко, дрожжи, картофель, морковь, пшеница, яблоки). В кишечнике человека пантотеновая кислота в небольших количествах продуцируется кишечной палочкой. Пантотеновая кислота - универсальный витамин, в ней или её производных нуждаются человек, животные, растения и микроорганизмы.

Суточная потребность человека в пантотеновой кислоте составляет 10-12 мг. Биологические функции. Пантотеновая кислота используется в клетках для синтеза коферментов: 4-фосфопантотеина и КоА (рис. 3-1). 4-фосфопантотеин - кофермент пальми-тоилсинтазы. КоА участвует в переносе ацильных радикалов в реакциях общего пути катаболизма, активации жирных кислот, синтеза холестерина и кетоновых тел, синтеза ацетилглюкозаминов, обезвреживания чужеродных веществ в печени (см. раздел 12). Клинические проявления недостаточности витамина. У человека и животных развиваются дерматиты, дистрофические изменения желёз внутренней секреции (например, надпочечников), нарушение деятельности нервной системы (невриты, параличи), дистрофические изменения в сердце, почках, депигментация и выпадение волос и шерсти у животных, потеря аппетита, истощение. Низкий уровень пантотената в крови у людей часто сочетается с другими гиповитаминозами (В₁, В₂) и проявляется как комбинированная форма гиповитаминоза.

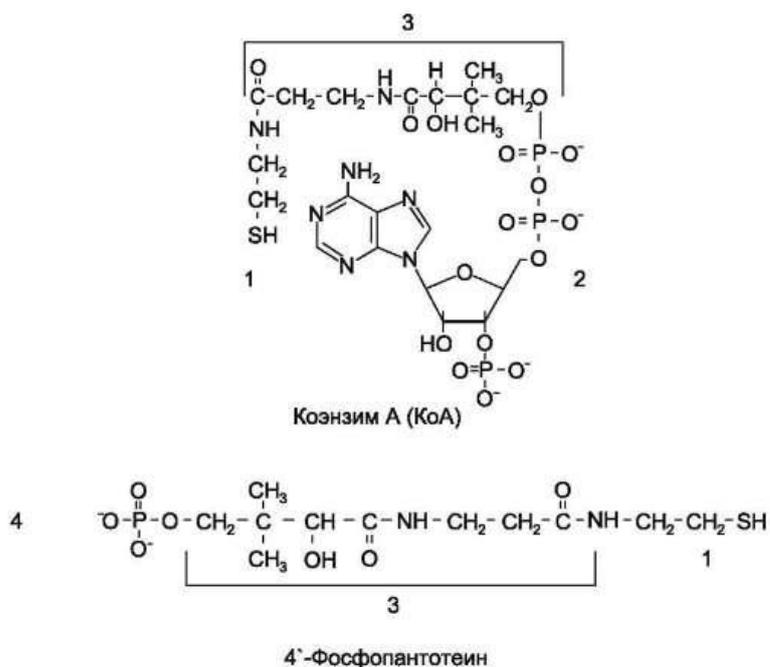
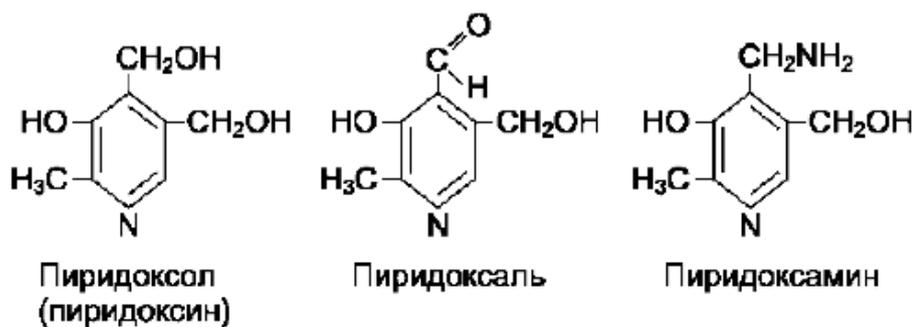


Рис. 3-1. Строение КоА и 4'-фосфопантотеина. 1 - тиоэтанолламин; 2 - аденозил-3'-фосфо-5'-дифосфат; 3 - пантотеновая кислота; 4 - 4'-фосфопантотеин (фосфорилированная пантотеновая кислота, соединённая с тиоэтанолламином).

5. Витамин В₆ (пиридоксин, пиридоксаль, пиридок-самин)

В основе структуры витамина В₆ лежит пиридиновое кольцо. Известны 3 формы витамина В₆, отличающиеся строением замещающей группы у атома углерода в п-положении к атому азота. Все они характеризуются одинаковой биологической активностью.



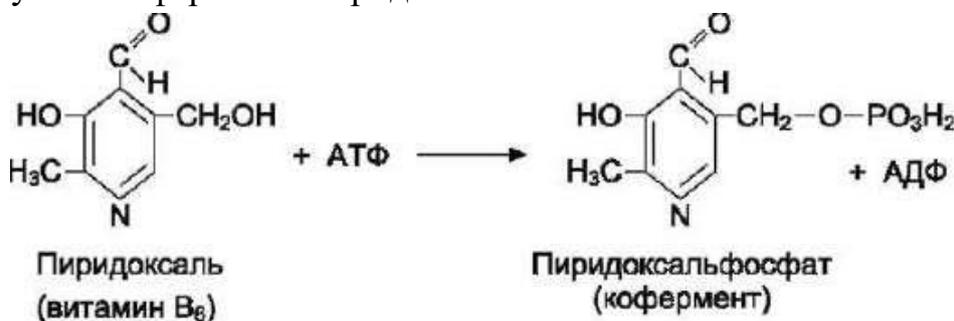
Все 3 формы витамина - бесцветные кристаллы, хорошо растворимые в воде.

6. Источники витамина В₆

Источники витамина В₆ для человека - такие продукты питания, как яйца, печень, молоко, зеленый перец, морковь, пшеница, дрожжи. Некоторое количество витамина синтезируется кишечной флорой.

Суточная потребность составляет 2-3 мг.

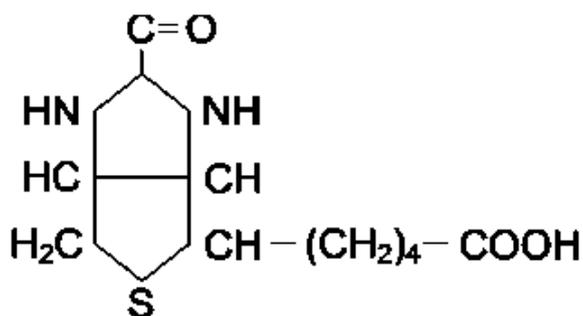
Биологические функции. Все формы витамина В₆ используются в организме для синтеза коферментов: пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата. Коферменты образуются путём фосфорилирования по гидроксиметильной группе в пятом положении пиридинового кольца при участии фермента пиридоксаль-киназы и АТФ как источника фосфата.



Пиридоксальные ферменты играют ключевую роль в обмене аминокислот: катализируют реакции трансминирования и декарбоксилирования аминокислот, участвуют в специфических реакциях метаболизма отдельных аминокислот: серина, треонина, триптофана, серосодержащих аминокислот, а также в синтезе гема.

Клинические проявления недостаточности витамина. Авитаминоз В₆ у детей проявляется повышенной возбудимостью ЦНС, периодическими судорогами, что связано, возможно, с недостаточным образованием тормозного медиатора ГАМК, специфическими дерматитами. У взрослых признаки гиповитаминоза В₆ наблюдают при длительном лечении туберкулёза изониазидом (антагонист витамина В₆). При этом возникают поражения нервной системы (полиневриты), дерматиты.

7. Биотин (витамин Н)



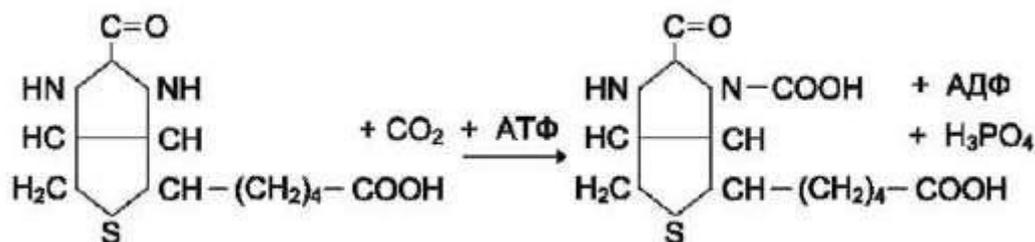
В основе строения биотина лежит тиофеновое кольцо, к которому присоединена молекула мочевины, а боковая цепь представлена валерьяновой кислотой.

Источники.

Биотин содержится почти во всех продуктах животного и растительного происхождения. Наиболее богаты этим витамином печень, почки, молоко, желток яйца. В обычных условиях человек получает достаточное количество биотина в результате бактериального синтеза в кишечнике.

Суточная потребность биотина у человека не превышает 10 мкг.

Биологическая роль. Биотин выполняет кофер-ментную функцию в составе карбоксилаз: он участвует в образовании активной формы CO_2 .



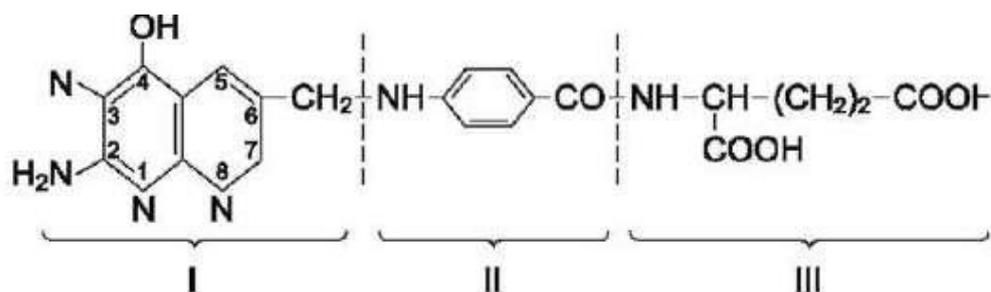
В организме биотин используется в образовании малонил-КоА из ацетил-КоА, в синтезе пуринового кольца, а также в реакции карбоксилирования пирувата с образованием оксалоацетата.

Клинические проявления недостаточности биотина у человека изучены мало, поскольку бактерии кишечника обладают способностью синтезировать этот витамин в необходимых количествах. Поэтому картина авитаминоза проявляется при дисбактериозах кишечника, например, после приёма больших количеств антибиотиков или сульфамидных препаратов, вызывающих гибель микрофлоры кишечника, либо после введения в рацион большого количества сырого яичного белка. В яичном белке содержится гликопротеин авидин, который соединяется с биотином и препятствует всасыванию последнего из кишечника. Авидин (молекулярная масса 70 000 кД) состоит из четырёх идентичных субъединиц, содержащих по 128 аминокислот; каждая субъединица связывает по одной молекуле биотина. При недостаточности биотина у человека развиваются явления специфического

дерматита, характеризующегося покраснением и шелушением кожи, а также обильной секрецией сальных желёз (себорея). При авитаминозе витамина Н наблюдают также выпадение волос и шерсти у животных, поражение ногтей, часто отмечают боли в мышцах, усталость, сонливость и депрессию. 7.

8. Фолиевая кислота (витамин В_c витамин В₉)

Фолиевая кислота состоит из трёх структурных единиц: остатка птеридина (I), парааминобензойной (II) и глутаминовой (III) кислот.



Витамин, полученный из разных источников, может содержать 3-6 остатков глутаминовой кислоты. Фолиевая кислота была выделена в 1941 г. из зелёных листьев растений, в связи с чем и получила своё название (от лат. *folium* - лист).

Источники.

Значительное количество этого витамина содержится в дрожжах, а также в печени, почках, мясе и других продуктах животного происхождения.

Суточная потребность в фолиевой кислоте колеблется от 50 до 200 мкг; однако вследствие плохой всасываемости этого витамина рекомендуемая суточная доза - 400 мкг.

Биологическая роль фолиевой кислоты определяется тем, что она служит субстратом для синтеза коферментов, участвующих в реакциях переноса одноуглеродных радикалов различной степени окисленности: метильных, оксиметильных, формильных и других. Эти коферменты участвуют в синтезе различных веществ: пуриновых нуклеотидов, превращении dУМФ в dГМФ, в обмене глицина и серина (см. разделы 9, 10).

Наиболее характерные признаки авитаминоза фолиевой кислоты - нарушение кроветворения и связанные с этим различные формы малокровия (макроцитарная анемия), лейкопения и задержка роста. При гиповитаминозе фолиевой кислоты наблюдают нарушения регенерации эпителия, особенно в ЖКТ, обусловленные недостатком пуринов и пи-римидинов для синтеза ДНК в постоянно делящихся клетках слизистой оболочки. Авитаминоз фолиевой кислоты редко проявляется у человека и животных, так как этот витамин в достаточной степени синтезируется кишечной микрофлорой. Однако

использование сульфаниламидных препаратов для лечения ряда заболеваний может вызвать развитие авитаминозов. Эти препараты - структурные аналоги парааминобензойной кислоты, ингибирующие синтез фолиевой кислоты у микроорганизмов (см. раздел 2). Некоторые производные птери-дина (аминоптерин и метотрексат) тормозят рост почти всех организмов, нуждающихся в фолиевой кислоте. Эти препараты находят применение в лечебной практике для подавления опухолевого роста у онкологических больных.

9. Витамин В₁₂ (кобаламин)

Витамин В₁₂ был выделен из печени в кристаллическом виде в 1948 г. В 1955 г. Дороти Ходжкен с помощью рентгено-структурного анализа расшифровала структуру этого витамина. За эту работу в 1964 г. ей была присуждена Нобелевская премия. Витамин В₁₂ - единственный витамин, содержащий в своём составе металл кобальт (рис. 3-2).

Источники.

Ни животные, ни растения не способны синтезировать витамин В₁₂. Это единственный витамин, синтезируемый почти исключительно микроорганизмами: бактериями, актиномицетами и сине-зелёными водорослями. Из животных тканей наиболее богаты витамином В печень и почки. Недостаточность витамина в тканях животных связана с нарушением всасывания кобаламина из-за нарушения синтеза внутреннего фактора Касла, в соединении с которым он и всасывается. Фактор Кас-ла синтезируется обкладочными клетками желудка. Это - гликопротеин с молекулярной массой 93 000 Д. Он соединяется с витамином В₁₂ при участии ионов кальция.

Гипоавитаминоз В₁₂ обычно сочетается с понижением кислотности желудочного сока, что может быть результатом повреждения слизистой оболочки желудка. Гипоавитаминоз В₁₂ может развиваться также после тотального удаления желудка при хирургических операциях.

Суточная потребность в витамине В₁₂ крайне мала и составляет всего 1-2 мкг.

Витамин В₁₂ служит источником образования двух коферментов: метилкобаламина в цитоплазме и дезоксиаденозилкобаламина в митохондриях (рис. 3-2).

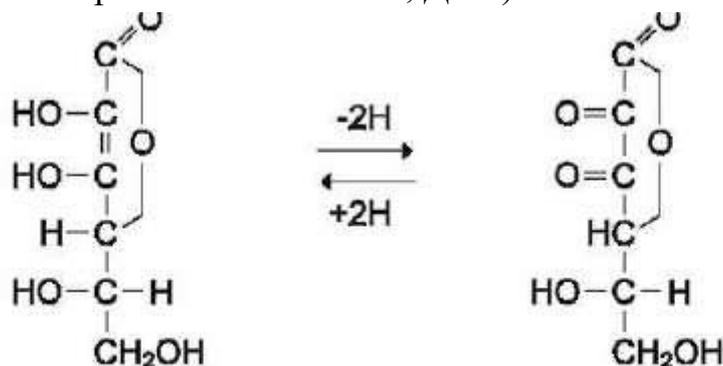
- Метил-В₁₂ - кофермент, участвующий в образовании метионина из гомоцистеина. Кроме того, метил-В₁₂ принимает участие в превращениях производных фолиевой кислоты, необходимых для синтеза нуклео-тидов - предшественников ДНК и РНК.

- Дезоксиаденозилкобаламин в качестве кофермента участвует в метаболизме жирных кислот с нечётным числом углеродных атомов и аминокислот с разветвлённой углеводородной цепью (см. разделы 8, 9).

Основной признак авитаминоза В₁₂ - макроцитарная (мегалобластная) анемия. Для этого заболевания характерны увеличение размеров эритроцитов, снижение количества эритроцитов в кровотоке, снижение концентрации гемоглобина в крови. Нарушение кроветворения связано в первую очередь с нарушением обмена нуклеиновых кислот, в частности синтеза ДНК в быстроделющихся клетках кроветворной системы. Помимо нарушения кроветворной функции, для авитаминоза В₁₂ специфично также расстройство деятельности нервной системы, объясняемое токсичностью метилмалоновой кислоты, накапливающейся в организме при распаде жирных кислот с нечётным числом углеродных атомов, а также некоторых аминокислот с разветвлённой цепью.

10. Витамин С (аскорбиновая кислота)

Аскорбиновая кислота - лактон кислоты, близкой по структуре к глюкозе. Существует в двух формах: восстановленной (АК) и окисленной (дегидроаскорбиновой кислотой, ДАК).



Аскорбиновая кислота (АК) Дегидроаскорбиновая кислота (ДАК)

Обе эти формы аскорбиновой кислоты быстро и обратимо переходят друг в друга и в качестве коферментов участвуют в окислительно-восстановительных реакциях. Аскорбиновая кислота может окисляться кислородом воздуха, пероксидом и другими окислителями. ДАК легко восстанавливается цистеином, глутатионом, сероводородом. В слабощелочной среде происходят разрушение лактонового кольца и потеря биологической активности. При кулинарной обработке пищи в присутствии окислителей часть витамина С разрушается.

Источники витамина С

Источники витамина С - свежие фрукты, овощи, зелень (табл. 3-1). Суточная потребность человека в витамине С составляет 50-75 мг.

Биологические функции. Главное свойство аскорбиновой кислоты - способность легко окисляться и восстанавливаться. Вместе с ДАК она образует в клетках окислительно-восстановительную пару с редокс-потенциалом +0,139 В. Благодаря этой способности аскорбиновая кислота участвует во многих реакциях гидроксирования: остатков Про и Лиз при синтезе коллагена (основного белка соединительной ткани), при гидроксировании дофамина, синтезе стероидных гормонов в коре надпочечников.

В кишечнике аскорбиновая кислота восстанавливает Fe^{3+} в Fe^{2+} , способствуя его всасыванию, ускоряет освобождение железа из ферритина, способствует превращению фолата в коферментные формы. Аскорбиновую кислоту относят к природным антиоксидантам.

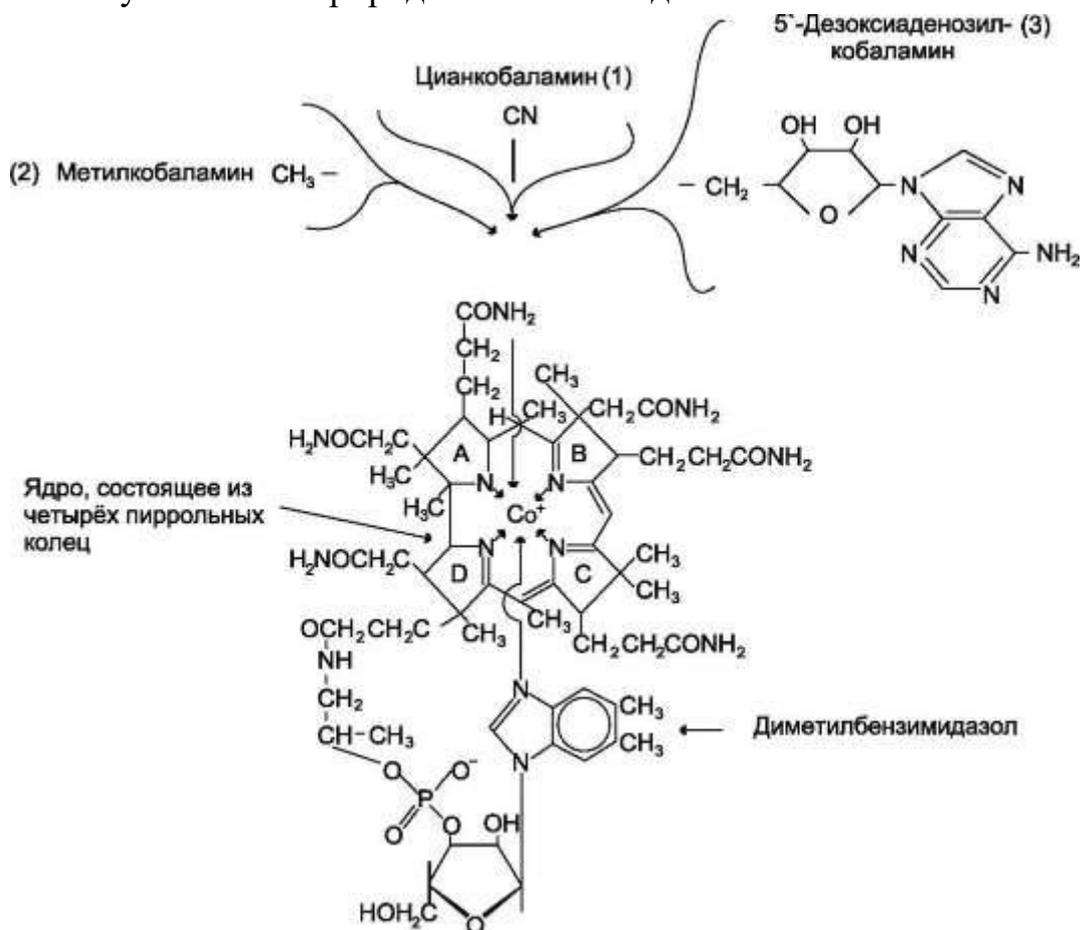


Рис. 3-2. Структура витамина B_{12} (1) и его коферментные формы - метилкобаламин (2) и 5-дезоксиаде-нозилкобаламин (3).

Таблица 3-1. Содержание аскорбиновой кислоты в некоторых пищевых продуктах и растениях

Продукт	Содержание витамина, мг/100 г
Плоды шиповника	2400
Облепиха	450
Смородина чёрная	300
Лимоны	40
Апельсины	30
Яблоки	30
Картофель свежий	25
Томаты	20
Молоко	2,0
Мясо	0,9

Большое значение этой роли витамина С придавал известный американский учёный Л. Полинг, дважды лауреат Нобелевской премии. Он рекомендовал использовать для профилактики и лечения ряда заболеваний (например, простудных) большие дозы аскорбиновой кислоты (2-3 г).

Клинические проявления недостаточности витамина С. Недостаточность аскорбиновой кислоты приводит к заболеванию, называемому цингой (скорбут). Цинга, возникающая у человека при недостаточном содержании в пищевом рационе свежих фруктов и овощей, описана более 300 лет назад, со времени проведения длительных морских плаваний и северных экспедиций. Это заболевание связано с недостатком в пище витамина С. Болеют цингой только человек, приматы и морские свинки.

Главные проявления авитаминоза обусловлены в основном нарушением образования коллагена в соединительной ткани. Вследствие этого наблюдают разрыхление дёсен, расшатывание зубов, нарушение целостности капилляров (сопровождающееся подкожными кровоизлияниями). Возникают отёки, боль в суставах, анемия. Анемия при цинге может быть связана с нарушением способности использовать запасы железа, а также с нарушениями метаболизма фолиевой кислоты.

11. Витамин Р (биофлавоноиды)

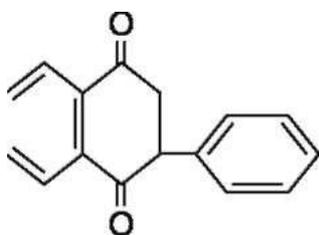
В настоящее время известно, что понятие «витамин Р» объединяет семейство биофлавоноидов (катехины, флавононы, флавоны). Это очень разнообразная группа растительных полифенольных соединений, влияющих на проницаемость сосудов сходным образом с витамином С.

Источники

Наиболее богаты витамином Р лимоны, гречиха, черноплодная рябина, чёрная смородина, листья чая, плоды шиповника. Суточная потребность для человека точно не установлена. Биологическая роль флавоноидов заключается

в стабилизации межклеточного матрикса соединительной ткани и уменьшении проницаемости капилляров.

Многие представители группы витамина Р обладают гипотензивным действием. Клиническое проявление гиповитаминоза витамина Р характеризуется повышенной кровоточивостью дёсен и точечными подкожными кровоизлияниями, общей слабостью, быстрой утомляемостью и болями в конечностях.



Флаван

В таблице 3-2 перечислены суточные потребности, коферментные формы, основные биологические функции водорастворимых витаминов, а также характерные признаки авитаминозов.

ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

1. Витамин А (ретинол) - циклический, ненасыщенный, одноатомный спирт.

Источники. Витамин А содержится только в животных продуктах: печени крупного рогатого скота и свиней, яичном желтке, молочных продуктах; особенно богат этим витамином рыбий жир. В растительных продуктах (морковь, томаты, перец, салат и др.) содержатся каротиноиды, являющиеся провитаминами А. В слизистой оболочке кишечника и клетках печени содержится специфический фермент каротиндиоксигеназа, превращающий каротиноиды в активную форму витамина А. Суточная потребность витамина А взрослого человека составляет от 1 до 2,5 мг витамина или от 2 до 5 мг β-каротинов. Обычно активность витамина А в пищевых продуктах выражается в международных единицах; одна международная единица (МЕ) витамина А эквивалентна 0,6 мкг β-каротина и 0,3 мкг витамина А.

Таблица 3-3. Жирорастворимые витамины

Название	Суточная потребность, мг	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
А (ретинол)	1–2,5	Участвует в акте зрения, регулирует рост и дифференцировку клеток	Гемералопия (куриная слепота), ксерофтальмия, кератомалация, кератоз эпителиальных клеток
D (кальциферол)	0,012–0,025	Регуляция обмена фосфора и кальция в организме	Рахит
Е (токоферол)	5	Антиоксидант; регулирует интенсивность свободнорадикальных реакций в клетке	Недостаточно изучены; известно положительное влияние на развитие беременности и при лечении бесплодия
К (нафтохинон)	1–2	Участвует в активации факторов свёртывания крови: II, VII, IX, X	Нарушение свёртывающей системы крови

Таблица 3-2. Водорастворимые витамины

Название	Суточная потребность, мг	Коферментная форма	Биологические функции	Характерные признаки авитаминозов
V ₁ (тиамин)	2–3	ТДФ	Декарбоксилирование α-кетокислот, перенос активного альдегида (транскетолаза)	Поллиневрит
V ₂ (рибофлавин)	1,8–2,6	FAD FMN	В составе дыхательных ферментов, перенос водорода	Поражение глаз (кератиты, катаракта)
V ₃ (пантотеновая кислота)	10–12	КоА-SH	Транспорт ацильных групп	Дистрофические изменения в надпочечниках и нервной ткани
V ₆ (пиридоксин)	2–3	ПФ (пиридоксаль-фосфат)	Обмен аминокислот (трансаминирование, декарбоксилирование)	Повышенная возбудимость нервной системы, дерматиты
PP (ниацин)	15–25	NAD NADP	Акцепторы и переносчики водорода	Симметричный дерматит на открытых участках тела, деменция и диарея
H (биотин)	0,01–0,02	Биотин	Фиксация CO ₂ , реакции карбоксилирования (например, пирувата и ацетил-КоА)	Дерматиты, сопровождающиеся усиленной деятельностью слюнных желез
V ₉ (фолиевая кислота)	0,05–0,4	Тетрагидро-фолиевая кислота	Транспорт одноуглеродных групп	Нарушения кроветворения (анемия, лейкопения)
V ₁₂ (кобаламин)	0,001–0,002	Дезоксиаденозил- и метилкобаламин	Транспорт метильных групп	Макроцитарная анемия
C (аскорбиновая кислота)	50–75	–	Гидроксилирование пролина, лизина (синтез коллагена), антиоксидант	Кровоточивость дёсен, расшатывание зубов, подкожные кровоизлияния, отёки
P (рутин)	Не установлена	–	Вместе с витамином С участвует в окислительно-восстановительных процессах, тормозит действие гиалуронидазы	Кровоточивость дёсен и точечные кровоизлияния

Биологические функции витамина А. В организме ретинол превращается в ретиналь и ретиноевую кислоту, участвующие в регуляции ряда функций (рост и дифференцировка клеток); они также составляют фотохимическую основу акта зрения.

Наиболее детально изучено участие витамина А в зрительном акте (рис. 3-3). Светочувствительный аппарат глаза - сетчатка. Падающий на сетчатку свет адсорбируется и трансформируется пигментами сетчатки в другую форму энергии. У человека сетчатка содержит 2 типа рецепторных клеток: палочки и колбочки. Первые реагируют на слабое (сумеречное) освещение, а колбочки - на хорошее освещение (дневное зрение).

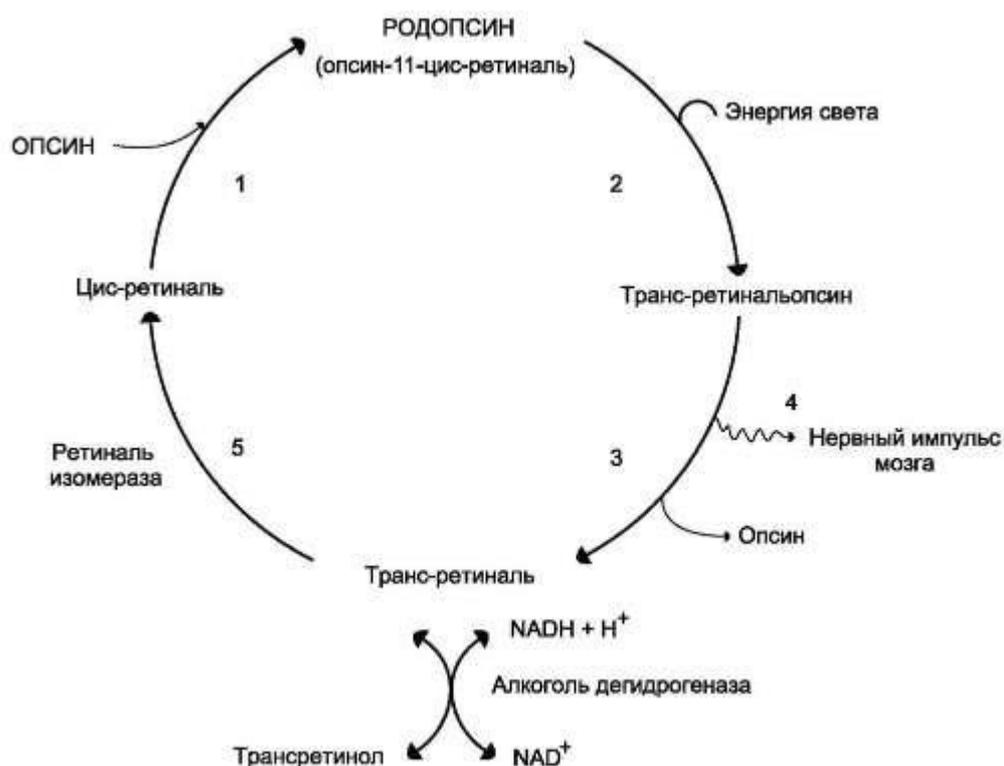


Рис. 3-3. Схема зрительного цикла.

1 - цисретиноаль в темноте соединяется с белком опсином, образуя родопсин; 2 - под действием кванта света происходит фотоизомеризация 11-цис-ретиноаля в транс-ретиноаль; 3 - транс-ретиноаль-опсин распадается на транс-ретиноаль и опсин; 4 - поскольку пигменты встроены в мембраны светочувствительных клеток сетчатки, это приводит к местной деполяризации мембраны и возникновению нервного импульса, распространяющегося по нервному волокну; 5 - заключительный этап этого процесса - регенерация исходного пигмента.

Это происходит при участии ретиноальизомеразы через стадии: транс-ретиноаль - трансретинол - цис-ретинол - цис-ретиноаль; последний вновь соединяется с опсином, образуя родопсин.

Палочки содержат зрительный пигмент родопсин, а колбочки - йодопсин. Оба пигмента - сложные белки, отличающиеся своей белковой частью. В качестве кофермента оба белка содержат 11-цис-ретиноаль, альдегидное производное витамина А.

Ретиноевая кислота, подобно стероидным гормонам, взаимодействует с рецепторами в ядре клеток-мишеней. Образовавшийся комплекс связывается с определёнными участками ДНК и стимулирует транскрипцию генов. Белки, образующиеся в результате стимуляции генов под влиянием ретиноевой кислоты, влияют на рост, дифференцировку, репродукцию и эмбриональное развитие (рис. 3-4).

Основные клинические проявления гиповитаминоза А. Наиболее ранний и характерный признак недостаточности витамина А у людей и экспериментальных животных - нарушение сумеречного зрения (гемералопия, или «куриная» слепота). Специфично для авитаминоза А поражение глазного яблока - ксерофтальмия, т.е. развитие сухости роговой оболочки глаза как следствие закупорки слёзного канала в связи с ороговением эпителия. Это, в свою очередь, приводит к развитию конъюнктивита, отёку, изъязвлению и размягчению роговой оболочки, т.е. к кератомалиции. Ксерофтальмия и кератомалиция при отсутствии соответствующего лечения могут привести к полной потере зрения.

У детей и молодых животных при авитаминозе А наблюдают остановку роста костей, кератоз эпителиальных клеток всех органов и, как следствие этого, избыточное ороговение кожи, поражение эпителия ЖКТ, мочеполовой системы и дыхательного аппарата. Прекращение роста костей черепа приводит к повреждению тканей ЦНС, а также к повышению давления спинномозговой жидкости.

2. Витамины группы D (кальциферолы)

Кальциферолы - группа химически родственных соединений, относящихся к производным стероидов. Наиболее биологически активные витамины - D₂ и D₃. Витамин D₂ (эргокальциферол), производное эргостерина - растительного стероида, встречающегося в некоторых грибах, дрожжах и растительных маслах. При облучении пищевых продуктов УФО из эргостерина получается витамин D₂, используемый в лечебных целях.

Витамин D₃, имеющийся у человека и животных, - холекальциферол, образующийся в коже человека из 7-дегидрохолестерина под действием УФ-лучей (рис. 3-5).

Витамины D₂ и D₃ - белые кристаллы, жирные на ощупь, нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в жирах и органических растворителях. Источники. Наибольшее количество витамина D₃ содержится в продуктах животного происхождения: сливочном масле, желтке яиц, рыбьем жире.



Рис. 3-4. Действие ретиноидов в организме. Вещества (названия в рамках) - компоненты пищи.

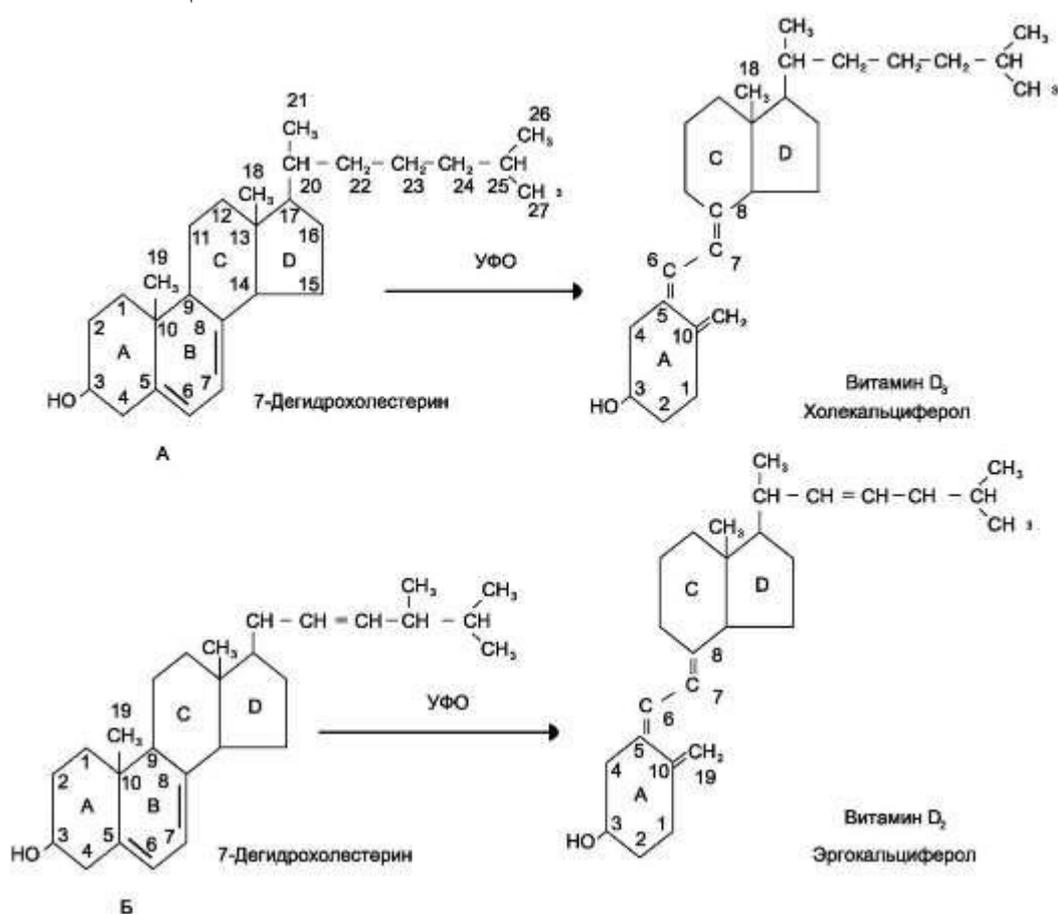


Рис. 3-5. Схема синтеза витаминов D₂ и D₃.

Провитамины D₂ и D₃ - стеринны, у которых в кольце В две двойные связи. При воздействии света в процессе фотохимической реакции происходит расщепление кольца В. А - 7-дегидрохолестерин, провитамин D₃ (синтезируется из холестерина); Б - эргостерин - провитамин D₂.

Суточная потребность для детей 12-25 мкг (500-1000 МЕ), для взрослого человека потребность значительно меньше.

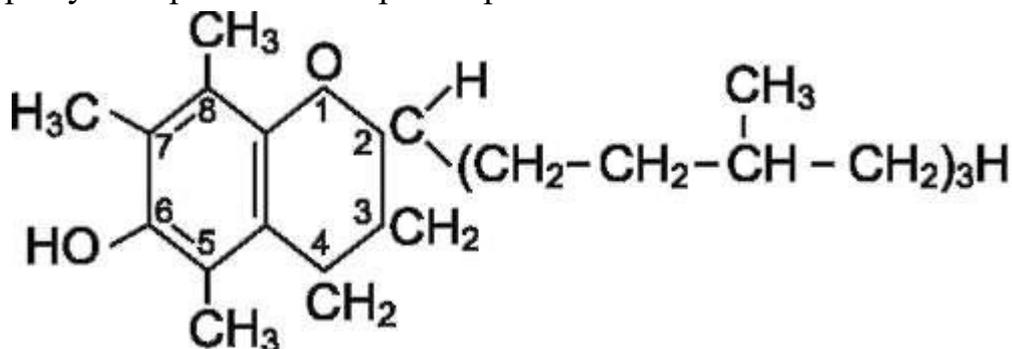
Биологическая роль. В организме человека витамин D₃ гидроксилируется в положениях 25 и 1 и превращается в биологически активное соединение 1,25-дигидроксиголекальциферол (кальцитриол).

Кальцитриол выполняет гормональную функцию, участвуя в регуляции обмена Ca²⁺ и фосфатов, стимулируя всасывание Ca²⁺ в кишечнике и кальцификацию костной ткани, реабсорбцию Ca²⁺ и фосфатов в почках. При низкой концентрации Ca²⁺ или высокой концентрации D₃ он стимулирует мобилизацию Ca²⁺ из костей (см. раздел 11). Недостаточность. При недостатке витамина D у детей развивается заболевание «рахит», характеризующееся нарушением кальцификации растущих костей. При этом наблюдают деформацию скелета с характерными изменениями костей (X- или о-образная форма ног, «чётки» на рёбрах, деформация костей черепа, задержка прорезывания зубов). Избыток. Поступление в организм избыточного количества витамина D₃ может вызвать гипervитаминоз D. Это состояние характеризуется избыточным отложением солей кальция в тканях лёгких, почек, сердца, стенках сосудов, а также остеопорозом с частыми переломами костей.

3. Витамины группы E (токоферолы)

Витамин E был выделен из масла зародышей пшеничных зёрен в 1936 г. и получил название токоферол. В настоящее время известно семейство токоферолов и токотриенолов, найденных в природных источниках. Все они - метильные производные исходного соединения токола, по строению очень близки и обозначаются буквами греческого алфавита. Наибольшую биологическую активность проявляет α-токоферол.

Токоферолы представляют собой маслянистую жидкость, хорошо растворимую в органических растворителях.



α-Токоферол (5,7,8-триметилтокол)

Источники витамина E для человека - растительные масла, салат, капуста, семена злаков, сливочное масло, яичный желток.

Суточная потребность взрослого человека в витамине примерно 5 мг.

Биологическая роль. По механизму действия токоферол является биологическим анти-оксидантом. Он ингибирует свободнорадикальные реакции в клетках и таким образом препятствует развитию цепных реакций перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот в липидах биологических мембран и других молекул, например, ДНК. Токоферол повышает биологическую активность витамина А, защищая от окисления ненасыщенную боковую цепь.

Клинические проявления недостаточности витамина Е у человека до конца не изучены. Известно положительное влияние витамина Е при лечении нарушения процесса оплодотворения, при повторяющихся непроизвольных абортах, некоторых форм мышечной слабости и дистрофии. Показано применение витамина Е для недоношенных детей и детей, находящихся на искусственном вскармливании, так как в коровьем молоке в 10 раз меньше витамина Е, чем в женском. Дефицит витамина Е проявляется развитием гемолитической анемии, возможно из-за разрушения мембран эритроцитов в результате ПОЛ.

4. Витамины К (нафтохиноны) Витамин К существует в нескольких формах в растениях как филлохинон (К₁), в клетках кишечной флоры как менахинон (К₂).

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое витамины?
2. Приведите примеры жирорастворимых витаминов?
3. Приведите примеры водорастворимых витаминов?

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Биологическое окисление – это совокупность окислительно-восстановительных превращений различных веществ в живых организмах.

Окислительно-восстановительными называют реакции, протекающие с изменением степени окисления атомов вследствие перераспределения электронов между ними.

Типы процессов биологического окисления:

1) *аэробное (митохондриальное) окисление* предназначено для извлечения энергии питательных веществ с участием кислорода и накоплении её в виде АТФ. Аэробное окисление называется также *тканевым дыханием*, поскольку при его протекании ткани активно потребляют кислород.

2) *анаэробное окисление* – это вспомогательный способ извлечения энергии веществ без участия кислорода. Анаэробное окисление имеет большое значение при недостатке кислорода, а также при выполнении интенсивной мышечной работы.

3) *микросомальное окисление* предназначено для обезвреживания лекарств и ядов, а также для синтеза различных веществ: адреналина, норадреналина, меланина в коже, коллагена, жирных кислот, желчных кислот, стероидных гормонов.

4) *свободнорадикальное окисление* необходимо для регуляции обновления и проницаемости клеточных мембран.

Основным путём биологического окисления является митохондриальное, связанное с обеспечением организма энергией в доступной для использования форме. Источниками энергии для человека являются разнообразные органические соединения: углеводы, жиры, белки. В результате окисления питательные вещества распадаются до конечных продуктов, в основном - до CO_2 и H_2O (при распаде белков также образуется NH_3). Выделяемая при этом энергия накапливается в виде энергии химических связей макроэргических соединений, преимущественно – АТФ.

Макроэргическими называются органические соединения живых клеток, содержащие богатые энергией связи. При гидролизе макроэргических связей (обозначаются извилистой линией ~) высвобождается более 4 ккал/моль (20 кДж/моль). Макроэргические связи образуются в результате перераспределения энергии химических связей в процессе обмена веществ.

Большинство макроэргических соединений являются ангидридами фосфорной кислоты, например, АТФ, ГТФ, УТФ и т.д. Аденозинтрифосфат

(АТФ) занимает центральное место среди веществ с макроэргическими связями.

аденин – рибоза – $P \sim P \sim P$, где P – остаток фосфорной кислоты

АТФ находится в каждой клетке в цитоплазме, митохондриях и ядрах. Реакции биологического окисления сопровождаются переносом фосфатной группы на АДФ с образованием АТФ (этот процесс называется *фосфорилированием*). Таким образом, энергия запасается в форме молекул АТФ и при необходимости используется для выполнения различных видов работы (механической, электрической, осмотической) и для осуществления процессов синтеза.

Система унификации субстратов окисления в организме человека

Непосредственное использование химической энергии, содержащейся в молекулах пищевых веществ невозможно, потому что при разрыве внутримолекулярных связей выделяется огромное количество энергии, которое может привести к повреждению клетки. Чтобы пищевые вещества, поступившие в организм, должны пройти ряд специфических превращений, в ходе которых происходит многостадийный распад сложных органических молекул на более простые. Это даёт возможность постепенного высвобождения энергии и запасания её в виде АТФ.

Классификация и характеристика основных оксидоредуктаз в тканях.

Важной особенностью биологического окисления является то, что оно протекает под действием определённых ферментов (**оксидоредуктаз**). Все необходимые ферменты для каждой стадии объединены в ансамбли, которые, как правило, фиксируются на различных клеточных мембранах. В результате слаженного действия всех ферментов химические превращения осуществляются постепенно, как на конвейере. При этом продукт реакции одной стадии является исходным соединением для следующей стадии.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое биологическое окисление?
2. Перечислите типы процессов биологического окисления?
3. Для чего предназначено микросомальное окисление?

Углеводный обмен, или метаболизм углеводов в организмах животных и человека. Метаболизм углеводов в организме человека состоит из следующих процессов:

1. Расщепление в пищеварительном тракте поступающих с пищей поли- и дисахаридов до моносахаридов, дальнейшее всасывание моносахаридов из кишечника в кровь.

2. Синтез и распад гликогена в тканях (гликогенез и гликогенолиз), прежде всего в печени.

3. Гликолиз — распад глюкозы. Первоначально под этим термином обозначали только анаэробное брожение, которое завершается образованием молочной кислоты (лактата) или этанола и углекислого газа. В настоящее время понятие «гликолиз» используется более широко для описания распада глюкозы, проходящего через образование глюкозо-6-фосфата, фруктозо-1,6-дифосфата и пирувата как в отсутствие, так и в присутствии кислорода. В последнем случае употребляется термин «*аэробный гликолиз*», в отличие от «*анаэробного гликолиза*», завершающегося образованием молочной кислоты или лактата.

4. Анаэробный путь прямого окисления глюкозы или, как его называют, пентозофосфатный путь (пентозный цикл).

5. Взаимопревращение гексоз.

6. Анаэробный метаболизм пирувата. Этот процесс выходит за рамки углеводного обмена, однако может рассматриваться как завершающая его стадия: окисление продукта гликолиза — пирувата.

7. Глюконеогенез — образование углеводов из неуглеводных продуктов (пирувата, лактата, глицерина, аминокислот, липидов, белков и т. д.).



Углеводы входят в состав живых организмов и вместе с белками, липидами и нуклеиновыми кислотами определяют специфичность их строения и функционирования. К углеводам относят соединения, обладающие разнообразными и зачастую сильно отличающимися функциями.

Углеводы участвуют во многих метаболических процессах, но прежде всего они являются основными поставщиками энергии. На долю углеводов приходится примерно 75 % массы пищевого суточного рациона и более 50 % от суточного количества необходимых калорий. Однако неправильно сводить функцию углеводов только к энергетическому обеспечению процессов жизнедеятельности организма. Также углеводы играют и структурную роль. Так, в виде гликозаминогликанов углеводы входят в состав межклеточного матрикса.

Большое число белков (ферменты, белки-транспортёры, белки-рецепторы, гормоны) — гликопротеины, углеводная составляющая которых повышает их специфичность. Например, различия в строении олигосахаридных фрагментов клеточной оболочки эритроцитов обеспечивают групповую принадлежность крови. Из углеводов в процессе метаболизма образуется большое число органических соединений, которые служат исходными субстратами для синтеза липидов, аминокислот, нуклеотидов. Производные углеводов — глюкуроны — участвуют в детоксикации ксенобиотиков и инактивации веществ эндогенного происхождения.

Углеводы могут быть синтезированы в организме с использованием других метаболитов: некоторых аминокислот, глицерина, молочной кислоты. Углеводы нельзя считать незаменимыми компонентами пищи. Однако если исключить углеводы из диеты, то следствием может быть гипогликемия, для компенсации которой будут расходоваться белки и липиды. Таким образом, углеводы — обязательные пищевые компоненты, потому что помимо их основной энергетической функции (клеточные «дрова») углеводы участвуют во многих метаболических клеточных процессах

АНАБОЛИЗМ И КАТАБОЛИЗМ ГЛИКОГЕНА

Многие ткани синтезируют в качестве резервной формы глюкозы гликоген. Синтез и распад гликогена обеспечивают постоянство концентрации глюкозы в крови и создают депо для её использования тканями по мере необходимости.

Гликоген — одна из самых главных форм запасаания углеводов у грибов, животных и человека.

Гликоген — разветвлённый гомополимер глюкозы, в котором остатки глюкозы соединены в линейных участках α -1,4-гликозидной связью. В точках ветвления мономеры соединены α -1,6-гликозидными связями. Эти связи образуются примерно с каждым десятым остатком глюкозы. Следовательно, точки ветвления в гликогене встречаются примерно через каждые десять остатков глюкозы. Так возникает древообразная структура с молекулярной массой $>10^7$ Д, что соответствует приблизительно 50 000 остатков глюкозы. Таким образом, в молекуле гликогена имеется только одна свободная аномерная ОН-группа и, следовательно, только один восстанавливающий (редуцирующий) конец.

При полимеризации глюкозы снижается растворимость образующейся молекулы гликогена и, следовательно, её влияние на осмотическое давление в клетке. Это обстоятельство объясняет, почему в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза.

После приёма пищи, богатой углеводами, запас гликогена в печени может составлять примерно 4 %-5 % от её массы. В мышцах запасается около 1 % гликогена, однако масса мышечной ткани значительно больше и поэтому общее количество гликогена в мышцах в 2 раза больше, чем в печени.

Гликоген может синтезироваться во многих клетках, например в нейронах, макрофагах, клетках жировой ткани, но содержание его в этих тканях незначительно. В организме может содержаться до 450 г гликогена.

ГЛИКОГЕНОГЕНЕЗ



Гликоген синтезируется в период пищеварения (через 1-2 ч после приёма углеводной пищи). Синтез гликогена из глюкозы, как и любой анаболический процесс, является эндергоническим, то есть требующим затрат энергии.

Глюкоза, поступающая в клетку, фосфорилируется при участии АТФ. Затем глюкозо-6-фосфат в ходе обратимой реакции превращается в глюкозо-1-фосфат под действием фермента фосфоглюкомутазы. Глюкозо-1-фосфат по термодинамическому состоянию мог бы служить субстратом для синтеза гликогена. Но в силу обратимости реакции глюкозо-6-фосфат \leftrightarrow глюкозо-1-фосфат синтез гликогена из глюкозо-1-фосфата и его распад оказались бы также обратимыми и поэтому неконтролируемыми. Чтобы синтез гликогена был термодинамически необратимым, необходима дополнительная стадия образования УДФ-глюкозы из УТФ и глюкозо-1-

фосфата. Фермент, катализирующий эту реакцию, назван по обратной реакции: УДФ-глюкопирофосфорилаза. Однако в клетке обратная реакция не протекает, потому что образовавшийся в ходе прямой реакции пирофосфат очень быстро расщепляется пирофосфатазой на 2 молекулы фосфата.

Реакция образования УДФ-глюкозы обуславливает необратимость всей серии реакций, протекающих при синтезе гликогена. Этим же объясняется невозможность протекания распада гликогена путём простого обращения процесса его синтеза.

Образованная УДФ-глюкоза далее используется как донор остатка глюкозы при синтезе гликогена. Эту реакцию катализирует фермент гликогенсинтаза (глюкозилтрансфераза). Поскольку в данной реакции не используется АТФ, фермент называют синтазой, а не синтетазой.

Нуклеотидная часть УДФ-глюкозы играет существенную роль в действии гликоген синтазы, выполняя функцию «рукоятки», при помощи которой фермент располагает глюкозу в полисахаридной цепи в нужном положении. Кроме того, нуклеотидная часть УДФ-глюкозы, по-видимому, необходима для узнавания субстрата при катализе.

Так как гликоген в клетке никогда не расщепляется полностью, синтез гликогена осуществляется путём удлинения уже имеющейся молекулы полисахарида, называемой «затравка», или «праймер». К «затравке» последовательно присоединяются молекулы глюкозы. Строением молекулы «затравки» как бы предопределяется тип связи, который возникает в реакции трансгликозилирования. Таким образом, синтезируется полисахарид, аналогичный по строению с «затравочным». В состав «затравки» может входить белок гликогенин, в котором к ОН-группе одного из тирозиновых остатков присоединена олигосахаридная цепочка (примерно 8 остатков глюкозы). Глюкозные остатки переносятся гликогенсинтазой на нередуцирующий конец олигосахида и связываются α -1,4-гликозидными связями. По окончании синтеза гликогенин остаётся включённым в гранулу гликогена.

Разветвлённая структура гликогена образуется при участии амило-1,4 \rightarrow 1,6-глюкозилтрансферазы, называемой ферментом «ветвления» (от англ. *branching enzyme*). Как только гликогенсинтаза удлиняет линейный участок примерно до 11 глюкозных остатков, фермент ветвления переносит её концевой блок, содержащий 6-7 остатков, на внутренний остаток глюкозы этой или другой цепи. В точке ветвления концевой остаток глюкозы олигосахида соединяется с гидроксильной группой в C₆ положении с образованием α -1,6-гликозидной связи. Новая точка ветвления может быть образована на расстоянии не менее 4 остатков от любой уже существующей.

Таким образом, по мере синтеза гликогена многократно возрастает число ветвлений. Концы цепей служат точками роста молекулы при её синтезе и началом при её распаде.

ГЛИКОГЕНОЛИЗ

Распад гликогена или его мобилизация происходят в ответ на повышение потребности организма в глюкозе. Гликоген печени распадается в основном в интервалах между приёмами пищи, кроме того, этот процесс в печени и мышцах ускоряется во время физической работы. Распад гликогена происходит путём последовательного отщепления остатков глюкозы в виде глюкозо-1-фосфата. Гликозидная связь расщепляется с использованием неорганического фосфата, поэтому процесс называется фосфоролизом, а фермент гликогенфосфорилазой.

Так же как и синтез, расщепление гликогена начинается с нередуцирующего конца полисахаридной цепи. При этом наличие разветвлённой структуры гликогена облегчает быстрое высвобождение глюкозных остатков, так как чем больше концов имеет молекула гликогена, тем больше молекул гликогенфосфорилазы могут действовать одновременно.

Гликогенфосфорилаза расщепляет только α -1,4-гликозидные связи. Последовательное отщепление глюкозных остатков прекращается, когда до точки ветвления остаётся 4 мономера. Подобная особенность в действии гликогенфосфорилазы обусловлена размером и строением её активного центра.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое углеводный обмен?
2. Расскажите про анаболизм и катаболизм гликогена?
3. Какую роль играет нуклеотидная часть УДФ-глюкозы?

Клеточное дыхание — это окисление органических веществ в клетке, в результате которого синтезируются молекулы АТФ. Исходным сырьем (субстратом) обычно служат углеводы, реже жиры и еще реже белки. Наибольшее количество молекул АТФ дает окисление кислородом, меньшее — окисление другими веществами и переносом электронов.



Углеводы, или полисахариды, перед использованием в качестве субстрата клеточного дыхания распадаются до моносахаридов. Так у растений крахмал, а у животных гликоген гидролизуются до глюкозы.

Глюкоза является основным источником энергии почти для всех клеток живых организмов.

Первый этап окисления глюкозы — гликолиз. Он не требует кислорода и характерен как при анаэробном, так и аэробном дыхании.

БИОЛОГИЧЕСКОЕ ОКИСЛЕНИЕ

Клеточное дыхание включает в себя множество окислительно-восстановительных реакций, в которых происходит перемещение водорода и электронов от одних соединений (или атомов) к другим. При потере электрона каким-либо атомом происходит его окисление; при присоединении электрона — восстановление. Окисляемое вещество — это донор, а восстанавливаемое — акцептор водорода и электронов. Окислительно-восстановительные реакции, протекающие в живых организмах носят название биологического окисления, или клеточного дыхания.

Обычно при окислительных реакциях происходит выделение энергии. Причина этого кроется в физических законах. Электроны в окисляемых органических молекулах находятся на более высоком энергетическом уровне, чем в продуктах реакции. Электроны, переходя с более высокого на более

низкий энергетический уровень, высвобождают энергию. Клетка умеет фиксировать ее в связях молекул АТФ — универсальном «топливе» живого.

Наиболее распространенным в природе конечным акцептором электронов является кислород, который восстанавливается. При аэробном дыхании в результате полного окисления органических веществ образуются углекислый газ и вода.

Биологическое окисление протекает поэтапно, в нем участвуют множество ферментов и соединения, переносящие электроны. При ступенчатом окислении электроны перемещаются по цепи переносчиков. На определенных этапах цепи происходит выделение порции энергии, достаточной для синтеза АТФ из АДФ и фосфорной кислоты.

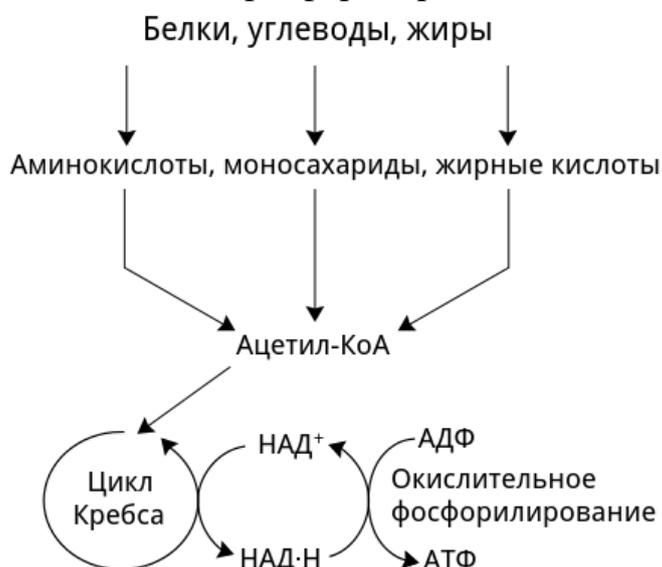
Биологическое окисление весьма эффективно по сравнению с различными двигателями. Около половины выделяющейся энергии в конечном итоге фиксируется в макроэргических связях АТФ. Другая часть энергии рассеивается в виде тепла. Поскольку процесс окисления ступенчатый, то тепловая энергия выделяется понемногу и не повреждает клетки. В то же время она служит для поддержания постоянной температуры тела.

АЭРОБНОЕ ДЫХАНИЕ

Различные этапы клеточного дыхания у аэробных эукариот происходят

- в цитоплазме – гликолиз,
- в матриксе митохондрий – цикл Кребса, или цикл трикарбоновых кислот,
- на внутренней мембране митохондрий – окислительное фосфорилирование, или дыхательная цепь.

На каждом из этих этапов из АДФ синтезируется АТФ, больше всего на последнем. Кислород в качестве окислителя используется только на этапе окислительного фосфорилирования.



Суммарные реакции аэробного дыхания выглядят следующим образом.

Гликолиз и цикл Кребса: $C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 12H_2 + 4ATP$

Дыхательная цепь: $12H_2 + 6O_2 \rightarrow 12H_2O + 34ATP$

Таким образом биологическое окисление одной молекулы глюкозы дает 38 молекул АТФ. На самом деле нередко бывает меньше.

АНАЭРОБНОЕ ДЫХАНИЕ

Большинство анаэробов — это микроорганизмы. Однако к организмам, использующим анаэробное дыхание, относятся также дрожжи, ряд червей-паразитов. Способностью к анаэробному дыханию также обладают определенные ткани. Например, мышечные клетки, которые периодически могут испытывать недостаток кислорода.

При анаэробном дыхании в окислительных реакциях акцептор водорода НАД не передает водород в конечном итоге на кислород, которого в данном случае нет.

В качестве акцептора водорода может быть использована пировиноградная кислота, образующаяся при гликолизе.

У дрожжей пируват сбрасывается до этанола (спиртовое брожение). При этом в процессе реакций образуется также углекислый газ и используется НАД:



Молочнокислое брожение происходит в животных клетках, испытывающих временный недостаток кислорода, и у ряда бактерий:



Оба брожения не дают выхода АТФ. Энергию в данном случае дает только гликолиз, и составляет она всего две молекулы АТФ. Значительная часть энергии глюкозы так и не извлекается. Поэтому анаэробное дыхание считается малоэффективным.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое клеточное дыхание?
2. Что такое аэробное дыхание?
3. Что такое анаэробное дыхание?

Липидный обмен, или метаболизм липидов — сложный биохимический и физиологический процесс, происходящий в некоторых клетках живых организмов. Другими словами вещества, не растворимые в воде, но растворимые в неполярных органических растворителях.

Липидный обмен включает в себя следующие процессы:

- Расщепление, переваривание и всасывание липидов в пищеварительном тракте, поступающих вместе с пищей.
- Транспорт жиров из кишечника с помощью хиломикронов.
- Обмен триацилглицеролов.
- Обмен фосфолипидов.
- Обмен холестерина.
- Взаимопревращения жирных кислот и кетонных тел.
- Липогенез.
- Катаболизм липидов — липолиз.
- Катаболизм жирных кислот.

КАТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ. БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ.

Отложившиеся в жировых депо липиды по мере надобности могут вновь переходить в плазму крови (так называемая мобилизация жира), после чего они используются тканями в качестве энергетического или пластического (строительного) материала. Главным эндогенным источником липидов, используемых в качестве метаболического «топлива» служит резервный жир (в основном – триацилглицерины), содержащийся в цитоплазме клеток в форме капелек. Другой источник – фосфатиды мембран, подвергающиеся непрерывному обновлению.

Первым этапом использования жира в тканях в качестве энергетического материала является его расщепление с образованием глицерина и высших жирных кислот. Процесс этот катализируется тканевыми липазами. Различают несколько липаз, из которых триглицеридлипаза является гормонозависимой, т.е. активизируется гормонами с помощью аденилатциклазной системы (гормон R аденилатциклаза R цАМФ R протеинкиназа R фосфорилированная триглицеридлипаза). Фосфорилированная (активная) триглицеридлипаза расщепляет триглицерид на диглицерид и жирную кислоту. Затем под действием ди- и моноглицеридлипаз образуются конечные продукты липолиза - глицерин и жирные кислоты. В дальнейшем глицерин и жирные кислоты окисляются в

тканях до CO_2 и H_2O . Освобождающаяся при этом химическая энергия частью накапливается в ангидридных фосфатных связях АТФ, а частью переходит в теплоту.

Глицерин независимо от того поступит ли он на ресинтез жиров или будет претерпевать дальнейший распад, прежде всего фосфорилируется. Донором остатка фосфорной кислоты в этой реакции служит АТФ. Процесс ускоряется соответствующей фосфотрансферазой, получившей название глицерокиназы.

Фосфоглицерин (глицерофосфат) окисляется в тканях в фосфоглицериновый альдегид через фосфодиоксиацетон. Последний вступает в обменные реакции, рассмотренные ранее при изучении обмена углеводов: фосфоглицериновый альдегид – 1,3-дифосфоглицериновая кислота – 3-фосфоглицериновая кислота – 2-фосфоглицериновая кислота – фосфоенолпировиноградная кислота – пировиноградная кислота.

Пировиноградная кислота путем окислительного декарбоксилирования переходит в ацетил-КоА, который вовлекается в лимоннокислый цикл, сопряженный с цепью дыхательных ферментов, и окисляется до CO и H_2O . При окислении глицерина до CO_2 и H_2O возникает вначале при окислении фосфоглицеринового альдегида три молекулы АТФ, одна молекула АТФ синтезируется при окислении 1,3-дифосфоглицериновой кислоты и одна молекула АТФ образуется при окислении 2-фосфоенолпировиноградной кислоты, наконец, 15 молекул АТФ образуется при окислении пировиноградной кислоты в лимоннокислом цикле. Таким образом, принимая во внимание, что одна молекула АТФ затрачивается на фосфорилирование глицерина, за счет окисления глицерина (при условии, что все атомы водорода, снятые дегидрогеназами, идут в дыхательную цепь ферментов, функционирующую сопряжено с окислительным фосфорилированием) образуется 19 молекул АТФ.

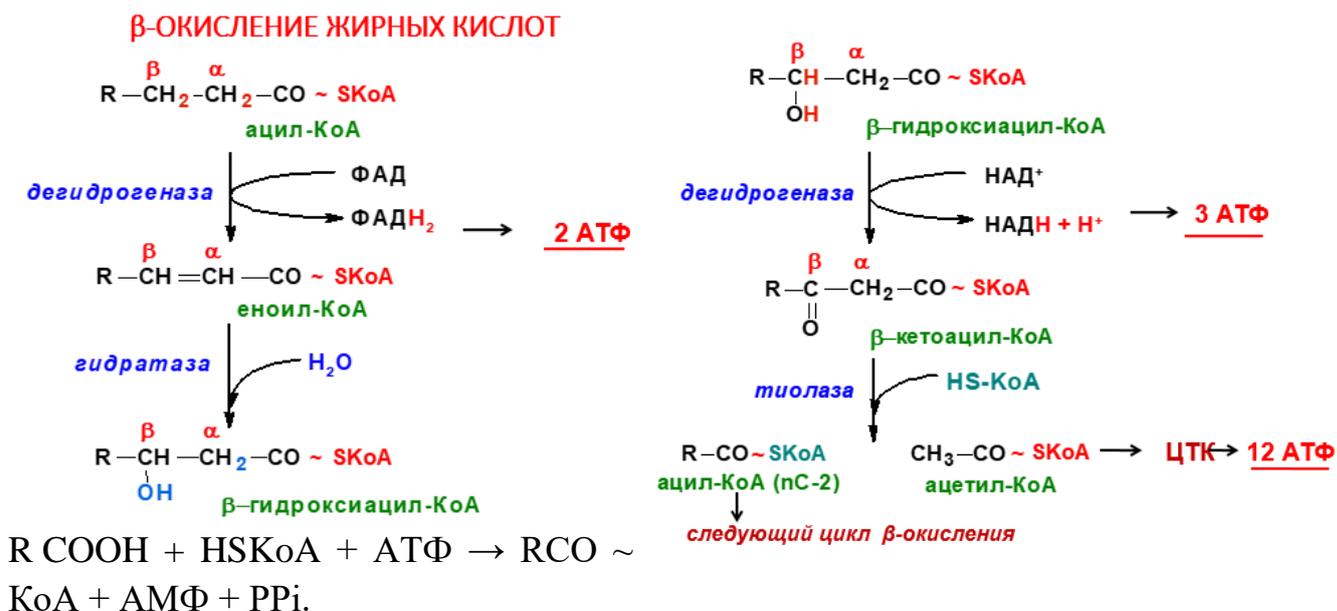
В-ОКИСЛЕНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ. ХИМИЗМ, ФЕРМЕНТЫ, ЭНЕРГЕТИКА, БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ.

β -Окисление жирных кислот - специфический путь катаболизма жирных кислот, протекающий в матриксе митохондрий только в аэробных условиях и заканчивающийся образованием ацетил-КоА. Водород из реакций β -окисления поступает в ЦПЭ, а ацетил-КоА окисляется в цитратном цикле, также поставляющем водород для ЦПЭ. Поэтому β -окисление жирных кислот - важнейший метаболический путь, обеспечивающий синтез АТФ в дыхательной цепи. β -Окисление - специфический путь катаболизма жирных кислот, при котором от карбоксильного конца жирной кислоты последовательно отделяется по 2 атома углерода в виде ацетил-КоА.

Метаболический путь - β -окисление - назван так потому, что реакции

окисления жирной кислоты происходят у β -углеродного атома. Реакции β -окисления и последующего окисления ацетил-КоА в ЦТК служат одним из основных источников энергии для синтеза АТФ по механизму окислительного фосфорилирования. β -Окисление жирных кислот происходит только в аэробных условиях.

Активация жирных кислот. Перед тем, как вступить в различные реакции, жирные кислоты должны быть активированы, т.е. связаны макроэргической связью с коферментом А:



Реакцию катализирует фермент ацил-КоА син-тетаза. Выделившийся в ходе реакции пирофосфат гидролизуется ферментом пирофосфатазой: $H_4P_2O_7 + H_2O \rightarrow 2 H_3PO_4$. Выделение энергии при гидролизе макроэргической связи пирофосфата смещает равновесие реакции вправо и обеспечивает полноту протекания реакции активации. Ацил-КоА синтетазы находятся как в цитозоле, так и в матриксе митохондрий. Эти ферменты отличаются по специфичности к жирным кислотам с различной длиной углеводородной цепи. Жирные кислоты с короткой и средней длиной цепи (от 4 до 12 атомов углерода) могут проникать в матрикс митохондрий путём диффузии. Активация этих жирных кислот происходит в матриксе митохондрий. Жирные кислоты с длинной цепью, которые преобладают в организме человека (от 12 до 20 атомов углерода), активируются ацил-КоА синтетазами, расположенными на внешней мембране митохондрий.

Транспорт жирных кислот с длинной углеводородной цепью в митохондриях. β -Окисление жирных кислот, происходит в матриксе митохондрий, поэтому после активации жирные кислоты должны транспортироваться внутрь митохондрий. Жирные кислоты с длинной углеводородной цепью переносятся через плотную внутреннюю мембрану

митохондрий с помощью карнитина. Карнитин поступает с пищей или синтезируется из незаменимых аминокислот лизина и метионина. В реакциях синтеза карнитина участвует витамин С (аскорбиновая кислота). В наружной мембране митохондрий находится фермент карнтинацилтрансфераза I (карнитин-пальмитоилтрансфераза I), катализирующий реакцию с образованием ацилкарнитина. Образовавшийся ацилкарнитин проходит через межмембранное пространство к наружной стороне внутренней мембраны и транспортируется с помощью карнтинацилкарнитинтранс-локазы на внутреннюю поверхность внутренней мембраны митохондрий, где фермент карнтинацилтрансфераза II катализирует перенос ацила на внутримитохондриальный КоА.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое липидный обмен?
2. Какие процессы включает в себя липидный обмен?
3. Что такое β -Окисление жирных кислот?

ПРАКТИЧЕСКОЕ ЗАНЯТИЕ - 14.	ОБМЕН РАСЩЕПЛЕНИЕ ПУРИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ.	НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ.
---------------------------------------	---	--------------------------------

Обмен нуклеотидов в организме включает процессы анаболизма (биосинтез пуриновых — основной и резервный путь — и пиримидиновых нуклеотидов) и катаболизма (распад нуклеиновых кислот (НК), пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов до конечных продуктов). Переваривание НК протекает в двенадцатиперстной кишке под влиянием ДНК-азы и РНК-азы, выделяемых поджелудочной железой, и в тонком кишечнике под действием ферментов: 3', 5'-фосфодиэстеразы, нуклеозидазы, нуклеотидазы, фосфатазы.

Продукты переваривания: пуриновые и пиримидиновые азотистые основания, пентозы и фосфорная кислота — всасываются в кровь.

В норме 90% продуктов переваривания превращаются в конечные продукты: пуриновые основания — в мочевую кислоту и мочевины, пиримидиновые основания — в мочевины, β -аланин и β -кетомасляную кислоту.

Основной путь биосинтеза пуриновых нуклеотидов «заново» протекает в две стадии через образование инозиновой кислоты.

Для биосинтеза пуриновых нуклеотидов необходимы: рибозо-5-фосфат, 5 молекул АТФ, 2 молекулы глутамина, 1 молекула глицина, 1 молекула аспартата, N^5 , N^{10} -метенил-ТГФК, Mg^{2+} , CO_2 , N^{10} -формил-ТГФК.

В молекуле пурина 4-й и 5-й атомы углерода и 7-й атом азота имеют своим источником глицин, 3-й и 9-й атомы азота происходят из амидной группы глутамина, 1-й атом азота — из аспарагиновой кислоты, 2-й углеродный атом — из N^{10} -формил-ТГФК, 8-й атом углерода — из N^5 , N^{10} -метенил-ТГФК, 6-й атом углерода — из CO_2 .

Резервный путь регенерации пуриновых нуклеотидов (10 — 20%) идет из свободных пуриновых оснований: из аденина и 5-фосфорибозил-1-пирофосфата (ФРПФ) (фермент аденинфосфорибозилтрансфераза) и из гипоксантина, гуанина и ФРПФ — под действием фермента гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы (ГГФТ).

Резервный путь усилен при беременности, опухолевом росте, регенерации обширных ран, при усилении кроветворения. У детей встречается генетический дефект, при котором фермент ГГФТ отсутствует (синдром Леша—Нихана), что приводит к гиперурикемии, образованию камней из мочевой кислоты и сопровождается умственной отсталостью, агрессивностью, нарушением координации движений, судорогами, попытками нанесения себе ран.

Биосинтез пиримидиновых нуклеотидов идет в цитоплазме из NH_3 (из ГЛН), CO_2 с участием АТФ через образование карбамоилфосфата под действием карбамоил-фосфатсинтетазы II.

В биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов участвуют также 1 молекула АСП, ФРПФ и ферменты: аспартат-карбамоилтрансфераза, дигидрооротаза, дигидрооротат-дегидрогеназа (НАД^+), оротат-фосфорибозил-трансфераза, декарбоксилаза.

Мочевая кислота относится к небелковым азотистым веществам крови. В норме концентрация мочевой кислоты в цельной крови 0,2—0,50 ммоль/л (3—4 мг/100 мл), в сыворотке крови 0,2—0,56 ммоль/л (5 мг/100 мл). В суточном количестве мочи содержание мочевой кислоты в норме составляет 270—600 мг.

При подагре наблюдается повышение в 2—3 раза содержания мочевой кислоты в сыворотке крови (гиперурикемия). Причиной повышения биосинтеза мочевой кислоты при подагре является активация фермента ксантиноксидазы, окисляющего гипоксантин в ксантин и далее в мочевую кислоту.

Приступы подагрического артрита обусловлены обложением уратов в суставах. Применение аллопуринола при подагре основано на конкурентном ингибировании ксантиноксидазы.

Повышение уровня мочевой кислоты в крови может наблюдаться при заболеваниях почек, сердечной декомпенсации, диабетической коме, при лейкозах, гемолитической анемии, множественной миеломе, сопровождающихся усиленным распадом нуклеотидов («вторичная подагра»).

Матричные биосинтезы включают:

1. Репликацию (снятие «копии» с ДНК),
2. Репарацию («ремонт» ДНК),
3. Транскрипцию (биосинтез м-РНК, т-РНК, и-РНК),
4. Трансляцию (биосинтез белка).

Основная схема передачи генетической информации

ДНК $\xrightarrow{\text{репликация}}$ РНК $\xleftarrow{\text{транскрипция}}$ белок $\xrightarrow{\text{репликация}}$

Репликация (в ядре клетки) — синтез дочерней молекулы ДНК на матрице материнской молекулы ДНК, основанный на принципе комплементарности азотистых оснований ($\text{A}=\text{T}$, G°C), происходит в S-фазу клеточного цикла.

Механизм репликации — полуконсервативный. В результате репликации образуются 2 новые молекулы ДНК, в каждой из них — 1-я цепь «материнская», 2-я — «дочерняя».

Этапы репликации:

- 1) инициация,
- 2) элонгация,
- 3) терминация.

Субстратами и источниками энергии, необходимыми для репликации, являются д-АТФ, д-ГТФ, д-ЦТФ, д-ТТФ, матрицей — двухспиральная молекула ДНК.

Ферментами репликативного комплекса являются ДНК-полимераза, ДНК-лигаза, эндонуклеаза, ДНК-раскручивающие белки.

Кофакторами служат Mg^{2+} .

Репарация (в ядре клетки) — устранение повреждений молекулы ДНК, вызванных эндогенными и экзогенными факторами. Для репарации необходима одна неповрежденная цепь ДНК. Этапами репарации являются:

- 1) узнавание места повреждения и разрыв 3'-5'-фосфодиэфирных связей,
- 2) удаление поврежденных мононуклеотидов,
- 3) биосинтез нового фрагмента по принципу комплементарности,
- 4) связывание нового участка ДНК со старой цепью.

Ферменты репарации: эндонуклеаза, экзонуклеаза, ДНК-полимераза репарирующая, ДНК-лигаза.

Субстратами и источниками энергии являются д-АТФ, д-ГТФ, д-ТТФ, д-ЦТФ.

Репарация не происходит, если:

- 1) отсутствуют ферменты репарации или имеются в недостаточном количестве,
 - 2) повреждаются комплементарные азотистые основания во второй цепи ДНК.
- При нарушении репарации возникают наследственные заболевания, онкозаболевания, происходит преждевременное старение клетки

Катаболизм пуриновых нуклеотидов

У человека основной продукт катаболизма пуриновых нуклеотидов — мочева кислота. Её образование идёт путём гидролитического отщепления фосфатного остатка от нуклеотидов с помощью нуклеотидаз или фосфатаз, фосфоролиза N-гликозидной связи нуклеозидов пуриннуклеозидфосфорилазой, последующего дезаминирования и окисления азотистых оснований (рис. 10-9).

Распад пуриновых нуклеотидов начинается с отщепления фосфатной группировки под действием 5'-нуклеотидазы. Из аденилаты таким путем образуется аденозин, который, дезаминируясь превращается в инозин. Инозин подвергается гидролизу, что приводит к образованию пуринового основания гипоксантина и D-рибозы. Гипоксантин окисляется до ксантина и

далее до мочевой кислоты под действием ксантинооксидазы, сложного флавинозависимого фермента в простетической группе которого содержится один атом молибдена и 4 железосерных центра. Акцептором водорода в этой реакции служит молекулярный кислород.

Конечным продуктом распада ГМФ также является урат. ГМФ сначала гидролизуются с образованием нуклеозида гуанозина, который расщепляясь превращается в свободный гуанин. Гуанин претерпевает гидролитическое расщепление с образованием ксантина, превращающегося затем в урат под действием ксантинооксидазы

От АМФ и аденозина аминогруппа удаляется гидролитически аденозиндезаминазой с образованием ИМФ или инозина. ИМФ и ГМФ превращаются в соответствующие нуклеозиды: инозин и гуанозин под действием 5'-нуклеотидазы. Пуринонуклеозидфосфорилаза катализирует расщепление N-гликозидной связи в инозине и гуанозине с образованием рибозо-1-фосфата и азотистых оснований: гуанина и гипоксантина. Гуанин дезаминируется и превращается в ксантин, а гипоксантин окисляется в ксантин с помощью ксантинооксидазы, которая катализирует и дальнейшее окисление ксантина в мочевую кислоту.

Ксантинооксидаза - аэробная оксидоредуктаза, простетическая группа которой включает ион молибдена, железа (Fe^{3+}) и FAD. Подобно другим оксидазам, она окисляет пурины молекулярным кислородом с образованием пероксида водорода. В значительных количествах фермент обнаруживается только в печени и кишечнике.

Мочевая кислота удаляется из организма главным образом с мочой и немного через кишечник с фекалиями. У всех млекопитающих, кроме приматов и человека, имеется фермент уриказы, расщепляющий мочевую кислоту с образованием аллантаина, хорошо растворимого в воде (рис. 10-10).

Амфибии, птицы и рептилии, подобно человеку, лишены уриказы и экскретируют мочевую кислоту и гуанин в качестве конечных продуктов обмена.

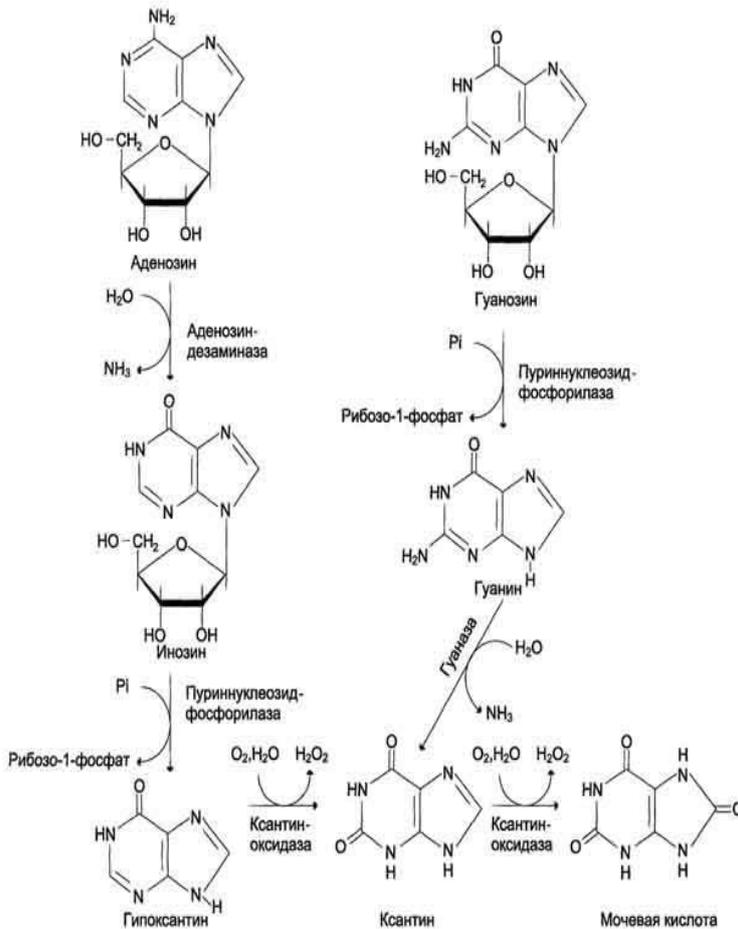


Рис. 10-9. Катаболизм пуриновых нуклеотидов до мочевой кислоты.

Мочевая кислота является слабой кислотой. Содержание недиссоциированной формы и солей (уратов) зависит от pH раствора. При физиологических значениях pH у мочевой кислоты может диссоциировать только один протон из трёх ($pK = 5,8$), поэтому в биологических жидкостях присутствует как недиссоциированная кислота в комплексе с белками, так и её натриевая соль.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

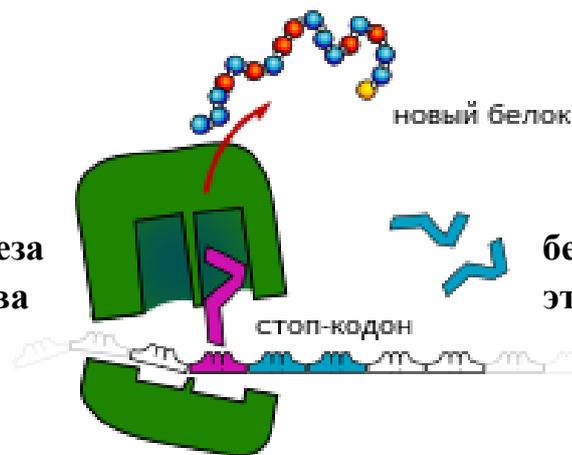
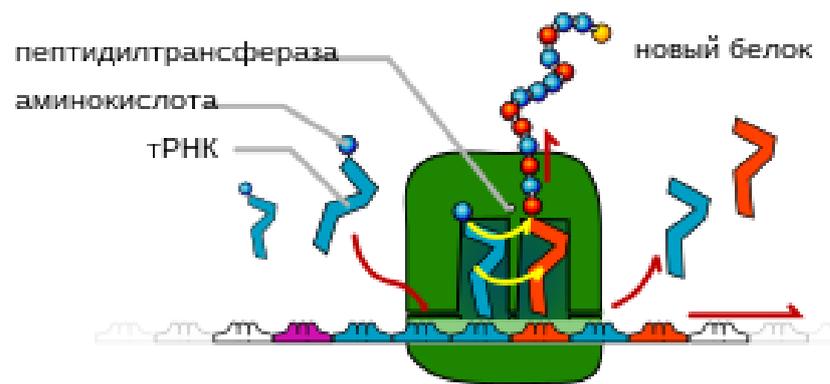
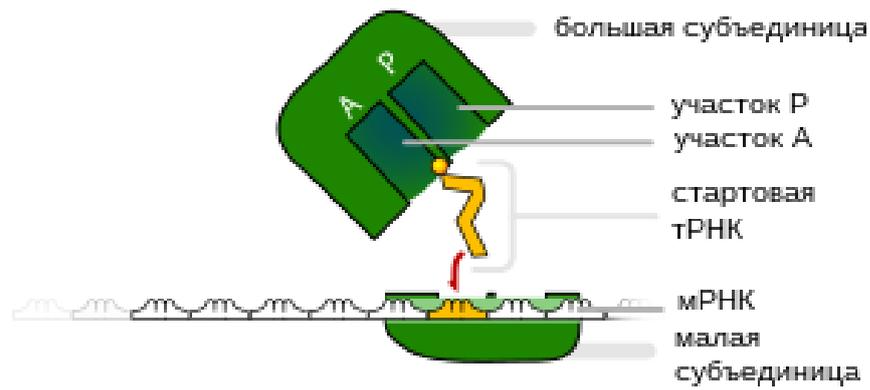
1. Какие процессы включает в себя обмен нуклеотидов в организме?
2. Перечислите этапы репликации?
3. Что такое ксантинооксидаза?

Биосинтез белка — это многостадийный процесс синтеза и созревания белков, протекающий в живых организмах. В биосинтезе белка выделяют два основных этапа: синтез полипептидной цепи из аминокислот, происходящий на рибосомах с участием молекул мРНК и тРНК (трансляция), и посттрансляционные модификации полипептидной цепи. Процесс биосинтеза белка требует значительных затрат энергии.

В 1940-х годах белки рассматривались как ключевые вещества живых организмов, которые не только выполняют биохимические функции, но и участвуют в наследственной передаче информации. Однако механизм синтеза белка оставался тогда ещё чёрным ящиком. Одним из предполагаемых механизмов объяснялся концепцией обратного протеолиза, которая поддерживалась выдающимися биохимиками того времени Максом Бергманном и Джозефом Фрутоном. В 1940 году Торбьерн Касперссон и Джек Шульц разработали методы измерения поглощения нуклеиновых кислот в клетках под воздействием ультрафиолетового излучения, а также микроскопию клеток под воздействием ультрафиолета.

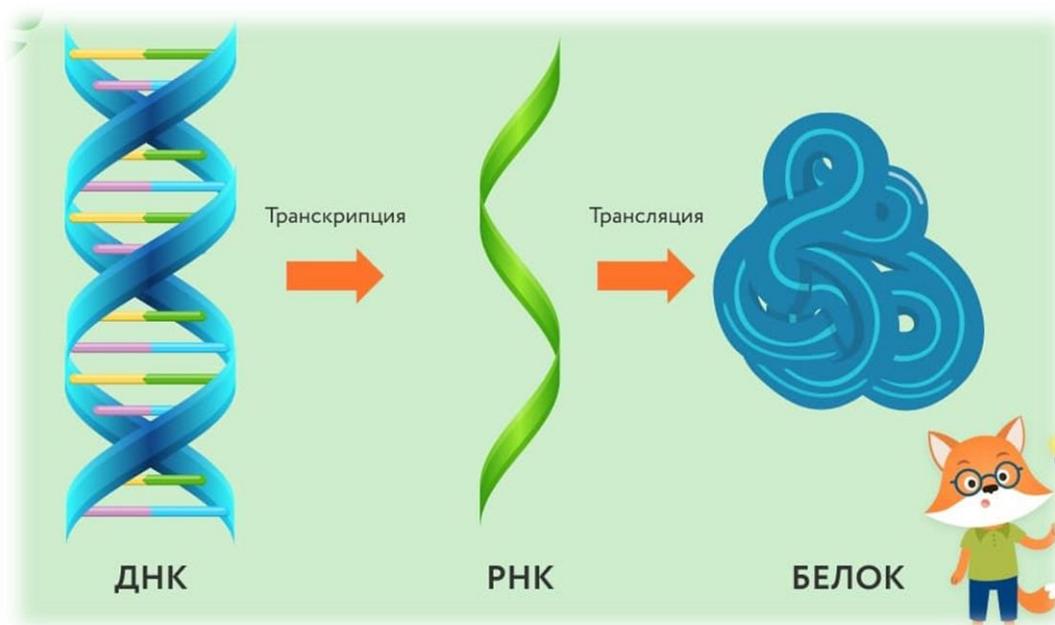
Благодаря этой разработке они смогли определить, что образование белков связано с повышенным присутствием рибонуклеиновых кислот в определённых ядерных и цитоплазматических участках. Примерно в то же время Жан Браше и Раймонд Джинер и Хьюберт Шантрэн пришли к аналогичным выводам на основе дифференциального окрашивания и расщепления тканей РНКазой *in situ*.

Между 1945 и 1950 годами был разработан метод меченых атомов (^{35}S , ^{32}P , ^{14}C и ^3H). Радиоактивные аминокислоты для тестирования животных и после включения метки в белки различных тканей. Первоначально использовали разные аминокислоты: цистеин и метионин, меченные серой, глицин, меченный углеродом, и лизин, меченный углеродом.



Процесс синтеза
разделить на два
трансляция.

белка в клетке можно
этапа: транскрипция и

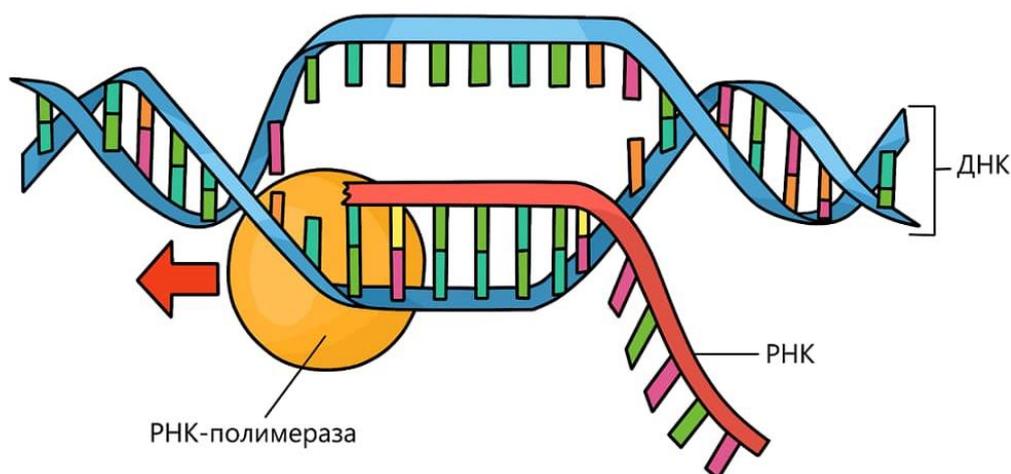


Этапы синтеза белка в клетке

Транскрипция — первый этап биосинтеза белка

Транскрипция — это процесс синтеза молекулы иРНК на участке молекулы ДНК.

Транскрипция (с лат. transcription — переписывание) происходит в ядре клетки с участием ферментов, основную работу из которых осуществляет транскриптаза. В этом процессе матрицей является молекула ДНК.



Специальный фермент находит ген и раскручивает участок двойной спирали ДНК. Фермент перемещается вдоль цепи ДНК и строит цепь информационной РНК в соответствии с принципом комплементарности. По мере движения фермента растущая цепь РНК матрицы отходит от молекулы, а двойная цепь ДНК восстанавливается. Когда фермент достигает конца копирования участка, то есть доходит до участка, называемого стоп-кодоном, молекула

РНК отделяется от матрицы, то есть от молекулы ДНК. Таким образом, транскрипция — это первый этап биосинтеза белка. На этом этапе происходит считывание информации путём синтеза информационной РНК.

Копировать информацию, хотя она уже содержится в молекуле ДНК, необходимо по следующим причинам: синтез белка происходит в цитоплазме, а молекула ДНК слишком большая и не может пройти через ядерные поры в цитоплазму. А маленькая копия её участка — иРНК — может транспортироваться в цитоплазму.

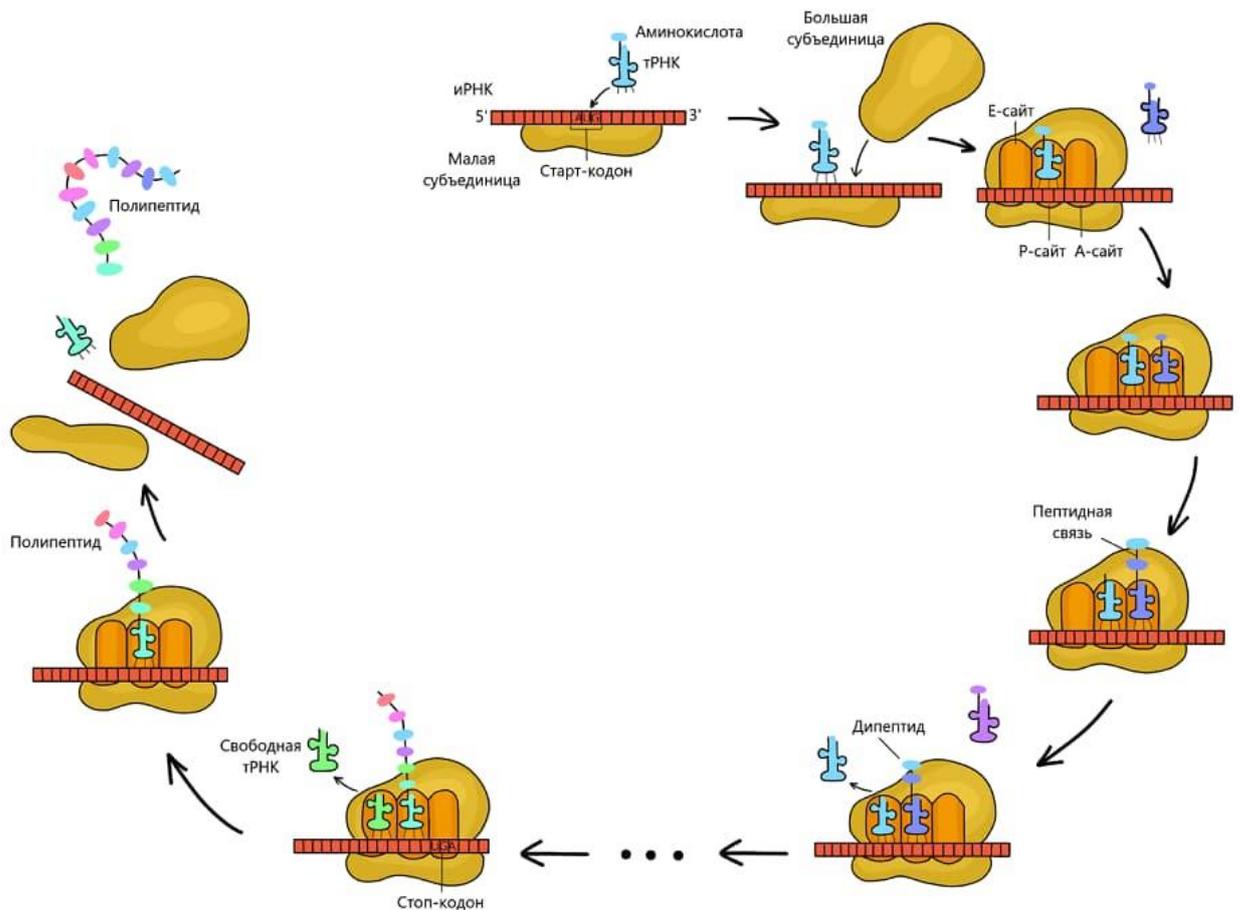
После транскрипции громоздкая молекула ДНК остаётся в ядре, а молекула иРНК подвергается «созреванию» — происходит процессинг иРНК. На её 5' конец подвешивается КЭП для защиты этого конца иРНК от РНКаз — ферментов, разрушающих молекулы РНК. На 3' конце достраивается поли(А)-хвост, который также служит для защиты молекулы. После этого проходит сплайсинг — вырезание интронов (некодирующих участков) и сшивание экзонов (информационных участков). После процессинга подготовленная молекула транспортируется из ядра в цитоплазму через ядерные поры.

ТРАНСКРИПЦИЯ ПОШАГОВО:

1. РНК полимеразы садится на 3' конец транскрибируемой цепи ДНК.
2. Начинается элонгация — полимеразы «скользит» по ДНК в сторону 5' конца и строит цепь иРНК, комплементарную ДНК.
3. Полимераза доходит до конца гена, «слетает» с ДНК и отпускает иРНК.
4. После этого происходит процесс созревания РНК — процессинг.

ТРАНСЛЯЦИЯ — ВТОРОЙ ЭТАП БИОСИНТЕЗА БЕЛКА

Трансляция представляет собой непосредственно процесс построения белковой молекулы из аминокислот. Трансляция происходит в цитоплазме клетки. В трансляции участвуют рибосомы, ферменты и три вида РНК: иРНК, тРНК и рРНК. Главным поставщиком энергии при трансляции служит молекула АТФ — аденозинтрифосфорная кислота.



Во время трансляции нуклеотидные последовательности информационной РНК переводятся в последовательность аминокислот в молекуле полипептидной цепи. Этот процесс идёт в цитоплазме на рибосомах. Образовавшиеся информационные РНК выходят из ядра через поры и отправляются к рибосомам. Рибосомы — уникальный сборочный аппарат. Рибосома скользит по иРНК и выстраивает из определённых аминокислот длинную полимерную цепь белка. Аминокислоты доставляются к рибосомам с помощью транспортных РНК. Для каждой аминокислоты требуется своя транспортная РНК, которая имеет форму трилистника. У неё есть участок, к которому присоединяется аминокислота и другой триплетный антикодон, который связывается с комплементарным кодоном в молекуле иРНК.

Цепочка информационной РНК обеспечивает определённую последовательность аминокислот в цепочке молекулы белка. Время жизни информационной РНК колеблется от двух минут (как у некоторых бактерий) до нескольких дней (как, например, у высших млекопитающих). Затем информационная РНК разрушается под действием ферментов, а нуклеотиды используются для синтеза новой молекулы информационной РНК. Таким образом, клетка контролирует количество синтезируемых белков и их тип.

ТРАНСЛЯЦИЯ ПОШАГОВО:

1. Рибосома узнаёт КЭП, садится на иРНК.
2. На Р-сайт рибосомы приходит первая тРНК с аминокислотой.
3. На А-сайт рибосомы приходит вторая тРНК с аминокислотой.
4. АК образуют пептидную связь.
5. Рибосома делает шаг длиной в один триплет.
6. На освободившийся А-сайт приходит следующая тРНК.
7. АК образуют пептидную связь.
8. Процессы 5–7 продолжаются, пока рибосома не встретит стоп-кодон.
9. Рибосома разбирается, отпускает полипептидную цепь.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ:

1. Что такое биосинтез белка?
2. Что такое транскрипция?
3. Что такое трансляция?

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеева, Л.В. Биохимия: Учебник / Л.В. Авдеева, Т.Л. Алейникова, Л.Е. Андрианова. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2013. - 768 с.
2. Артемова, Э.К. Биохимия: Учебное пособие для самостоятельной работы студентов институтов физической культуры. / Э.К. Артемова. - М.: Советский спорт, 2006. - 72 с.
3. Баишев, И.М. Биохимия. Тестовые вопросы: Учебное пособие / Д.М. Зубаиров, И.М. Баишев, Р.Ф. Байкеев; Под ред. Д.М. Зубаиров. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. - 960 с.
4. Байдалинова, Л. Биохимия гидробионтов: лабораторный практикум: Учебник / Л. Байдалинова. - М.: Моркнига, 2017. - 335 с.
5. Бокуть, С.Б. Биохимия филогенеза и онтогенеза: Учебное пособие / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко, С.Б. Бокуть; Под общ. ред. А.А. Чиркин. - М.: НИЦ Инфра-М, Нов. знание, 2012. - 288 с.
6. Бокуть, С.Б. Биохимия филогенеза и онтогенеза: Учебное пособие / С.Б. Бокуть, Е.О. Данченко. - М.: Инфра-М, 2017. - 230 с.
7. Бородин, А.П. Биохимия животных: Учебное пособие / А.П. Бородин. - СПб.: Лань, 2015. - 384 с.
8. Вавилова, Т. Биохимия тканей и жидкостей полости рта / Т. Вавилова. - М.: Гэотар-Медиа, 2019. - 208 с.
9. Васильева, С.В. Клиническая биохимия крупного рогатого скота: Учебное пособие / С.В. Васильева, Ю.В. Конопатов. - СПб.: Лань, 2017. - 188 с.
10. Гидранович, В.И. Биохимия: Учебное пособие / В.И. Гидранович, А.В. Гидранович. - Мн.: ТетраСистемс, 2012. - 528 с.
11. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов: Учебник / К.К. Горбатова. - СПб.: Гиорд, 2015. - 336 с.
12. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с.
13. Гунькова, П.И. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова; Под общ. ред. К.К. Горбатова. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с.
14. Данилова, Л. Биохимия полости рта: Учебное пособие / Л. Данилова. - СПб.: Спецлит, 2012. - 62 с.
15. Данилова, Л.А. Биохимия полости рта / Л.А. Данилова. - СПб.: Спецлит, 2016. - 99 с.

ИНТЕРНЕТ ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ:

1. www.bio.ru
2. www.biotex.ru
3. www.promega.com
4. www.molbio.ru
5. www.ziyonet.uz

СОДЕРЖАНИЕ

1	БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ БЕЛКОВЫХ ПЕПТИДНЫХ ВЕЩЕСТВ	5
2	БИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ И СТРОЕНИЕ БЕЛКОВ И ПЕПТИДОВ.	11
3	ПРИНЦИПЫ КИНЕТИКИ ФЕРМЕНТОВ.	15
4	ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СКОРОСТЬ РЕАКЦИЙ, ПРОТЕКАЮЩИХ С ПОМОЩЬЮ ФЕРМЕНТОВ.	18
5	ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. НУКЛЕОЗИДЫ. НУКЛЕОТИДЫ. НУКЛЕОПРОТЕИНЫ.	23
6	ПРОЦЕССЫ, ПРОТЕКАЮЩИЕ ПРИ ПОМОЩИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ: РЕПЛИКАЦИЯ, ТРАНСКРИПЦИЯ, ЭФИРНЫЕ ЦЕПИ.	31
7	ПРОСТРАНСТВЕННАЯ СТРУКТУРА И СВОЙСТВА УГЛЕВОДОВ И УГЛЕВОДСОДЕРЖАЩИХ БИОПОЛИМЕРОВ.	36
8	ПРИНЦИПЫ СТРОЕНИЯ ЛИПИДНЫХ МОЛЕКУЛ И БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕМБРАН.	49
9	ВИТАМИНЫ. СТРОЕНИЕ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ ФУНКЦИЯ.	56
10	ПРОЦЕССЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ОКИСЛЕНИЯ И ИХ ЛОКАЛИЗАЦИЯ В КЛЕТКЕ.	76
11	УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН.	78
12	КЛЕТОЧНОЕ ДЫХАНИЕ И ВОССТАНОВЛЕНИЕ ЭНЕРГИИ В АЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ.	83
13	ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН. КАТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ.	86
14	ОБМЕН НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ. РАСЩЕПЛЕНИЕ ПУРИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ.	90
15	УПРАВЛЕНИЕ БЕЛКОВЫМ БИОСИНТЕЗОМ.	95
	ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА	101

