



# **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

Кызыл  
2018

**ТУВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**

**У.С. Ооржак**

# **БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

**Часть 1**

*Учебное пособие*

**КЫЗЫЛ  
2018**

**УДК 577.1(07)**  
**ББК 28.072 я73**  
**О-59**

Печатается по решению учебно-методического совета  
ФГБОУ ВО «Тувинского государственного университета»

Рецензенты:

д.б.н., профессор кафедры общей биологии Ондар С.О.  
к.х.н, с.н.с. ТувИКОПР СО РАН Куликова М.П.

Биологическая химия. Часть 1: учебное пособие / У.С. Ооржак. – Кызыл: Изд-во ТувГУ, 2018. – 173 с.

Учебное пособие содержит теоретические основы по дисциплинам «Биологическая химия» и «Химические основы биологических процессов»: химические компоненты клетки, молекулярные основы ферментативного катализа, метаболизма, свойства важнейших биомолекул с их биологической функцией в живом организме.

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Основные положения биоэнергетики .....	5
1.1. Обмен веществ и особенности термодинамики биохимических процессов .....	6
1.2. Анаболизм и катаболизм как составные части метаболизма .....	7
1.3. Биологическое окисление .....	11
1.4. Структурная организация клетки.....	19
1.5. Химический состав клетки и организмов .....	25
Глава 2. Ферменты.....	29
2.1. Ферменты как белковые факторы .....	29
2.2. Структурная организация ферментов.....	30
2.3. Основы кинетики ферментативного катализа .....	33
2.4. Классификация и номенклатура ферментов .....	36
Глава 3. Метаболизм нуклеиновых кислот .....	48
3.1. Структурная организация нуклеиновых кислот.....	49
3.2. Катаболизм нуклеиновых кислот.....	56
3.3. Анаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.....	57
3.4. Анаболизм дезоксирибонуклеотидов .....	65
3.5. Репликация (анаболизм ДНК) .....	67
3.6. Транскрипция (анаболизм РНК) .....	70
Глава 4. Метаболизм белков.....	76
4.1. Структурная организация белков.....	77
4.2. Катаболизм белков .....	84
4.3. Катаболизм аминокислот.....	85
4.4. Катаболизм аммиака .....	87
4.5. Пути обмена безазотистого остатка аминокислот.....	94
4.6. Анаболизм заменимых аминокислот.....	96
4.7. Трансляция (анаболизм белков).....	99
Глава 5. Метаболизм углеводов .....	107
5.1. Структурная организация углеводов .....	108
5.2. Катаболизм углеводов.....	116
5.3. Катаболизм глюкозы: аэробный и анаэробный гликолиз.....	118
5.4. Пентозофосфатный путь превращения глюкозы.....	123
5.5. Глюконеогенез и его регуляция .....	128
5.6. Гликогеногенез .....	130
Глава 6. Метаболизм липидов .....	136
6.1. Структурная организация липидов.....	137
6.2. Катаболизм липидов.....	145
6.3. Анаболизм триацилглицеролов.....	150
6.4. Катаболизм жирных кислот.....	156
6.5. Анаболизм кетоновых тел .....	161
6.6. Анаболизм жирных кислот.....	162
Список использованной литературы .....	172

## ВВЕДЕНИЕ

Основной задачей современного естествознания является познание живой природы и бесконечного многообразия ее форм. Выполнение этой задачи невозможно без тесного взаимодействия естественных наук – физики, химии, биологии. Подтверждением этого является тот факт, что с внедрением физических методов исследования в химию стало возможным определение химического строения сложнейших химических соединений. С внедрением методов физики и химии биология из описательной науки превратилась в точную, способную описать жизненные процессы на молекулярном уровне.

«Биологическая химия» и «Химические основы биологических процессов» имеют своей целью формирование у студентов правильного представления об основных химических компонентах клетки, молекулярных основах ферментативного катализа, метаболизма, современном состоянии вопросов взаимосвязи структуры и свойств важнейших типов биомолекул с их биологической функцией. Кроме того, изучение дисциплин должно подготовить студентов для дальнейшего самостоятельного изучения молекулярных основ жизни – вопросов наследственности, иммунитета, нейроэндокринной регуляции и фоторецепции, современных концепций о происхождении и сущности жизни. Успешное освоение дисциплин невозможно без знаний, полученных на предыдущих этапах обучения, без знаний фундаментальных курсов «Неорганическая химия», «Физическая химия», «Органическая химия», «Коллоидная химия», «Химия природных соединений».

Настоящее учебное пособие состоит из шести глав. Первая глава содержит сведения об особенностях термодинамики биохимических процессов, о биологическом окислении, анаболизме и катаболизме как составных частях метаболизма, структурной организации клетки и химическом составе организмов.

Вторая глава касается особенностей и отличительной черты ферментативного катализа, структурной организации ферментов, а также кинетике ферментативного катализа и классификации ферментов.

В главе три рассматриваются вопросы строения и функционирования основной группы биомолекул нуклеиновых кислот, их структурной организации, метаболизма нуклеиновых кислот, пиримидиновых нуклеотидов, дезоксирибонуклеотидов. Подробно представлены матричные процессы репликации и транскрипции.

Четвертая глава посвящена структурной организации белков, метаболизму белков, аминокислот, а также путям обмена безазотистого остатка аминокислот, матричному процессу трансляции.

В пятой главе приведена структурная организация углеводов, метаболизм углеводов, аэробный и анаэробный гликолиз, пентозофосфатный путь превращения глюкозы, а также глюконеогенез и гликогеногенез, их регуляция.

Шестая глава содержит сведения о структурной организации липидов, метаболизме липидов, триацилглицеролов, жирных кислот и кетонных тел.

После каждой главы приводятся вопросы для самоконтроля, работа над которыми способствует более качественному усвоению студентами материала дисциплины. Завершается пособие списком рекомендованной литературы. Для наглядности и полноты изложения учебное пособие содержит большое количество формул, рисунков, схем, таблиц и уравнений.

## Глава 1. ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ БИОЭНЕРГЕТИКИ

### **Цели изучения:**

#### **Уметь:**

1. Объяснять понятия биоэнергетики и обмена веществ.
2. Оценивать роль законов термодинамики, энтропии, энтальпии и свободной энергии в биохимических процессах.
3. Определять метаболические, анаболические и катаболические процессы в живых организмах.

#### **Знать:**

1. Этапы метаболизма.
2. Знать структуру и различать макроэргические соединения.
3. Виды биологического окисления.
4. Строение и роль ферментов биологического окисления.
5. Механизм передачи водорода и электронов в цепи переноса электронов
6. Структурную организацию клетки и функции органоидов.
7. Химический состав живых организмов.

### **Основные термины и понятия:**

1. Обмен веществ и энергии
2. Взаимосвязь законов термодинамики с биологическими процессами.
3. Биологическое окисление.
4. Окислительное фосфорилирование.
5. Цепь переноса электронов.
6. Сопряжение тканевого дыхания.
7. Трансформация энергии в организме.
8. Клетка, клеточные органоиды, клеточная мембрана.
9. Химический состав клетки.
10. Макро-, микро-, ультрамикрорэлементы.
11. Эссенциальные, условно-эссенциальные, условно-токсичные элементы.

### **Сокращения:**

АТФ (АТР) – аденозинтрифосфат;

АДФ (АДР) – аденозиндифосфат;

АМФ (АМР) – аденозинмонофосфат;

P<sub>i</sub> – неорганический фосфат;

2 P<sub>i</sub> – пирофосфат;

ЦПЭ – цепь переноса электронов;

НАД (NAD<sup>+</sup>) или НАДФ (NADP<sup>+</sup>) – никотинамидзависимые дегидрогеназы;

ФАД (FAD) или ФМН (FMN) – флавиновые дегидрогеназы;

коэнзим Q – убихинон;

P/O – коэффициент окислительного фосфорилирования;

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота;

РНК – рибонуклеиновая кислота.

## 1.1. Обмен веществ и особенности термодинамики биохимических процессов

**Биоэнергетика – раздел, изучающий механизмы и закономерности преобразования энергии в живых организмах.**

Живые организмы представляют собой термодинамические неустойчивые системы. Для их формирования и функционирования необходим обмен веществ.

**Обмен веществ – совокупность химических реакций в организме, которые обеспечивают его веществами и энергией, необходимыми для его жизнедеятельности.** Процесс потребления энергии и веществ называется **питанием**.

Энергия необходима для осуществления синтеза веществ, необходимых для роста организма; сокращения мышц и передачи нервных импульсов; транспорта веществ из клетки в клетку и поддержания постоянной температуры тела организма.

Для получения энергии практически все живые организмы приспособились подвергать гидролизу АТФ (АТР). В связи с этим одной из главных задач биоэнергетики живых организмов является восполнение использованных АТФ из АДФ (АДР) и АМФ (АМР).

Между обменом веществ и обменом энергии существуют различия:

1. Вещество в биосфере обменивается по замкнутому циклу и используется многократно.
2. Обмен энергией не циркулирует по замкнутому циклу, а частично рассеивается во внешнее пространство.

Жизнь является сложнейшим биохимическим процессом, включающим множество метаболических реакций. Рассмотрение любой биохимической реакции основано на представлениях об энергии и может быть охарактеризовано с использованием основных законов химической термодинамики. Применительно к биологическим системам I закон термодинамики можно сформулировать следующим образом: **в живой природе при осуществлении различных биохимических процессов общее количество энергии остается постоянным.**

Для того чтобы понять, сможет ли эта реакция протекать и в какой мере она будет уравновешена обратной реакцией, недостаточно записать ее в виде химического уравнения, т.к. необходимо иметь сведения о происходящих в этой реакции изменениях химической энергии. В каждой из реагирующих молекул заключено некоторое количество энергии, определяемое ее структурой. Эта энергия представляется как теплосодержание или энтальпия молекулы. Пойдет ли данная реакция зависит не только от изменения энтальпии, но также и от изменения энтропии  $\Delta S$  химической системы.

**Энтропия определяется как степень неупорядоченности.** Чем легче происходит любое движение молекулы (колебание, вращение), чем в большей степени молекулы рассеяны в пространстве, чем больше изменяется число молекул в результате реакции, тем больше совокупная неупорядоченность, тем больше энтропия. Таким образом, при решении вопроса о возможности протекания химической реакции необходимо учитывать как  $\Delta H$ , так и  $\Delta S$ .

Если  $\Delta H < 0$  и  $\Delta S > 0$ , то реакция пойдет, а при  $\Delta H > 0$  и  $\Delta S < 0$  реакция не пойдет, если же изменение энтальпии и энтропии имеют одинаковые знаки, то их влияние противоположно, и вопрос решается сравнением их величин. Кроме того, в биологических системах трудно или невозможно прямое измерение энтропии. Проблема решается благодаря предложенному Гиббсом понятию **свободная энергия**, которая объединяет оба рассмотренных понятия – энтальпию и энтропию. Изменение свободной энергии  $\Delta G$  описывается уравнением:

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S,$$

где  $T$  – абсолютная температура, К

и представляет собой **максимальное значение энергии, которое доступно для совершения полезной работы (мышечное сокращение, биохимический синтез в клетках, преодоление осмотических или электрических сил) за счет химической реакции.**

Применительно к биохимическим процессам, используя II закон термодинамики, можно сформулировать общее правило: **биохимическая реакция протекает в условиях, когда свободная энергия образования продуктов меньше, чем исходных веществ, т.е.  $\Delta G < 0$ .**

На практике используют стандартное **изменение свободной энергии  $\Delta G^0$  реакции, протекающей в стандартных условиях: при концентрации компонентов реакции 1 моль/л, температуре 298 К, давлении 101,325 кПа и рН среды 7,0.**

В зависимости от величины изменения свободной энергии биохимические реакции могут быть обратимыми и необратимыми. Причем их направление зависит от небольших изменений

концентраций метаболитов (участников биохимических реакций). Если изменения свободной энергии значительны, то метаболические реакции идут в одном направлении и протекают до полного завершения.

Основные биохимические реакции обычно включают не одну, а много последовательно протекающих реакций, объединенных в **метаболические пути**. Общим свойством метаболических путей является их необратимость. Это не означает, что все реакции метаболического пути необратимы. По меньшей мере, одна реакция не протекает в обратном направлении. Например, при интенсивной работе мышц полисахарид гликоген в серии биохимических реакций превращается в молочную кислоту, а при последующем он вновь синтезируется из молочной кислоты, причем не в результате простого обращения реакции, а иным путем, т.е. прямая и обратная реакции не совпадают.

На основании вышесказанного можно сформулировать общий биохимический принцип: **когда суммарный химический процесс, характерный для данного метаболического пути, должен быть физиологически обратимым, прямая и обратная траектории не совпадают полностью и обязательно содержат хотя бы пару различающихся по своей природе необратимых реакций.**

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Что такое биоэнергетика? Что она изучает?
2. Дайте определения обмена веществ и обмена энергии. Охарактеризуйте общие черты и различия между ними.
3. Как используется энергия в живых системах?
4. Какую роль выполняют термодинамические величины в живой системе?
5. Применение II закона термодинамики к биохимическим процессам.
6. Каков общий биохимический принцип?

### **1.2. Анаболизм и катаболизм как составные части метаболизма**

Для дальнейшего рассмотрения биоэнергетики необходимы представления о важных метаболических процессах, протекающих в живых организмах. Образование в живом организме высокомолекулярных соединений происходит со значительным увеличением свободной энергии. Поэтому этот синтез не может происходить **спонтанно**, т.е. без внешнего источника свободной энергии (процесса окисления пищевых молекул).

Совокупность реакций биосинтеза, протекающих с положительным изменением свободной энергии, называются **анаболическими**, или **анаболизмом**. Совокупность реакций распада, протекающих с уменьшением свободной энергии, называются **катаболическими** или **катаболизмом**.

**Катаболизм** – процесс распада сложных веществ на более простые. При катаболизме поступающие с пищей белки, жиры, углеводы под действием ферментов пищеварительного тракта распадаются на более простые составные части, и при этом высвобождается энергия.

**Анаболизм** – обратный процесс, т.е. синтез сложных соединений из более простых. Анаболизм идет с затратой энергии. Из образовавшихся в результате пищеварения аминокислот, жирных кислот и моносахаридов в клетках синтезируются новые клеточные белки, фосфолипиды мембран и полисахариды.

Метаболизм состоит из нескольких этапов:

Первый этап — ферментативное расщепление белков, жиров и углеводов до растворимых в воде аминокислот, моно- и дисахаридов, глицерина, жирных кислот и других соединений. Энергетической значимости этот этап не имеет, т.к. освобождается только 1% энергии. Энергия рассеивается в виде тепла.

Второй этап — транспорт питательных веществ с кровью к тканям и клеточный метаболизм, результатом которого является их ферментативное расщепление до конечных продуктов. Часть этих продуктов используется для построения составных частей мембран, цитоплазмы, для синтеза биологически активных веществ и воспроизведения клеток и тканей. На этом этапе в аэробных условиях освобождается до 20% энергии. Часть этой энергии аккумулируется в фосфатных связях АТФ, а остальная – рассеивается в виде тепла.

Третий этап — окончательный распад метаболитов до  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  и выведение конечных продуктов метаболизма в составе мочи, кала, пота. Он протекает в аэробных условиях и представляет собой биологическое окисление.

Промежуточные продукты, образовавшиеся в процессе метаболизма, называются *метаболитами*, а последнее соединение метаболического пути – конечный продукт (табл. 1).

Таблица 1

Взаимосвязь анаболизма и катаболизма

АНАБОЛИЗМ	МЕТАБОЛИЗМ	КАТАБОЛИЗМ
Белки ←	аминокислоты	→ $\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}, \text{NH}_3$
Липиды ←	глицерин + жирные кислоты	→ $\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}$
Углеводы ←	глюкоза	→ $\text{CO}_2, \text{H}_2\text{O}$

Интенсивность метаболизма определяется потребностью клетки в тех или иных веществах или энергии, взаимосвязь обмена веществ и энергии представлена на рис 1.

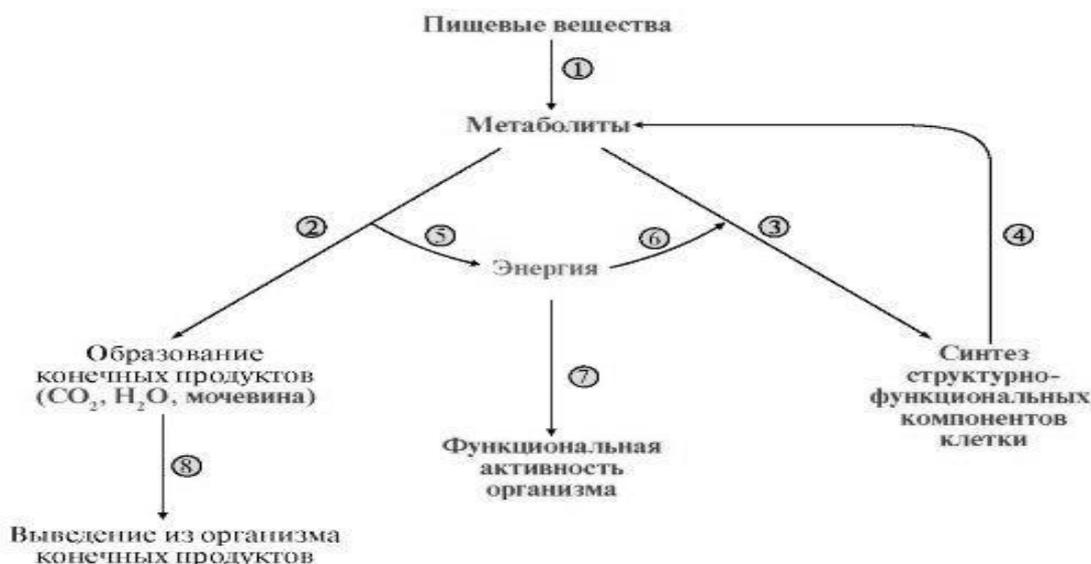


Рис. 1. Взаимосвязь обмена веществ и энергии:

- 1 – пищеварение; 2, 4 – катаболизм; 3 – анаболизм; 5 – экзоэргонические реакции; 6, 7 – эндоэргонические реакции; 8 – выделение конечных продуктов

Катаболические реакции, которые протекают самопроизвольно за счет уменьшения свободной энергии, называются *экзоэргоническими*.

Несамопроизвольные анаболические реакции, которые сопровождаются увеличением свободной энергии и поэтому их протекание невозможно без подвода энергии – *эндоэргоническими*.

Низкомолекулярные соединения в живой клетке синтезируются в высокомолекулярные, даже если для этого превращения характерна большая стандартная свободная энергия и требуется приток энергии извне. Указанное превращение может протекать как последовательность отдельных химических реакций, каждая из которых имеет отрицательное значение  $\Delta G$ .

В результате окисления пищевых молекул (катаболизм) высвобождается энергия, которая используется для проведения в действие энергетически невыгодных процессов (анаболизм). При этом для всей системы в целом (клетка и окружающая среда) выполняется II закон термодинамики. Далее выделяющаяся в катаболизме энергия должна приниматься общим энергетическим интермедиатом и доставляться туда, где требуется энергия и должна совершаться работа. Таким энергетическим интермедиатом, универсальным для всех форм земной жизни, являются фосфорильные группы молекул, так называемых *макроэргических фосфатных органических соединений (Pi)*.

*Макроэргической или богатой энергией называют химическую связь, при разрыве которой высвобождается более 4 ккал/моль (кДж/моль).*

Энергия, запасенная в химических связях макроэргических соединений, транспортируется туда, где нужно совершить работу. Такая работа совершается за счет энергии выделяющейся при обратном превращении фосфорильных групп в неорганические фосфатные ионы.

Макроэргические фосфатные органические соединения, содержащие фосфорильные группы можно разделить на группы:

- низкоэнергетические фосфаты при их гидролизе до неорганического фосфата (Pi) отрицательное изменение свободной энергии  $\Delta G^\circ$  лежит в пределах 9–20 кДж/моль.
- высокоэнергетические (макроэргические), у которых  $\Delta G^\circ$  превышает 30 кДж/моль.

Столь значительное высвобождение энергии при гидролизе пиродифосфата обусловлено резонансной стабилизацией неорганического фосфата. Кроме того, структура пиродифосфата дестабилизирована электростатическим отталкиванием двух отрицательно заряженных фосфорильных групп. Большое значение  $\Delta G^\circ$  объясняется резонансной стабилизацией обоих продуктов гидролиза Pi и карбоксилат-аниона.

Следует заметить, что в клетке реальные значения  $\Delta G_\phi$  для всех фосфатов гораздо больше стандартной величины  $\Delta G^\circ$ , поскольку концентрации участников реакции существенно меньше 1 М (табл. 2).

Таблица 2

Свободная энергия гидролиза некоторых соединений в стандартных ( $\Delta G^\circ$ ) и физиологических ( $\Delta G_\phi$ ) условиях среды

Соединение	Продукты гидролиза	$-\Delta G^\circ$	$-\Delta G_\phi$
<b>Высокоэнергетические фосфаты</b>			
Фосфоенолпируват	Пируват + Pi	61,7	66,7
1,3-дифосфоглицерат	3-фосфоглицерат + Pi	49,2	41,7
Креатинфосфат	Креатин + Pi	42,5	-
АТФ	ADP + Pi	30,4	50,0
Ацетил-КоА	Ацетат + HSKoA	30,4	-
ADP	AMP + Pi	30,4	50,0
Пиродифосфат-ион	2 Pi	33,5	50,0
Глюкозо-1-фосфат	Глюкоза + Pi	20,8	-
<b>Низкоэнергетические фосфаты</b>			
Фруктозо-6-фосфат	Фруктоза + Pi	15,8	-
AMP	Аденозин + Pi	14,1	-
Глюкозо-6-фосфат	Глюкоза + Pi	13,8	23,8
$\alpha$ -глицеролфосфат	Глицерин + Pi	9,2	-

Разные фосфорилированные соединения обладают разным запасом свободной энергии. К группе высокоэнергетических фосфатов, помимо АТФ, относят енолфосфаты, ангидриды и фосфогуанидины. Соединения, расположенные в нижней части таблицы, составляют группу низкоэнергетических фосфатов.

Так, основными переносчиками фосфорильных групп являются АМФ, АДФ и АТФ. Аденозинтрифосфат гидролизуетсся с большим отрицательным изменением свободной энергии (табл. 2) и этим отличается от АМФ, который в цикле переноса энергии выступает лишь как переносчик пиродифосфатного остатка. При гидролитическом расщеплении АТФ до АДФ и фосфорной кислоты высвобождается 7,3 ккал/моль. Такая молекула содержит в себе три макроэргические связи (рис. 2):

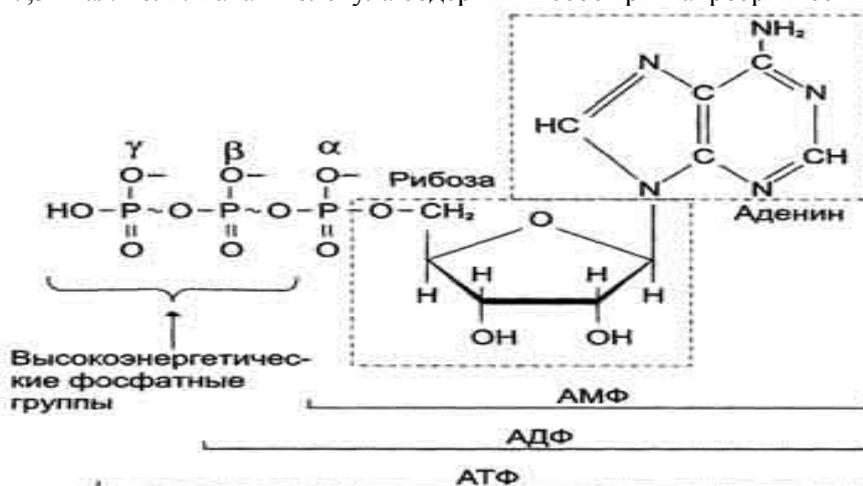


Рис. 2. Макроэргические связи в молекуле АТФ

За сутки в организме образуется и распадается около 60 кг АТФ. Однако в клетке АТФ не накапливается, а расходуется в течение 1 минуты после образования, что требует ее непрерывного пополнения (*АТФ-АДФ цикл*). Синтез и использование АТФ происходят постоянно, и то количество АТФ, которое было израсходовано клеткой, восполняется в процессе ее синтеза.

Таким образом, в высокоэнергетических связях АТФ аккумулируется энергия, выделяемая в процессах катаболизма. Энергия, выделяющаяся при окислении пищевых веществ, обеспечивает синтез АТФ из АДФ и  $P_i$ , а энергия гидролиза АТФ, в свою очередь, используется в различных видах работы.

#### ***Вопросы для самоконтроля:***

1. Что такое катаболизм? Что такое анаболизм? Дайте характеристику взаимосвязи между катаболизмом и анаболизмом.
2. Что такое метаболизм? Что такое метаболиты
3. Какие соединения называются макроэнергетическими? Приведите примеры макроэнергетических соединений.
4. Чем различаются понятия свободной химической энергии, определенной в стандартных и физиологических условиях?
5. Окисление глюкозы до углекислого газа и воды протекает с выделением большого количества энергии. Как объяснить тот факт, что глюкоза на воздухе вполне устойчива к окислению?
6. Какие типы связей используются в биологических системах? И каковы их энергетические характеристики? Почему для образования этих связей не нужен ферментативный катализ? Каково значение слабых связей?

#### ***Задачи для самостоятельной работы:***

1. На примере превращений 3-фосфоглицеринового альдегида покажите взаимосвязь углеводного и липидного обменов. Напишите уравнения реакций.
2. Найдите конкретные формы взаимосвязи обмена белков и нуклеиновых кислот. Раскройте сущность их.
3. Напишите уравнения реакций, показывающих взаимосвязь апоптомического пути распада углеводов и биосинтеза нуклеотидов
4. Покажите роль нуклеозиддифосфосахаров в биосинтезе олиго- и полисахаридов. Напишите уравнения реакций.
5. Покажите значение метаболитов цикла три- и дикарбоновых кислот в белковом обмене. Напишите химические уравнения.
6. На примере превращений ацетил-S-КоА покажите взаимосвязь обмена углеводов и липидов.
7. На конкретных примерах продемонстрируйте опосредованную взаимосвязь обмена белков, углеводов и нуклеотидов.
8. Раскройте взаимосвязь обмена нуклеиновых кислот и липидов на конкретных примерах. Напишите химические уравнения, подтверждающие различные пути взаимосвязи указанных обменов.
9. Опишите уровни регуляции биосинтеза белка.
10. Охарактеризуйте оперонный уровень регуляции биосинтеза информационных макромолекул. Дайте понятие о латентном и активном состоянии информационных макромолекул.
11. Приведите примеры метаболитной регуляции ферментативных процессов. Напишите химические уравнения.
12. Охарактеризуйте гормональную регуляцию углеводного обмена.
13. напишите уравнения реакций первичного биосинтеза аминокислот из метаболитов углеводного обмена.
14. На примере превращения конечных продуктов деструкции пуриновых оснований покажите взаимосвязь нуклеинового, белкового и липидного обменов. Напишите уравнения реакций.
15. Связующим звеном в обмене липидов, белков и углеводов является 3-фосфоглицериновая кислота. Напишите уравнения реакций, характеризующие взаимосвязь указанных обменов.

### 1.3. Биологическое окисление

Наиболее важными экзоэргоническими реакциями метаболизма являются реакции окисления органических веществ, в которых используется кислород с образованием воды и углекислого газа, т.е. реакции окисления.

Изменение свободной энергии, характеризующей реакции окисления и восстановления, пропорционально способности отдавать или принимать электроны. Таким образом, изменение свободной энергии окислительно-восстановительного процесса можно характеризовать не только величиной  $\Delta G^0$ , но и величиной окислительно-восстановительного потенциала системы  $\Delta E^0$ .

Редокс-потенциалы  $E^0$  связаны с изменением свободной энергии уравнением Нернста:

$$\Delta G^0 = -n \cdot F \cdot \Delta E^0,$$

где,  $n$  – число перенесённых в реакции электронов;

$F$  – постоянная Фарадея (23 061 ккал  $V^{-1}$  моль $^{-1}$ );

$\Delta E^0$  – разность редокс-потенциалов электрондонорной и электрон-акцепторной пар.

Обычно окислительно-восстановительный потенциал системы сравнивают с потенциалом водородного электрода, принимая его за 0,0 В, при рН=0. Однако для биологических систем удобнее использовать окислительно-восстановительный потенциал  $E^0_{H_2} = -0,42$  В при рН=7,0. Можно предсказать, в каком направлении пойдет поток электронов при сопряжении окислительно-восстановительной системы (табл. 3).

Таблица 3

Стандартные потенциалы окислительно-восстановительных систем

Система	Значение $E^0$ , В
Кислород / вода	+ 0,82
Цитохром а: $Fe^{3+}/Fe^{2+}$	+0,29
Цитохром с: $Fe^{3+}/Fe^{2+}$	+0,22
Убихинон: окисл./восстан.	+0,10
Цитохром b: $Fe^{3+}/Fe^{2+}$	+0,03
Фумарат / сукцинат	+0,03
Флавопротеин: окисл./восстан.	-0,12
Оксалоацетат / малат	-0,17
Пируват / лактат	-0,19
Ацетоацетат / гидроксибутират	-0,27
Липоат: окисл./восстан.	-0,29
НАД $^+$ / НАДН	-0,32
<b>H<math>^+</math>/H<math>_2</math></b>	<b>-0,42</b>
Сукцинат/альфакетоглутарат	-0,67

Разные редокс-пары обладают различным сродством к электрону. Те, у которых это сродство меньше, отдают электрон тем, у кого оно больше.

**Биологическое окисление – совокупность реакций окисления, протекающих во всех живых клетках организма.**

Основная функция биологического окисления это обеспечение организма энергией в доступной для использования форме

Классификация процессов биологического окисления:

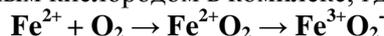
1. Свободное окисление, не сопряженное с фосфорилированием АДФ, не сопровождающееся трансформацией энергии, выделяющейся при окислении, в энергию макроэргических связей. При этом энергия переходит в тепловую, и рассеивается.

2. Окисление, сопряженное с фосфорилированием АДФ. Осуществляется двумя путями: фосфорилирующим окислением и сопряжением на уровне электронотранспортной цепи – дыханием.

По типу **свободного окисления** идут все без исключения оксигеназные реакции, все окислительные реакции, ускоряемые пероксидазами или сопровождающиеся образованием пероксида водорода. Процессы свободного окисления сосредоточены в цитозоле, в мембранах эндоплазматической сети клетки, в мембранах лизосом, пероксиом и аппарата Гольджи, на внешних мембранах митохондрий и хлоропластов, ядерном аппарате клетки.

Наиболее изучен механизм свободного окисления при участии диоксигеназ. Например, пирокатехаза (катехол: кислород-1,2-оксиредуктаза дециклизующая,  $M=85000$ ). Растворы

пирокатехазы имеют красный цвет, т.к. содержат в активном центре два прочно связанных атома Fe, которые соединяются с молекулярным кислородом в комплекс, где кислород активируется:



Решающую роль в активировании молекулярного кислорода играет передача на него электрона с металла, входящего в состав фермента.

Окисление, *сопряженное с фосфорилированием*, идет главным образом на внутренних мембранах митохондрий.

**Синтез АТФ из АДФ и  $\text{H}_3\text{PO}_4$  за счет энергии, выделяющейся при тканевом дыхании, называется окислительным фосфорилированием.**

Первый этап тканевого дыхания – дегидрирование различных субстратов, образующихся в реакциях катаболизма. Процесс окисления рассматривается как перенос электронов, сопровождаемый отщеплением протона от окисляемой молекулы (субстрата):



Протоны при этом переходят в окружающую среду.

Донором электронов является кислород:  $\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$

При этом образуется вода, причем требующиеся для этого протоны забираются из раствора. Между субстратом и кислородом расположены переносчики электронов.

Ферменты, отщепляющие водород от субстратов (дегидрогеназы), находятся в основном в матриксе митохондрий. В зависимости от строения коферментов дегидрогеназы делятся на две группы: НАД (NAD)-зависимые и ФАД (FAD)-зависимые дегидрогеназы.

Никотинамидзависимые дегидрогеназы содержат НАД ( $\text{NAD}^+$ ) или НАДФ ( $\text{NADP}^+$ ) коферменты (производные витамина РР). Эти коферменты входят в состав активных центров дегидрогеназ, но могут обратимо диссоциировать из комплекса с апоферментами и включаются в состав фермента в ходе реакции. Субстраты НАД- ( $\text{NAD}$ ) и НАДФ-зависимых ( $\text{NADP}$ ) дегидрогеназ находятся в матриксе митохондрий и в цитозоле. Рабочей частью никотинамидных коферментов служит никотинамид (рис. 3).

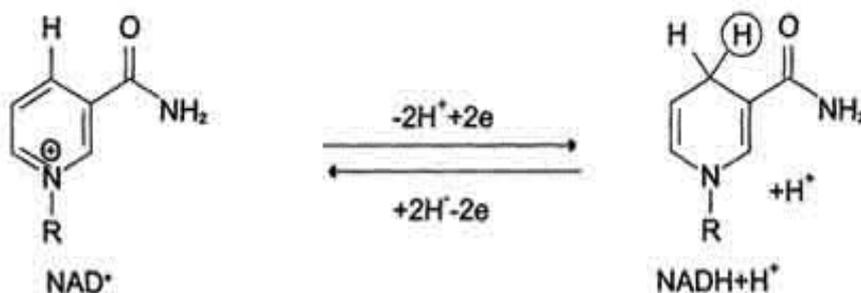
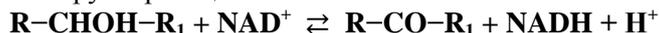


Рис. 3. Структурные формулы рабочей части коферментов  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADP}^+$

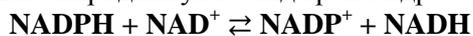
В окисленной форме никотинамидные коферменты обозначают как  $\text{NAD}^+$  и  $\text{NADP}^+$ , т.к. они несут положительный заряд на атоме азота пиридинового кольца. В реакциях дегидрирования из двух атомов водорода, отщепляемых от окисляемого субстрата, никотинамидное кольцо присоединяет ион водорода и два электрона в форме гидрид-иона ( $\text{H}^-$ ). Второй ион переходит в среду. В обратной реакции  $\text{NADH}$  ( $\text{NADPH}$ ) выступают в качестве доноров электронов и протонов.

Большинство дегидрогеназ, поставляющих электроны в цепь переноса электронов (ЦПЭ), содержат  $\text{NAD}^+$ . Они катализируют реакции типа:

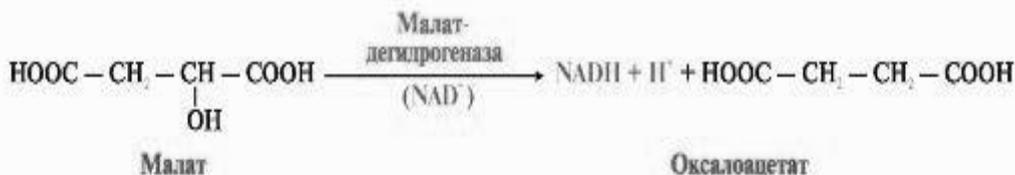


Таким образом,  $\text{NAD}^+$ , присоединяя протоны и электроны от различных субстратов, служит главным коллектором энергии окисляемых веществ и главным источником электронов, обладающих высоким энергетическим потенциалом, для ЦПЭ.

$\text{NADPH}$  не является непосредственным донором электронов в ЦПЭ, а используется почти исключительно в восстановительных биосинтезах. Однако возможно включение электронов с  $\text{NADPH}$  в ЦПЭ благодаря действию пиридиннуклеотид трансгидрогеназы, катализирующей реакцию:



В  $\text{NAD}$ -зависимых дегидрогеназах  $\text{NAD}$  непрочно связан с ферментом; в восстановленной форме ( $\text{NADH}$ ) он отделяется от апофермента и служит донором водорода для другого фермента:



Флавиновые дегидрогеназы содержат ФАД (FAD) или ФМН (FMN) коферменты (образуются в организме человека из витамина В<sub>2</sub>). Они прочно связаны с апоферментами. Рабочей частью FAD и FMN служит изоаллоксазиновая сопряжённая циклическая система (рис. 4).

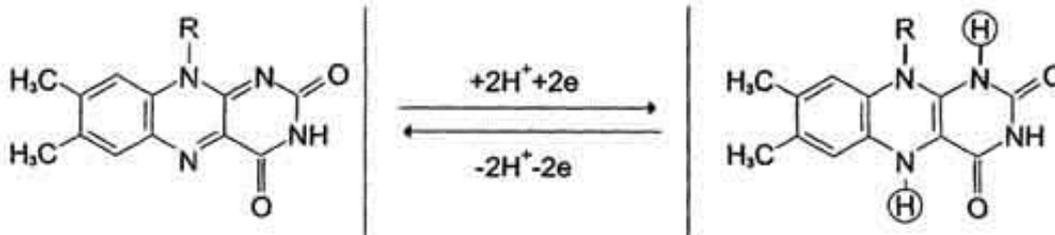
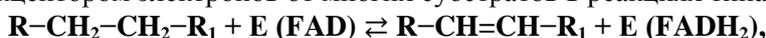


Рис. 4. Структурные формулы рабочей части коферментов FAD и FMN

FAD служит акцептором электронов от многих субстратов в реакциях типа:



где E – белковая часть фермента.

В ходе реакции FAD и FMN присоединяют 2 электрона и, в отличие от NAD<sup>+</sup>, оба теряемых субстратом протона. В FAD-зависимых дегидрогеназах FAD ковалентно связан с апоферментом, поэтому в реакциях, катализируемых FAD-зависимыми дегидрогеназами, участвует второй субстрат (акцептор водорода) (рис. 5). Для всех флавиновых ферментов этим субстратом служит убихинон (коэнзим Q).

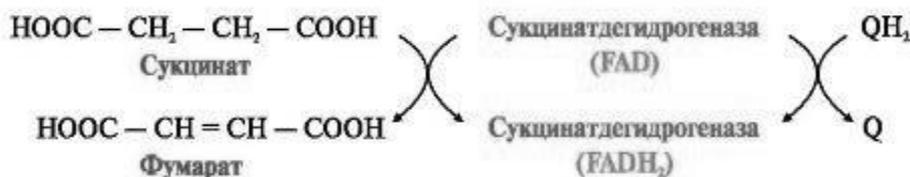
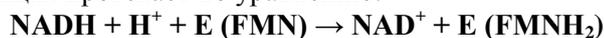


Рис. 5. Дегидрирование сукцината

Перенос электронов от NADH к кислороду включает ряд переносчиков, которые локализованы во внутренней мембране митохондрий. За исключением убихинона и цитохрома С, это сложные белковые комплексы.

NADH-дегидрогеназа (NADH-Q-редуктаза, комплекс I) состоит из нескольких полипептидных цепей. Роль простетической группы играет FMN. Единственный субстрат фермента – NADH, с которого 2 электрона и протон переносятся на FMN с образованием FMNH<sub>2</sub>. Второй протон поглощается из матрикса. Реакция протекает по уравнению:



С FMNH<sub>2</sub> электроны переносятся затем на ряд железо-серных белков (FeS), играющих роль второй простетической группы в молекуле NADH-дегидрогеназы. Атомы железа в этих белках (негемовое железо) собраны в несколько групп, так называемых железо-серных центров.

FeS-центры входят в состав многих белков (флавопротеинов, цитохромов), участвующих в окислительно-восстановительных реакциях. Известны 3 типа FeS-центров (FeS, Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>), в которых атом железа связан с атомом серы остатков цистеина или неорганической серы.

NADH-дегидрогеназа содержит несколько центров типа Fe<sub>2</sub>S<sub>2</sub> и Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub>. Атомы железа в таких центрах могут принимать и отдавать электроны поочередно, переходя в ферро- (Fe<sup>2+</sup>) и ферри- (Fe<sup>3+</sup>) состояния. От железо-серных центров электроны переносятся на кофермент Q (убихинон) (рис. 6).





Рис. 7. Структура гема цитохромов *b*, *c*, *c*<sub>1</sub>

Эти связи образуются путём присоединения 2 цистеиновых остатков к винильным группам гема.

*Цитохром с* – периферический водорастворимый мембранный белок с молекулярной массой 12500 Д, имеющий одну полипептидную цепь из 100 аминокислотных остатков, и молекулу гема, ковалентно связанную с полипептидом.

Цитохромоксидаза (комплекс IV) состоит из 2 *цитохромов* типа *a* и *a*<sub>3</sub> каждый из которых имеет центр связывания с кислородом. *Цитохромы a* и *a*<sub>3</sub> имеют характерную железопорфириновую простетическую группу, называемую гемом А и отличающуюся от гема *цитохромов c* и *c*<sub>1</sub> (рис. 8).

Он содержит формильную группу вместо одной из металльных групп и углеводородную цепь вместо одной из винильных групп.

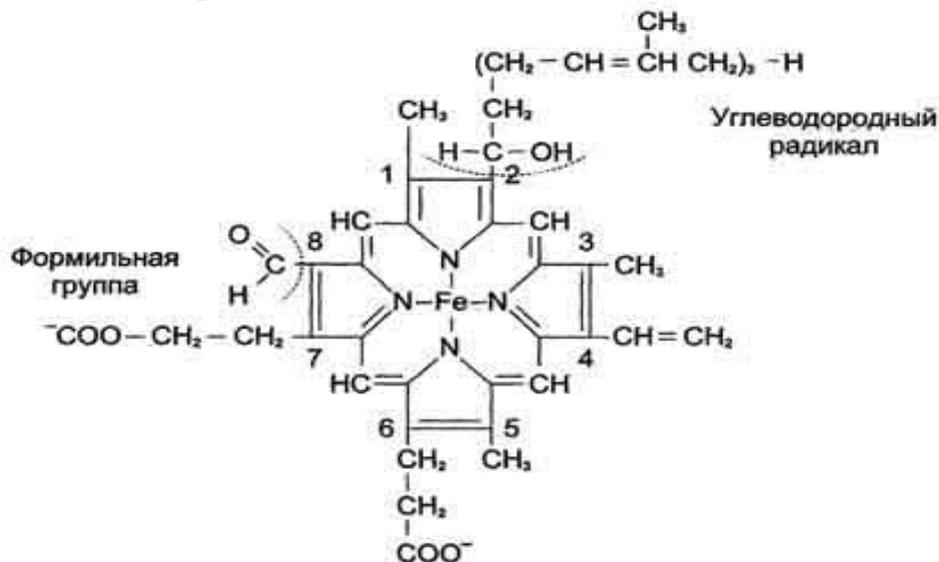
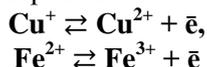


Рис. 8. Строение гема А

Другая особенность комплекса *a*-*a*<sub>3</sub> – наличие в нём ионов меди, связанных с белковой частью в так называемых CuA-центрах. Перенос электронов комплексом *a*-*a*<sub>3</sub> включает реакции:



Комплекс *цитохромов a*-*a*<sub>3</sub> непосредственно реагирует с молекулярным кислородом. Перенос электронов на кислород происходит при участии системы переносчиков, локализованных во внутренней мембране митохондрий и образующих цепь переноса электронов (ЦПЭ) (рис. 8).

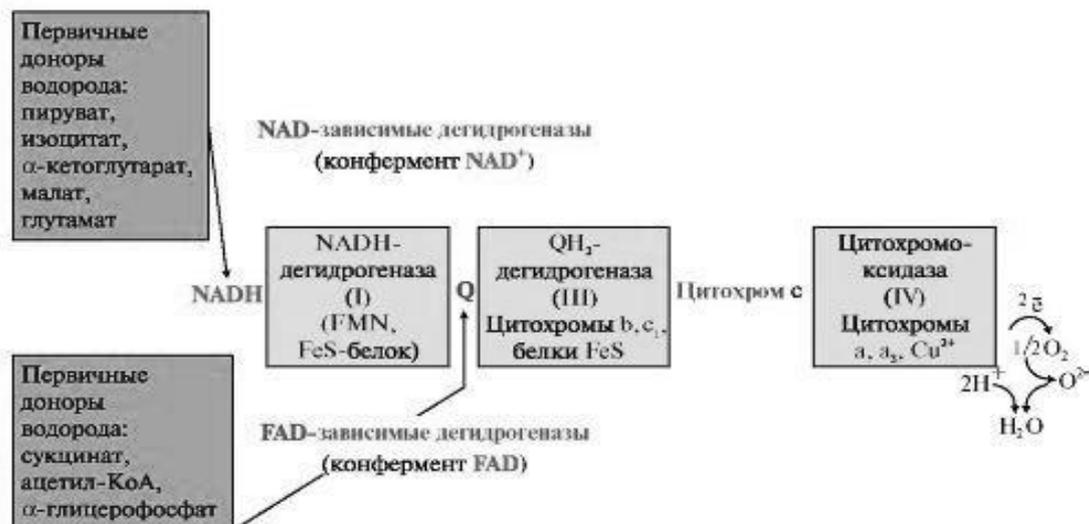


Рис. 8. Пути поступления электронов и протонов в ЦПЭ от первичных доноров

Высокомолекулярные комплексы, расположенные во внутренней мембране митохондрий: NADH-дегидрогеназа (комплекс I),  $\text{QH}_2$ -дегидрогеназа (комплекс III), цитохромоксидаза (комплекс IV). NAD-зависимые дегидрогеназы локализованы в матриксе митохондрий. Большинство FAD-зависимых дегидрогеназ также находится в матриксе; сукцинатдегидрогеназа (комплекс II), в отличие от других FAD-зависимых дегидрогеназ, является компонентом внутренней мембраны митохондрий, но на рисунке не представлена

В состав ЦПЭ входят: NADH-дегидрогеназа (комплекс I), сукцинатдегидрогеназа (комплекс II),  $\text{QH}_2$ -дегидрогеназа (комплекс III), цитохромоксидаза (комплекс IV), а также низкомолекулярные переносчики (кофермент Q и *цитохром с*).

Все компоненты ЦПЭ расположены в митохондриальной мембране в порядке возрастания редокс-потенциалов, самый высокий редокс-потенциал у кислорода. Это обеспечивает последовательное перемещение электронов от дегидрируемых субстратов на кислород, сопровождающееся освобождением части свободной энергии электронов. Около 40% этой энергии трансформируется в энергию химических связей в процессе окислительного фосфорилирования.

На этапах ЦПЭ, где перенос электронов сопровождается большим снижением свободной энергии, создаются условия для синтеза АТФ.

Сопряжение тканевого дыхания и синтеза АТФ происходит в несколько этапов:

1. Перенос электронов по ЦПЭ при участии комплексов I, III и IV сопровождается выделением наибольшего количества энергии. Часть этой энергии используется для переноса  $\text{H}^+$  из матрикса в межмембранное пространство, в результате чего возрастает **протонный электрохимический потенциал  $\Delta\mu\text{H}^+$** , основной составляющей которого является протонный градиент (рис. 9).

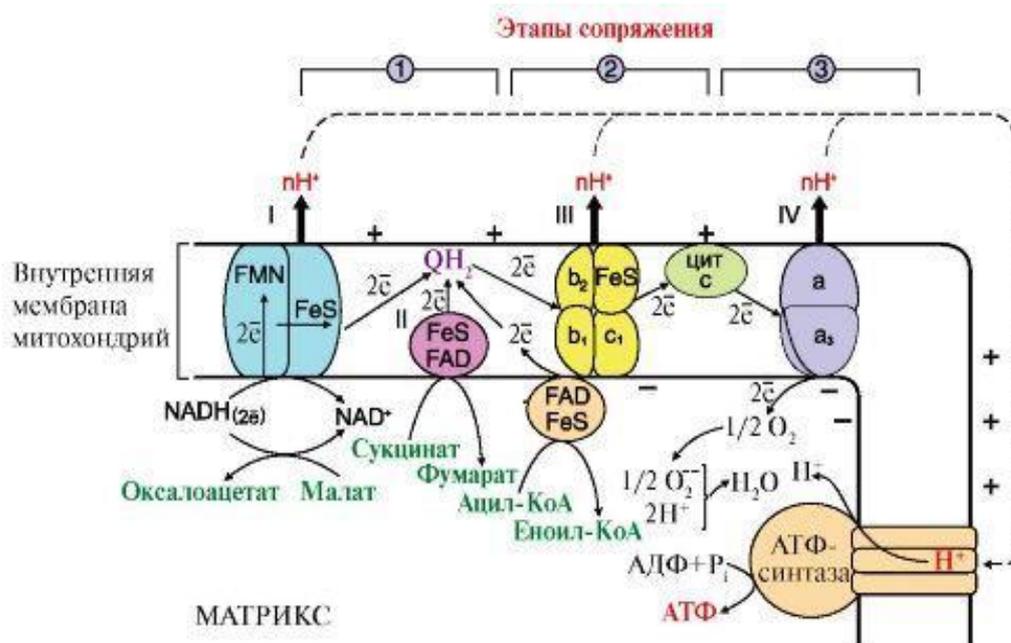


Рис. 9. Сопряжение дыхания и синтеза АТФ в митохондриях:  
 I-NADH – дегидрогеназа; III – QH<sub>2</sub>-дегидрогеназа; IV – цитохромоксидаза,  
 V – АТФ-синтаза.

Энергия протонного электрохимического потенциала используется для синтеза АТФ, если протоны возвращаются в матрикс через ионные каналы АТФ-синтазы

2. При достижении определенного **протонного градиента** происходит активация **АТФ-синтазы** (комплекс V), в ней открывается канал, через который протоны возвращаются в матрикс из межмембранного пространства, а энергия  $\Delta\mu\text{H}^+$  используется для синтеза АТФ.

3. Каждый из трех комплексов ЦПЭ (I, III, IV) обеспечивает необходимый протонный градиент для активации АТФ-синтазы и синтеза одной молекулы АТФ. Количество молекул АТФ, образованных при восстановлении одного атома кислорода до H<sub>2</sub>O при прохождении двух электронов по ЦПЭ, эквивалентно количеству использованного фосфата H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (P) и выражается **коэффициентом окислительного фосфорилирования (P/O)**. Если водород поступает в ЦПЭ от кофермента NADH, то P/O имеет **максимальное** значение, равное 3. Если водород поступает от FAD-зависимых дегидрогеназ, то P/O равен 2 (реальные значения P/O несколько ниже, так как часть энергии электрохимического потенциала рассеивается в форме теплоты). При участии АТФ-ADP транслоказы, расположенной во внутренней мембране митохондрий, АТФ транспортируется в цитоплазму в обмен на ADP. В цитоплазме АТФ используется как источник энергии в различных процессах.

Таким образом, **трансформация энергии** в организме проходит следующим образом:



На всех этапах этого процесса часть энергии рассеивается в виде теплоты.

**Ускорение тканевого дыхания и окислительного фосфорилирования при повышении концентрации ADP называется дыхательным контролем.**

Перенос электронов по ЦПЭ и синтез АТФ тесно сопряжены, т.е. могут происходить только одновременно и синхронно. При увеличении расхода АТФ в клетке увеличивается количество АДФ и его поступление в митохондрии.

Повышение концентрации АДФ (субстрата АТФ-синтазы) увеличивает скорость синтеза АТФ. При этом снижается протонный градиент, что стимулирует окисление первичных доноров и увеличивает скорость переноса электронов по ЦПЭ. Перенос электронов сопровождается увеличением поглощения кислорода, транспорта протонов из матрикса в межмембранное пространство и повышением протонного градиента, необходимого для активации АТФ-синтазы.

Таким образом, скорость синтеза АТФ точно соответствует потребности клетки в энергии. В реакциях ЦПЭ часть энергии не превращается в энергию макроэргических связей АТФ, а рассеивается в виде теплоты. При переносе электронов по ЦПЭ **часть энергии рассеивается в виде теплоты**, которая используется теплокровными животными для поддержания температуры тела. **При использовании АТФ** для совершения работы значительная часть энергии также превращается в теплоту.

При снижении температуры тела включается **механизм дрожания** (несогласованного сокращения отдельных групп мышц). При этом за счет АТФ-азной активности актомиозина происходит гидролиз АТФ до АДФ и  $H_3PO_4$ , что стимулирует тканевое дыхание. Полезной работы при этом не происходит, большая часть энергии переходит в теплоту и температура тела повышается.

Кроме того, дополнительное образование теплоты может происходить **путем разобщения дыхания и фосфорилирования** в процессе адаптации к холоду. При охлаждении в жировой ткани из симпатических нервных окончаний освобождается норадреналин, который активирует ТАГ-липазу. При активации липазы в клетках повышается концентрация свободных жирных кислот, которые способны разобщать тканевое дыхание и окислительное фосфорилирование, участвуя в транспорте протонов через митохондриальную мембрану (рис. 10).

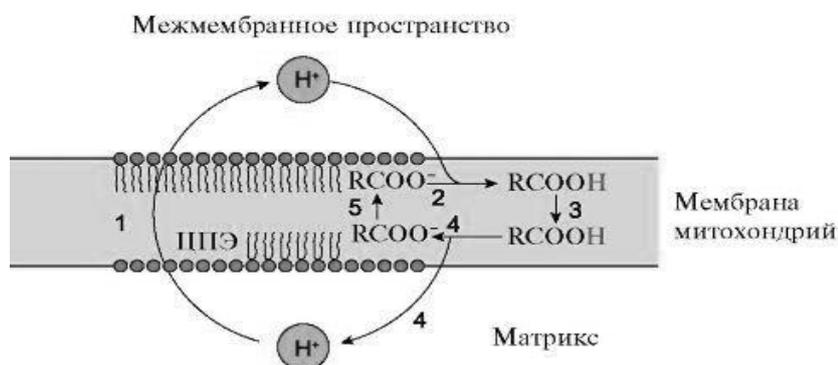


Рис. 10. Перенос ионов водорода через внутреннюю мембрану митохондрий при участии жирных кислот:

- 1 – транспорт  $H^+$  при участии ЦПЭ;
- 2 – протонирование аниона жирной кислоты;
- 3 – диффузия протонированной жирной кислоты ( $R-COOH$ ) к внутренней поверхности мембраны митохондрий;
- 4 – диссоциация  $R-COOH$  в мембране и выход протона в матрикс;
- 5 – перенос  $R-COO^-$  – при участии АДФ/АТФ транслоказы к наружной поверхности митохондриальной мембраны.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. В чем выражается характеристика изменения свободной энергии окислительно-восстановительного процесса?
2. Выразите взаимосвязь энергии Гиббса и окислительно-восстановительного потенциала системы.
3. Что такое биологическое окисление? Какие виды окисления существуют?
4. Что такое тканевое дыхание?
5. В чем заключается механизм передачи водорода и электронов в окислительно-восстановительной цепи?
6. Каким образом коферменты НАД, НАДФ, ФАД, ФМН участвуют в передаче электронов и водорода?
7. Как работает цитохромная система?

8. Опишите этапы сопряжения дыхания и синтеза АТФ.
9. Что такое дыхательный контроль?

**Задачи для самостоятельной работы:**

1. Дайте характеристику оксиредуктаз, обеспечивающих дегидрирование субстратов и передачу атомов водорода непосредственно на кислород. Напишите полное уравнение реакции превращения гликолевой кислоты в глиоксилую, показав участие фермента.
2. Напишите полные уравнения реакций окисления изолимонной кислоты до  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты. Покажите участие первичной и вторичной дегидрогеназ в этом процессе и подсчитайте количество синтезированных молекул АТФ.
3. Осуществите превращение  $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты в янтарную кислоту. Покажите участие первичной и вторичной дегидрогеназ и цитохромной системы в этих реакциях. Подсчитайте количество синтезированных молекул АТФ.
4. Покажите отличие окисления на уровне янтарной кислоты от окисления на уровне яблочной кислоты в цикле три- и дикарбоновых кислот. Напишите полные уравнения этих реакций с участием дегидрогеназ.
5. Дайте характеристику окислительного фосфорилирования на примере окислительного декарбоксилирования пировиноградной кислоты. Чем отличается окислительное фосфорилирование от фотосинтетического фосфорилирования?
6. Покажите отличие фотосинтетического фосфорилирования и фосфорилирования на уровне субстрата. Приведите примеры. Напишите уравнения реакций названных процессов.
7. Опишите локализацию окислительного фосфорилирования в клетке, строение и функции субклеточных частиц.
8. Сопоставьте энергетический баланс деструкции углеводов при гликолизе и брожении. Сделайте соответствующие расчеты.
9. Объясните энергетический эффект процесса дыхания при дихотомическом распаде углеводов. Производите расчеты.
10. Рассчитайте количество синтезированных молекул АТФ при деструктивном распаде пальмитил-S-КоА.
11. Рассчитайте энергетический эффект при полной деструкции триолеина.
12. Рассчитайте энергетический эффект при полной деструкции дипальмитололеина.
13. Рассчитайте энергетический эффект реакций окисления холина в бетаин, учитывая в этом процессе системы дыхательных ферментов. Напишите полные уравнения этих реакций.
14. Производите расчет энергетического расхода в процессе биосинтеза трех молекул пальмитиновой кислоты, учитывая участие соответствующих дегидрогеназ в этом процессе.
15. Производите расчет расхода энергии АТФ в процессе фотосинтеза глюкозы. Расчет подтвердите написанием соответствующих уравнений реакций.

#### 1.4. Структурная организация клетки

**Клетка — элементарная единица строения и жизнедеятельности всех организмов (кроме вирусов), обладающая собственным обменом веществ, способная к самостоятельному существованию, самовоспроизведению и развитию.**

Все живые организмы либо состоят из множества клеток (многоклеточные животные, растения и грибы), либо являются одноклеточными организмами (многие простейшие и бактерии) (рис. 11).



Клетки крови человека



Одноклеточная водоросль



Инфузория рода *Micrasterias radiata*

Рис. 11. Клетки разных организмов

Клеточная теория является неопровержимым доказательством единства всех живых организмов. **Основные положения клеточной теории:**

1. Клетка – элементарная единица строения, функционирования, размножения и развития всех живых организмов, вне клетки нет жизни.
2. Клетка – целостная система, содержащая большое количество связанных друг с другом органелл.
3. Клетки различных организмов похожи по строению, основным свойствам и имеют общее происхождение.
4. Увеличение количества клеток происходит путем их деления, после репликации их ДНК.
5. Многоклеточный организм — это сложный ансамбль из большого количества клеток, объединенных и интегрированных в системы тканей и органов, связанных между собой с помощью химических факторов: гуморальных и нервных.
6. Клетки многоклеточных организмов обладают одинаковым полным фондом генетического материала этого организма, всеми возможными потенциями для проявления этого материала, но отличаются по уровню экспрессии отдельных генов, что приводит к их морфологическому и функциональному разнообразию.

Все клеточные формы жизни на Земле на основании строения составляющих их клеток можно разделить на прокариоты (доядерные) и эукариоты (ядерные). Несмотря на многообразие форм, организация клеток всех живых организмов подчинена единым структурным принципам.

Содержимое клетки отделено от окружающей среды плазматической мембраной, или плазмалеммой. Внутри клетка заполнена цитоплазмой, в которой расположены различные органеллы и клеточные включения, а также генетический материал в виде молекулы ДНК (рис. 12).

Каждый из органеллов клетки выполняет свою особую функцию, а в совокупности все они определяют жизнедеятельность клетки в целом. Поверхностный комплекс животной клетки состоит из гликокаликса, плазмалеммы и расположенного под ней кортикального слоя цитоплазмы.

**Гликокаликс** представляет собой «заякоренные» в плазмалемме молекулы олигосахаридов, полисахаридов, гликопротеинов и гликолипидов. Он выполняет рецепторную и маркерную функции.

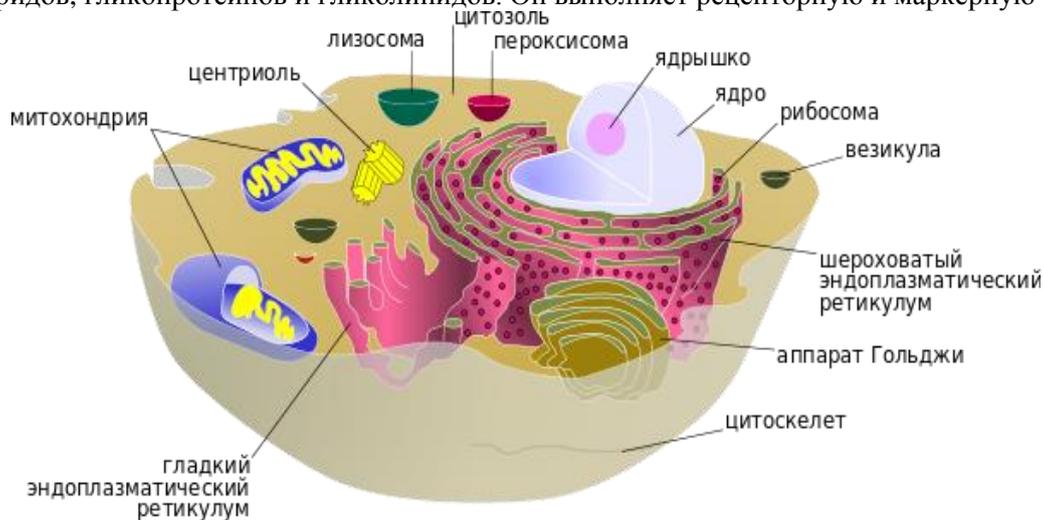


Рис. 12. Структура эукариотической клетки

**Плазматическая мембрана** (плазмалемма, наружная клеточная мембрана) обеспечивает разграничительную функцию клетки к внешней среде и транспортную. На сохранение целостности своей мембраны клетка не тратит энергии.

**В кортикальном слое** (прилегающем к плазматической мембране) цитоплазмы находятся специфические элементы цитоскелета — упорядоченные определенным образом актиновые микрофиламенты. Основной и самой важной функцией кортикального слоя являются псевдоподиальные реакции: выбрасывание, прикрепление и сокращение псевдоподий. От структуры цитоскелета кортикального слоя зависит также форма клетки (например, наличие микроворсинок).

Жидкую составляющую цитоплазмы также называют **цитозолем**. Внутреннее пространство эукариотической клетки строго упорядочено. Передвижение органеллов координируется при помощи специализированных транспортных систем, так называемых микротрубочек, служащих внутриклеточными «дорогами», и специальных белков динеинов и кинезинов, играющих роль

«двигателей». Отдельные белковые молекулы также направляются в необходимые компартменты при помощи специальных сигналов на их поверхности, узнаваемых транспортными системами клетки.

**Эндоплазматический ретикулум** (ЭПР или ЭПС) это система, переходящих друг в друга мембранных отсеков (трубок и цистерн). Ту часть ЭПР, к мембранам которого прикреплены рибосомы, относят к **гранулярному (шероховатому)** эндоплазматическому ретикулуму, на его мембранах происходит синтез белков. Те компартменты, на стенках которых нет рибосом, относят к **агранулярному (гладкому)** ЭПР, принимающему участие в синтезе липидов. Внутренние пространства гладкого и гранулярного ЭПР не изолированы, а переходят друг в друга и сообщаются с просветом ядерной оболочки.

**Аппарат (комплекс) Гольджи** — органелла, предназначенная для выведения веществ, синтезированных в эндоплазматическом ретикулуме (рис. 13). Представляет собой стопку плоских мембранных цистерн. Выделяют три отдела цистерн, которые различаются между собой набором ферментов.

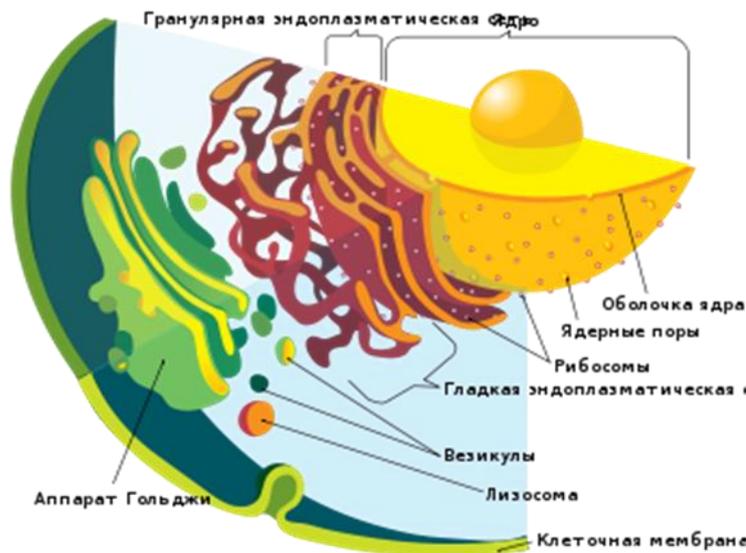


Рис. 13. Аппарат Гольджи

В цис-отделе первую цистерну называют "цистерной спасения", т.к. с её помощью рецепторы, поступающие из промежуточной эндоплазматической сети, возвращаются обратно. Фермент цис-отдела: фосфогликозидаза (присоединяет фосфат к углеводу – маннозе). В медиальном отделе находится 2 фермента: манназидаза (отщепляет манназу) и N-ацетилглюкозаминтрансфераза (присоединяет определенные углеводы – гликозамины). В транс-отделе ферменты: пептидаза (осуществляет протеолиз) и трансфераза (осуществляет перенос химических групп).

Главная функция аппарата Гольджи — сортировка проходящих через него белков. В нем происходит формирование «трехнаправленного белкового потока»: созревание и транспорт белков плазматической мембраны; созревание и транспорт секретов; созревание и транспорт ферментов лизосом.

**Клеточное ядро** важнейшая органелла клетки, выполняет функции хранения и воспроизводства генетической информации, также регуляции обмена веществ, содержит молекулы ДНК, на которых записана генетическая информация организма (рис. 14).

В ядре происходит репликация — удвоение молекул ДНК, а также транскрипция — синтез молекул РНК на матрице ДНК. В ядре же синтезированные молекулы РНК претерпевают некоторые модификации в процессе сплайсинга, после чего выходят в цитоплазму. Сборка рибосом также происходит в ядре, в специальных образованиях, называемых ядрышками.

**Ядрышко** — это место сборки рибосом из рибосомных белков и рибосомных ДНК, синтезируемых в цитоплазме (может быть одно или несколько).

**Лизосомы** представляют небольшие тельца, ограниченные от цитоплазмы одинарной мембраной, в которых находятся литические ферменты, способные расщепить все биополимеры. Основная их функция — аутолиз, то есть расщепление отдельных органоидов и участков цитоплазмы клетки.

К элементам **цитоскелета** относят: микротрубочки, актиновые и промежуточные филаменты. Микротрубочки участвуют в транспорте органелл, строится митотическое веретено деления. Актиновые филаменты необходимы для поддержания формы клетки, псевдоподиальных реакций.

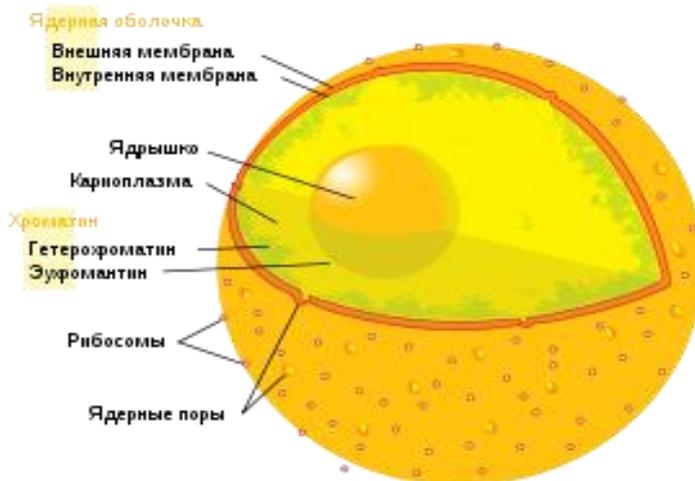


Рис. 14. Строение ядра

**Митохондрии** это особые органеллы клетки, основной функцией которых является синтез АТФ (рис. 15).

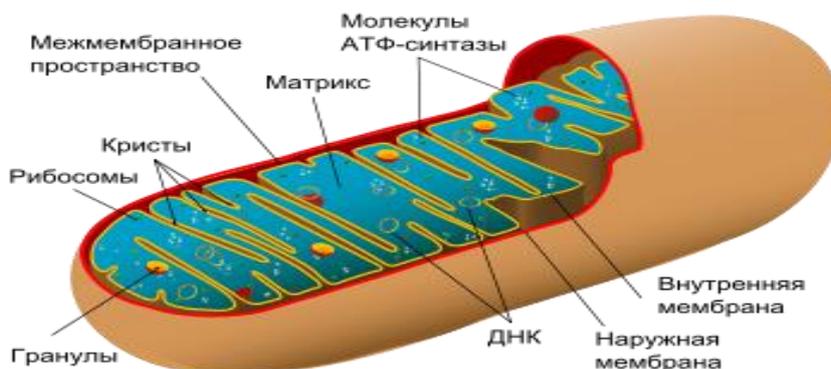


Рис. 15. Строение митохондрии

Внутренний просвет митохондрий, называемый матриксом, ограничен от цитоплазмы наружной и внутренней мембранами. В межмембранном пространстве находятся аденилаткиназа и креатинкиназа.

Наружная мембрана, проницаема для большинства метаболитов, характеризуется наличием моноаминоксидазы, ацил-КоА-синтетазы, глицерофосфат-ацилтрансферазы, моноацилглицерофосфат-ацилтрансферазы, фосфолипазы и др. ферментов.

Внутренняя мембрана образует складки, так называемые кристы. В ней локализован фосфолипид кардиолипид. Сукцинатдегидрогеназа локализована на внутренней поверхности внутренней митохондриальной мембраны, где она передает восстановительные эквиваленты дыхательной цепи на уровне убихинона (минуя первую окислительно-восстановительную петлю).

В матриксе содержатся ферменты, принимающие участие в дыхании и синтезе АТФ, ферменты цикла лимонной кислоты и ферменты  $\beta$ -окисления жирных кислот, в связи с этим возникает необходимость в механизмах транспорта метаболитов и нуклеотидов через внутреннюю мембрану.

**Центриоли** представляют собой цилиндрические белковые структуры, образованные девятью наборами микротрубочек. Перед делением клетка содержит две центриоли, расположенные под прямым углом друг к другу. В ходе митоза они расходятся к разным концам клетки, формируя полюса веретена деления. После цитокинеза каждая дочерняя клетка получает по одной центриоли, которая удваивается к следующему делению.

**Клеточная мембрана** (цитолемма, плазмолемма, плазматическая мембрана) отделяет содержимое любой клетки от внешней среды, обеспечивая её целостность; регулирует обмен между клеткой и средой (рис. 16). Внутриклеточные мембраны разделяют клетку на специализированные замкнутые отсеки — компартменты или органеллы, в которых поддерживаются определённые условия среды.

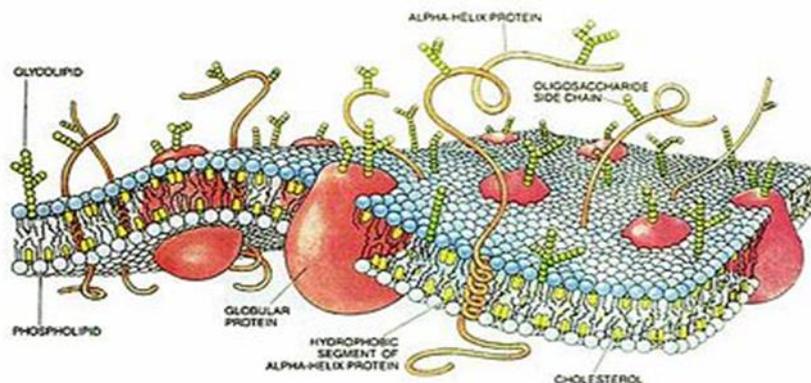


Рис. 16. Клеточная мембрана: маленькие голубые и белые шарики соответствуют гидрофильным «головкам» фосфолипидов, а присоединенные к ним линии – гидрофобным «хвостам». Красные глобулы и желтые спирали – интегральные мембранные белки. Желтые овальные точки внутри мембраны – молекулы холестерина. Желто-зеленые цепочки бусинок на наружной стороне мембраны – цепочки олигосахаридов, формирующие гликокаликс.

Клеточная мембрана представляет собой двойной слой (бислой) молекул липидов трёх классов: фосфолипидов, гликолипидов и холестерол. Фосфолипиды и гликолипиды состоят из двух длинных гидрофобных углеводородных «хвостов», которые связаны с заряженной гидрофильной «головкой».

Фосфолипиды служат главными компонентами биологических мембран. Их общим отличительным признаком является наличие остатка фосфорной кислоты, поэтому они в нейтральной области рН несут отрицательный заряд.

Наиболее простая форма фосфолипидов – фосфатидовые кислоты. Фосфатидовая кислота служит исходным веществом для синтеза других фосфолипидов. Остаток фосфорной кислоты может образовывать сложноэфирную связь с гидроксильными группами аминок спиртов (холин, этаноламин или серин) или полиспиртов (миоинозит). Например, фосфатидилхолин (лецитин) является широко распространенным фосфолипидом клеточных мембран. В фосфатидилэтаноламине (кефалине) вместо остатка холина содержится этаноламин, в фосфатидилсерине — остаток серина, в фосфатидилинозите — остаток циклического многоатомного спирта миоинозита.

Другой тип фосфолипидов – сфинголипиды присутствуют в мембранах клеток нервной ткани и мозге. По строению эти соединения отличаются от обычных фосфолипидов. Функции глицерина в них выполняет аминок спирт с длинной алифатической цепью — сфингозин. Производные сфингозина, ацилированного по аминок группе остатками жирных кислот, называются церамидами.

Гликолипиды содержатся во всех тканях, главным образом в наружном липидном слое плазматических мембран. Они построены из сфингозина, остатка жирной кислоты и олигосахаридов, при этом в них отсутствует фосфатная группа. К наиболее простым представителям этой группы веществ относятся галактозилцерамид и глюкозилцерамид (так называемые цереброзиды). Ганглиозиды — представители наиболее сложно построенных гликолипидов, они определяют группу крови у людей.

Холестерол придаёт мембране жёсткость, занимая свободное пространство между гидрофобными хвостами липидов и не позволяя им изгибаться. Мембраны с малым содержанием холестерола более гибкие, с большим — более жёсткие и хрупкие.

Основными функциями клеточных мембран являются:

**Барьерная** — обеспечивает регулируемый, избирательный, пассивный и активный обмен веществ с окружающей средой. Избирательная проницаемость означает, что проницаемость мембраны для различных атомов или молекул зависит от их размеров, электрического заряда и химических свойств.

**Транспортная** — через мембрану происходит транспорт веществ в клетку и из клетки, удаление конечных продуктов обмена, секреция различных веществ, создание ионных градиентов, поддержание в клетке оптимального рН и концентрации ионов. Частицы, по какой-либо причине

неспособные пересечь фосфолипидный бислой, но необходимые для клетки, могут проникнуть сквозь мембрану через специальные белки-переносчики (транспортёры) и белки-каналы или путем эндоцитоза. При пассивном транспорте вещества пересекают липидный бислой без затрат энергии по градиенту концентрации путем облегчённой диффузии. Активный транспорт требует затрат энергии, так как происходит против градиента концентрации.

**Матричная** — обеспечивает определенное взаиморасположение и ориентацию мембранных белков, их оптимальное взаимодействие.

**Механическая** — обеспечивает автономность клетки, ее внутриклеточных структур, также соединение с другими клетками (в тканях). Большую роль в обеспечении механической функции имеют клеточные стенки, а у животных — межклеточное вещество.

**Энергетическая** — при фотосинтезе в хлоропластах и клеточном дыхании в митохондриях в их мембранах действуют системы переноса энергии, в которых также участвуют белки.

**Рецепторная** — некоторые белки, находящиеся в мембране, являются рецепторами. Например, гормоны, циркулирующие в крови, действуют только на такие клетки-мишени, у которых есть соответствующие этим гормонам рецепторы. Нейромедиаторы тоже связываются с особыми рецепторными белками клеток-мишеней.

**Ферментативная** — мембранные белки нередко являются ферментами. Например, плазматические мембраны эпителиальных клеток кишечника содержат пищеварительные ферменты.

**Маркировка клетки** — на мембране есть антигены, действующие как маркеры, позволяющие опознать клетку. Это гликопротеины играющие роль «антенн». С помощью них клетки могут распознавать другие клетки и действовать согласованно с ними, например, при формировании органов и тканей. Это же позволяет иммунной системе распознавать чужеродные антигены.

**Осуществление генерации и проведение биопотенциалов.** С помощью мембраны в клетке поддерживается постоянная концентрация ионов  $K^+$  и  $Na^+$ , что очень важно, так как это обеспечивает поддержание разности потенциалов на мембране и генерацию нервного импульса.

Простейшей формой транспорта через мембраны является свободная диффузия (облегченная диффузия). Она облегчается определенными мембранными белками, которые можно подразделить на две группы:

1) каналные белки образуют в мембранах заполненные водой поры, проницаемые для определенных ионов. Например, имеются специфические ионные каналы для ионов  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$  и  $Cl^-$ ;

2) транспортные белки избирательно связывают молекулу субстрата и за счет конформационных изменений переносят их через мембраны.

Свободная диффузия и транспортные процессы, обеспечиваемые ионными каналами и переносчиками, осуществляются по градиенту концентрации или градиенту электрического заряда (электрохимический градиент). **Такие механизмы транспорта носят название пассивный транспорт.**

Термином **унипорт** обозначают перенос любых растворенных веществ или ионов с одной стороны мембраны на другую с участием специализированных транспортных белков (рис. 17).

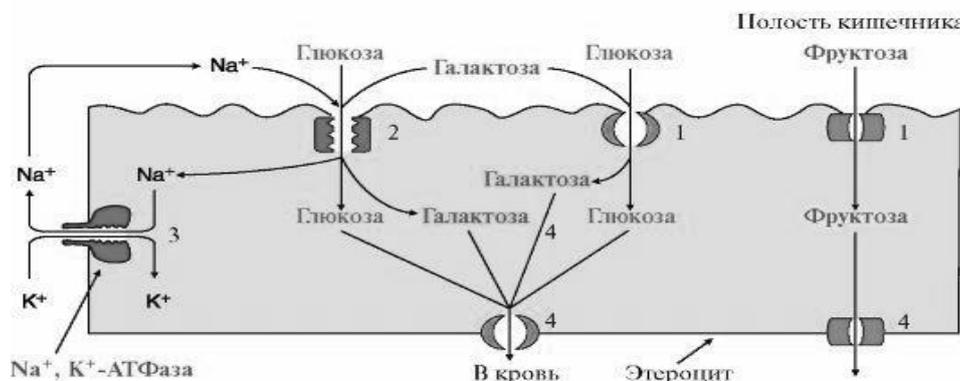


Рис. 17. Пассивный и активный транспорт

В противоположность пассивному транспорту активный транспорт идет против градиента концентрации или заряда, поэтому требует притока дополнительной энергии, которая обычно обеспечивается за счет гидролиза АТФ.

Примером активного транспорта является так называемый  $Na^+/K^+$ -насос, который обеспечивает активный транспорт ионов  $K^+$  и  $Na^+$  через клеточные мембраны с использованием энергии гидролиза

АТФ, поддерживая тем самым постоянство электролитного состава внутри и вне клетки. Дело в том, что концентрация ионов  $K^+$  внутри клетки примерно в 35 раз выше, чем вне ее, а концентрация ионов  $Na^+$  во внеклеточной жидкости в 15 раз больше, чем внутри клетки.

Составной частью  $Na^+/K^+$  – насоса является  $Na^+/K^+$  – АТФазы – фермент гидролизующий АТФ в присутствии ионов  $Na^+$  и  $K^+$  до АДФ и  $P_i$ .

$Na^+/K^+$  – насос расположен в мембране клетки и представляет собой сложный белок, состоящий из четырех субъединиц. Он имеет две энергетически выгодные конформации. Одна из конформаций ( $E^1$ ) характеризуется наличием полости, обращенной внутрь клетки и обладающей высоким стереохимическим сродством к ионам  $Na^+$ , а другая конформация ( $E^2$ ) имеет полость вне клетки и обладает сродством к ионам  $K^+$ .

Связывание ионов  $Na^+$  на внутренней поверхности мембраны с натриевым участком фермента запускает процесс гидролиза АТФ и фосфорилирования фермента, что, в свою очередь, приводит к изменению конформации с  $E^1$  на  $E^2$ , в результате чего три иона  $Na^+$  перебрасываются наружу.

Вне клетки связывание ионов  $K^+$  с калиевым участком запускает процесс дефосфорилирования белка, приводящий к изменению конформации с  $E^2$  на  $E^1$  и перебросу двух ионов  $K^+$  внутрь клетки.

Таким образом, при гидролизе одной молекулы АТФ выделяется энергия, достаточная для транспорта трех ионов  $Na^+$  из клетки и двух ионов  $K^+$  внутрь клетки. Трансмембранный градиент  $Na^+$ , создаваемый  $Na^+/K^+$  – АТФ-азой, является формой запасания энергией. Если ионы  $Na^+$  снова возвращаются в клетку, то они могут это сделать вместе с другими молекулами. Такой совместный перенос называется **симпортом**.

Если же вход ионов натрия в клетку сопряжен с выкачиванием, например, ионов кальция, то такой противоток называется **антипортом**. В этом случае ионы кальция транспортируются против собственного концентрационного градиента за счет энергии натриевого градиента, который, в свою очередь, возникает благодаря гидролизу АТФ.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Что такое клетка? Сформулируйте основные положения клеточной теории.
2. Чем отличаются прокариоты и эукариоты?
3. Из каких оргanelл состоит клетка? Укажите их биологические функции.
4. Какую роль выполняют митохондрии? Как она построена? Какие ферменты в ней локализованы?
5. Какую роль выполняет клеточная мембрана? Опишите особенности структурной организации клеточных мембран. Из каких биомолекул состоят мембраны клеток?
6. Назовите фосфолипиды – производные фосфатидной кислоты, и группы, которыми они отличаются.
7. Чем цереброзид и ганглиозид отличаются от сфингомиелина?
8. В чем состоит функциональная роль цис-ненасыщенных жирнокислотных хвостов в фосфолипидах мембран?
9. Чем облегченная диффузия через мембраны отличается от свободной?
10. Сколько нужно затратить энергии для переноса одного моля вещества, если снаружи его концентрация в десять раз меньше, чем внутри клетки?
11. Какие виды транспорта биомолекул через клеточные мембраны вам известны? В чем их отличие?
12. К какому виду транспорта относится перенос ионов калия и натрия через мембрану клетки с помощью  $Na^+/K^+$  – насоса?

### **1.5. Химический состав клетки и организмов**

Каждая клетка содержит множество химических элементов, участвующих в различных химических реакциях. Химические процессы, протекающие в клетке — одно из основных условий её развития и функционирования. Одних элементов в клетке больше, других — меньше (табл. 3).

## Химический состав клетки

Соединения			
Неорганические		Органические	
Вода	70—80 %	Белки	10—20 %
Минеральные соли	1,0—1,5 %	Углеводы	0,2—2,0 %
		Жиры	1—5 %
		Нуклеиновые кислоты	1,0—2,0 %
		АТФ, соли и др. вещества	0,1—0,5 %

На атомном уровне различий между органическим и неорганическим миром живой природы нет. Живые организмы состоят из тех же атомов, что и тела неживой природы. Однако соотношение разных химических элементов в живых организмах и в земной коре сильно различается.

Условно все элементы клетки можно разделить на группы (рис. 18).

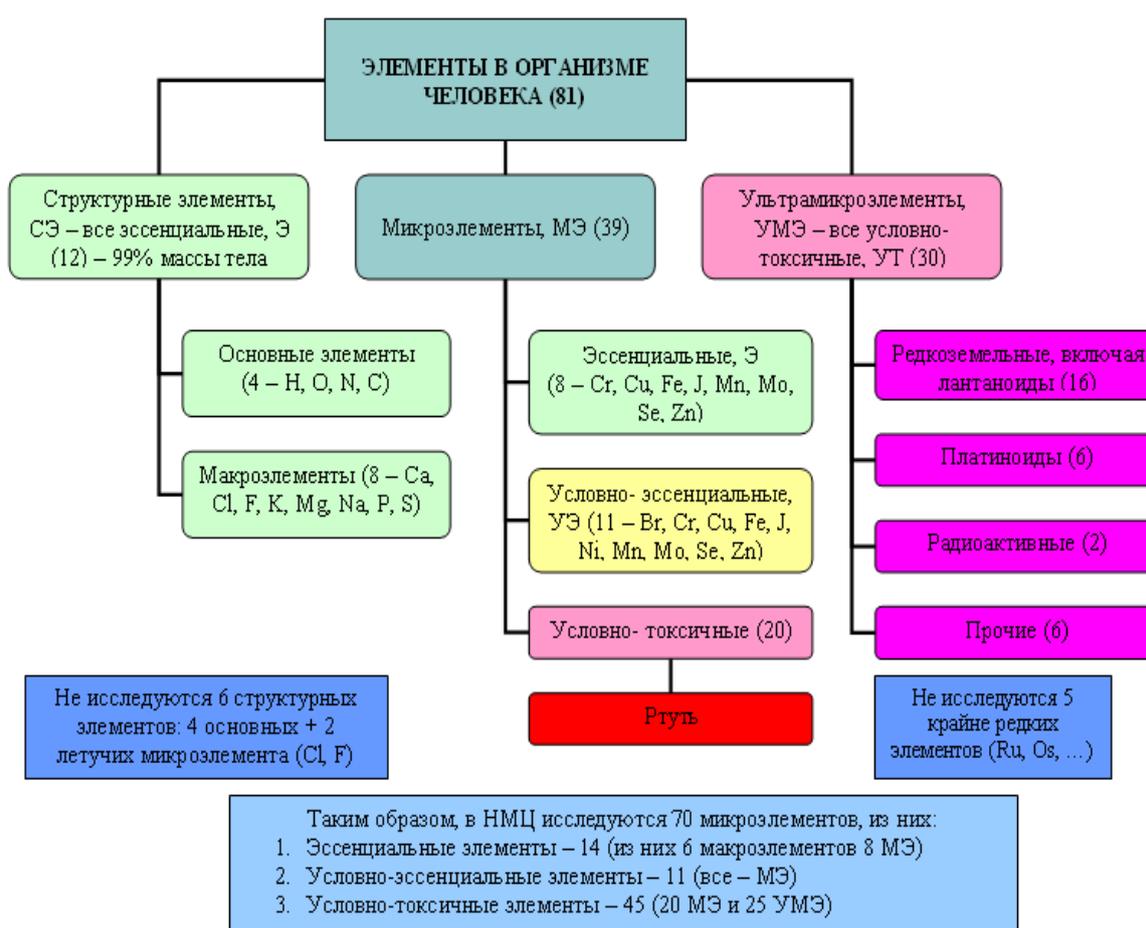


Рис. 18. Элементы в организме человека

**К макроэлементам** относят кислород (65—75 %), углерод (15—18 %), водород (8—10 %), азот (2,0—3,0 %), калий (0,15—0,4 %), сера (0,15—0,2 %), фосфор (0,2—1,0 %), хлор (0,05—0,1 %), магний (0,02—0,03 %), натрий (0,02—0,03 %), кальций (0,04—2,00 %). Такие элементы, как С, О, Н, N, S, P входят в состав органических соединений.

**Углерод** — входит в состав всех органических веществ; скелет из атомов углерода составляет их основу. Кроме того, в виде  $\text{CO}_2$  фиксируется в процессе фотосинтеза и выделяется в ходе дыхания, в виде СО (в низких концентрациях) участвует в регуляции клеточных функций, в виде  $\text{CaCO}_3$  входит в состав минеральных скелетов.

**Кислород** — входит в состав практически всех органических веществ клетки. Образуется в ходе фотосинтеза при фотолизе воды. Для аэробных организмов служит окислителем в ходе

клеточного дыхания, обеспечивая клетки энергией. В наибольших количествах в живых клетках содержится в составе воды.

**Водород** — входит в состав всех органических веществ клетки. В наибольших количествах содержится в составе воды. Некоторые бактерии окисляют молекулярный водород для получения энергии.

**Азот** — входит в состав белков, нуклеиновых кислот и их мономеров. Из организма животных выводится в составе аммиака, мочевины, мочевины, гуанина или мочевой кислоты как конечный продукт азотного обмена. В виде оксида азота (II) (в низких концентрациях) участвует в регуляции кровяного давления.

**Сера** — входит в состав серосодержащих аминокислот, содержится в большинстве белков. В небольших количествах присутствует в виде сульфат-иона в цитоплазме клеток и межклеточных жидкостях.

**Фосфор** — входит в состав АТФ, других нуклеиновых кислот, в состав костной ткани и зубной эмали (в виде минеральных солей), а также присутствует в цитоплазме и межклеточных жидкостях (в виде фосфат-ионов).

**Магний** — кофактор многих ферментов, участвующих в энергетическом обмене и синтезе ДНК; поддерживает целостность рибосом и митохондрий, входит в состав хлорофилла. В животных клетках он необходим для функционирования мышечных и костных систем.

**Кальций** — участвует в свёртывании крови, а также служит одним из универсальных вторичных посредников, регулируя важнейшие внутриклеточные процессы (поддержание мембранного потенциала, необходим для мышечного сокращения и экзоцитоза). Нерастворимые соли кальция участвуют в формировании костей и зубов позвоночных и минеральных скелетов беспозвоночных.

**Натрий** — участвует в поддержании мембранного потенциала, генерации нервного импульса, процессах осморегуляции (в том числе в работе почек у человека) и создании буферной системы крови.

**Калий** — участвует в поддержании мембранного потенциала, генерации нервного импульса, регуляции сокращения сердечной мышцы. Содержится в межклеточных веществах.

**Хлор** — поддерживает электронейтральность клетки.

**К микроэлементам**, составляющим от 0,001 % до 0,000001 % массы тела живых существ, относят ванадий, германий, йод (входит в состав тироксина, гормона щитовидной железы), кобальт (витамин В<sub>12</sub>), марганец, никель, рутений, селен (регуляторные процессы организма), фтор (зубная эмаль), медь (окислительные ферменты в синтезе цитохромов), хром, цинк (в составе ферментов, участвующих в спиртовом брожении и в составе инсулина).

**Ультрамикроэлементы** составляют менее 0,0000001 % в организмах живых существ, к ним относят золото, серебро, которые оказывают бактерицидное воздействие. Также к ультрамикроэлементам относят платину и цезий. Некоторые к этой группе относят и селен, при его недостатке развиваются раковые заболевания. Функции ультрамикроэлементов ещё малопонятны.

Многочисленные макро- и микроэлементы, образующие живую материю, присутствуют в виде разнообразных химических соединений. Примерно 70–78 % биомассы составляет вода. Она играет огромную роль в жизнедеятельности организмов и образует ту среду, в которой протекают физико-химические процессы, обеспечивающие постоянное возобновление живого вещества.

Вторым по количественному содержанию, первым и главным по значению классом соединений являются белки. Растительному миру свойственно отклонение от средней величины в сторону понижения, а животному — повышения. Микроорганизмы богаче белком (некоторые вирусы являются почти чистыми белками).

Остальные 50 % сухого вещества организмов составлены соединениями других классов. Это нуклеиновые кислоты (их содержание довольно стабильно), углеводы и липиды (их содержание в организмах сильно варьирует, причем в растительном мире преобладают углеводы, а в животном — липиды) и минеральные вещества.

Кроме белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и минеральных веществ в составе организмов найдены в незначительных количествах углеводороды, спирты, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, кетокислоты, аминокислоты, эфиры, амины и другие разнообразные соединения. У некоторых видов животных, растений и микроорганизмов такие вещества накапливаются в значительных количествах и могут служить систематическим признаком (например, аминокислоты).

Многие из них обладают мощным физиологическим действием и выполняют роль ускорителей или замедлителей жизненных процессов. Их иногда объединяют под названием биологически

активных соединений, хотя они химически очень разнообразны, это – витамины, гормоны, ростовые вещества, биостимуляторы, коэнзимы, антибиотики, фитонциды и др.

***Вопросы для самоконтроля:***

1. Приведите химический состав клетки.
2. Какие элементы входят в состав живых организмов? Дайте характеристику по качественному и количественному содержанию различных химических элементов в организме животных, растений и человека.
3. Дайте характеристику биологических функций основных макроэлементов.
4. Дайте характеристику биологических функций основных микроэлементов.
5. Дайте характеристику биологических функций основных ультрамикроэлементов.
6. По какому принципу классифицируют элементы на эссенциальные, условно-эссенциальные, условно-токсичные?
7. Какие химические соединения входят в состав живых организмов? Покажите примерное количественное содержание белков, нуклеиновых кислот, углеводов, липидов и минеральных веществ в составе живых организмов.
8. Сопоставьте количественные соотношения белков, углеводов и липидов, поступающих в организм человека.
9. Охарактеризуйте основные пищевые продукты с точки зрения их химического состава.

## Глава 2. ФЕРМЕНТЫ

### **Цели изучения:**

#### **Уметь:**

1. Объяснять свойства ферментов и особенности ферментативного катализа их белковой природой.
2. Оценивать роль витаминов в питании человека как субстратов для синтеза коферментов.
3. Определять принадлежность ферментов к определенному классу и подклассу в соответствии с их номенклатурой.
4. Рассчитывать активность ферментов и оценивать сродство фермента к субстрату.

#### **Знать:**

1. Особенности строения ферментов как белковых катализаторов.
2. Виды специфичности ферментов.
3. Основы классификации ферментов, классы ферментов, примеры катализируемых ферментами реакций.
4. Строение коферментов и кофакторов и их роль в ферментативном катализе, роль витаминов в этом процессе.
5. Основы ферментативной кинетики.
6. Единицы активности ферментов и способы их определения.

### **Основные термины и понятия:**

1. Энзимология
2. Специфичность ферментов
3. Холофермент
4. Апофермент
5. Кофакторы ферментов
6. Активный центр фермента
7. Субстрат
8. Фермент-субстратный комплекс
9. Ингибитор
10. Ферментативный катализ
11. Кинетика ферментативного катализа
12. Максимальная скорость реакции –  $V_{\max}$
13. Константа Михаэлиса –  $K_m$
14. Единицы активности ферментов

### **Сокращения:**

E – фермент, S – субстрат, P – продукт, I – ингибитор;  
ES – фермент-субстратный комплекс;  
EP – фермент-продуктный комплекс;  
EI – фермент-ингибиторный комплекс;  
ME – международная единица ферментативной активности;  
 $V_{\max}$  – максимальная скорость реакции  
 $K_m$  – константа Михаэлиса

### **2.1. Ферменты как белковые катализаторы**

Химические реакции в биологических системах протекают только в присутствии катализаторов. Роль таких катализаторов выполняют специфические белки, называемые **ферментами** или **энзимами**.

*Ферментами, или энзимами называют сложные биологические катализаторы белковой природы, изменяющие скорость химической реакции.*

*Энзимология – раздел, изучающий строение, механизм каталитического действия и молекулярную структуру ферментов.*

Они обладают всеми свойствами, характерными для белков, и определенными особенностями строения, обуславливающими их каталитические свойства.

Ферменты, кроме того, подчиняются общим законам катализа и обладают свойствами, характерными для небиологических катализаторов:

1. Увеличивают скорость реакции, но не расходуются в ходе процесса и не претерпевают необратимых изменений;

2. Не изменяют состояние равновесия химической реакции, ускоряя как прямую, так и обратную реакцию в равной степени;

3. Повышают скорость реакции, понижая энергию активации.

**Отличительные свойства ферментов** от катализаторов:

**1. Специфичность.** Биологическая функция фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра, с которым взаимодействует определенный лиганд. Лиганд, взаимодействующий с активным центром фермента, называется **субстратом**.

**2. Каталитическая эффективность.** Большинство катализируемых ферментами реакций высокоэффективны, они протекают в  $10^8$ – $10^{14}$  раз быстрее, чем некатализируемые реакции. Каждая молекула фермента способна за секунду трансформировать от 100 до 1000 молекул субстрата в продукт.

**3. Конформационная лабильность.** Каталитическая эффективность фермента, как и любой белковой молекулы, зависит от его конформации и, в частности, от конформации активного центра. В клетках имеются вещества, которые могут вызывать незначительные изменения конформации молекулы фермента за счет разрыва одних и образования других слабых связей; это может вызывать как повышение, так и снижение активности фермента.

**4. Активность ферментов может регулироваться.** Действие ферментов в клетке, как правило, строго упорядочено: продукт одной ферментативной реакции является субстратом другой; таким образом образуются **метаболические пути**. Среди множества ферментов практически каждого метаболического пути имеются ключевые, или **регуляторные**, ферменты, активность которых может изменяться в зависимости от потребности клетки в конечном продукте метаболического пути.

**5. Оптимальные условия протекания ферментативных реакций:** температура 37–38° С; нормальное атмосферное давление, рН 6,9–7,7, характерное для большинства тканей. В отличие от этого для эффективного химического катализа часто требуются высокие температура и давление, а также экстремальные значения рН.

## 2.2. Структурная организация ферментов

Высокая биологическая активность ферментов в первую очередь определяется характерными свойствами образующих их белков. Ферментативной активностью могут обладать как простые, так и сложные белки (рис. 19).

Простые – однокомпонентные состоят только из полипептидных цепей и гидролизуются до аминокислот (примерами могут служить ферменты пепсин, трипсин, уреазы и т. д.).



Рис. 19. Виды ферментов

Двухкомпонентные ферменты представлены сложными белками, для проявления каталитической активности которых требуется присутствие веществ небелковой природы — простетических групп, являющихся по химической природе сложными белками, называются кофакторами (рис. 20).



Рис. 20. Структура сложных белков

Фермент, содержащий кофактор и обладающий ферментативной активностью, называют **холоферментом**. Белковую часть такого фермента называют **апоферментом**, который в отсутствие кофактора не обладает каталитической активностью. Реакция образования холофермента обратима:



Различают две группы кофакторов: **ионы металлов** и **коферменты**, представляющие собой органические вещества (табл. 4).

Таблица 4

Виды кофакторов

повышают каталитическую активность фермента, стабилизируют белковую часть и делают ее устойчивой к денатурации			
ионы металлов	витамины	коэнзимы	разные
Zn <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup> , Ni <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> ....	E, K, Q, B <sub>1</sub> , B <sub>2</sub> , B <sub>6</sub> , B <sub>12</sub> , C, H....	коэнзим А, НАД, ФАД...	HS-глутатион нуклеотиды и их производные, фосфорные эфиры моносахаридов

Примерно треть из всех известных в настоящее время ферментов активируется ионами металлов, они так и называются **ферменты, активируемые ионами металлов** или **металлоферменты**.

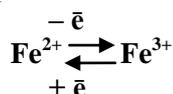
Ионы металла участвуют в функционировании фермента различными способами:

1. Изменяют конформацию молекулы субстрата, что обеспечивает комплементарное взаимодействие с активным центром. Например, в качестве субстрата выступает комплекс Mg<sup>2+</sup>-АТР.

2. Обеспечивают нативную конформацию активного центра фермента. Ионы: Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Mo<sup>2+</sup> участвуют в стабилизации активного центра ферментов и способствуют присоединению кофермента.

3. Стабилизируют конформацию белковой молекулы фермента. Например, для стабилизации четвертичной структуры фермента алкогольдегидрогеназы, катализирующей реакцию окисления этанола, необходимы ионы цинка.

4. Непосредственно участвуют в ферментативном катализе. Ионы Zn<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> принимают участие в электрофильном катализе. Ионы металлов с переменной валентностью могут также участвовать в переносе электронов. Например, в цитохромах (гемсодержащих белках) ион железа способен присоединять и отдавать один электрон. Благодаря этому свойству цитохромы участвуют в окислительно-восстановительных реакциях:



Многие коферменты являются производными витаминов — незаменимых пищевых факторов. Витамины и другие коферменты в качестве жизненно необходимых соединений входят в состав компонентов пищи и, как правило, не синтезируются (или синтезируются в недостаточных количествах) в организмах (по крайней мере, в организмах высших животных). Витамины непосредственно участвуют в ферментативном катализе, так как находятся в активном центре ферментов.

Специфичность действия ферментов объясняется наличием активного центра.

**Активный центр ферментов — это определенный участок белковой молекулы, способный комплементарно связываться с субстратом и обеспечивающий его каталитическое превращение.**

Структура активного центра сформирована радикалами аминокислот, так же как и в случае активного центра любого белка. В активном центре фермента имеются аминокислотные остатки, функциональные группы которых обеспечивают комплементарное связывание субстрата (участок связывания), и аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата (каталитический участок) (рис. 21).

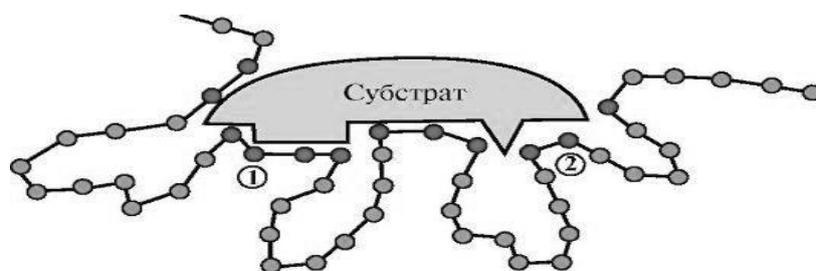


Рис. 21. Схема строения активного центра фермента:  
красным цветом отмечены аминокислоты, образующие активный центр фермента:  
1 - участок связывания; 2 - каталитический участок

Специфичность определяет биологическую значимость ферментов. Различают субстратную и каталитическую специфичности фермента, которые определяются строением активного центра.

**Субстратная специфичность** это способность каждого фермента взаимодействовать лишь с одним или несколькими определенными субстратами. Различают:

- абсолютную субстратную специфичность, если активный центр фермента комплементарен только одному субстрату. Например, фермент аргиназа катализирует только гидролиз аминокислоты аргинина, фермент уреазы – только расщепление мочевины и не действуют на другие субстраты;
- групповую субстратную специфичность, если фермент катализирует однотипную реакцию с небольшим количеством (группой) структурно похожих субстратов. Так, например, разные гидролитические ферменты действуют на определённый тип связей: амилаза – на гликозидные связи; пепсин и трипсин – на пептидные связи; липаза и фосфолипаза – на сложноэфирные связи;
- стереоспецифичность, если фермент проявляет абсолютную специфичность только к одному из существующих стереоизомеров субстрата. Например,  $\alpha$ -амилаза расщепляет  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в молекуле крахмала, но не действует на  $\alpha$ -1,2-гликозидные связи в молекуле сахарозы.

**Каталитическая специфичность**, или специфичность пути превращения субстрата, обеспечивает преобразование одного и того же субстрата под действием разных ферментов. Это обеспечивается строением каталитических участков активных центров соответствующих ферментов.

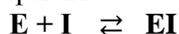
Например, молекула глюкозо-6-фосфата в клетках печени человека является субстратом четырех различных ферментов: фосфоглюкомутазы, глюкозо-6-фосфатфосфатазы, фосфоглюкоизомеразы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. Однако за счет особенностей строения каталитических участков этих ферментов происходят различные превращения глюкозо-6-фосфата с образованием четырех различных продуктов.

Специфичность пути превращения субстрата обеспечивает возможность преобразования одного и того же субстрата под действием разных ферментов. Молекула глюкозо-6-фосфата является субстратом разных ферментов, что приводит к образованию разных продуктов.

**Ингибирование активности ферментов – специфическое снижение каталитической активности, вызванное определенными химическими веществами – ингибиторами.**

Ингибиторы способны связываться с ферментами с разной степенью прочности. На основании этого различают **обратимое** и **необратимое ингибирование**.

**Обратимые ингибиторы** связываются с ферментом слабыми нековалентными связями и при определенных условиях легко отделяются от фермента:



где E – фермент, I – ингибитор

**Необратимое ингибирование** наблюдается в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента:



По механизму действия обратимые ингибиторы подразделяются на **конкурентные** и **неконкурентные**.

Конкурентное ингибирование вызывает обратимое снижение скорости ферментативной реакции в результате связывания ингибитора с активным центром фермента, которое препятствует образованию фермент-субстратного комплекса (рис. 22).

Такой тип ингибирования наблюдается, когда ингибитор является **структурным аналогом субстрата**; в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за связывание с активным центром фермента. В этом случае с ферментом взаимодействует либо субстрат, либо

ингибитор, образуя комплексы фермент-субстрат (ES) или фермент-ингибитор (EI). При формировании комплекса фермента и ингибитора (EI) продукт реакции не образуется.

**Неконкурентным** обратимым называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра. Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата; присоединение неконкурентного ингибитора к ферменту изменяет конформацию активного центра и уменьшает скорость ферментативной реакции, т.е. снижает ферментативную активность. Примером неконкурентного ингибитора может быть действие ионов тяжелых металлов, которые взаимодействуют с функциональными группами молекулы фермента, препятствуя катализу.

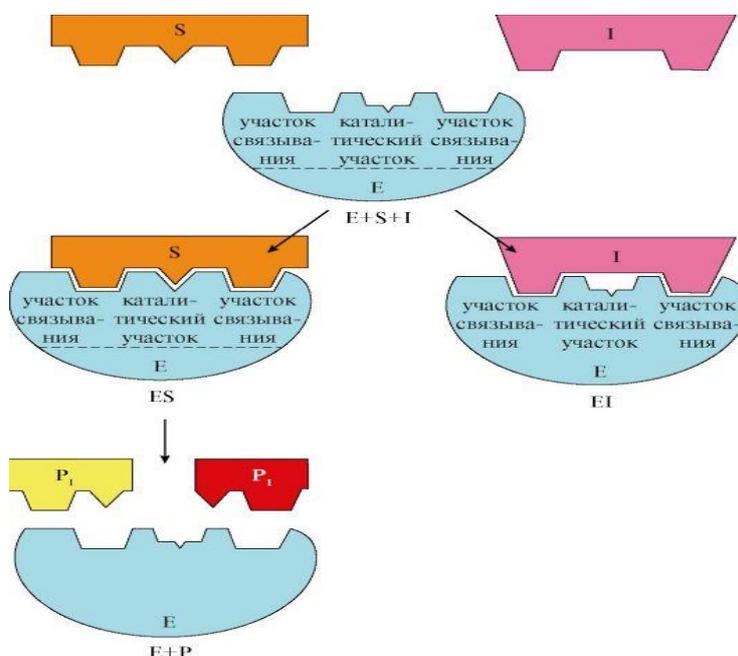


Рис. 22. Схема конкурентного ингибирования активности фермента

### 2.3. Основы кинетики ферментативного катализа

Для определения количества фермента в абсолютных величинах пользуются условными величинами, характеризующими активность фермента.

**Активность фермента** – определяет скоростью реакции, катализируемой ферментом при стандартных условиях (определенная буферная концентрация, ионная сила, рН, температура) в присутствии насыщающих концентрации субстрата и кофермента.

1 международная единица активности обозначается как ME:

$$1 \text{ ME} = \frac{1 \text{ мкмоль превращенного субстрата}}{1 \text{ мин}}, [\text{мкмоль/мин}]$$

В 1973 г. была введена новая единица ферментативной активности — **катал** (кат). Она соответствует количеству фермента, способного превращать 1 моль субстрата за 1 с.

Международная единица ферментативной активности (ME) связана с каталом следующим образом:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль субстрата/с} = 60 \text{ моль/мин} = 60 \cdot 10^6 \text{ мкмоль/мин} = 6 \cdot 10^7 \text{ ME}$$

В ходе катализа субстрат, связанный с активным центром фермента в фермент-субстратный (ES) комплекс, претерпевает химическое превращение в продукт, который затем высвобождается.

Схематично процесс катализа можно представить следующим образом:



где E – фермент, S – субстрат, P – продукт

Процесс ферментативного катализа условно можно разделить на этапы:

1 этап: происходит сближение и ориентация субстрата в области активного центра фермента.

2 этап: в результате индуцированного соответствия (изменение конформации субстрата (S) и активного центра фермента) образуется фермент-субстратный комплекс (ES).

3 этап: происходит дестабилизация связей в субстрате и образование нестабильного комплекса фермент-продукт (EP).

4 этап: происходит распад комплекса (EP) с высвобождением продуктов реакции из активного центра и освобождением фермента (рис. 23).

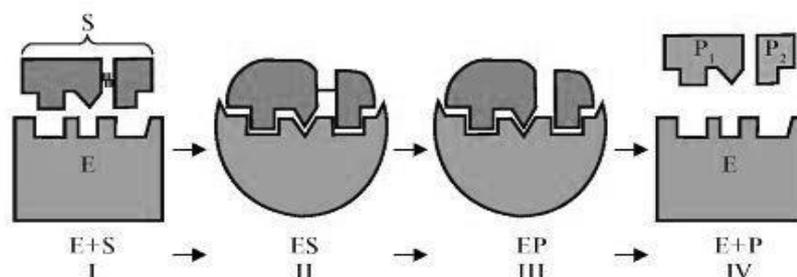


Рис. 23. Этапы ферментативного катализа:  
I – 1 этап; II – 2 этап; III – этап; IV – 4 этап

Для понимания энергетики химической реакции необходимо учитывать изменение энергии субстратов и продуктов реакции, а также роль ферментов в этом процессе. Известно, для того чтобы прошла реакция, субстраты должны получить такое количество дополнительной энергии (называемой энергией активации  $E_a$ ), которое необходимо для вступления молекул субстрата в реакцию (рис. 23).

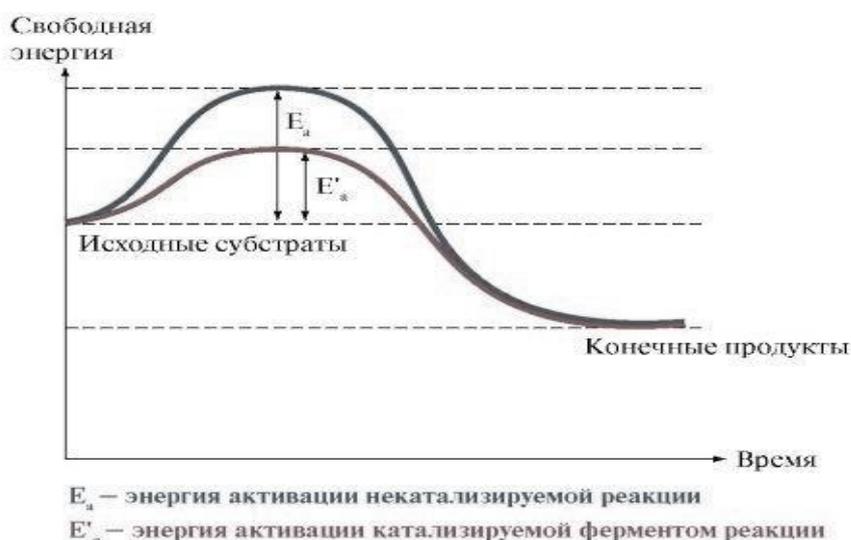


Рис. 23. Изменение свободной энергии в ходе химической реакции, некатализируемой и катализируемой ферментами.

В случае ферментативной реакции происходит снижение энергии активации, что обеспечивает более эффективное протекание реакции. Фермент понижает энергию активации  $E_a$ , т.е. снижает высоту энергетического барьера; в результате возрастает доля реакционно-способных молекул и повышается скорость реакции.

Кинетику ферментативных реакций исследуют в оптимальных условиях проведения энзиматической реакции. Оптимальные условия индивидуальны для каждого фермента и определяются в первую очередь температурой, при которой проводится реакция, и значением pH раствора.

**1. Повышение температуры** до определенных пределов оказывает влияние на скорость ферментативной реакции подобно тому, как влияет температура на любую химическую реакцию: с увеличением температуры повышается скорость ферментативной реакции.

Однако скорость ферментативной химической реакции имеет свой температурный оптимум, превышение которого сопровождается понижением ферментативной активности, что связано с термической денатурацией белковой молекулы (рис. 24).

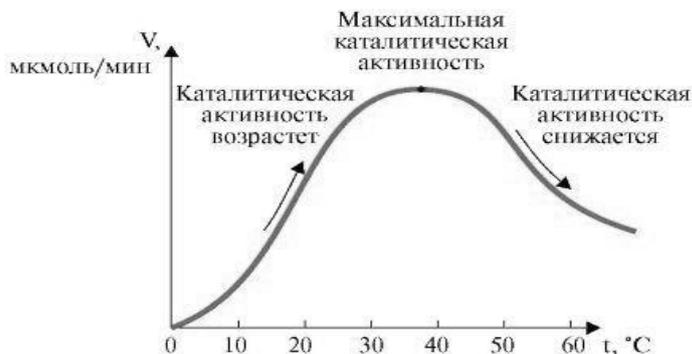


Рис. 24. Зависимость скорости ферментативной реакции (V) от температуры

Для большинства ферментов оптимальной температурой является 37 – 38 °C.

**2. Активность ферментов зависит от pH** раствора, при котором протекает ферментативная реакция. Для каждого фермента существует значение pH, при котором наблюдается его максимальная активность (рис. 25).

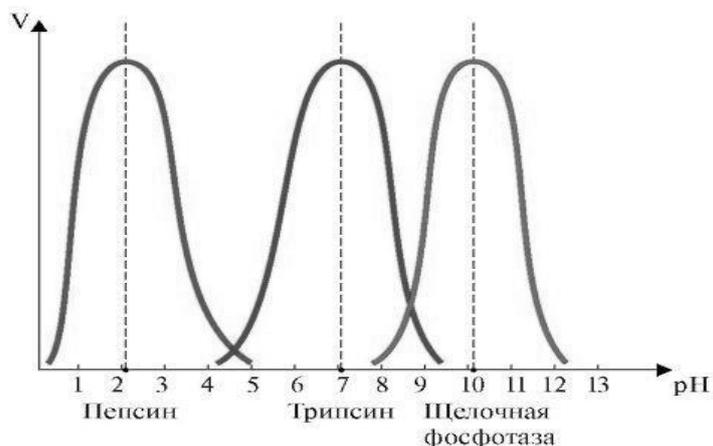


Рис. 25. Зависимость скорости ферментативной реакции от pH среды

Влияние pH на активность ферментов обусловлено изменением ионизации функциональных групп аминокислотных остатков данного белка и субстрата, обеспечивающих оптимальное образование фермент-субстратного комплекса.

**3. Концентрации реагирующих веществ.** Если концентрацию фермента оставить постоянной, изменяя только количество субстрата, то график скорости ферментативной реакции описывается гиперболой (рис. 26).

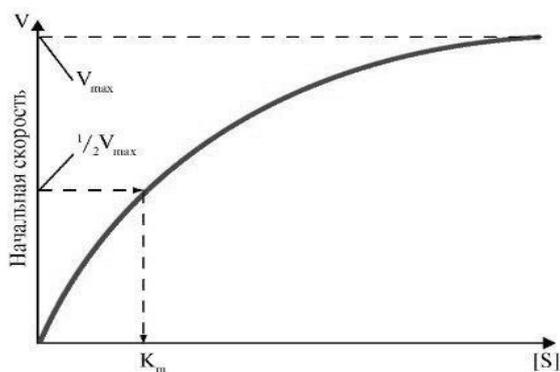


Рис. 26. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата:

$V_{\max}$  – максимальная скорость реакции при данной концентрации фермента в оптимальных условиях проведения реакции;  $K_m$  – константа Михаэлиса

При увеличении количества субстрата начальная скорость реакции возрастает. Когда фермент становится полностью насыщенным субстратом, т.е. происходит максимально возможное при данной концентрации фермента формирование фермент-субстратных комплексов, наблюдается наибольшая скорость образования продукта. Дальнейшее повышение концентрации субстрата не приводит к увеличению количества образующегося продукта, т.е. скорость реакции не возрастает. Данное состояние соответствует максимальной скорости реакции  $V_{max}$

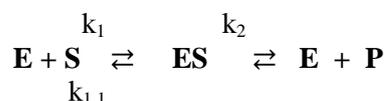
Величина  $V_{max}$  дает характеристику каталитической активности фермента и определяет максимальную возможность образования продукта при данной концентрации фермента и в условиях избытка субстрата;  $V_{max}$  – величина, постоянная для данной концентрации фермента.

Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата выражают уравнением Михаэлиса-Ментена:

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

Уравнение Михаэлиса-Ментена является основным уравнением ферментативной кинетики, показывающей зависимость скорости реакции от концентрации субстрата.

4. Основной кинетической характеристикой эффективности фермента является **константа Михаэлиса –  $K_m$** . Ферментативный процесс выражают уравнением:



где  $k_1$  – постоянная скорости образования ES-комплекса;

$k_{1,1}$  – постоянная скорости обратимой реакции распада ES-комплекса;

$k_2$  – постоянная скорости образования продукта реакции P

Константа Михаэлиса численно равна концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной скорости, тогда соотношение постоянных скоростей:

$$K_m = \frac{k_{1,1} + k_2}{k_1}$$

$K_m$  характеризует сродство данного фермента к данному субстрату и является величиной постоянной. Чем меньше  $K_m$ , тем больше сродство фермента к данному субстрату, тем выше начальная скорость реакции, и наоборот, чем больше  $K_m$ , тем меньше сродство фермента к субстрату и меньше начальная скорость реакции.

1. если  $[S]$  значительно больше  $K_m$ , т.е.  $[S] \gg K_m$ , то увеличение концентрации субстрата на величину  $K_m$  не влияет, тогда  $V = V_{max}$ , реакция имеет нулевой порядок;

2. если  $[S]$  значительно меньше  $K_m$ , т.е.  $[S] \ll K_m$ , то скорость реакции прямо пропорциональна концентрации субстрата:  $V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m}$ , реакция имеет первый порядок

Таким образом,  $V_{max}$  и  $K_m$  являются кинетическими характеристиками эффективности фермента.  $K_m$  показывает сродство E и S, чем меньше  $K_m$ , тем больше сродство фермента к данному субстрату, тем выше начальная скорость и наоборот.

## 2.4. Классификация и номенклатура ферментов

Названия ферментов отражают их функцию и в простейшем случае фермент именуют или по субстрату, или по реакции, добавляя окончание "аза". Например, декарбоксилаза, гидролаза, уреазы, сахараза, липаза, нуклеаза или к названию химического превращения определенного субстрата, например: лактатдегидрогеназа, аденилатциклаза.

Однако сохранился ряд тривиальных, исторически закрепленных названий ферментов, которые не дают представления ни о субстрате, ни о типе химического превращения (например, трипсин, пепсин, ренин, тромбин, лизоцим и др.). Все ферменты делятся на шесть основных классов в зависимости от типа катализируемой химической реакции (табл. 5)

Таблица 5

### Основные классы и подклассы ферментов

Класс		Реакции	Основные подклассы, группы
1	Оксиредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции	Дегидрогеназы, оксидазы, редуктазы, гидроксилазы (оксигеназы)

2	Трансферазы	Перенос функциональных групп	Гликозилтрансферазы (перенос гликозидных остатков) Аминотрансферазы (трансаминазы) (перенос аминогрупп) Ацилтрансферазы (перенос остатков ацилов) Метилтрансферазы (перенос метильных и др. групп) Фосфотрансферазы (киназы) (перенос остатка фосфорной кислоты)
3	Гидролазы	Гидролиз связей (эфирных, пептидных, гликозидных, С-С,	Протеазы (гидролиз пептидных связей) Липазы (гидролиз (синтез) глицеридов) Фосфатазы (гидролиз фосфорных эфиров) Нуклеазы (гидролиз нуклеотидов) Тиолазы (гидролиз –SH групп) Эстеразы (гидролиз (синтез) сложных эфиров) Гликозидазы (гидролиз гликозидов) Амидазы (гидролиз амидов)
4	Лиазы	Разрыв связей С-С, С-О, С-N, С-S путем элиминирования с образованием двойных связей или присоединение воды по двойной связи	Декарбоксилазы (отщепление CO <sub>2</sub> ) Дегидратазы (отщепление H <sub>2</sub> O) Гидратазы (присоединение воды) Альдегидлиазы (обратимая реакция расщепления альдоз) Альдолазы (альдольная конденсация и обратная ей реакция) Фумаразы (превращение фумарата) Енолазы (обратимое отщепление воды)
5	Изомеразы	Взаимопревращения изомеров	Изомеразы (взаимопревращения альдоз, кетоз, кетонных и енольных групп) Мутазы (изомеризация во внутреннем переносе групп)
6	Лигазы	Соединение двух молекул, сопряженное с гидролизом АТФ	Синтетазы (синтез С-С, С-О, С-S, С-N связей) Карбоксилазы (присоединение CO <sub>2</sub> )

Каждый класс состоит из многочисленных подклассов и подподклассов, в зависимости от преобразуемой химической группы субстрата, донора и акцептора преобразуемых группировок, наличия дополнительных молекул и т.д. Каждый из шести классов имеет свой порядковый номер, строго закрепленный за ним: 1-й класс – оксидоредуктазы; 2-й класс – трансферазы; 3-й класс – гидролазы; 4-й класс – лиазы; 5-й класс – изомеразы; 6-й класс – лигазы.

Эта классификация необходима для точного определения фермента: для каждого фермента имеется кодовое число из четырех цифр, где первая цифра обозначает класс, вторая цифра – подкласс, третья – возможный кофермент, четвертая – субстрат реакции.

Например, фермент глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа КФ 1.2.1.12 надо прочитать так: КФ – Комиссия по ферментам (была создана при IUPAC);

1 – фермент относится к классу 1 (оксидоредуктазы);

2 – донором электронов для фермента служит альдегидная группа субстрата;

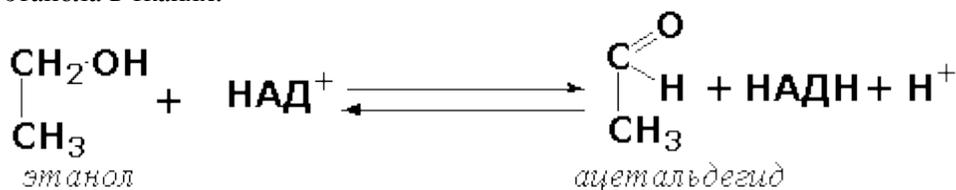
1 – акцептором электронов является NADP<sup>+</sup>;

12 – химическая природа субстрата (в соответствии с официальной номенклатурой ферментов 1992 IUBMB).

Характеристика основных классов ферментов:

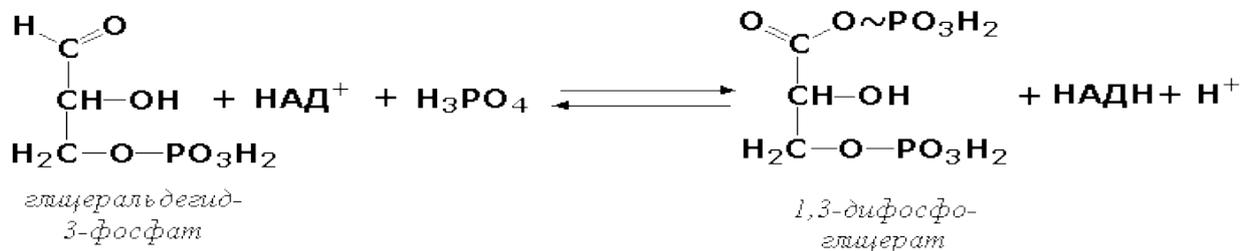
1. **Оксидоредуктазы** катализируют окислительно-восстановительные реакции. Подклассы оксидоредуктаз формируются в зависимости от природы функциональной группы донора водорода (электронов). Всего выделяют 19 подклассов. Основными из них являются:

а) **оксидоредуктазы, действующие на СН-ОН-группу доноров.** Ферменты, относящиеся к этому подклассу, окисляют спиртовые группы до альдегидных или кетонных групп. Например, фермент **алкогольдегидрогеназа** (алкоголь:НАД-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.1), участвующая в метаболизме этанола в тканях:

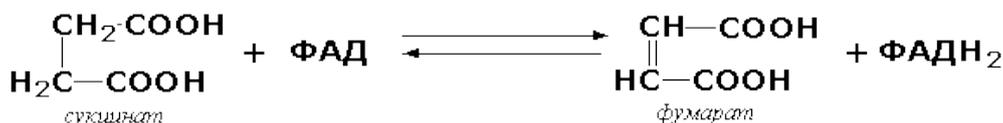


Кроме окисления спиртов, ферменты этого подкласса участвуют в дегидрировании оксикислот (молочной, яблочной, изолимонной), моносахаридов и других соединений, содержащих гидроксильные группы.

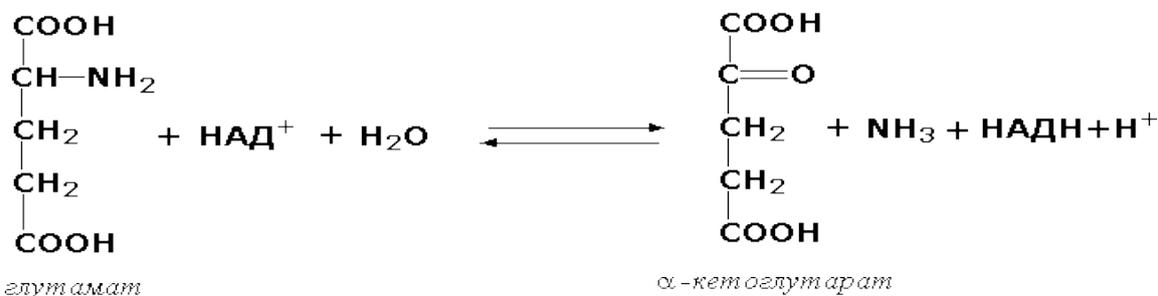
**б) оксидоредуктазы, действующие на альдегидную или кетонную группу доноров.** Эти ферменты окисляют альдегиды и кетоны до карбоновых кислот. Например, **глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа** (D-глицеральдегид-3-фосфат:НАД-оксидоредуктаза (фосфорилирующая), КФ 1.2.1.12) – катализирует одну из промежуточных реакций распада глюкозы:



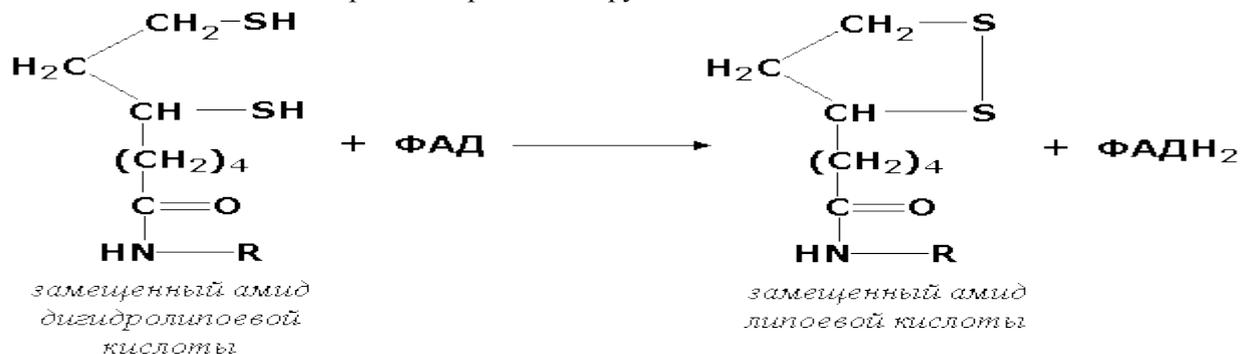
**в) оксидоредуктазы, действующие на СН-СН-группу доноров.** В результате катализируемых ими реакций СН-СН-группы превращаются в С=С-группы, то есть происходит образование ненасыщенных соединений из насыщенных. Например, фермент цикла трикарбоновых кислот **сукцинатдегидрогеназа** (сукцинат:акцептор – оксидоредуктаза, КФ 1.3.99.1) ускоряет окисление янтарной кислоты с образованием ненасыщенной фумаровой кислоты:



**г) оксидоредуктазы, действующие на СН-NH<sub>2</sub>-группу доноров.** Эти ферменты катализируют окислительное дезаминирование аминокислот и биогенных аминов. Амины при этом превращаются в альдегиды или кетоны, аминокислоты – в кетокислоты и выделяется аммиак. Так, **глутаматдегидрогеназа** (L-глутамат:НАД(Ф) – оксидоредуктаза (дезаминирующая), КФ 1.4.1.3) принимает участие в превращении глутамата:

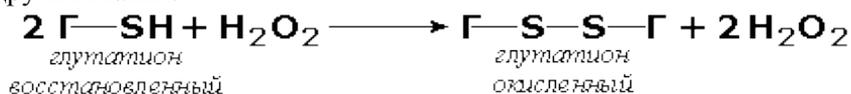


**д) оксидоредуктазы, действующие на серосодержащие группы доноров,** катализируют окисление тиоловых (сульфгидрильных) групп до дисульфидных, а сульфитов – до сульфатов. Например, **дигидролипоил-дегидрогеназа** (КФ 1.8.1.4), катализирующая одну из промежуточных реакций окислительного декарбоксилирования пирувата:

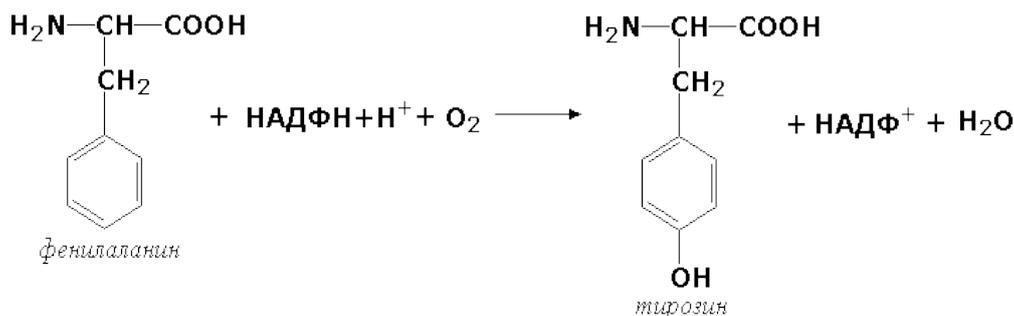


**е) оксидоредуктазы, действующие на пероксид водорода в качестве акцептора,** сравнительно немногочисленны и объединены в отдельный подкласс, известный также под тривиальным названием **пероксидазы**. Например, **глутатионпероксидаза** (глутатион:Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub> –

оксидоредуктаза. КФ 1.11.1.9), участвующая в инактивации пероксида водорода в эритроцитах, печени и некоторых других тканях:

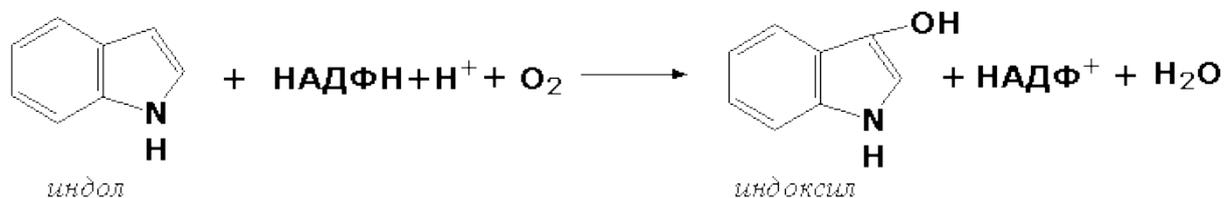


ж) **оксидоредуктазы, действующие на пару доноров с включением молекулярного кислорода**, или **монооксигеназы** – ферменты, катализирующие окисление органических соединений молекулярным кислородом, приводящее к включению одного из атомов кислорода в молекулы этих соединений. При этом второй атом кислорода включается в молекулу воды. Так реакция превращения фенилаланина в тирозин катализируется **фенилаланин-4-монооксигеназой** (КФ 1.14.16.1):



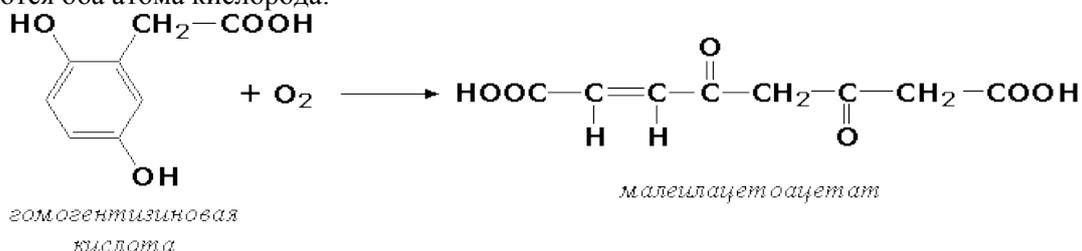
У некоторых людей генетический дефект этого фермента служит причиной заболевания, которое носит название фенилкетонурии.

К монооксигеназам относится также фермент, известный под названием **цитохром P450** (КФ 1.14.14.1) Он содержится, главным образом, в клетках печени и осуществляет гидроксилирование липофильных соединений, образующихся в качестве побочных продуктов реакций или попадающих в организм извне. Например, индол, образующийся из триптофана в результате деятельности микроорганизмов кишечника, подвергается в печени гидроксилированию по следующей схеме:



Появление гидроксильной группы повышает гидрофильность веществ и облегчает их последующий вывод из организма.

з) **оксидоредуктазы, действующие на один донор с включением молекулярного кислорода**, или **диоксигеназы**, катализируют превращения, в ходе которых оба атома молекулы O<sub>2</sub> включаются в состав окисляемого субстрата. Например, в процессе катаболизма фенилаланина и тирозина происходит образование из гомогентизиновой кислоты малеилацетоацетата, в состав которого включаются оба атома кислорода:

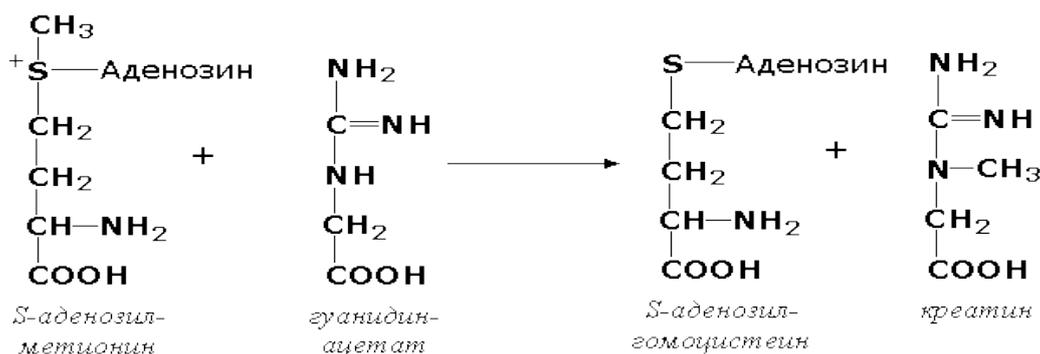


Фермент, катализирующий эту реакцию, называется **гомогенизат-1,2-диоксигеназой** (КФ 1.13.11.5).

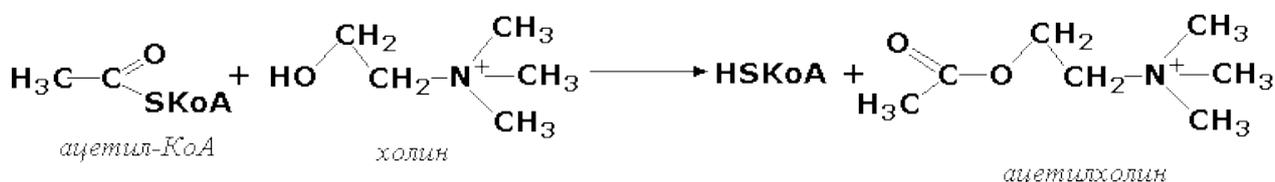
**2. Трансферазы** – катализируют реакции переноса функциональных групп. В зависимости от переносимой группы подразделяются на подклассы: аминотрансферазы, ацилтрансферазы, метилтрансферазы, гликозилтрансферазы, киназы (фосфотрансферазы).

**а) трансферазы, переносящие одноуглеродные фрагменты.** К этому подклассу относятся ферменты, ускоряющие перенос метильных (–CH<sub>3</sub>), метиленовых (–CH<sub>2</sub>–), метенильных (–CH=), формильных и родственных им групп. Так, при участии **гуанидинацетат-метилтрансферазы** (S-

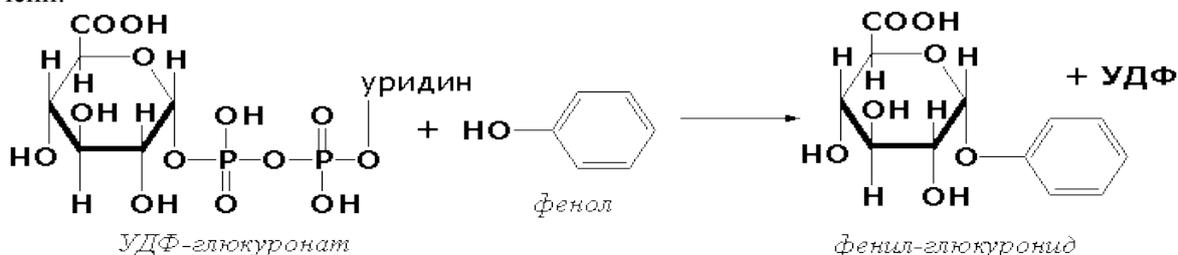
аденозилметионингуанидинацетат-метилтрансфераза, КФ 2.1.1.2) происходит синтез биологически активного вещества креатина:



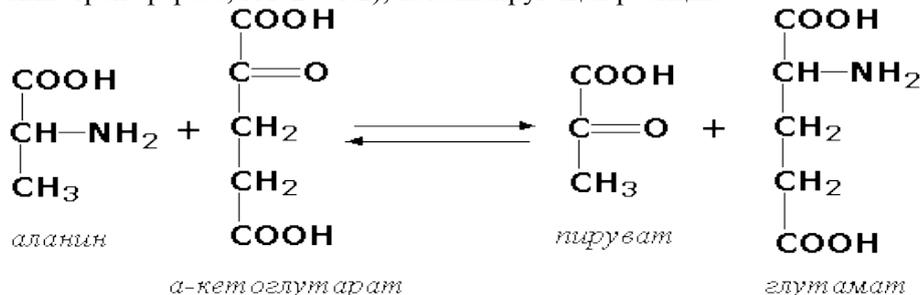
**б) трансферазы, переносящие остатки карбоновых кислот (ацилтрансферазы).** Они катализируют разнообразные химические процессы связанные с переносом остатков различных кислот (уксусной, пальмитиновой и др.) преимущественно от тиоэфиров коэнзима А на различные акцепторы. Примером реакции трансацилирования может быть образование медиатора ацетилхолина при участии *холин-ацетилтрансферазы* (ацетил-КоА:холин-О-ацетилтрансфераза, КФ 2.3.1.6):



**в) трансферазы, переносящие гликозильные остатки (гликозилтрансферазы),** катализируют транспорт гликозильных остатков из молекул фосфорных эфиров к молекулам моносахаридов, полисахаридов и других веществ. Эти ферменты играют основную роль в синтезе гликогена и крахмала, а также в первой фазе их деструкции. Например, *УДФ-глюкуронилтрансфераза* (УДФ-глюкуронат-глюкуронил-трансфераза (неспецифичная к акцептору), КФ 2.4.1.17) участвует в процессах обезвреживания эндогенных и чужеродных токсических веществ в печени:

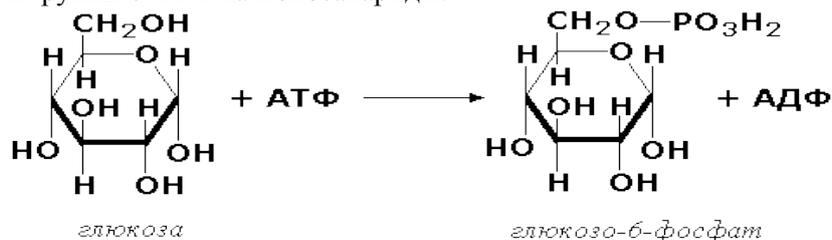


**г) трансферазы, переносящие азотистые группы.** В этот подкласс входят *аминотрансферазы*, ускоряющие перенос α-аминогруппы аминокислот к α-углеродному атому кетокислот. Наиболее важным из этих ферментов является *аланинаминотрансфераза* (L-аланин: 2-оксоглутарат-аминотрансфераза, КФ 2.6.1.2), катализирующая реакцию:

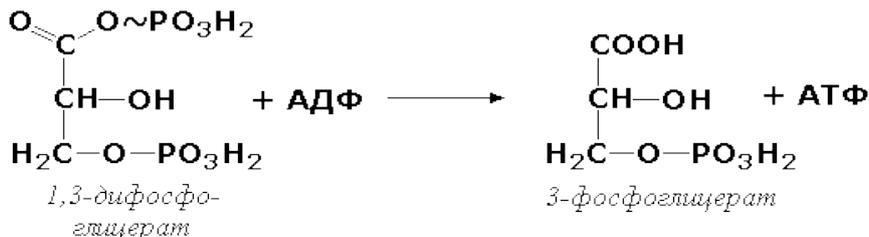


**д) трансферазы, переносящие фосфатные группы (фосфотрансферазы),** катализируют биохимические процессы, связанные с транспортом остатков фосфорной кислоты на различные субстраты. Фосфотрансферазы, использующие в качестве донора фосфата АТФ, принято называть

**киназами.** Например, **гексокиназа** (АТФ: D-гексоза-6-фосфотрансфераза. КФ 2.7.1.1.), ускоряет перенос фосфатной группы с АТФ на моносахариды:



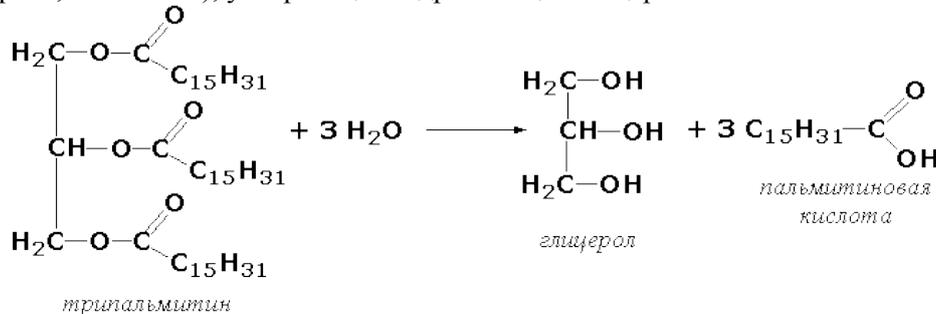
В некоторых случаях возможен и обратный перенос фосфатной группы с субстрата на АДФ с образованием АТФ. Так, фермент **фосфоглицераткиназа** (АТФ:D-3-фосфоглицерат-1-фосфотрансфераза, КФ 2.7.2.3) осуществляет превращение 1,3-дифосфоглицерата:



Подобные реакции фосфорилирования АДФ с образованием АТФ, сопряжённые с превращением субстрата (а не с переносом электронов в дыхательной цепи), получили название **реакций субстратного фосфорилирования**. Роль этих реакций в клетке значительно возрастает при недостатке кислорода в тканях.

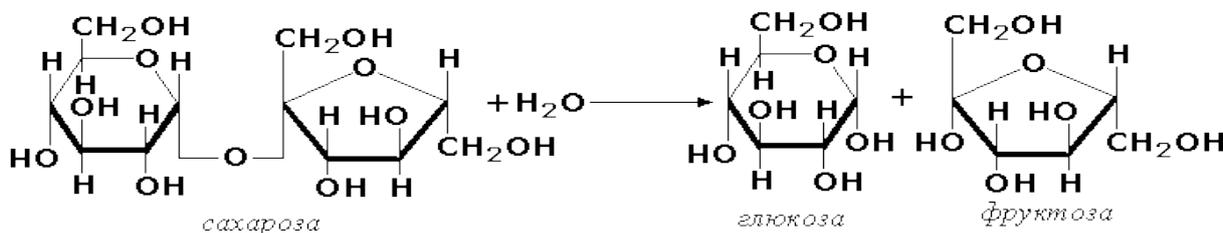
**3. Гидролазы** катализируют реакции гидролиза (расщепления ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва). Разделяются на подклассы в зависимости от субстрата. Названия образуются в зависимости от молекулы субстрата или конкретной гидролизуемой химической связи: протеазы, амилазы, гликозидазы, нуклеазы, эстеразы, фосфатазы и др.

**а) гидролазы, действующие на сложные эфиры (или эстеразы)** гидролизуют сложные эфиры карбоновой, фосфорной, серной и других кислот. Например, **триацилглицероллипаза** (гидролаза эфиров глицерола, КФ 3.1.1.3), ускоряющая гидролиз ацилглицеролов:

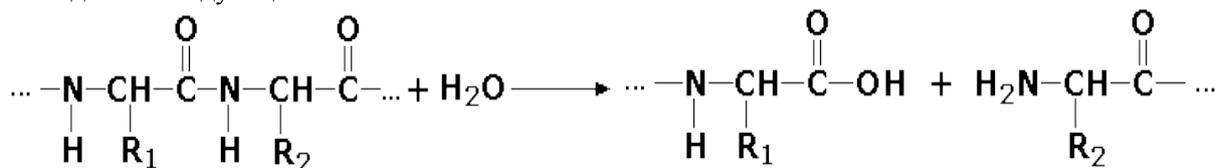


Другие представители эстераз расщепляют сложноэфирные связи в ацетилхолине (ацетилхолинэстераза), фосфолипидах (фосфолипазы), нуклеиновых кислотах (нуклеазы), фосфоорганических эфирах (фосфатазы).

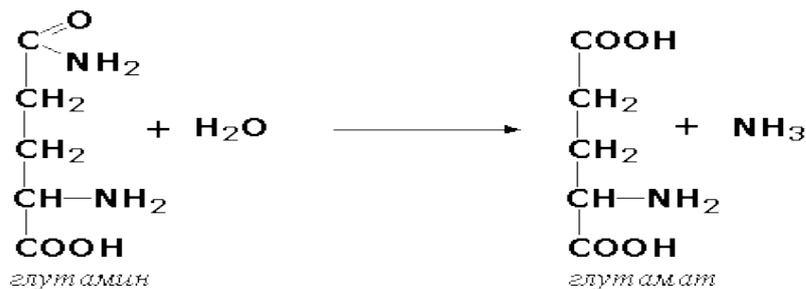
**б) гидролазы, действующие на гликозидные связи (гликозидазы)** ускоряют реакции гидролиза олиго- и полисахаридов, а также других соединений, содержащих моносахаридные остатки (например, нуклеозидов). Характерным представителем является **сахараза** ( $\beta$ -D-фруктофуранозид-фруктогидролаза, КФ 3.2.1.26), катализирующая расщепление сахарозы:



в) *гидролазы, действующие на пептидные связи (пептидазы)*, катализируют реакции гидролиза пептидных связей в белках и пептидах. К этой группе относятся *пепсин, трипсин, химотрипсин, катепсин* и другие протеолитические ферменты. Гидролиз пептидных связей происходит по следующей схеме:

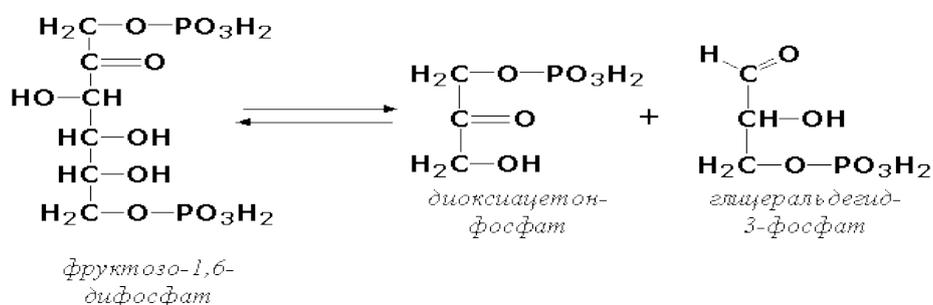


г) *гидролазы, действующие на C-N-связи, отличающиеся от пептидных*, ускоряющие гидролиз амидов органических кислот. Например, *глутаминаза* (L-глутамил-амидогидролаза, КФ 3.5.1.2), участвует в поддержании кислотно-основного состояния организма, катализируя в почках гидролиз глутамина:

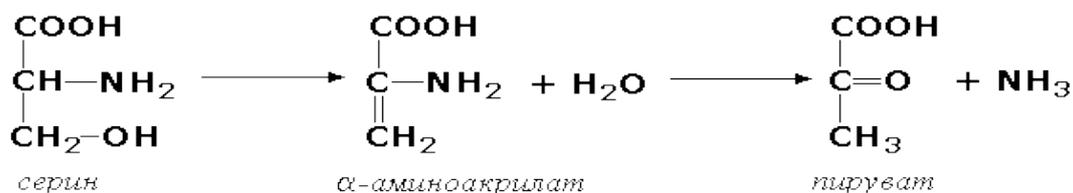


4. *Лиазы* – к лиазам относятся ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путем определенные группы: CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, NH<sub>2</sub> SH<sub>2</sub> и др., или присоединяющие (например, молекулу воды) по двойной связи.

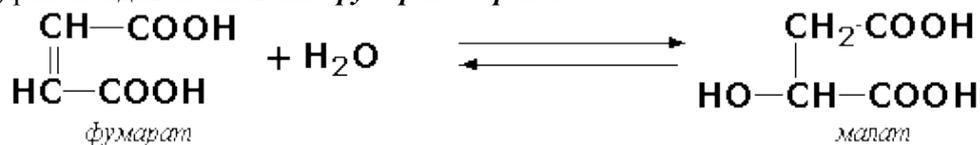
а) *углерод-углерод-лиазы* катализируют разрыв связи между двумя атомами углерода. *Карбокси-лиазы (декарбоксилазы)* – осуществляют декарбоксилирование α-кето- и аминокислот, *лиазы кетокислот*, к которым относится цитратсинтаза, *альдегид-лиазы (альдолазы)*. Например, *фруктозодифосфатальдолаза* (фруктозо-1,6-дифосфат-D-глицеральдегид-3-фосфат-лиаза, КФ 4.1.2.13), катализирующая реакцию:



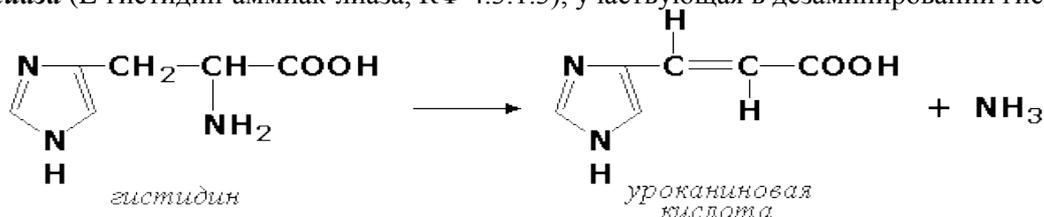
б) *углерод-кислород-лиазы* катализируют разрыв связи между атомами углерода и кислорода. В этот подкласс входят, прежде всего *гидро-лиазы*, участвующие в реакциях дегидратации и гидратации. Например, *сериндегидратаза* (L-серин-гидролиаза (дезаминирующая), КФ 4.2.1.3), осуществляющая превращение:



Иногда за основу рабочего названия может быть принята обратная реакция с применением термина "*гидратаза*". Так, для фермента цикла трикарбоновых кислот L-малат-гидро-лиазы (КФ 4.2.1.2) рекомендовано название *фумаратгидратаза*:



в) **углерод-азот-лиазы** участвуют в отщеплении азотсодержащих групп. Например, **гистидин-аммиак-лиаза** (L-гистидин-аммиак-лиаза, КФ 4.3.1.3), участвующая в дезаминировании гистидина:



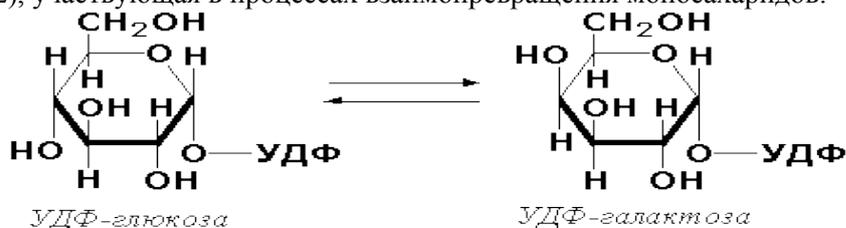
г) **углерод-сера-лиазы** катализируют отщепление сульфгидрильных групп. К этому подклассу относятся **десульфгидразы** серусодержащих аминокислот, например, **цистеиндесульфгидраза** (L-цистеин-сероводород-лиаза (дезаминирующая), КФ 4.4.1.1).

5. **Изомеразы** – класс ферментов, ускоряющих процессы внутримолекулярных превращений с образованием изомеров. Изомеразы сравнительно немногочисленный класс ферментов, он подразделяется на следующие подклассы в зависимости от типа катализируемой реакции изомеризации:

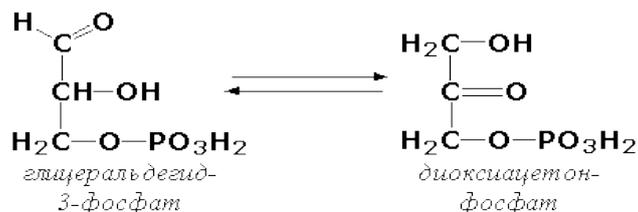
а) **рацемазы и эпимеразы** катализируют взаимопревращение изомеров, содержащих асимметрические атомы углерода. **Рацемазы** называются ферменты, действующие на субстраты с одним асимметрическим атомом, например, превращающие L-аминокислоты в D-аминокислоты.

Одним из таких ферментов является **аланинрацемаза** (аланин-рацемаза, КФ 5.1.1.1).

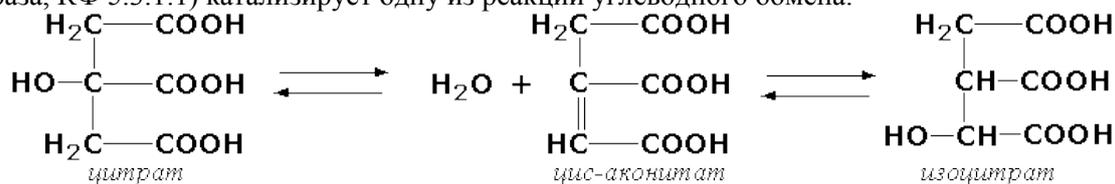
б) **эпимеразы** называются ферменты, действующие на субстраты с несколькими асимметрическими атомами углерода. Например, **УДФ-глюкозо-эпимераза** (УДФ-глюкоза-4-эпимераза, КФ 5.1.3.2), участвующая в процессах взаимопревращения моносахаридов:



в) **цис-транс-изомеразы** – ферменты, вызывающие изменение геометрической конфигурации относительно двойной связи. Например, **малеилацетоацетатизомераза** (малеилацетоацетат-цис-транс-изомераза, КФ 5.2.1.2), участвующая в катаболизме фенилаланина и тирозина и переводящая малеилацетоацетат в фумарилацетоацетат:



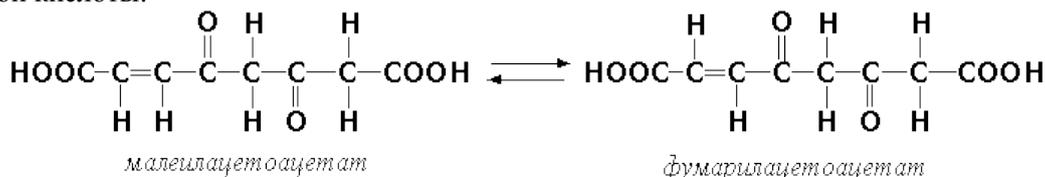
г) **внутримолекулярные оксидоредуктазы** – изомеразы, катализирующие взаимопревращения альдоз и кетоз. При этом происходит окисление СН-ОН-группы с одновременным восстановлением соседней С=О-группы. Например, **триозофосфатизомераза** (D-глицеральдегид-3-фосфат-кетол-изомераза, КФ 5.3.1.1) катализирует одну из реакций углеводного обмена:



К изомеразам относятся также **внутримолекулярные трансферазы**, осуществляющие перенос одной группы с одной части молекулы субстрата на другую часть той же молекулы, и **внутримолекулярные лиазы**, катализирующие реакции дециклизации, а также превращения одного типа кольца в другой.

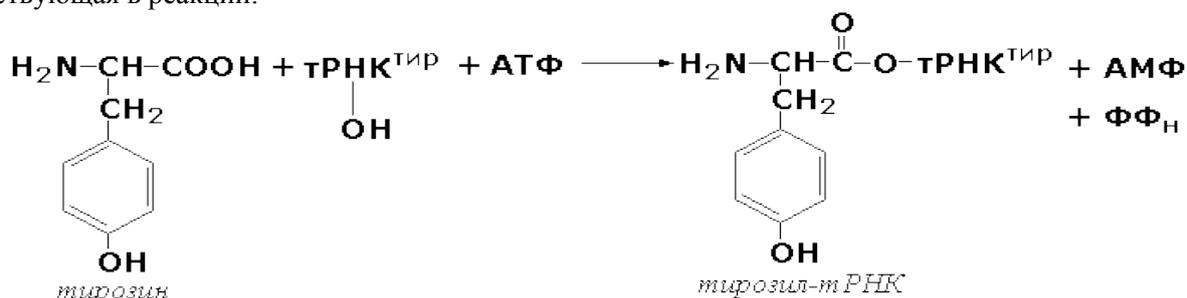
Следует подчеркнуть, что не все биохимические процессы результатом которых является изомеризация, катализируются изомеразы. Так, изомеризация лимонной кислоты в изолимонную происходит при участии фермента **аконитатгидратазы** (цитрат (изоцитрат)-гидролизаза, КФ

4.2.1.3), катализирующей реакции дегидратации-гидратации с промежуточным образованием цис-аконитовой кислоты:

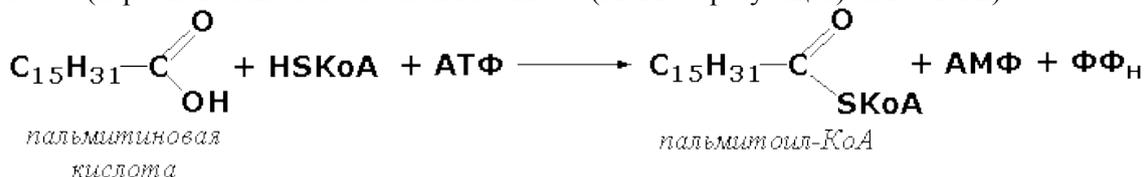


**б. Лигазы** (синтетазы) катализируют реакции усложнения молекулы за счет присоединения друг к другу двух молекул с образованием ковалентной связи; при этом используется энергия АТФ или других макроэргических соединений.

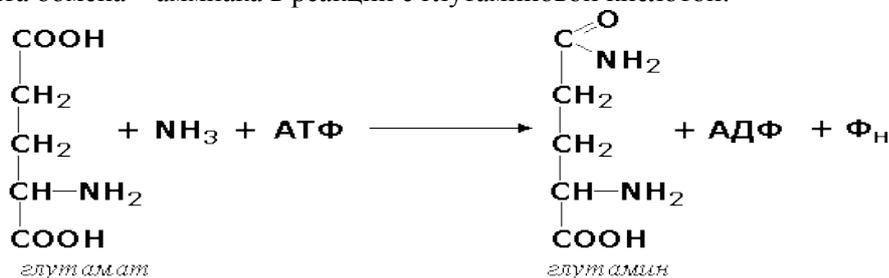
**а) лигазы, образующие связи углерод-кислород.** К ним относится группа ферментов, известных как аминокислота-тРНК-лигазы (аминоацил-тРНК-синтетазы), которые катализируют реакции взаимодействия аминокислот и соответствующих транспортных РНК. В этих реакциях образуются активные формы аминокислот, способные участвовать в процессе синтеза белка на рибосомах. Например, **тирозил-тРНК-синтетаза** (L-тирозин:тРНК-лигаза (АМФ-образующая), КФ 6.1.1.1), участвующая в реакции:



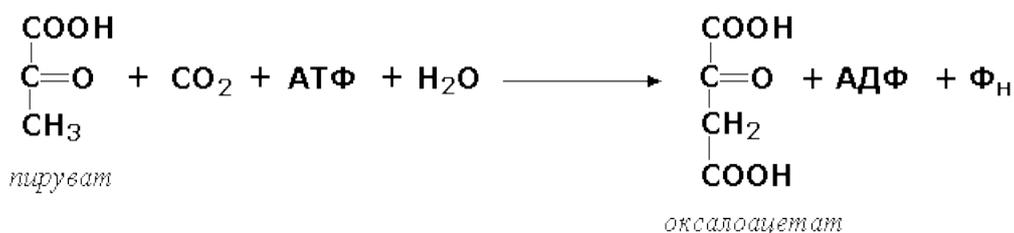
**б) лигазы, образующие связи углерод-сера.** Ферменты, катализирующие образование тиоэфиров жирных кислот с коэнзимом А. При участии этих ферментов синтезируются ацил-КоА – активные формы жирных кислот, способные вступать в различные реакции биосинтеза и распада. Например, реакция активации жирных кислот, протекающая в присутствии фермента **ацил-КоА-синтетазы** (карбоновая кислота: коэнзим А-лигаза (АМФ-образующая), КФ 6.2.1.2):



**в) лигазы, образующие связи углерод-азот,** катализируют многочисленные реакции введения азотсодержащих групп в органические соединения. Примером может служить **глутаминсинтетаза** (L-глутамин:аммиак-γ-лигаза (АДФ-образующая), КФ 6.3.1.2), участвующая в обезвреживании токсичного продукта обмена – аммиака в реакции с глутаминовой кислотой:



**г) лигазы, образующие связи углерод-углерод.** Из этих ферментов наиболее изучены **карбоксилазы**, обеспечивающие карбоксилирование ряда соединений, в результате чего происходит удлинение углеродных цепей. Важнейшим представителем данного класса является **пируваткарбоксилаза** (пируват: CO<sub>2</sub>-лигаза (АДФ-образующая), КФ 6.4.1.1), ускоряющая реакцию образования оксалоацетата – ключевого соединения цикла трикарбоновых кислот и биосинтеза углеводов:



Реакции с участием АТФ катализируются не только ферментами VI класса, но и некоторыми ферментами II класса (фосфотрансферазами или киназами). Важно уметь отличать эти типы реакций. Их различие заключается в том, что в трансферазных реакциях АТФ является **донором фосфатных групп**, поэтому в результате этих реакций не происходит выделения  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . Наоборот, в синтетазных реакциях АТФ служит **источником энергии**, выделяемой при её гидролизе, поэтому одним из продуктов такой реакции будет являться неорганический орто- или пирофосфат.

**Локализация ферментов в клетке.** В клеточном содержимом ферменты распределены не хаотически, а строго упорядоченно. При помощи внутриклеточных мембран клетка разделена на отсеки или **компарменты** (рис. 27). В каждом из них осуществляются строго определенные биохимические процессы и сосредоточены соответствующие ферменты или полиферментные комплексы. Вот несколько характерных примеров.

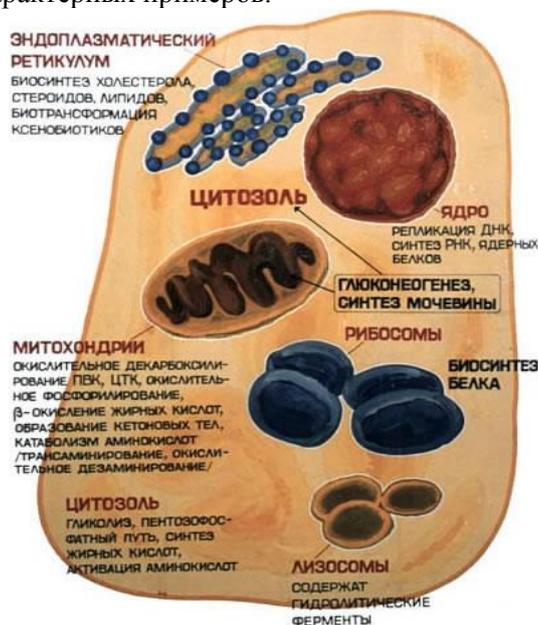


Рис. 27. Внутриклеточное распределение ферментов

В лизосомах сосредоточены преимущественно разнообразные гидролитические ферменты. Здесь протекают процессы расщепления сложных органических соединений на их структурные компоненты.

В митохондриях находятся сложные системы окислительно-восстановительных ферментов.

Ферменты активирования аминокислот распределены в гиалоплазме и в ядре. В гиалоплазме присутствуют многочисленные метаболиты гликолиза, структурно объединенные с таковыми пентозофосфатного цикла, что обеспечивает взаимосвязь дихитомического и апотомического путей распада углеводов.

В то же время ферменты, ускоряющие перенос аминокислотных остатков на растущий конец полипептидной цепи и катализирующие некоторые другие реакции в процессе биосинтеза белка, сосредоточены в рибосомальном аппарате клетки.

В клеточном ядре локализованы в основном нуклеотидилтрансферазы, ускоряющие реакцию переноса нуклеотидных остатков при новообразовании нуклеиновых кислот.

Локализацию данного фермента в ткани или клетке часто удается установить *in situ* гистохимическими методами. Гистоэнзимология дает наглядную и в известной мере физиологичную картину распределения ферментов.

В 1908 году английский врач Арчибальд Гаррод высказал предположение, что причиной ряда заболеваний может являться отсутствие какого-либо из ключевых ферментов, участвующих в обмене веществ. Он ввёл понятие «*inborn errors of metabolism*» (врождённый дефект обмена веществ). В

дальнейшем эта теория была подтверждена новыми данными, полученными в области молекулярной биологии и патологической биохимии.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Что такое ферменты? Какую роль они выполняют в биологических процессах?
2. Охарактеризуйте общие черты катализаторов и ферментов
3. В чем отличие ферментов от катализаторов?
4. Что такое простые и сложные ферменты? Из каких компонентов состоят сложные ферменты?
5. Какие функции выполняют кофакторы? Какие вещества относятся к ним?
6. Какое влияние оказывают ионы металлов на активность ферментов?
7. Дайте характеристику основным видам коферментов?
8. Что такое активный центр фермента? Охарактеризуйте активный центр фермента: каталитический, субстратный, аллостерический.
9. Чем отличается субстратная и каталитическая специфичность фермента?
10. Что такое ингибиторы? Какие виды ингибирования существуют?
11. Что такое активность фермента? Как выражается единица активности фермента?
12. Что такое катал? Какая взаимосвязь между каталом и ME?
13. Запишите схему ферментативной реакции и ее этапы.
14. Каким образом фермент ускоряет химическую реакцию?
15. Каким образом влияет температура на скорость ферментативной реакции?
16. Как влияет pH среды на скорость ферментативной реакции?
17. Выразите графическую зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента.
18. Приведите уравнение Михаэлиса-Ментен. Что называют константой Михаэлиса?
19. Изобразите схему действия ацетилхолинэстеразы, участвующей в гидролизе ацетилхолина. В чем заключается физиолого-биологическая роль этой реакции.
20. Изобразите схему механизма реакции переаминирования с участием пиридоксаль-фермента.
21. На основании каких признаков проводят номенклатуру ферментов?
22. Приведите классификацию ферментов. Приведите примеры ферментов к каждому классу и запишите уравнения реакций.

### **Задачи для самостоятельной работы:**

1. Укажите особенности строения ферментов-протеинов и ферментов-протеидов. Покажите различие между простетическими группами и коферментами. Приведите по одному примеру. Определите, к какому классу и подклассам относятся ферменты, приведенные вами в качестве примеров.
2. На примерах химотрипсина и цитохрома покажите строение каталитических центров ферментов. Определите классы и подклассы ферментов.
3. Расшифруйте мультимерное строение глутаматдегидрогеназы. Напишите химические формулы коферментов мономеров. Определите класс и подклассы каждого из ферментов
4. Покажите разнокачественность субъединиц в молекулах изозимов лактатдегидрогеназы. Определите класс и подкласс фермента. Объясните значение изучения состава изозимов для медицины, генетики и селекции.
5. Напишите химические формулы коферментов энзимов синтетазы высших жирных кислот и дайте понятие мультиэнзимного комплекса. Укажите классы и подклассы перечисляемых вами ферментов.
6. дайте схему механизма действия ацетилхолинэстеразы. Укажите значение данного процесса, определите класс и подкласс фермента.
7. Используя конкретные примеры, приведите схемы конкурентного и неконкурентного ингибирования фермента. Определите классы ферментов, приведенных вами в качестве примеров.
8. Дайте схему механизма действия пиридоксальфермента в реакции переаминирования аланина с щавелевоуксусной кислотой. Укажите класс и подкласс фермента.
9. При действии азотистой кислоты на НАД происходит дезаминирование адеининовой части молекулы с образованием гипоксантинового производного без дальнейшего изменения молекулы НАД. Напишите уравнение этой реакции и объясните, коферментом какого класса и подкласса ферментов является НАД.
10. Фермент лактатдегидрогеназа, в котором ферментом является НАД, окисляет молочную кислоту в пировиноградную. Покажите с помощью уравнения данной реакции механизм действия кофермента НАД.

11.  $\beta$ -Оксибутиратдегидрогеназа окисляет  $\beta$ -D-оксималяную кислоту (переноса водород на кофермент НАД) в ацетоуксусную кислоту. Напишите уравнение этой реакции, объясните механизм действия кофермента.

12. Янтарная кислота окисляется флавопротеидом (с коферментом ФАД) до fumarовой кислоты. Напишите уравнение этой реакции. Определите класс и подкласс названного выше фермента и объясните механизм действия его.

13. Напишите полное уравнение реакции:

O

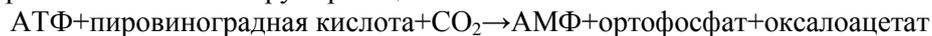
||



Укажите класс и подкласс фермента, имеющего коферментом коэнзим-А.

14. Под влиянием фермента фосфоглицератфосфомутазы 2-фосфо-D-глицерат превращается 3-фосфо-D-глицерат. Напишите схему этого превращения и укажите класс и подкласс фермента, ускоряющего данный процесс.

15. Пируваткарбоксилаза катализирует реакцию:



Напишите уравнение этой реакции и укажите класс и подкласс фермента, ускоряющего процесс

### Глава 3. МЕТАБОЛИЗМ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

#### **Цели изучения:**

##### **Уметь:**

1. Объяснять биологические свойства нуклеиновых кислот.
2. Определять принадлежность нуклеозидов и нуклеотидов, писать их структурные формулы
3. Уметь писать уравнения реакций биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
4. Объяснять механизм репликации и транскрипции.

##### **Знать:**

1. Особенности строения нуклеиновых кислот: ДНК и РНК.
2. Виды специфичности молекул ДНК и РНК, их биологические функции.
3. Основные этапы и продукты катаболизма нуклеиновых кислот.
4. Особенности биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, их общие черты и отличия.
5. Сущность анаболизма дезоксирибонуклеотидов.
6. Механизм репликации и транскрипции.

#### **Основные термины и понятия:**

1. Нуклеиновые кислоты: ДНК и РНК.
2. Принципы структурной организации и типы связей в первичной, вторичной и третичной структуре нуклеиновых кислот.
3. Биосинтез пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.
4. Репликация: ферменты, репликативная вилка, лидирующая и отстающая цепи, фрагменты Оказаки, ориджины репликации.
5. Транскрипция: ферменты, инициация, элонгация, терминация, постраскрипционная модификация.

#### **Сокращения:**

ДНК (DNA) – дезоксирибонуклеиновая кислота;  
РНК (RNA) – рибонуклеиновая кислота;  
АМФ (AMP) – аденозинмонофосфат;  
ГМФ (GMP) – гуанозинмонофосфат;  
УМФ (UMP) – уридинмонофосфат;  
ЦМФ (CMP) – цитидинмонофосфат;  
дАМФ (dAMP) – дезоксиаденозинмонофосфат ;  
дГМФ (dGMP) – дезоксигуанозинмонофосфат;  
дЦМФ (dUMP) – дезоксицитидинмонофосфат;  
дТМФ (dTMP) – дезокситимидинмонофосфат ;  
мРНК – матричная РНК;  
тРНК – транспортная РНК;  
рРНК – рибосомальная РНК;  
ИМФ – инозин-5'-монофосфат.

### 3.1. Структурная организация нуклеиновых кислот

К нуклеиновым кислотам относят высокомолекулярные соединения, характеризующиеся определенным элементарным составом и распадающиеся при гидролизе на пуриновые и пиримидиновые основания, пентозу и фосфорную кислоту.

Структура ДНК (DNA) и РНК (RNA) представляет собой способ «записи информации», обеспечивающее формирование репликации (воспроизведение информации), заключенной в молекуле ДНК и транскрипции (считывание информации) генов в виде полинуклеотидных последовательностей мРНК и использование их в качестве матриц для синтеза белка.

**Нуклеиновые кислоты – это высокомолекулярные соединения, мономерными звеньями которых являются нуклеотиды.**

Каждый нуклеотид состоит из трех компонентов: азотистого основания, являющегося производным пурина или пиримидина, пентозы (рибозы или дезоксирибозы) и остатка фосфорной кислоты (рис. 28).



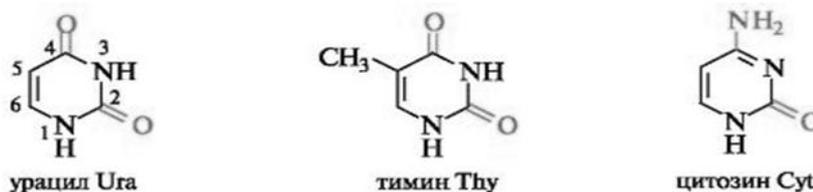
Рис. 28. Строение нуклеотида

Гетероциклические соединения пиримидинового и пуринового рядов обычно называют **нуклеиновыми основаниями**. Нуклеиновые основания в качестве заместителей в гетероцикле могут содержать:

- либо оксогруппу, как в урациле и тимине;
- либо аминогруппу, как в аденине;
- либо одновременно обе эти группы, как в цитозине и гуанине.

Кислородсодержащие основания представлены лактамными таутомерными формами, в которых ароматичность не нарушена (рис. 29). Для всех оснований приняты сокращенные трехбуквенные обозначения, составленные из первых букв их латинских названий.

#### ПИРИМИДИНОВЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ ОСНОВАНИЯ



#### ПУРИНОВЫЕ НУКЛЕИНОВЫЕ ОСНОВАНИЯ

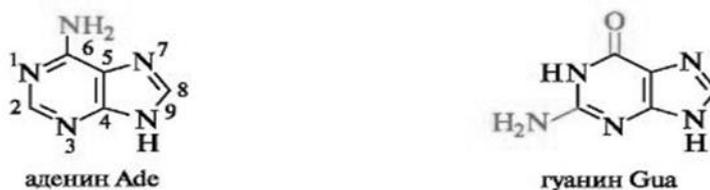


Рис. 29. Пиримидиновые и пуриновые основания

Нуклеиновые основания образуют связь за счет одного из атомов азота с аномерным центром пентозы (D-рибозы или 2-дезоксид-рибозы). Этот тип связи аналогичен обычной гликозидной связи и известен как *N-гликозидная связь*, а сами гликозиды – как N-гликозиды или *нуклеозидами* (рис 30, 31).

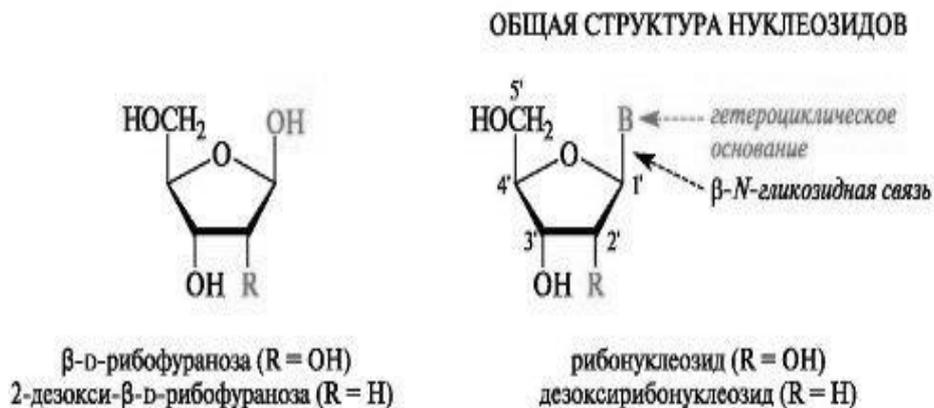


Рис. 30. Структура нуклеозидов

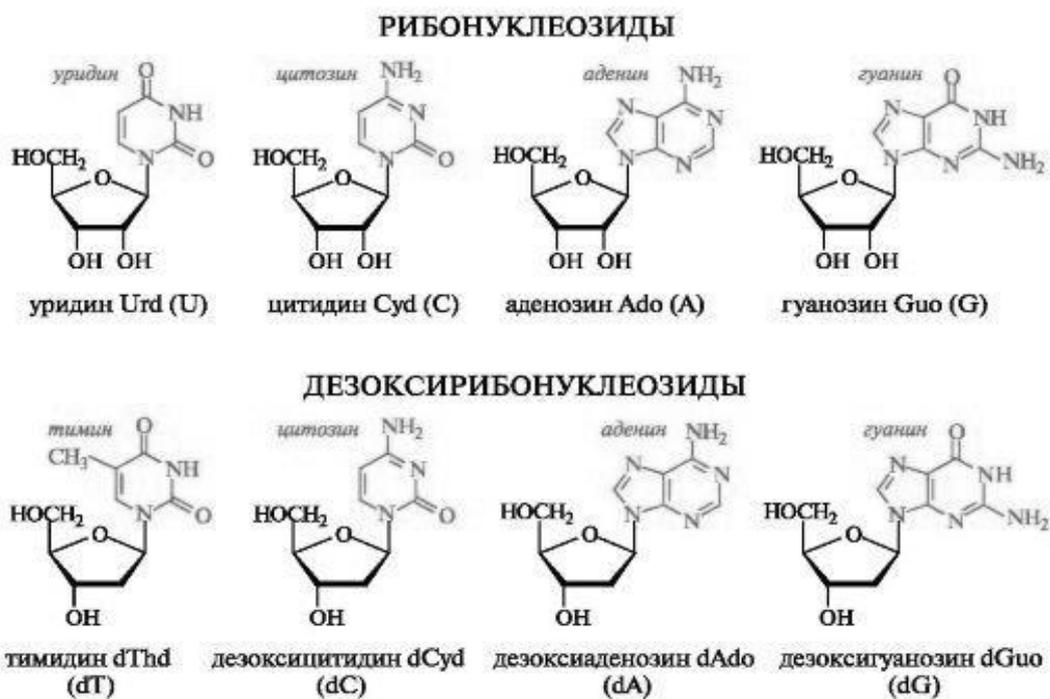


Рис. 31. Рибо- и дезоксирибонуклеозиды

*Нуклеотидами называют фосфаты нуклеозидов.* Фосфорная кислота обычно этерифицирует спиртовый гидроксил при С-5' или С-3' в остатке рибозы (рибонуклеотиды) или дезоксирибозы (дезоксирибонуклеотиды) (рис. 32).

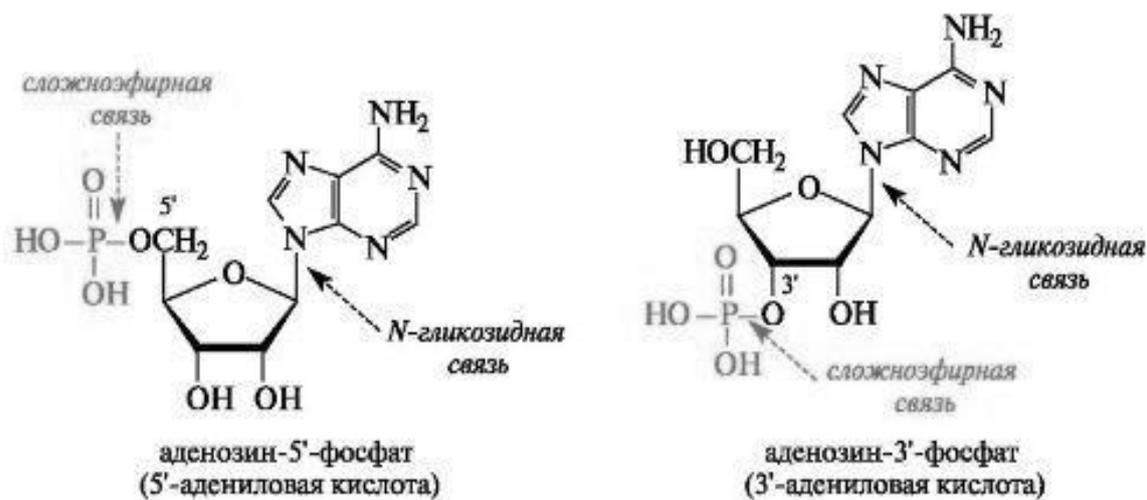
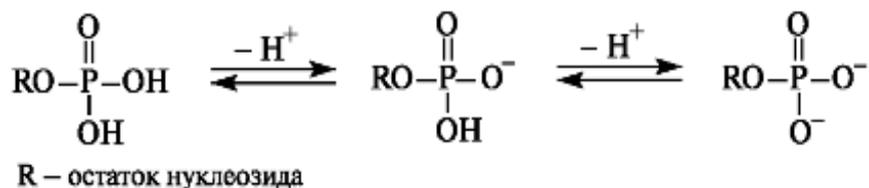


Рис. 32. Структура нуклеотидов

За счет фосфатного остатка нуклеотиды проявляют свойства двухосновной кислоты и в физиологических условиях при pH ~7 находятся в полностью ионизированном состоянии.



Для нуклеотидов используют два вида названий. Одно включает наименование нуклеозида с указанием положения в нем фосфатного остатка, например, аденозин-3'-фосфат, уридин-5'-фосфат; другое строится с добавлением сочетания **-иловая кислота** к названию остатка пиримидинового основания, например, 5'-уридиловая кислота, или пуринового основания, например 3'-адениловая кислота.

По отношению к свободным нуклеотидам в биохимической литературе широко используют их названия как монофосфатов с отражением этого признака в сокращенном коде, например АМФ (или АМФ) для аденозин-5'-фосфата и т. Д. (табл. 6).

Таблица 6

Названия нуклеозидов и нуклеотидов

Азотистое основание	Пентоза	Нуклеозид	Нуклеотид	Однбуквенный код
<b>РНК</b>				
Аденин	Рибоза	Аденозин	Аденозинмонофосфат (АМФ или АМФ)	А
Гуанин	Рибоза	Гуанозин	Гуанозинмонофосфат (ГМФ или GMP)	G
Урацил	Рибоза	Уридин	Уридинмонофосфат (УМФ или UMP)	U
Цитозин	Рибоза	Цитидин	Цитидинмонофосфат (ЦМФ или CMP)	C
<b>ДНК</b>				
Аденин	Дезоксирибоза	д-Аденозин	Дезоксиаденозинмонофосфат (дАМФ или dAMP)	A
Гуанин	Дезоксирибоза	д-Гуанозин	Дезоксигуанозинмонофосфат (дГМФ или dGMP)	G
Цитозин	Дезоксирибоза	д-Цитидин	Дезоксцитидинмонофосфат (дЦМФ или dUMP)	C
Тимин	Дезоксирибоза	д-Тимидин	Дезокситимидинмонофосфат (дТМФ или dTMP)	T

Пространственная структура нуклеиновых кислот состоит из первичной, вторичной и третичной структур.

**Первичная структура нуклеиновых кислот – это порядок чередования нуклеотидов в полинуклеотидной цепи, связанных между собой 3',5'-фосфодиэфирной связью.**

Образующиеся полимеры имеют фосфатный остаток на 5'-конце и свободную -ОН-группу пентозы на 3'-конце (рис. 33). Штрихами обозначают углеродные атомы пентозы для того, чтобы отличать их от атомов, входящих в азотистые основания.

Для краткого изображения последовательности нуклеотидов в нуклеиновых кислотах пользуются однобуквенным кодом. При этом запись осуществляют: 5<sup>1</sup> – конец (голова) – фосфатная группа; 3<sup>1</sup> – конец (хвост) – свободная OH группа.

Линейную последовательность дезоксирибонуклеотидов в цепи ДНК сокращенно записывают с помощью буквенного кода: - A – G – C – T – A - от 5<sup>1</sup> – к 3<sup>1</sup> – концу

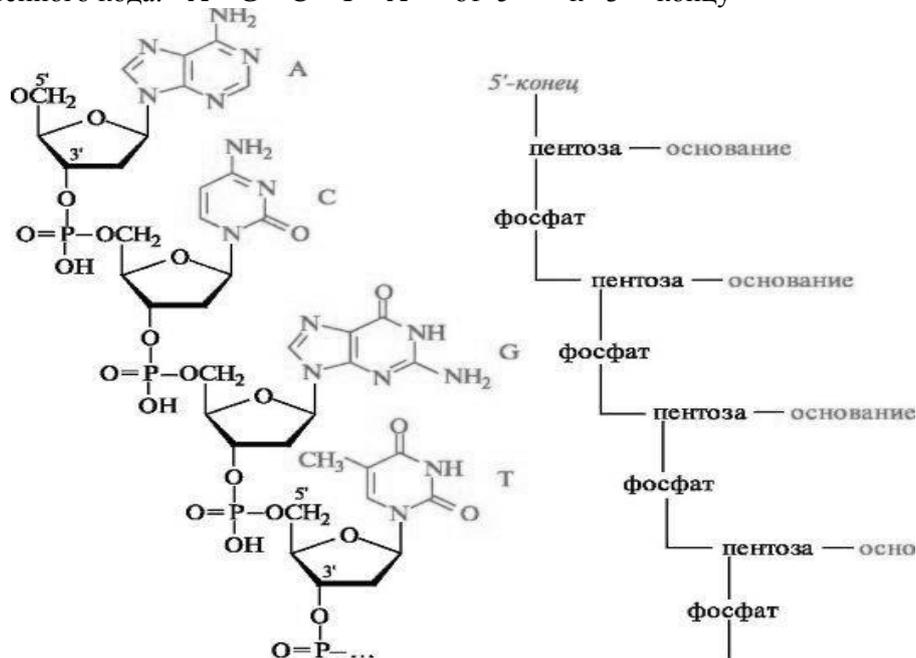


Рис. 33. Первичная структура нуклеиновых кислот:  
 X = Н для ДНК, X = ОН для РНК  
 Связи в молекуле нуклеиновых кислот:  
 1 – 5'-фосфоэфирная; 2 – N-гликозидная; 3 – 3', 5'-фосфодиэфирная

**Вторичная структура ДНК** представляет собой *правозакрученную спираль* (рис. 34), в которой две полинуклеотидные цепи расположены *антипараллельно* и удерживаются относительно друг друга за счет *водородных связей* между комплементарными азотистыми основаниями: А = Т и G = С.

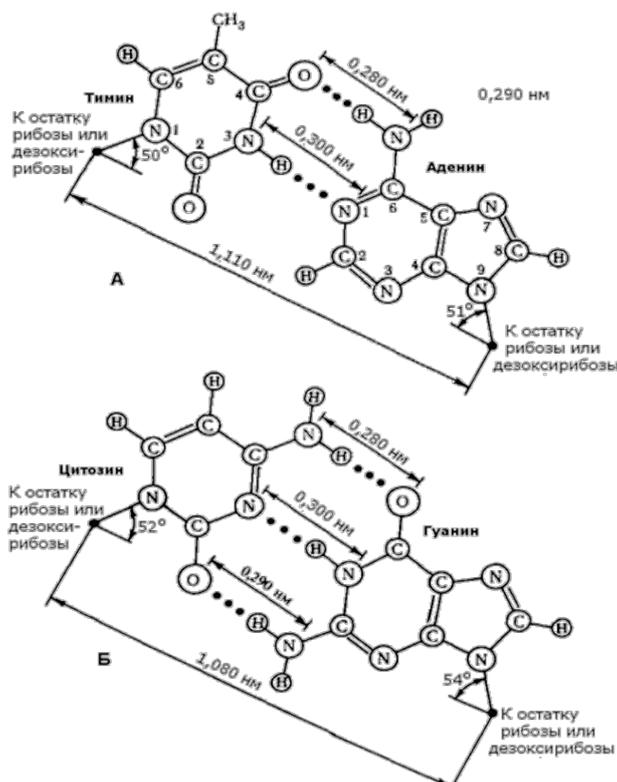


Рис. 34. Водородные связи в комплементарных основаниях

Цепи молекулы ДНК не идентичны, но **комплементарны** друг другу: если известна первичная структура одной цепи, то последовательность нуклеотидов другой цепи задается правилом комплементарности оснований: одной цепи соответствует Т – А, а С – G в другой цепи (рис. 34).

Поэтому в молекуле ДНК количество адениловых нуклеотидов равно количеству тимидиловых нуклеотидов ( $A = T$ ), а количество гуаниловых равно количеству цитидиловых нуклеотидов ( $G = C$ ).

Основания нуклеотидов обращены внутрь молекулы и лежат в одной плоскости, которая практически перпендикулярна оси спирали. Между основаниями, расположенными друг под другом, возникают **гидрофобные** взаимодействия. Дезоксирибозофосфатные остатки образуют остов спирали. На один виток спирали приходится 10 нуклеотидных пар (рис. 35).

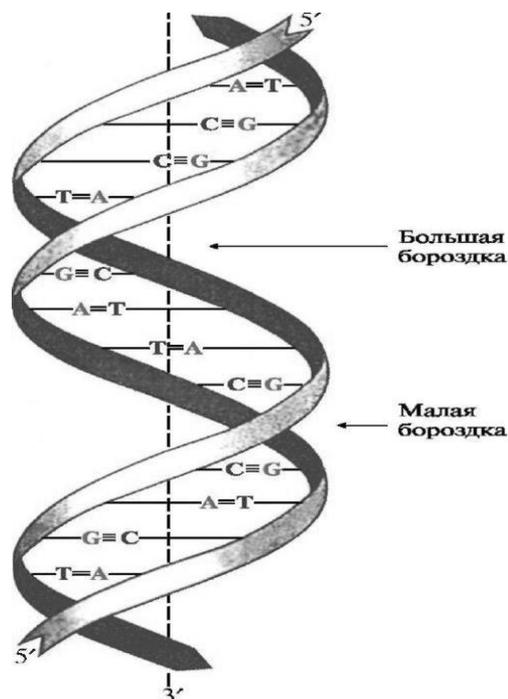


Рис. 35. Двойная спираль ДНК

#### **Правило Чаргаффа:**

1. Число пуриновых оснований равно пиримидиновым:  $A + G = T + C$
2. Соотношение молярных сумм  $A + C / G + T$  в молекуле ДНК – *величина постоянная и является видоспецифической характеристикой организма.*

Такие соотношения не свойственны РНК. Благодаря фосфатным остаткам молекула ДНК несет сильный отрицательный заряд. Дезоксирибоза с ее гидроксильными группами также проявляет гидрофильные свойства. Азотистые основания, наоборот, почти не растворимы и имеют ярко выраженные гидрофобные свойства.

**Третичная структура ДНК** формируется в результате ее взаимодействия с белками. Каждая молекула ДНК упакована в отдельную хромосому, в составе которой разнообразные белки связываются с отдельными участками ДНК и обеспечивают суперспирализацию и компактизацию молекулы. В период покоя комплексы ДНК с белками распределены равномерно по объему ядра, образуя **хроматин**. Белки хроматина включают две группы: гистоны и негистоновые белки.

**Гистоны** – небольшие белки с молекулярной массой от 11000 до 22000 Д и высоким содержанием лизина и аргинина. Четыре типа гистонов в количестве восьми молекул (по две каждого вида) образуют комплекс – **нуклеосомный кор**. Этот комплекс за счет ионных связей взаимодействует с отрицательно заряженными фосфатными группами участка ДНК длиной около 146 нуклеотидных пар (примерно 1,75 витка вокруг кора) и образует структуру, называемую **нуклеосомой** (рис. 36).

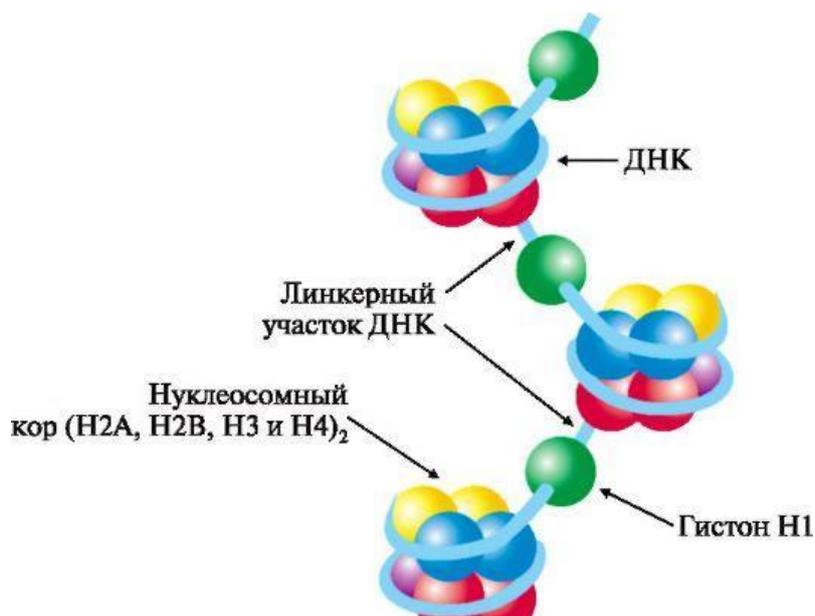


Рис. 36. Структура нуклеосом

Между нуклеосомами находятся участки ДНК длиной около 30 нуклеотидных пар – *линкерные участки*, к которым присоединяются молекулы гистона Н1.

**Негистоновые белки** представлены множеством ферментов и белков, участвующих в синтезе ДНК, РНК, регуляции этих процессов и компактизации ДНК.

**Пространственная структура РНК.** В клетке существует три вида РНК: рибосомная (рРНК), транспортная (тРНК) и матричная (мРНК), каждая из которых выполняет свою особую функцию в синтезе белка.

мРНК составляет около 2% всей РНК клетки, содержит 400-6000 нуклеотидов и является комплементарной копией ДНК и имеет односпиральное строение. мРНК переносит генетическую информацию от ДНК, находящейся в клеточном ядре, в цитоплазму.

рРНК составляет около 80% всей РНК клетки, содержит 120-5000 нуклеотидов встречается в различных формах и образует с белком *рибосому* – сложный надмолекулярный комплекс, в котором происходит биосинтез белка.

Наиболее сложное строение имеют тРНК (рис. 37), которые высокоспецифичны и для каждой аминокислоты существует своя тРНК.

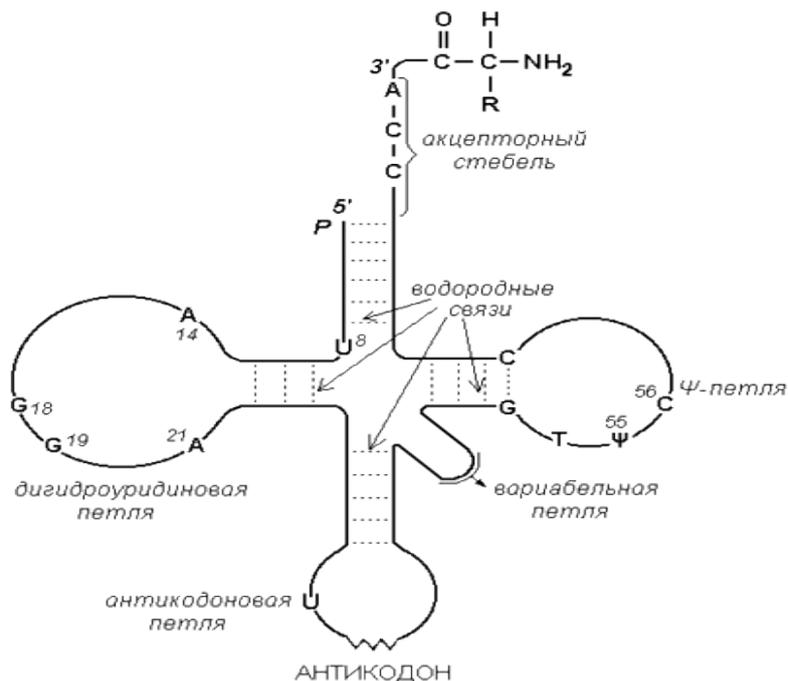


Рис. 37. Структура тРНК

Молекула тРНК небольшая, содержащая в качестве *первичной структуры* примерно 75 нуклеотидов и имеющая молекулярную массу около 25000. Характерной особенностью тРНК является наличие в них редких (минорных) оснований (псевдоуридин, дигидроуридин).

**Вторичная структура** тРНК имеет вид «клеверного листа». Все тРНК начинаются с фосфорилированного 5'-конца и первым основанием обычно является гуанин (G). На 3'-ОН-свободном конце находятся обычно три основания: А,С,С. Именно этот конец называют **акцепторным** – здесь присоединяются переносимые остатки аминокислот.

Односпиральные участки молекулы тРНК называются **концами**, или **ветвями**, а участки, где пары оснований соединяются водородными связями и образуют вторичную структуру, называются **петлями**. Выделяют **D-**, **T-** и **антикодоновые ветви**, содержащие специфический участок – **антикодон**.

Петли состоят из двух антипараллельных цепей, вследствие чего в петлях возникают участки двойной спирали. Антикодон молекулы тРНК – это три последовательных нуклеотида, с помощью которых распознается соответствующий комплементарный кодон матричной РНК.

**Третичная структура** тРНК напоминает вытянутую букву Г и не так компактна, как глобулярные белки той же молекулярной массы (рис. 38).

### СТРУКТУРА тРНК

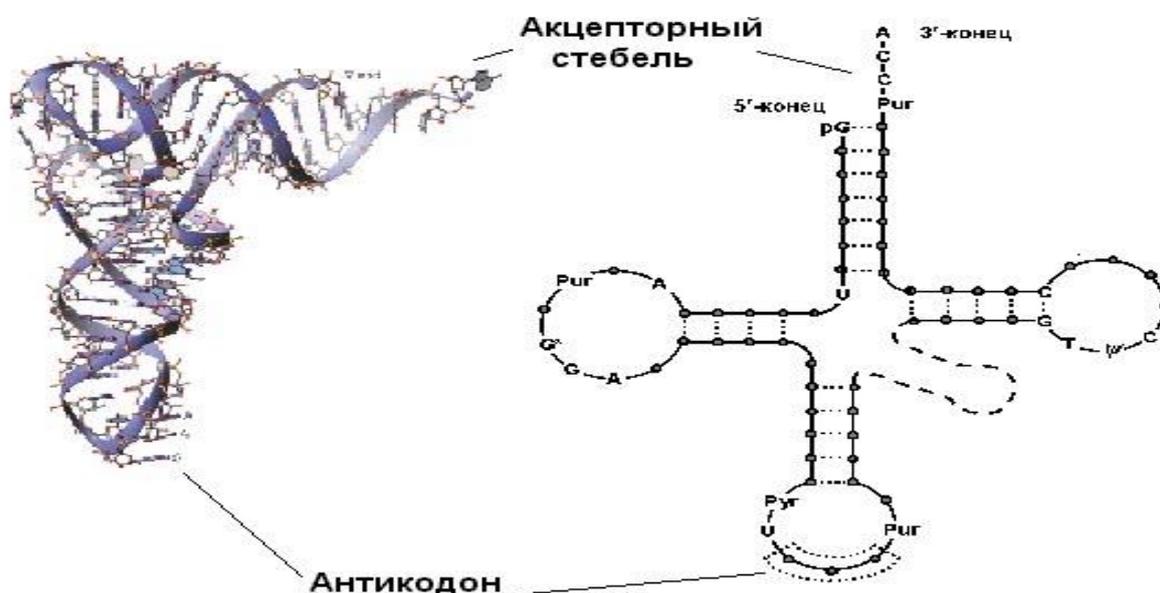


Рис. 38. Третичная структура тРНК

#### Вопросы для самоконтроля:

1. Напишите уравнения стадий, через которые проходит гидролиз адениндеоксирибоуклеорида до дезоксирибозы и аденина. В каком растворе — кислом или щелочном — реакция будет проходить быстрее?
  2. В ДНК содержится четыре различных основания – аденин (А), цитозин (С), гуанин (G) и тимин (Т). Обсудите возможность кодирования каждой из 20 аминокислот при синтезе белка 24 «словами»: АСГТ, АСТГ, АГСТ, АГТС, АТСГ, АТТСА, САГТ, САТГ и т.д. С какими проблемами придется столкнуться при построении и использовании кода на основе приведенных выше «слов»? Напишите структуру динуклеотида.
  3. Известно РНК появилась раньше дезоксирибонуклеиновой кислоты. Как появилась ДНК?
  4. Основания в ДНК гидрофобны, объясните, как это влияет на структуру двуцепочечной ДНК.
  5. Назовите основные характеристики двойной спирали ДНК. Это лево- или правозакрученная спираль? Сколько пар оснований формируют один виток спирали ДНК?
  6. Объясните, что означает антипараллельность цепей ДНК в двойной спирали.
  7. Объясните, что означает направление 5'—>3' в линейной молекуле ДНК.
- Если вы видите структуру ДНК, записанную как САТАGССG, что она означает, исходя из структуры двойной спирали и полярности ее цепей? Объясните свой ответ.

### 3.2. Катаболизм нуклеиновых кислот

Пищевые нуклеопротеины, попадая в организм человека, в желудке денатурируют под действием соляной кислоты желудочного сока и отщепляют белковый компонент (рис. 39). Далее полинуклеотидная часть этих молекул гидролизуется в кишечнике до мононуклеотидов.

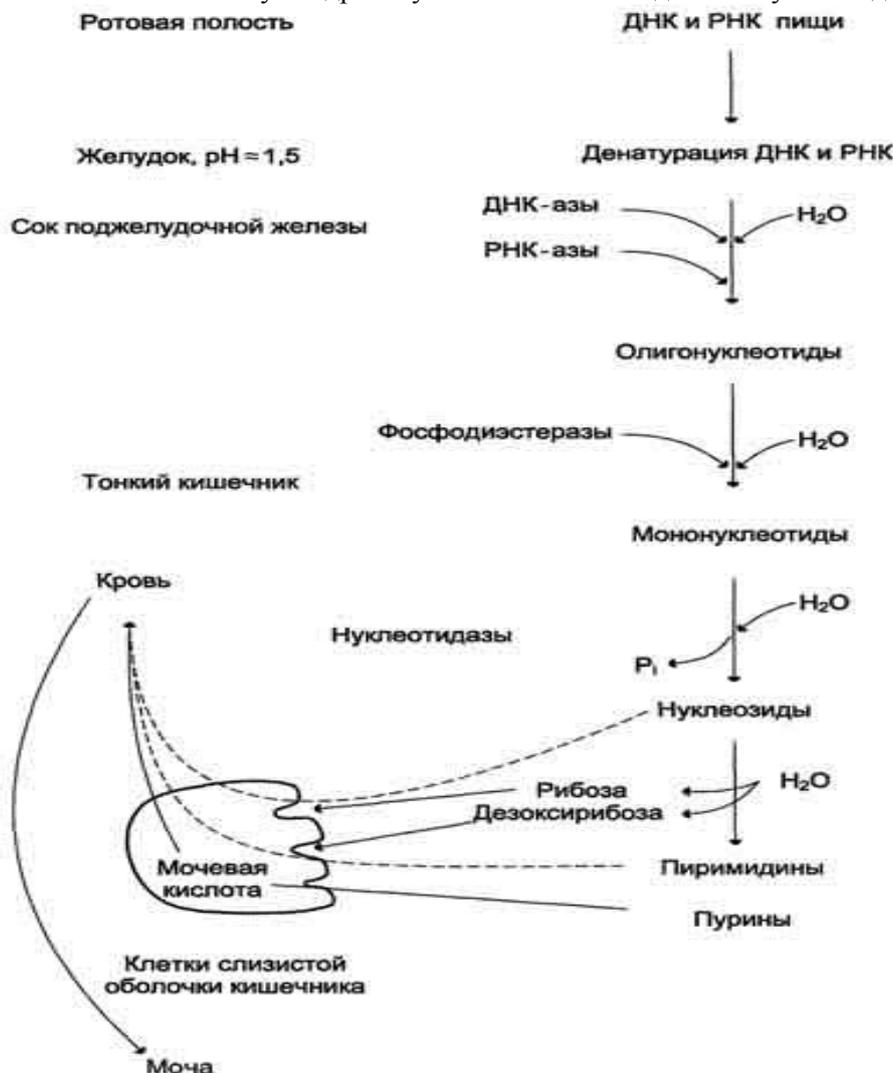


Рис. 39. Переваривание нуклеиновых кислот

В расщеплении нуклеиновых кислот принимают участие ферменты ДНК-азы и РНК-азы панкреатического сока, которые, будучи эндонуклеазами, гидролизуют макромолекулы до олигонуклеотидов. Последние под действием фосфодиэстераз панкреатической железы расщепляются до смеси 3'- и 5'-мононуклеотидов.

Нуклеотидазы и неспецифические фосфатазы гидролитически отщепляют фосфатный остаток нуклеотидов и превращают их в нуклеозиды, которые либо всасываются клетками тонкого кишечника, либо расщепляются нуклеозидфосфорилазами кишечника с образованием рибозо- или дезоксирибозо-1-фосфата, пуриновых и пиримидиновых оснований.

Пищевые пурины и пиримидины не являются незаменимыми пищевыми факторами и очень мало используются для синтеза нуклеиновых кислот тканей. В энтероцитах обнаружена высокая активность ксантиноксидазы – фермента, который большую часть пуринов, поступающих в клетки, превращает в мочевую кислоту, удаляющуюся с мочой. Пиримидиновые основания, не успевшие поступить в энтероциты, под действием микрофлоры кишечника расщепляются до  $\text{NH}_3$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\beta$ -аланина и  $\beta$ -аминоизобутирата.

### 3.3. Анаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов

В различных клетках организма синтезируется до 90% пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов из простых предшественников *de novo*. Так, образуется основное количество пуриновых нуклеотидов, тогда как нуклеотиды, синтезирующиеся за счёт повторного использования азотистых оснований или нуклеозидов, составляют не более 10-20% общего фонда этих соединений. Было установлено, что в формировании кольца принимают участие аминокислоты Асп, Гли, Глн,  $\text{CO}_2$  и два одноуглеродных производных тетрагидрофолата: метенил- $\text{N}_4$ -фолат и формил- $\text{N}_4$ -фолат.

**Этапы биосинтеза пуриновых нуклеотидов:**

**1. Образование 5-фосфорибозил-1-дифосфата.** Фосфорибозилдифосфат (ФРДФ), или фосфорибозилпирофосфат (ФРПФ) занимает центральное место в синтезе как пуриновых, так и пиримидиновых нуклеотидов (рис. 40).

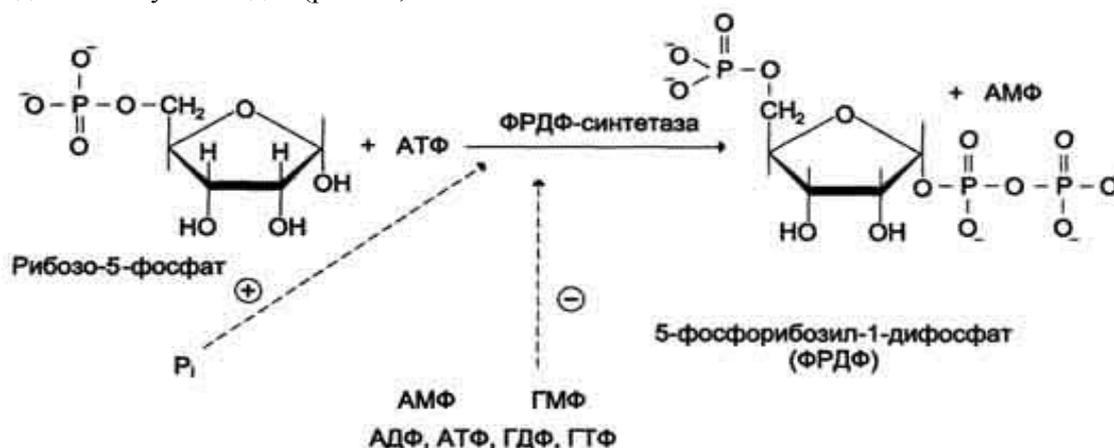


Рис. 40. Образование 5-фосфорибозил-1-дифосфата.

Он образуется за счёт переноса  $\beta, \gamma$ -пирофосфатного остатка АТФ на рибозо-5-фосфат в реакции, катализируемой ФРДФ-синтетазой.

Источниками рибозо-5-фосфата могут быть: пентозофосфатный путь превращения глюкозы или катаболизм нуклеозидов, в ходе которого под действием нуклеозидфосфорилазы первоначально образуется рибозо-1-фосфат, а затем с помощью соответствующей мутазы фосфатный остаток переносится в 5-положение.

ФРДФ участвует не только в синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов из простых предшественников (т.е. *de novo*), но используется на образование пуриновых нуклеотидов по "запасному" пути и в синтезе нуклеотидных коферментов.

**2. Биосинтез пуриновых нуклеотидов DE NOVO.** Сборка пуринового гетероцикла осуществляется на остатке рибозо-5-фосфата при участии различных доноров углерода и азота (рис. 41).

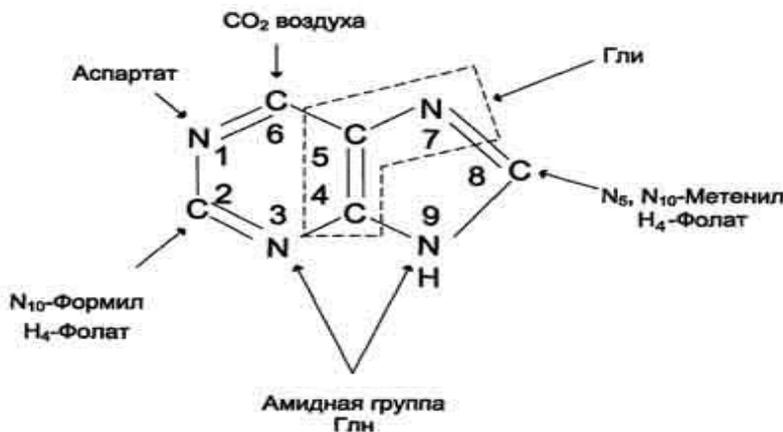


Рис. 41. Происхождение атомов С и N в пуриновом кольце

Включение простых предшественников в пуриновое кольцо с образованием **инозин-5'-монофосфата (ИМФ)**. Первая специфическая реакция образования пуриновых нуклеотидов – перенос амидной группы глутамин на ФРДФ с образованием 5-фосфорибозил-1-амин (рис. 42).

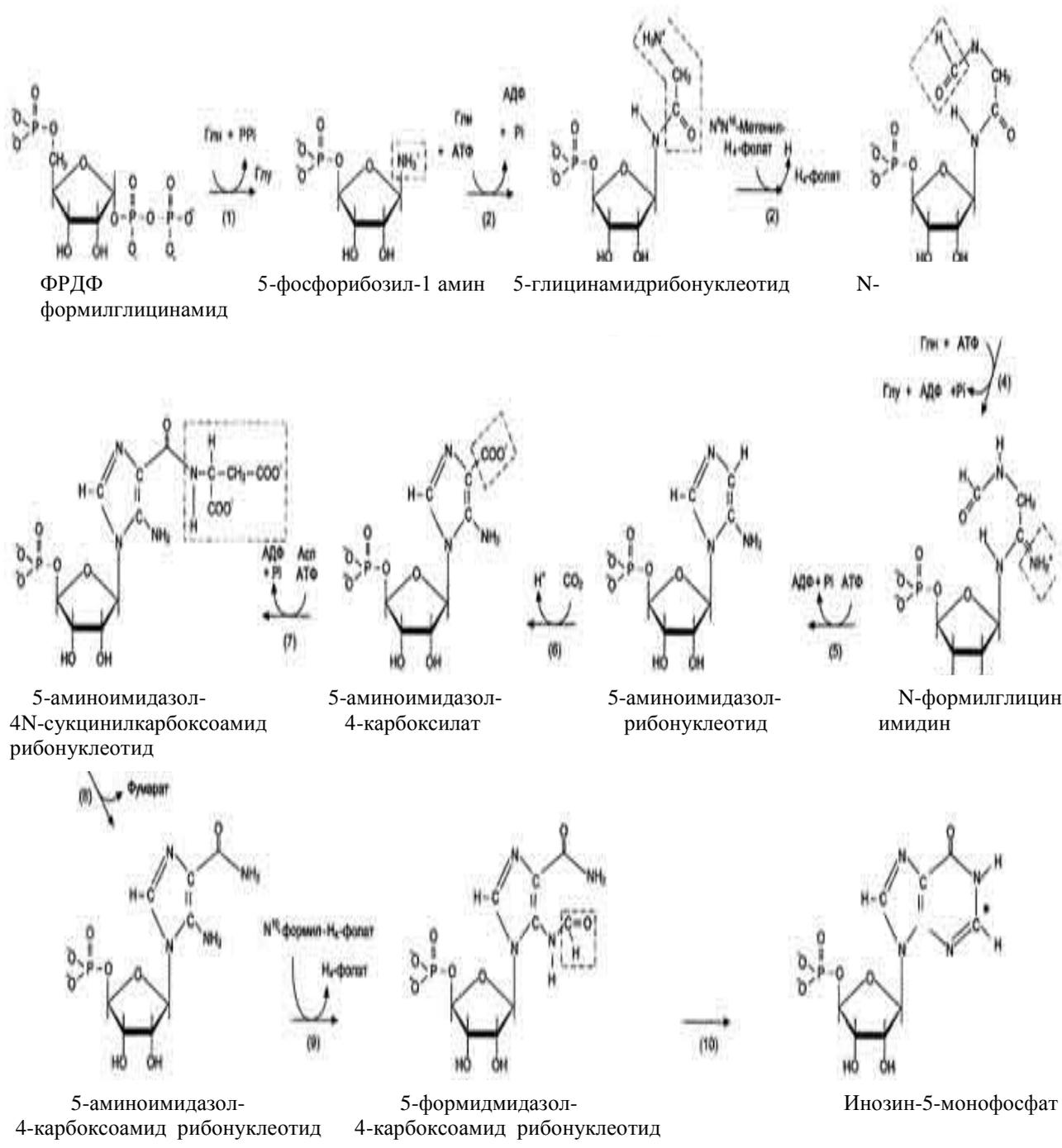


Рис. 42. Синтез пуриновых нуклеотидов *de novo*

Эту реакцию катализирует фермент амидофосфорибозилтрансфераза. При этом формируется β-N-гликозидная связь. Затем к аминогруппе 5-фосфорибозил-1-амина присоединяются остаток глицина, N<sup>5</sup>, N<sup>10</sup>-метенил-H<sub>4</sub>-фолата ещё одна амидная группа глутамина, диоксид углерода, аминогруппа аспартата и формильный остаток N<sup>10</sup>-формил H<sub>4</sub>-фолата. Результатом этой десятистадийной серии реакций является образование первого пуринового нуклеотида – **инозин-5'-монофосфата** (ИМФ), на синтез которого затрачивается не менее шести молекул АТФ. В синтезе пуриновых нуклеотидов *de novo* это реакции 3, 4 и 6, 7, 8 и 10-11 соответственно.

ИМФ в основном используется на синтез АМФ или ГМФ. Небольшое количество этого продукта обнаруживается также в тРНК в качестве одного из минорных нуклеотидов.

**Преобразование ИМФ в АМФ и ГМФ** в обоих случаях включает 2 стадии и идёт с затратой энергии (рис. 43).

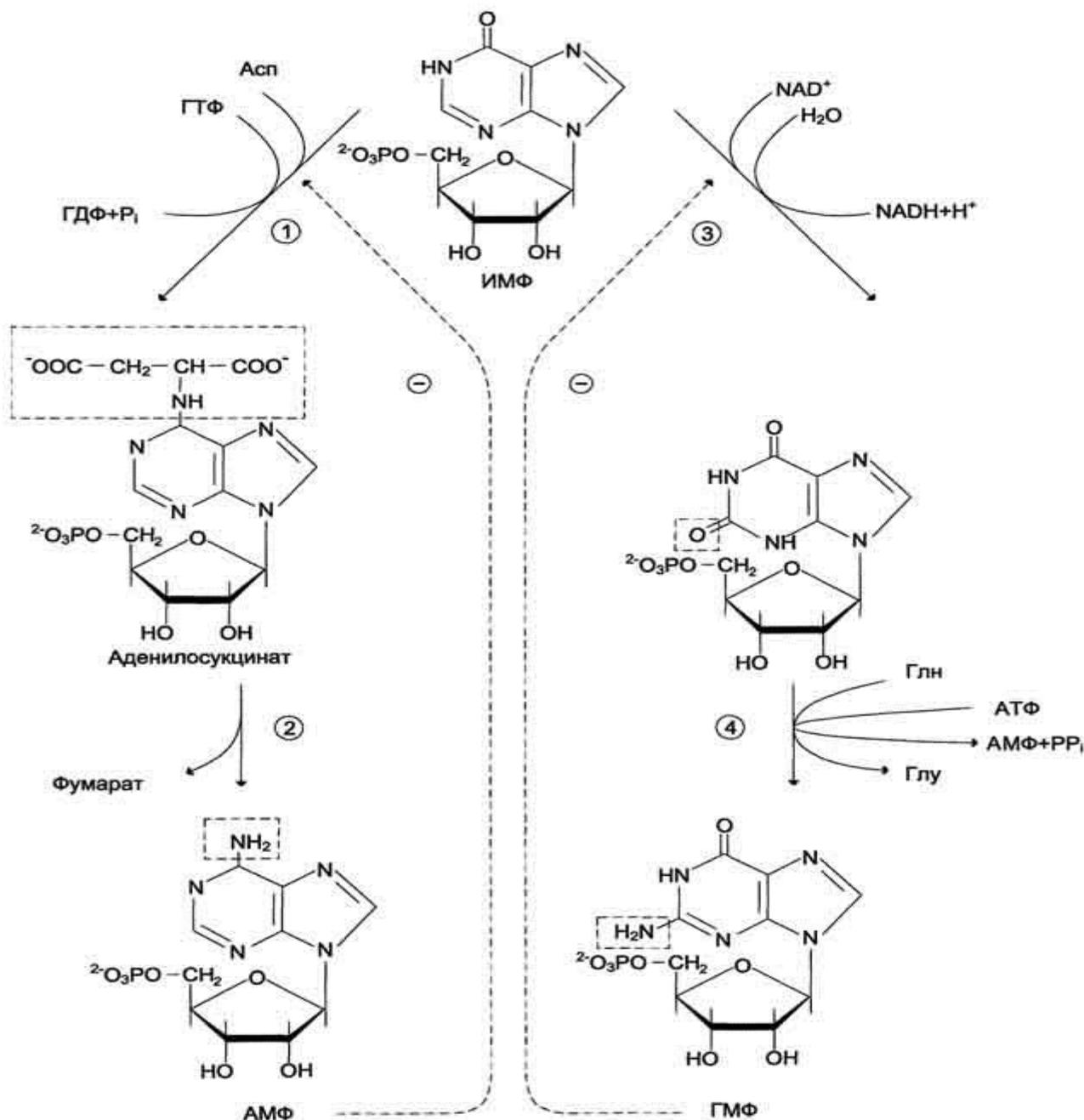


Рис. 43. Синтез АМФ и ГМФ из ИМФ: 1 - аденилосукцинатсинтетаза; 2 – аденилосукциназа; 3 – ИМФ-дегидрогеназа; 4 – ГМФ-синтетаза

**Аденилосукцинатсинтетаза**, используя энергию ГТФ, присоединяет аспарат к ИМФ с образованием аденилосукцината, который в реакции, катализируемой аденилосукциназой, отщепляет фумарат и превращается в АМФ.

Второй пуриновый нуклеотид (ГМФ) образуется также во 2-й стадии. Сначала ИМФ окисляется  $NAD^+$ -зависимой ИМФ-дегидрогеназой с образованием ксантозин-5'-монофосфата (КМФ). Последующее трансамидирование гидроксильной группы при С<sub>2</sub>-пуринового кольца КМФ катализирует ГМФ-синтетаза с использованием амидной группы Глн и энергии АТФ.

При образовании пуриновых нуклеотидов ГТФ расходуется на синтез АМФ, а АТФ – на синтез ГМФ. Перекрёстное использование пуриновых нуклеозидтрифосфатов на образование конечных продуктов синтеза помогает поддерживать в клетках баланс адениловых и гуаниловых нуклеотидов.

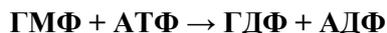
Печень – основное место образования пуриновых нуклеотидов, откуда они могут поступать в ткани, не способные к их синтезу: эритроциты, ПЯЛ и частично мозг.

**3. Образование нуклеозид ди- и трифосфатов.** В образовании нуклеиновых кислот, некоторых коферментов и во многих синтетических процессах нуклеотиды используются в виде ди- и трифосфатов, синтез которых катализируют ферменты класса трансфераз. АМФ и ГМФ

превращаются в нуклеозиддифосфаты (НДФ) с помощью специфичных к азотистому основанию нуклеозидмонофосфаткиназ (НМФ-киназ) и АТФ. Так, аденилаткиназа катализирует реакцию:

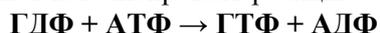


а гуанилаткиназа:



Аденилаткиназа особенно активна в печени и мышцах, где высок уровень энергоёмких процессов. Функция этого фермента заключается в том, чтобы поддерживать в тканях равновесие фонда адениловых нуклеотидов: АМФ, АДФ и АТФ.

Взаимопревращения нуклеозиддифосфатов и нуклеозидтрифосфатов осуществляет нуклеозиддифосфаткиназа. Этот фермент в отличие от НМФ-киназ обладает широкой субстратной специфичностью и, в частности, может катализировать реакцию:



Превращение АДФ в АТФ происходит, в основном, за счёт окислительного фосфорилирования или в реакциях субстратного фосфорилирования гликолиза или цитратного цикла.

#### **4. "Запасные" пути синтеза пуриновых нуклеотидов (реутилизация азотистых оснований и нуклеозидов)**

Огромные затраты энергии для синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* не способны полностью обеспечить субстратами синтез нуклеиновых кислот в период раннего роста ребёнка. Потребность в большом количестве нуклеотидов привела к развитию "запасных" путей синтеза этих "дорогих" молекул. Наибольшее значение в этом процессе имеют ферменты, осуществляющие превращение пуринов в мононуклеотиды с использованием ФРДФ как донора остатка фосфорибозы.

**Синтез АМФ и ГМФ из аденина и гуанина.** ФРДФ-зависимое фосфорилирование пуринов катализируют 2 фермента: *аденинфосфорибозилтрансфераза*, ответственная за образование АМФ и *гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансфераза*, катализирующая образование ИМФ и ГМФ из гипоксантина и гуанина соответственно.

Однако в организме при любых ситуациях этот путь синтеза пуриновых нуклеотидов, получивший название "путь спасения", имеет вспомогательное значение.

**Нуклеозидкиназы.** Нуклеозиды, получающиеся при катаболизме нуклеиновых кислот из нуклеотидов под действием нуклеотидаз, могут повторно фосфорилироваться, образуя нуклеозид-5'-монофосфаты за счёт переноса  $\gamma$ -фосфатного остатка АТФ на соответствующий субстрат. У млекопитающих такой путь пополнения запасов пуриновых нуклеотидов в клетке не имеет существенного значения. Основным ферментом этой группы является аденозинкиназа, которая ускоряет реакцию:



Из всех способов реутилизации пуринов наиболее активна гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазная реакция, поскольку ИМФ, образующийся в этой реакции, вовлекается в синтез АМФ и ГМФ. Использование гипоксантина и гуанина по запасному пути становится жизненно важным событием в клетках, не способных к синтезу пуриновых нуклеотидов *de novo*. Значение аденинфосфорибозилтрансферазы в повторном использовании аденина менее существенно. По сравнению с аденозином количество аденина в клетках мало, а первый возвращается в фонд нуклеотидов с помощью аденозинкиназы.

**5. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов.** Основным показателем, от которого зависит синтез пуриновых нуклеотидов, служит концентрация ФРДФ, которая, в свою очередь, зависит от скорости его синтеза, утилизации и разрушения. Количество ФРДФ определяется доступностью рибозо-5-фосфата и активностью ФРДФ синтетазы - фермента, чувствительного к концентрации фосфата и пуриновых нуклеотидов. Внутриклеточная концентрация ФРДФ строго регулируется и обычно низкая. ФРДФ синтетаза - аллостерический фермент. Он активируется неорганическим фосфатом ( $P_i$ ) и ингибируется пуриновыми нуклеозид- моно- ди- и трифосфатами, которые по эффективности ингибирования распределяются в следующем порядке:



ФРДФ служит не только субстратом, но и аллостерическим активатором второй реакции синтеза пуринонуклеотидов *de novo*, которую катализирует амидофосфорибозилтрансфераза (рис. 44).

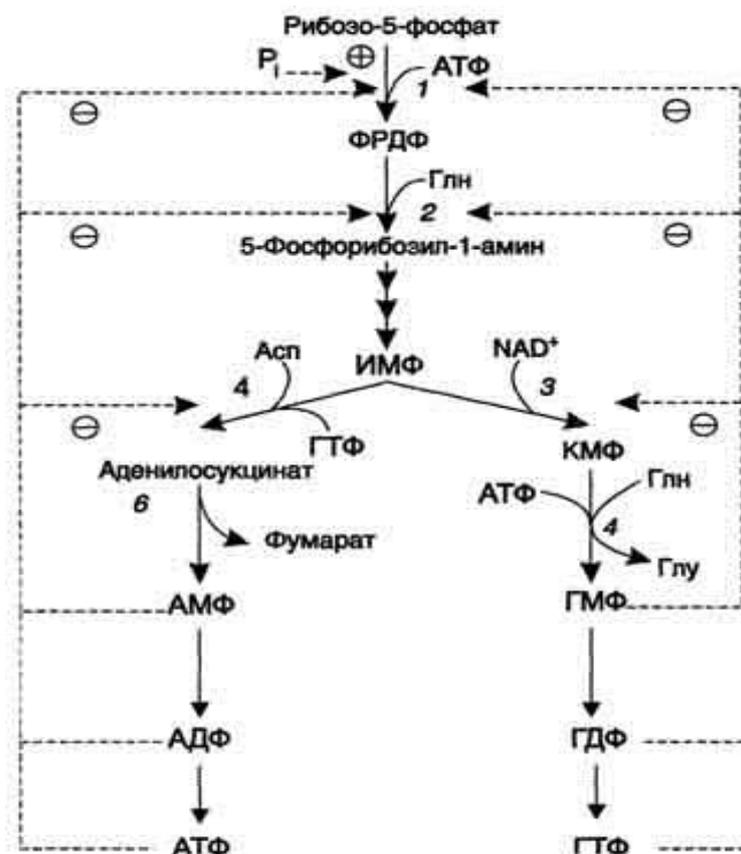


Рис. 44. Регуляция синтеза пуриновых нуклеотидов :  
 1 - ФРДФ синтетаза; 2 - амидофоофорибозилтрансфераза;  
 3 - ИМФ дегидрогеназа; 4 - аденилосукцинатсинтетаза.

Пуриновые нуклеотиды, особенно АМФ и ГМФ по механизму отрицательной обратной связи ингибируют амидофосфорибозилтрансферазу, которая катализирует первую специфическую реакцию синтеза пуриновых нуклеотидов.

Метаболическая цепь образования АМФ и ГМФ регулируется также в месте её разветвления: АМФ ингибирует аденилосукцинатсинтетазу, а ГМФ – реакцию образования ксантиловой кислоты, которую катализирует ИМФ дегидрогеназа. Перекрёстная регуляция путей использования ИМФ служит для того, чтобы снизить синтез одного пуринового нуклеотида при дефиците другого.

Фонд пиримидиновых нуклеотидов, подобно пуриновым нуклеотидам, в основном синтезируется из простых предшественников, и только 10-20% от общего количества образуется по "запасным" путям из азотистых оснований или нуклеозидов.

**Образование пиримидиновых нуклеотидов.** В отличие от синтеза пуринов, где формирование гетероциклического основания осуществляется на остатке рибозо-5-фосфата, пиримидиновое кольцо синтезируется из простых предшественников: глутамина,  $\text{CO}_2$  и аспарагиновой кислоты и затем связывается с рибозо-5-фосфатом, полученным от ФРДФ.

Процесс протекает в цитозоле клеток. Синтез ключевого пиримидинового нуклеотида – УМФ идёт с участием трех ферментов, два из которых полифункциональны.

**1. Образование дигидроорота.** У млекопитающих ключевой, регуляторной реакцией в синтезе пиримидиновых нуклеотидов является синтез карбамоилфосфата из глутамина,  $\text{CO}_2$  и АТФ, в реакции катализируемой карбамоилфосфатсинтетазой II (КФС II), которая протекает в цитозоле клеток (рис. 45).

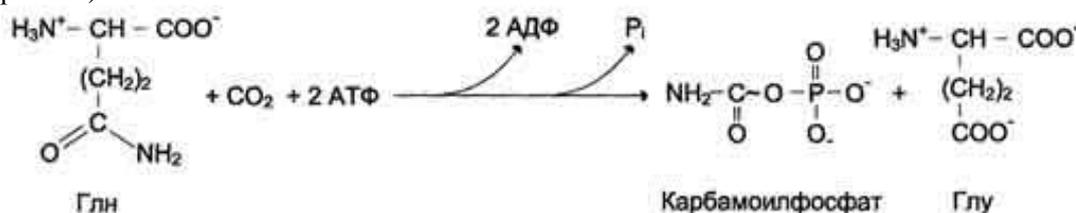


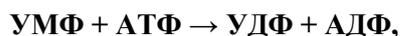
Рис. 45. Синтез карбамоилфосфата

В реакции  $\text{NH}_2$ -группа карбамоилфосфата образуется за счёт амидной группы глутамина, что отличает эту реакцию от реакции синтеза карбамоилфосфата в митохондриях в процессе синтеза мочевины из  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  и АТФ с участием КФС I.

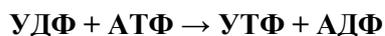
**2. Образование УМФ.** В цитозоле оротат становится субстратом бифункционального фермента – УМФ-синтазы, которая проявляет оротатфосфорибозил-трансферазную и ОМФ-декарбоксилазную активности. Первоначально фосфорибозильный остаток от ФРДФ переносится на оротат и образуется нуклеотид – оротидин-5'-монофосфат (ОМФ), декарбоксилирование которого даёт уридин-5'-монофосфат (УМФ) (рис. 46).

Таким образом, шесть последовательных реакций синтеза пиримидиновых нуклеотидов осуществляются тремя ферментами, которые кодируются в геноме человека тремя различными структурными генами.

**3. Биосинтез УДФ, УТФ и цитидиловых нуклеотидов.** УМФ под действием специфических нуклеозидмонофосфат (НМФ) и нуклеозиддифосфат (НДФ) киназ превращается в УДФ и УТФ в результате переноса  $\gamma$ -фосфатного остатка АТФ на соответствующий субстрат. НМФ-киназа катализирует следующую реакцию:



а НДФ-киназа:



ЦТФ синтаза катализирует амидирование УТФ (рис. 47): осуществляя АТФ-зависимое замещение кетогруппы урацила на амидную группу глутамина с образованием цитидин-5'-трифосфата (ЦТФ).

**4. "Запасные" пути синтеза пиримидиновых нуклеотидов.** Использование пиримидиновых оснований и нуклеозидов в реакциях реутилизации препятствует катаболизму этих соединений до конечных продуктов с расщеплением пиримидинового кольца. В ресинтезе пиримидинов участвуют некоторые ферменты катаболизма нуклеотидов. Так, уридинфосфорилаза в обратимой реакции может рибозилировать урацил с образованием уридина.



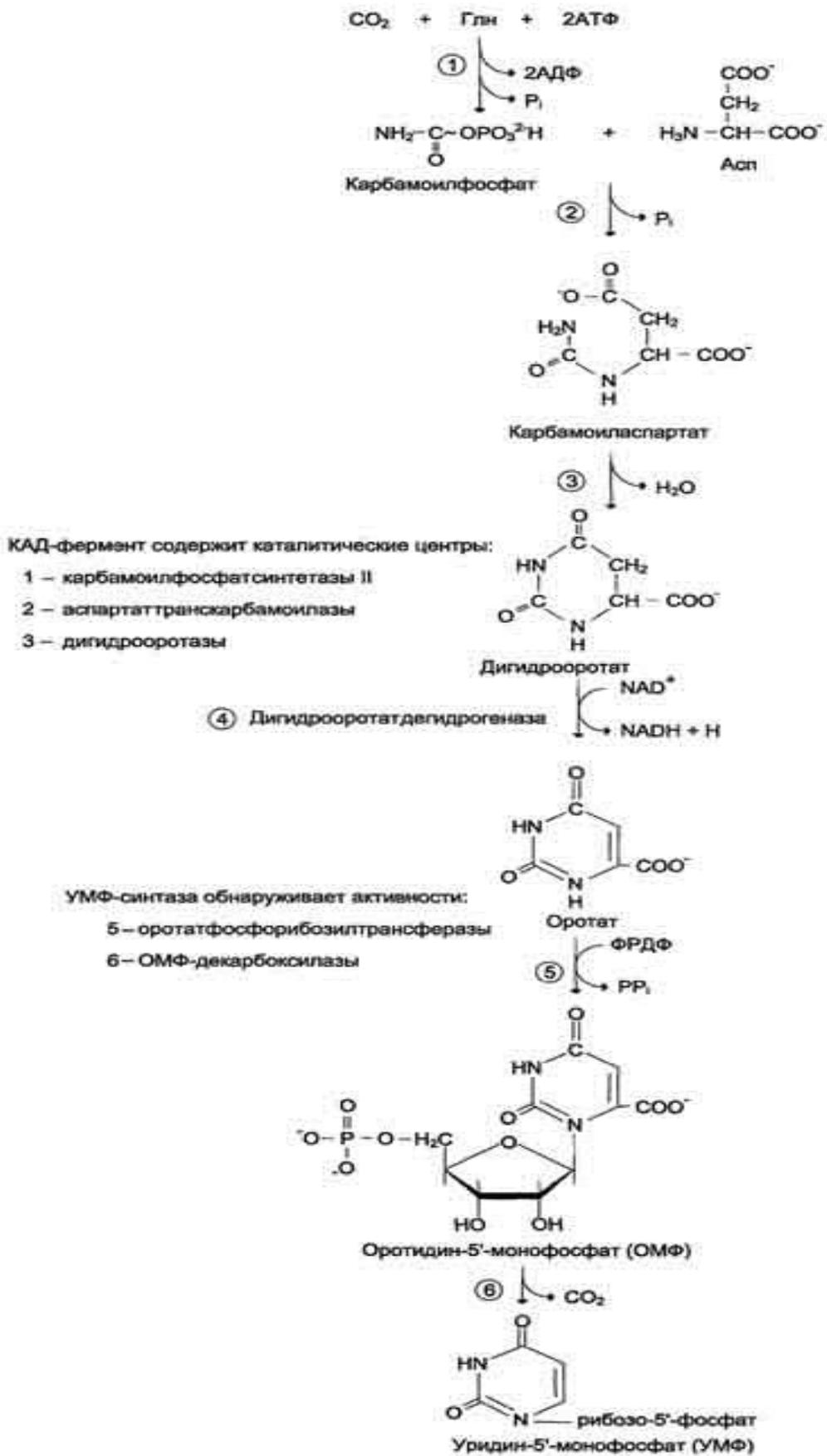


Рис. 46. Биосинтез УМФ

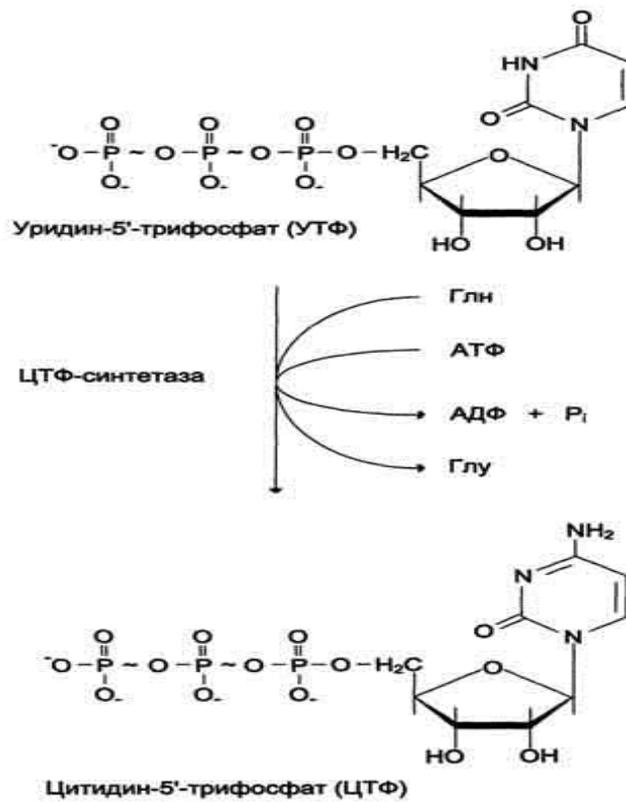
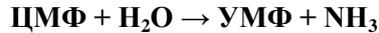


Рис. 47. Синтез ЦТФ из УТФ

Превращение нуклеозидов в нуклеотиды катализирует уридин-цитидинкиназа. Часть ЦМФ может превращаться в УМФ под действием цитидиндезаминазы и пополнять запасы уридиловых нуклеотидов.



**5. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов.** Регуляторным ферментом в синтезе пиримидиновых нуклеотидов является полифункциональный КАД-фермент. УМФ и пуриновые нуклеотиды аллостерически ингибируют, а ФРДФ активирует его карбамоилсинтетазную активность, тогда как активность аспартаттранскарбамоилазного домена ингибирует ЦТФ, но активирует АТФ (рис. 47).

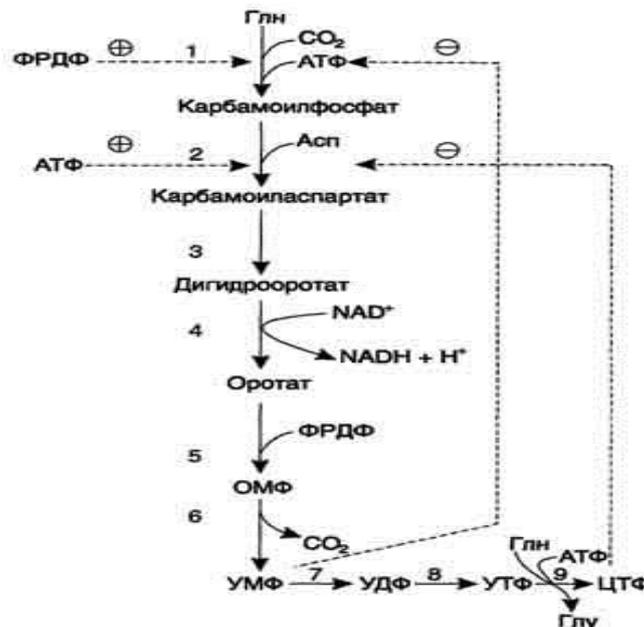


Рис. 47. Регуляция синтеза пиримидиновых нуклеотидов: КАД-фермент катализирует реакции 1, 2, 3; дигидрооротатдегидрогеназа – реакцию 4; УМФ синтетаза - реакции 5 и 6; НМФ киназа - реакцию 7; НДФ киназа - реакцию 8; ЦТФ синтетаза - реакцию 9.

Этот способ регуляции позволяет предотвратить избыточный синтез не только УМФ, но и всех других пиримидиновых нуклеотидов и обеспечить сбалансированное образование всех четырёх основных пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, необходимых для синтеза РНК.

### 3.4. Анаболизм дезоксирибонуклеотидов

Синтез дезоксирибонуклеотидов идёт с заметной скоростью только в тех клетках, которые вступают в S-фазу клеточного цикла и готовятся к синтезу ДНК и делению. В покоящихся клетках дезоксинуклеотиды практически отсутствуют.

1. **Рибонуклеотидредуктазный комплекс.** Реакцию восстановления НДФ в дезоксипроизводные катализирует рибонуклеотидредуктазный комплекс, в состав которого входят: собственно рибонуклеотидредуктаза (РНР), белок тиоредоксин и фермент тиоредоксинредуктаза, обеспечивающий регенерацию восстановленной формы тиоредоксина (рис. 48).

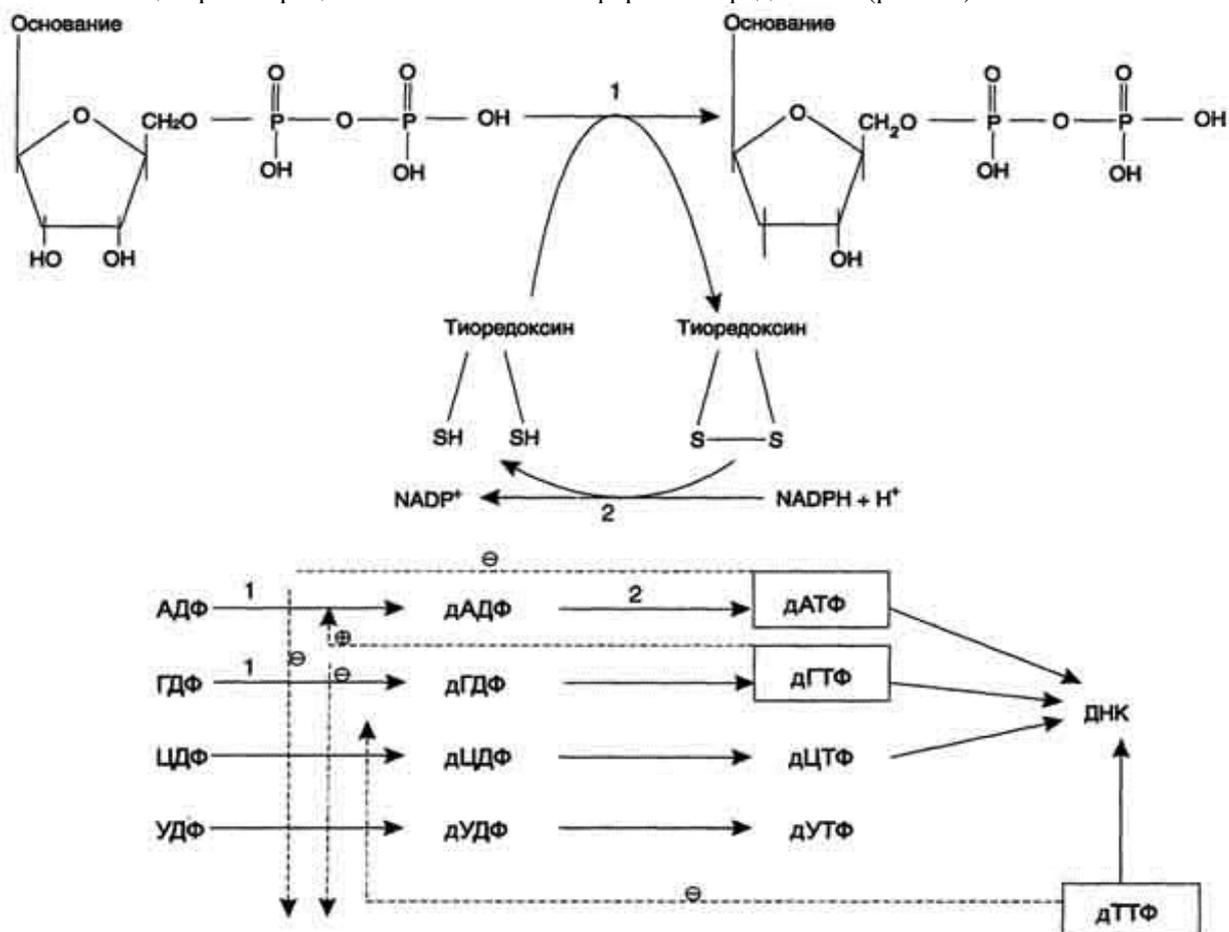
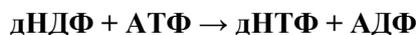


Рис. 48. Восстановление рибонуклеозиддифосфатов в 2'-дезоксирibo-нуклеозиддифосфаты: 1 - рибонуклеотидредуктаза (РНР); 2 - тиоредоксинредуктаза.

Непосредственным донором водорода в реакции восстановления рибозы служит низкомолекулярный белок тиоредоксин. В рабочую часть этого белка входят 2 SH-группы, которые, отдавая водород, окисляются с образованием дисульфидного мостика.

Второй фермент комплекса тиоредоксинредуктаза – катализирует гидрирование окисленного тиоредоксина с использованием NADPH.

При участии комплекса РНР образуются: дАДФ, дГДФ, дУДФ и дЦДФ, которые с помощью НДФ-киназ превращаются в дНТФ, 3 из которых (кроме дУДФ) непосредственно используются в синтезе ДНК.



2. **Биосинтез тимидиловых нуклеотидов.** Тимидин-5'-монофосфат (дТМФ) образуется из дУМФ в реакции, катализируемой тимидилатсинтазой (рис. 49).



Рис. 49. Синтез дТМФ из дУМФ

Образование субстрата дУМФ осуществляется (рис. 50):

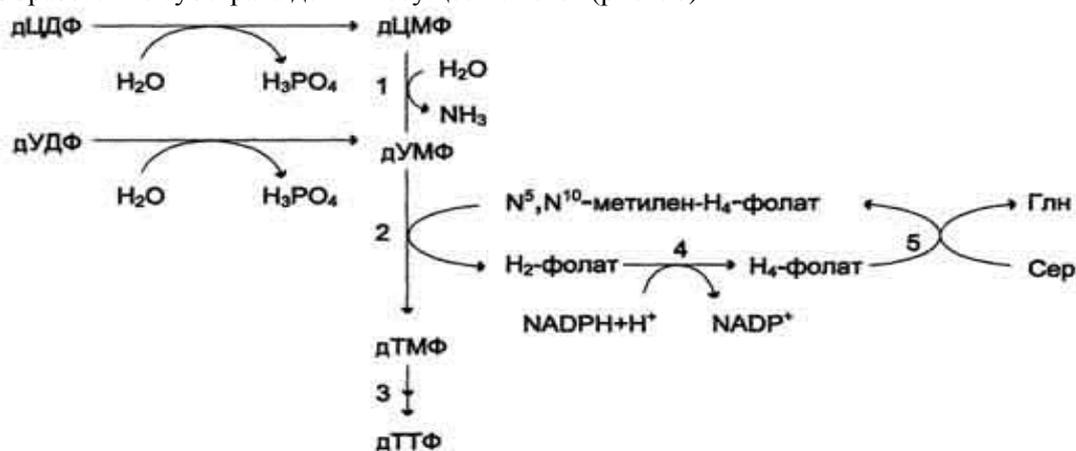


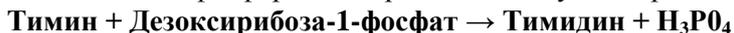
Рис. 50. Образование ТТФ из дЦДФ и дУДФ.

1 - дЦМФ дезаминаза; 2 - тимидилатсинтаза; 3 - дНМФ- и дНДФ;  
4 - дигидрофолатредуктаза; 5 - серингидроксиметилтрансфераза.

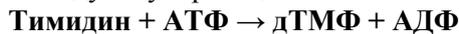
Донором метильной группы, появляющейся в 5-положении пиримидинового кольца в молекуле дТМФ, служит кофермент тимидилатсинтазы -  $N^5, N^{10}$ -метилен- $H_4$ -фолат. С помощью этого кофермента в молекулу дУМФ включается метиленовая группа и восстанавливается в метильную, используя 2 атома водорода от  $H_4$ -фолата.

Образование субстрата тимидилатсинтазной реакции – дУМФ осуществляется двумя путями: дефосфорилированием дУДФ и гидролитическим дезаминированием дЦМФ с помощью дЦМФ-деаминазы. дЦМФ получается при дефосфорилировании дЦДФ – одного из продуктов рибонуклеотидредуктазной реакции. В организме человека это основной путь образования дУМФ.

**3. "Запасные" пути синтеза дезоксирибонуклеотидов.** В быстроделющихся клетках наряду с синтезом дезоксирибонуклеотидов с помощью рибонуклеотид-редуктазного комплекса и тимидилатсинтазы активируются реакции, обеспечивающие повторное использование тимина и дезоксицитидина в реакциях, катализируемых ферментами "запасных" путей и обратимых реакций катаболизма. Под влиянием тимидинфосфорилазы протекает следующая реакция:



Тимидинкиназа катализирует следующую реакцию:



Дезоксицитидинкиназа катализирует следующую реакцию:



### 3.5. Репликация (анаболизм ДНК)

**Репликация – матричный процесс биосинтеза ДНК.** Во время репликации каждая из двух цепей ДНК служит матрицей для образования новой цепи. Субстратами и источниками энергии для синтеза ДНК являются дезоксирибонуклеозидтрифосфаты (дНТФ: дАТФ, дГТФ, дЦТФ, дТТФ).

Процесс включает следующие основные этапы.

1. Формирование репликативной вилки.
2. Синтез новых цепей ДНК.
3. Исключение праймеров. Завершение формирования отстающей цепи

**1. Формирование репликативной вилки** (рис. 51) идет при участии: **ДНК-топоизомеразы**, которая является «обратимой нуклеазой». Сначала фермент разрывает 3',5'-фосфодиэфирную связь в одной из цепей ДНК

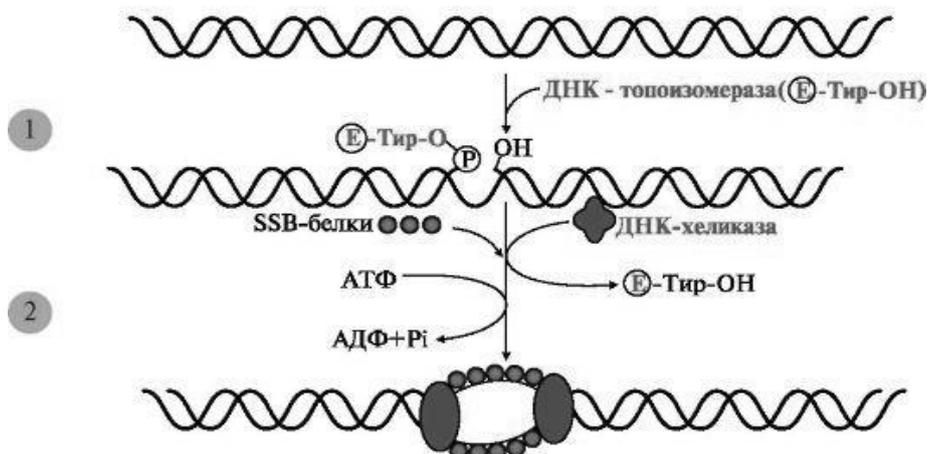


Рис. 51. Участие ДНК-топоизомеразы в образовании репликативной вилки:

- 1 - фермент расщепляет 3',5'-фосфодиэфирную связь в одной из цепей ДНК и присоединяется к 5'-концу в точке разрыва;
- 2 - в область разрыва цепи присоединяются две молекулы ДНК-хеликазы и обеспечивают локальное разделение двойной спирали ДНК.

ДНК-топоизомераза восстанавливает расщепленную 3',5'-фосфодиэфирную связь и отделяется, а к одноцепочечным участкам присоединяются SSB белки и присоединяется к 5'-концу в точке разрыва, вызывая сброс суперспиралей ДНК-хроматина. Это облегчает присоединение в область разрыва цепи двух молекул ДНК-хеликазы и образование репликативной вилки. По окончании формирования репликативной вилки ДНК-топоизомераза восстанавливает целостность молекулы ДНК и отделяется;

**ДНК-хеликаз** – ДНК-зависимых АТФаз, использующих энергию АТФ для расплетения двойной спирали ДНК;

**SSB** (single strand binding)-**белков**, связывающихся с одноцепочечными участками ДНК. Эти белки, не закрывая оснований, предотвращают повторное комплементарное скручивание матричных цепей и образование шпилек.

**2. Синтез новых цепей ДНК.** На этой стадии дочерние нити ДНК образуются на обеих нитях материнской ДНК.

Процесс катализирует несколько **ДНК-полимераз**, которые **синтезируют** полинуклеотидные **цепи из дНТФ**: дАТФ, дГТФ, дТТФ и дЦТФ **в направлении от 5'- к 3'-концу** антипараллельно матрице, имеющей направление от 3'- к 5'-концу (рис. 52).

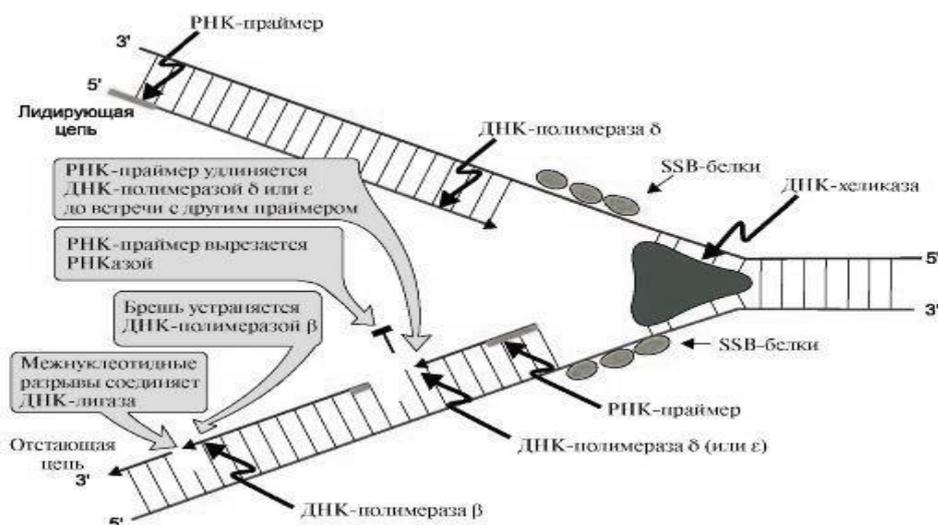


Рис. 52. Рост новых цепей в области репликативной вилки

Новые цепи синтезируются по-разному. На матрице ДНК с направлением от 3'- к 5'-концу цепь растет непрерывно по ходу движения репликативной вилки и называется **лидирующей**.

На матрице с направлением от 3'- к 5'-концу вторая цепь синтезируется против движения репликативной вилки в виде коротких отрезков - **фрагментов Оказаки**. Рост этой цепи начинается только тогда, когда на матрице ДНК появляется одноцепочечный участок длиной около 200 нуклеотидов, поэтому ее называют **запаздывающей** или **отстающей**.

Лидирующая нить растет непрерывно, а отстающая – в виде фрагментов Оказаки, каждый из которых включает: РНК-праймер (~10 нуклеотидов) и участок ДНК, примерно равный длине цепи из 150 нуклеотидов.

**ДНК-полимеразы δ, β и ε** не способны иницировать синтез новых цепей ДНК, они могут лишь удлинять имеющуюся нуклеотидную цепь.

Синтез лидирующей и отстающей нитей начинается с образования затравки или **праймера**-олигорибонуклеотида (РНК), включающего около 10 мононуклеотидов. Его образование катализирует **праймаза** – **субъединица ДНК-полимеразы α**.

Далее этот же фермент, используя в качестве субстратов дНТФ, переключается на образование ДНК и включает во вновь синтезируемую нить 20-50 дезоксирибонуклеотидов, после чего заменяется другими ДНК-полимеразами. Синтез лидирующей цепи продолжает **ДНК-полимераза δ**, а отстающей – **ДНК-полимераза δ** или **ε**. Оба фермента, помимо, полимеразной обладают еще и экзонуклеазной активностью. В ходе синтеза они могут исправлять допущенную ошибку и отщеплять неправильно включенный нуклеотид, что обеспечивает высокую точность синтеза ДНК.

**3. Исключение праймеров. Завершение формирования отстающей цепи ДНК.** В отстающей нити праймер удаляется **эндонуклеазой** или **РНКазой**. Затем **ДНК-полимераза β** заполняет образованную «брешь», присоединяя по принципу комплементарности матрице дезоксирибонуклеотиды в количестве, равном вырезанному праймеру. Связывание 3'-ОН-группы одного фрагмента с 5'-фосфатом предыдущего фрагмента и образование фосфодиэфирной связи катализирует **ДНК-лигаза**. Фермент, используя энергию АТФ, из множества фрагментов Оказаки образует непрерывную цепь ДНК.

Результатом процесса является образование дочерних цепей, комплементарных и антипараллельных нитям материнской ДНК. Суммарное уравнение синтеза ДНК может быть записано следующим образом:



В активном центре всех ДНК- и РНК-полимераз находится ион  $\text{Zn}^{2+}$  (кофактор фермента). Для взаимодействия полимераз с субстратами необходимо также присутствие ионов  $\text{Mg}^{2+}$ , которые образуют с нуклеотидами комплексы и повышают их реакционную способность.

Молекула ДНК человека имеет очень большие размеры, поэтому инициация синтеза ДНК происходит в нескольких точках хромосомы, которые называются точками инициации репликации или **ориджинами («origin» репликации** (рис. 53).

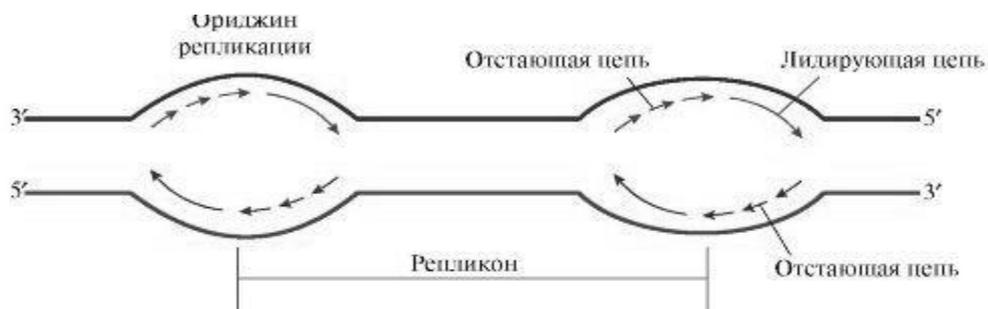


Рис. 53. Образование репликативных вилок, перемещающихся в противоположных направлениях от ориджина

Ориджины репликации имеют специфическую нуклеотидную последовательность. Синтез начинается в области ориджина и идет в противоположных направлениях. В каждом ориджине образуется две репликативные вилки. Процесс полуконсервативный, и каждая дочерняя молекула ДНК получает одну родительскую и одну вновь синтезированную нить.

Единица репликации у эукариотов называется **репликоном** – это участок ДНК между соседними ориджинами. На ориджинах инициируется двунаправленная репликация, т.е. образуются две репликативные вилки, перемещающиеся в противоположных направлениях, до тех пор, пока не встретятся со следующим репликоном.

По завершении репликации образуется тетраплоидный набор молекул двухспиральной ДНК, каждая из которых содержит одну «материнскую» нить и одну «дочернюю» - вновь синтезированную. В результате митоза дочерняя клетка получает диплоидный набор хромосом, идентичный материнской клетке. Таким образом, репликация обеспечивает воспроизведение генотипа в новых поколениях.

Репликация происходит в S-фазу клеточного цикла. В регуляции клеточного цикла участвуют белки **циклины**. Различают циклины А, В, D, Е. Циклины являются активаторами **циклин-зависимых протеинкиназ**, которые в активной форме могут фосфорилировать специфические белки, участвующие в подготовке и продвижении клетки по клеточному циклу. В каждом цикле концентрация циклинов постепенно возрастает от нуля, а затем резко падает опять до нуля.

**Репарация ошибок и повреждений ДНК.** Молекула ДНК постоянно подвергается разнообразным изменениям, вызванным действием различных веществ внешней и внутренней среды, радиацией и ультрафиолетовым облучением. Под влиянием этих факторов в структуре ДНК происходит:

- **дезаминирование оснований**, при котором цитозин превращается в урацил, аденин - в гипоксантин, а гуанин - в ксантин. Чаще всего дезаминируется цитозин;
- **депуринизация**, или **депиримидинизация**, результатом которой является появление в ДНК остатков дезоксирибозы, лишенных основания;
- образование под действием ультрафиолета (УФО) **пиримидиновых димеров** между рядом расположенными в цепи основаниями;
- **разрыв нуклеотидных цепей**;
- появление **ковалентных сшивок** между цепями или цепями и гистонами;
- возникновение **ошибок репликации**;
- образование **продуктов алкилирования ДНК** (6-метилгуанина, 7-метил-гуанина, 3-метиладенина) под воздействием некоторых химических веществ.

Поврежденные основания ДНК обнаруживаются и удаляются **ДНК-N-гликозилазами**. Ферменты гидролитически расщепляют N-гликозидную связь между поврежденным основанием и остатком дезоксирибозы. Участки на молекуле ДНК, лишенные азотистого основания, получили название **АП-сайтов** (от англ. «apurinic»). АП-сайты могут также возникать в результате самопроизвольного гидролитического отщепления пуриновых или пиримидиновых оснований.

Дальнейший ход репарации идет по одному из двух путей:

- либо фермент **ДНК-инсертаза** может присоединять к дезоксирибозе основание в соответствии с правилом комплементарности;
- либо **эндонуклеаза** определяет место повреждения (если это дезоксирибоза, лишенная основания, то фермент называют АП-эндонуклеазой) и гидролизует 3', 5'-фосфодиэфирную связь (рис. 54).

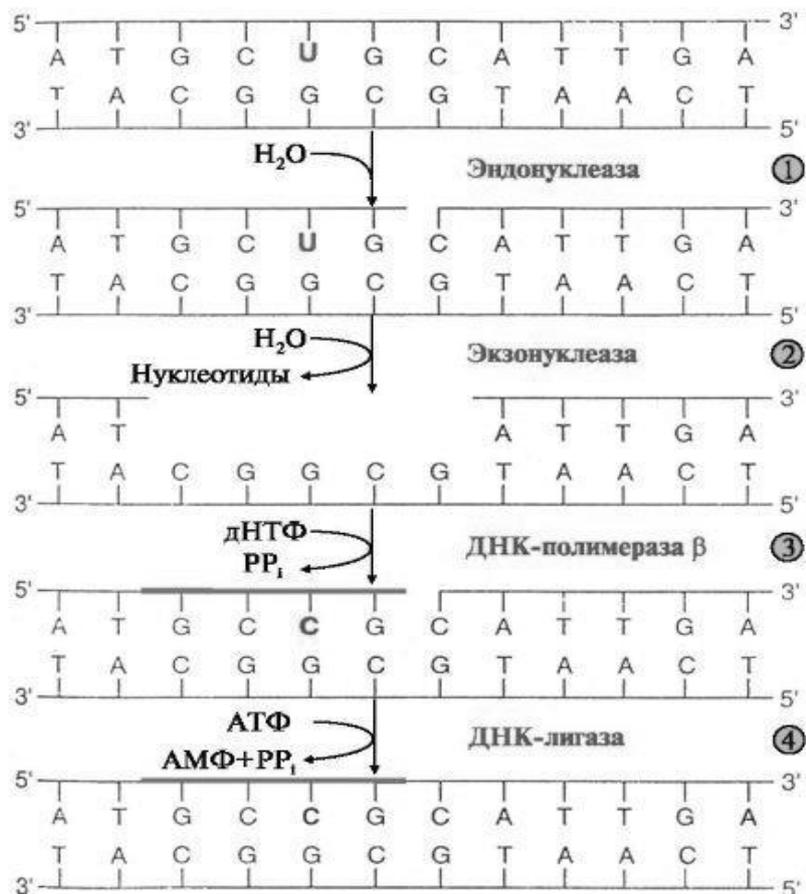


Рис. 54. Репарация эукариотической ДНК

**Экзонуклеаза** находит место разрыва цепи и удаляет поврежденный участок.

**ДНК-полимераза  $\beta$**  присоединяется к 3'-концу образовавшейся «бреши» и достраивает недостающий участок цепи (ликвидирует «брешь»). Матрицей служит неповрежденная цепь ДНК.

**ДНК-лигаза** соединяет неповрежденный и вновь синтезированный участки цепи ДНК. Репарация возможна благодаря существованию двух цепей в молекуле ДНК - двух копий генетической информации. Если одновременно повреждается комплементарная пара нуклеотидов, репарация в гаплоидных клетках невозможна, а в диплоидных может идти за счет присутствия идентичного гена в гомологичной хромосоме.

**Репарация необходима для сохранения генетического материала на протяжении всей жизни организма** (сохранение структуры генома). Все ферменты постоянно активны и процесс идет непрерывно. Снижение активности ферментов репарации приводит к накоплению повреждений (мутаций) в ДНК.

### 3.6. Транскрипция (анаболизм РНК)

**Транскрипция – биосинтез РНК на ДНК-матрице** в результате, которой образуются первичные транскрипты мРНК, тРНК, рРНК, комплементарные матричной цепи ДНК, имеющей направление от 3'- к 5'-концу.

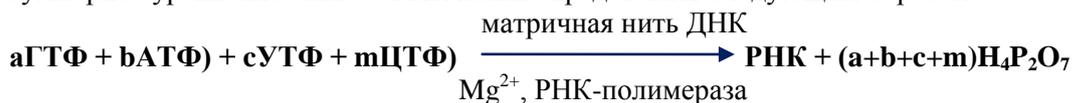
Субстратами и источниками энергии для синтеза РНК являются рибонуклеозидтрифосфаты (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ).

Катализируют синтез РНК ферменты **РНК-полимеразы**. В ядре клеток эукариотов обнаружены три фермента:

- **РНК-полимераза I**, синтезирующая пре-рРНК;
- **РНК-полимераза II**, ответственная за синтез пре-мРНК;
- **РНК-полимераза III**, синтезирующая пре-тРНК.

В основе процесса лежит принцип комплементарности оснований в полинуклеотидной цепи матричной ДНК и синтезируемой РНК, когда против А встает U, против G – C, а против Т – А.

Суммарное уравнение синтеза РНК можно представить следующим образом:



Специфическая последовательность ДНК (сайт), в которой РНК-полимераза связывается с матрицей и начинает синтез РНК, называется **промотором**, а последовательность, на которой завершается синтез РНК – **сайтом терминации**.

Участок ДНК, ограниченный промотором и сайтом терминации, представляет собой единицу транскрипции – **транскриптон**. У эукариотов в состав транскриптона входит только один ген.

Существование на молекуле ДНК множества транскриптонов позволяет с разной активностью проводить индивидуальное считывание (транскрипцию) разных генов. РНК-полимеразы – большие, олигомерные ферменты, состоящие из нескольких субъединиц и имеющие несколько центров связывания регуляторных факторов. В процессе транскрипции различают стадии **инициации**, **элонгации** и **терминации** (рис. 55).

«Активация» промотора происходит с помощью белка, который получил название **ТАТА-фактора**, потому что он взаимодействует со специфической последовательностью нуклеотидов промотора -ТАТА-. **ТАТА-фактор облегчает взаимодействие промотора с РНК-полимеразой**. Связывание РНК-полимеразы с промотором увеличивает сродство фермента к **факторам инициации** (А, В), которые обеспечивают раскручивание примерно одного витка **двойной спирали ДНК**.

**Факторы элонгации** (Е, Н, F) повышают активность РНК-полимеразы и облегчают локальное расхождение нуклеотидных цепей.

**Синтез молекулы РНК идет от 5' - к 3'-концу на матричной цепи ДНК по принципу комплементарности и антипараллельности**. По мере продвижения РНК-полимеразы по цепи ДНК в направлении от 3' - к 5'-концу впереди нее происходит расхождение, а позади - восстановление двойной спирали.

Расхождение двойной спирали ДНК в области сайта терминации делает его доступным для **факторов терминации**. Когда РНК-полимераза достигает сайта терминации, транскрипция прекращается. Факторы терминации облегчают отделение первичного транскрипта от матрицы.

**Посттранскрипционные модификации**. Прежде чем выйти из ядра, каждый первичный транскрипт после ряда ковалентных модификаций превращается в «зрелую» молекулу РНК.

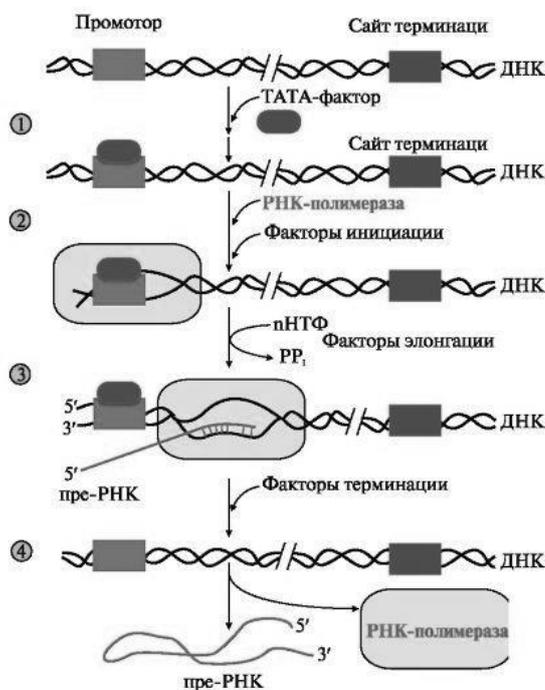
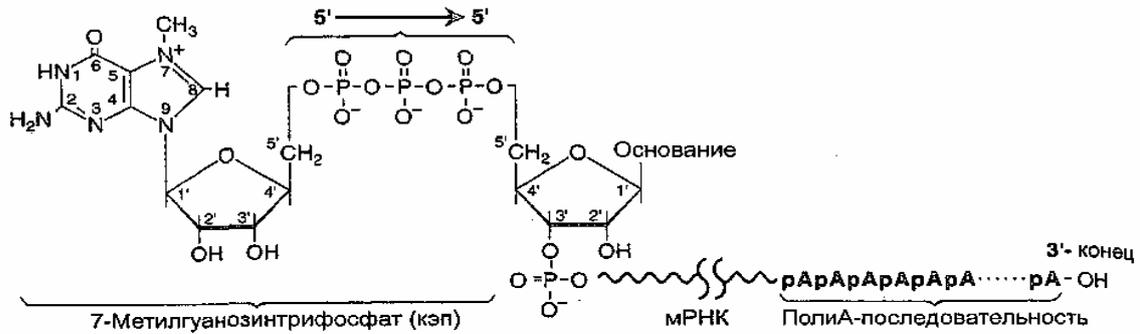


Рис. 55. Стадии транскрипции:

- 1 – присоединение в область промотора белка, который называется «ТАТА-фактор»;
- 2 – включение РНК-полимеразы в промоторный участок, при этом в зоне присоединения РНК-полимеразы происходит локальное расплетение двойной спирали ДНК;

3 – рост нити пре-РНК; 4 – освобождение в сайте терминции пре-РНК и РНК-полимеразы из комплекса с ДНК ускоряют факторы терминции

**Модификации пре-мРНК** начинаются на стадии элонгации. Когда длина первичного транскрипта достигает примерно 30 нуклеотидов, происходит «**кэпирование**» **5'-конца**. Остаток ГТФ присоединяется своим 5'-концом к 5'-концу фрагмента пре-мРНК с образованием 5'-, 5'-фосфодизфирной связи. Последующее метилирование гуанина в составе ГТФ завершает образование «кэпа»:



где 7-метилгуанозинтрифосфат присоединен к 5'-концу первого нуклеотида (X) в составе пре-мРНК.

По завершении транскрипции на 3'-конце первичного транскрипта мРНК специальным ферментом **поли-А-полимеразой** синтезируется поли-А-последовательность, которая состоит из 100-200 остатков адениловой кислоты. Наличие **поли-А-последовательности на 3'-конце** облегчает выход мРНК из ядра и замедляет ее гидролиз в цитоплазме. Молекулы тРНК и рРНК не содержат «кэпа» и поли-А-последовательности.

Первичный транскрипт или пре-мРНК комплементарен гену, содержит как **экзоны** - последовательности, кодирующие определенные участки молекулы белка, так и **интроны** - некодирующие последовательности. В процессе образования молекул «зрелой» мРНК интроны вырезаются из первичного транскрипта, концы экзонов соединяются друг с другом - эту реакцию называют **сплайсингом РНК** (рис. 56).

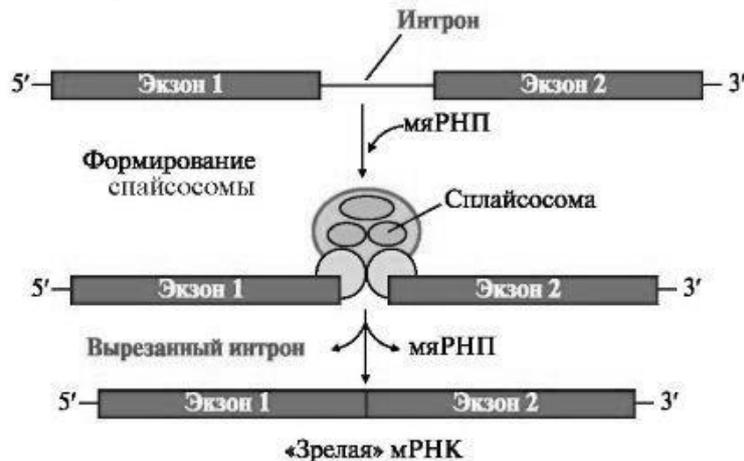


Рис. 56. Сплайсинг пре-мРНК

Процесс вырезания интронов протекает при участии малых ядерных рибонуклеопротеинов (мяРНП), которые образуют комплексы - **сплайсосомы**. мяРНП состоят из малой ядерной РНК (мяРНК), связанной с белковым остовом. Отдельные мяРНП по принципу комплементарности узнают специфические последовательности интронов в первичном транскрипте. После завершения сплайсинга «зрелая» мРНК становится примерно в четыре раза короче первичного транскрипта. Сплайсинг происходит в ядре, в цитоплазму переносится уже «зрелая» мРНК (рис. 57).

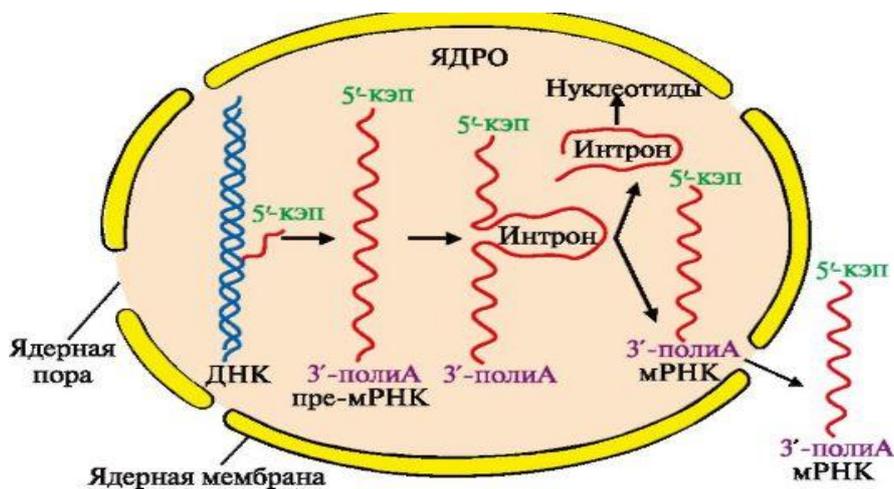


Рис. 57. Образование и выход из ядра зрелой мРНК

**Модификации пре-мРНК.** В процессе посттранскрипционных модификаций первичных транскриптов тРНК: молекулы укорачиваются с 5'- и 3'-концов и удаляется интрон; 10-15% азотистых оснований в молекулах модифицируется; на 3'-конце формируется **акцепторный участок (-ССА)** для присоединения аминокислот, а в средней части **антикодон** – триплет нуклеотидов, обеспечивающий взаимодействие тРНК с кодоном мРНК (рис. 58).

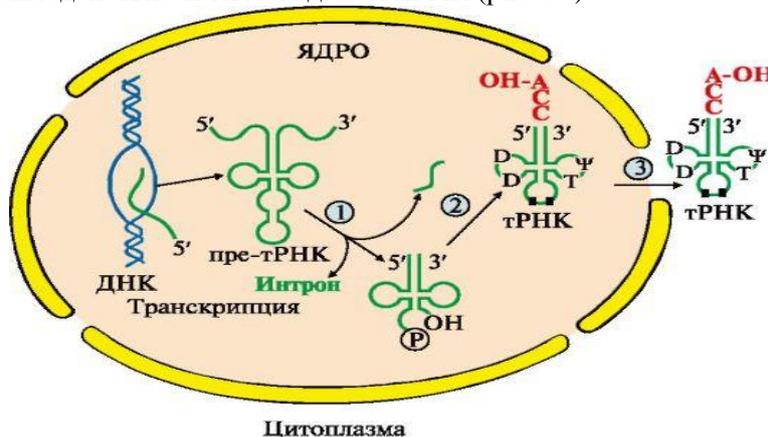


Рис. 58. Посттранскрипционные модификации пре-тРНК: 1 – удаляются участки полинуклеотидной цепи на 5'- и 3'-концах молекулы претРНК и интрон в центральной области молекулы; 2 – модифицируются азотистые основания, к 3'-концу присоединяется триплет-ССА; 3 – в цитоплазму выходят зрелые тРНК.

**Посттранскрипционные модификации пре-рРНК** сопровождаются образованием «зрелых» рРНК, входящих в рибосому - органеллу клетки, участвующую в биосинтезе белка. В состав рибосом входят рРНК и белки, выполняющие структурную, регуляторную и каталитическую функции. Рибосома эукариотов (80S) состоит из двух (большой и малой) субъединиц - 60S и 40S (рис. 59).

Величина S характеризует скорость оседания (седиментации) субъединиц рибосом при ультрацентрифугировании. Она пропорциональна молекулярной массе частиц. Рибосома прокариотов (70S) состоит из 50S и 30S. Рибосомы эукариотов и прокариотов различаются по молекулярной массе субъединиц, количеству рРНК, массе рРНК, количеству и разнообразию белков, способных связывать специфические лиганды.

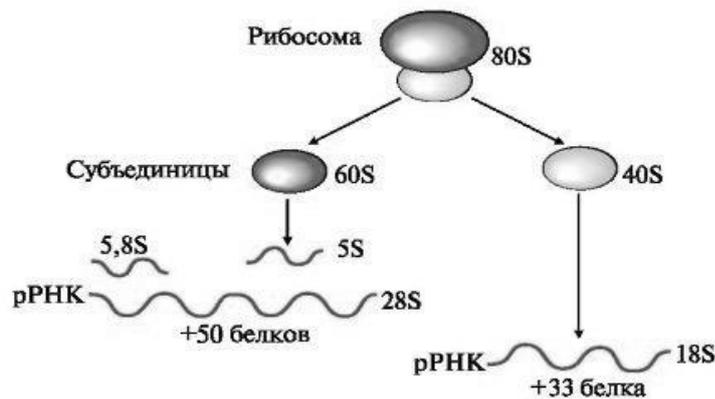


Рис. 59. Строение эукариотических рибосом

**Вопросы для самоконтроля:**

1. Покажите схему гидролитического распада ДНК и РНК. Как происходит дальнейший распад нуклеотидов. Покажите схему распада аденозин-5'-фосфата.
2. Как происходит распад пиримидиновых оснований? Покажите схему распада цитозина.
3. Как происходит распад пуриновых оснований? Как образуется мочевая кислота?
4. Перечислите основные черты сходства и различия в механизме биосинтеза пуринового и пиримидинового циклов.
5. Составьте формулы пиримидиновых оснований и укажите, какой из них играет ведущее место в биосинтезе пиримидиновых нуклеотидов.
6. Приведите схему биосинтеза уридин-5'-фосфата. Укажите ферменты каждого этапа превращений. Какие метаболиты принимают участие в биосинтезе уридин-5'-фосфата.
7. Приведите схему превращения уридин-5'-фосфата в уридин-5'-трифосфат, далее в цитидин-5'-фосфат.
8. Приведите схему превращения УДФ (УМФ) в дезоксиуридин-5'-трифосфат.
9. Напишите уравнения реакций аминирования УТФ с образованием ЦТФ: а) с помощью аммиака; б) с помощью глутамина.
10. Какие аминокислоты участвуют в формировании 5-фосфорибозил-1-глициламина?
11. Перечислите все соединения, которые участвуют в формировании пуринового кольца.
12. Покажите схему образования инозин-5'-фосфата.
13. Как происходит превращение инозин-5'-фосфата в аденозин-5'-фосфат?
14. Как происходит превращение гипоксантина-5'-фосфата в гуанозин-5'-фосфат?
15. Как происходит образование нуклеозид-5'-трифосфатов?
16. Перечислите все необходимые вещества и назовите условия, при которых происходит биосинтез ДНК. Покажите механизм образования полинуклеотидной цепи.
17. Как происходит биосинтез ДНК? Что такое репликационная вилка? Как происходит рост ведущей цепи и отстающей цепи? Что такое фрагменты Оказаки? Назовите этапы биосинтеза. Назовите ферменты, участвующие в репликации. Что такое белковые факторы?
18. Как происходит биосинтез РНК (транскрипция)? Приведите механизм биосинтеза РНК на матрице ДНК.
19. Что такое ген? Что такое промотор?
20. Есть ли отличие в биосинтезе разных видов РНК? В чём это выражается?

**Задачи для самостоятельной работы:**

1. Напишите химические формулы минорных оснований 5-метилцитозина, 5-оксиметилурацила, 1-метилурацила, N<sub>6</sub>-метилцитозина и соответствующие им формулы нуклеозидов.
2. Напишите химические формулы минорных оснований N<sub>6</sub>-метиладенина, N<sub>6</sub>-диметиладенина, N<sub>6</sub>-метилгуанина, 1-метилурацила и соответствующие им формулы нуклеозидов.
3. Напишите структурную формулу фрагмента полинуклеотидной цепочки –ГГАЦ-. Укажите последовательность нуклеотидов комплементарном ему фрагменте.
4. Укажите последовательность нуклеотидов во фрагменте полинуклеотидной цепочки, комплементарном –ЦГТУ-. Напишите его структурную формулу.

5. Укажите сходство и различия в химическом составе ДНК и РНК. Опишите количественное содержание ДНК и РНК в организме и места локализации их в клетке.
6. Дайте понятие о принципе комплементарности азотистых оснований, входящих в состав нуклеиновых кислот. Укажите характер связи между комплементарными основаниями на конкретных примерах.
7. Укажите особенности нуклеотидного состава ДНК. Опишите правила Чаргаффа и объясните их сущность.
8. Опишите характерные черты вторичной структуры ДНК, Объясните природу сил, удерживающих молекулу ДНК в таком состоянии.
9. Дайте сравнительную характеристику всех видов РНК. Оформите ответ в виде таблицы: молекулярная масса, минорные основания, углеводы, структура, место локализации, функции.
10. Напишите таутомерные формы каждого из следующих оснований: гуанина, 5-оксиметилцитозина, N<sub>6</sub>-метиладенина, 5-метилурацила.
11. Напишите химические формулы уридиловой и псевдоуридиловой кислот. Укажите, в состав каких нуклеиновых кислот они входят. Объясните роль псевдоуридиловой кислоты как структурного мономера.
12. Напишите химические формулы гуанозин-3`-монофосфата, тимидин-5`-монофосфата и уридин-3`-монофосфата. Укажите, какие из нуклеотидов являются только продуктами деградации нуклеиновых кислот и какие из них могут участвовать в ресинтезе.
13. Г. Темин и С. Мизутани, инкубируя при 37° С очищенные препараты РНК-содержащего вируса саркомы Рауса в 1 мл суспензии (трис-НСl буфер, рН=8,3; ацетат магния, хлорид натрия, дезоксирибонуклеозидтрифосфаты – один из них меченый), получили кислото-нерастворимый продукт ДНК, чувствительный к панкреатической ДНК-азе. Пользуясь картой генетического кода, определите фрагмент матричной РНК, участвовавший в биосинтезе фрагмента ДНК:-дА-дЦ-дГ-дГ-дТ-дА-дЦ-. Назовите фрагмент, катализирующий процесс. Объясните значение данного открытия.
14. Напишите возможные схемы ферментативного гидролиза нуклеиновой кислоты по центральному фрагменту –дЦ-дТ-дГ-. Укажите ферменты, ускоряющие данный процесс, определите, к каким нуклеазам они относятся, на какие химические связи действуют и в зависимости от действия объясните, образованию каких конечных продуктов они способствуют.
15. Напишите уравнение реакции ферментативного дезаминирования всех пуриновых и пиримидиновых оснований, назовите конечные продукты реакций и ферменты, катализирующие процесс.
16. Укажите различие в деструкции дезаминированных пуриновых и пиримидиновых оснований. Приведите схемы дальнейшего деструктивного превращения 5-метилурацила до карбаминовой кислоты и гипоксантина до мочево́й кислоты. Напишите ферменты, ускоряющие эти процессы.
17. Напишите уравнения реакций деструкции ГМФ в организме амфибий и растений. Укажите ферменты, ускоряющие процесс.
18. Дайте характеристику ДНК-полимеразы. Приведите схему биосинтеза фрагмента на матрице : – дА-дГ-дЦ-дА-дТ-дЦ-дГ-дТ-дТ- при ее участии.
19. Приведите схему механизма обеспечения специфичности воспроизведения первичной структуры при биосинтезе белка. Укажите роль различных видов РНК и ДНК в этом процессе.
20. Охарактеризуйте строение, свойства и механизм действия РНК-полимеразы. Приведите схему последовательного расположения нуклеотидов во фрагменте и РНК, синтезированном на матрице: - дГ-дА-дГ-дТ-дЦ-дТ-дА-дГ-дТ- при участии ДНК-зависимой РНК-полимеразы.
21. Объясните, как вы понимаете консервативный и полуконсервативный механизм репликации ДНК. Дайте соответствующие схемы.
22. Покажите роль 5-фосфорибозил-1-пирофосфата в биосинтезе нуклеотидов с пиримидиновыми и пуриновыми основаниями. Напишите соответствующие уравнения реакций.
23. Напишите уравнения реакций по следующим схемам: а) УМФ → ЦМФ → ЦДФ → ЦТФ; б) УМФ → дУМФ → дТМФ → дТДФ. Укажите ферменты, катализирующие эти реакции.
24. Покажите сходство и различие в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований. Пронумеруйте пуриновые и пиримидиновые циклы и укажите происхождение каждого из атомов углерода и азота.
25. Приведите схему биосинтеза бактериальной РНК при участии полинуклеотидфосфорилазы. Укажите характерные особенности данного процесса.
- 26.** Напишите уравнения реакций по следующим схемам: а) ИМФ → АМФ; б) КМФ → ГМФ. Укажите ферменты, ускоряющие эти реакции.

## Глава 4. МЕТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ

### **Цели изучения:**

#### **Знать:**

1. Основы полноценного белкового питания, обеспечивающие поддержание азотистого баланса.
2. Этапы переваривания белков в желудочно-кишечном тракте, особенности синтеза и активации протеолитических пищеварительных ферментов.
3. Классификацию аминокислот по возможности их синтеза в организме.
4. Физиологические функции биогенных аминов, пути их образования и инактивации.
5. Процесс трансаминирования и способы дезаминирования аминокислот, биологическое значение этих процессов.
6. Реакции процесса биосинтеза мочевины (орнитиновый цикл). Пути использования безазотистых остатков аминокислот для синтеза глюкозы и кетоновых тел.
8. Уровни структурной организации белков. Значение первичной структуры белков, определяющей их структурное и функциональное многообразие.
9. Причины и следствия денатурации белков, факторы, вызывающие денатурацию.
10. Реакции и механизм трансляции белков в организме.

#### **Уметь:**

1. Использовать знания о составе белков пищи для понимания основ рационального питания.
2. Объяснять роль аминокислот в обеспечении организма энергоносителями в условиях голодания.
3. Объяснять причины токсичности аммиака и механизмы его обезвреживания в организме.
4. Использовать знания об обмене некоторых аминокислот (серина, глицина, метионина, фенилаланина, тирозина и гистидина) для понимания их специфических функций в организме здорового человека.
5. Использовать знания о строении и конформационной лабильности белков для понимания их структурно-функциональной неустойчивости и склонности к денатурации в изменяющихся условиях.

### **Основные термины и понятия:**

1. Классификация аминокислот.
2. Уровни структурной организации белков.
3. Пути катаболизма и анаболизма аминокислот.
4. Катаболизм белков и ферменты – протеазы.
5. Процесс трансляции: инициация, элонгация, терминация.

### **Сокращения:**

ЦТК – цикл трикарбоновых кислот

UAA, UAG, UGA – терминирующие триплеты

Мет-тРНК<sup>Met</sup> –транспортная РНК, несущая активированный метионин.

## 4.1. Структурная организация белков

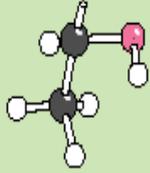
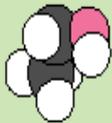
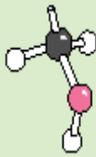
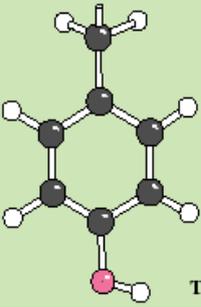
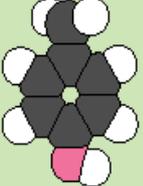
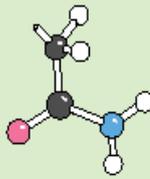
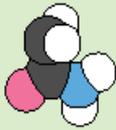
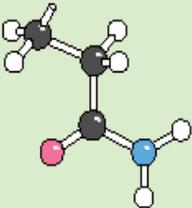
**Белки – это полимерные молекулы, мономерами являются α-аминокислоты.**

Набор и порядок соединения аминокислот в белках определяется строением генов в ДНК индивидуумах. Каждый белок в соответствии с его специфической структурой выполняет свойственную ему функцию. Набор белков данного организма определяет его фенотипические особенности, а также наличие наследственных болезней или предрасположенность к их развитию.

Аминокислоты различаются по строению, размерам, физико-химическим свойствам радикалов, присоединенных к α-углеродному атому. Классификация аминокислот:

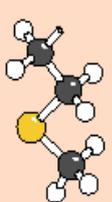
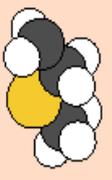
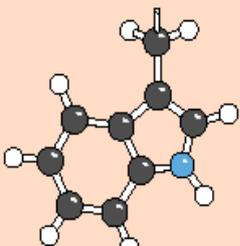
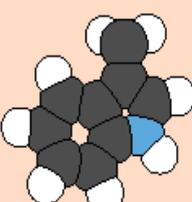
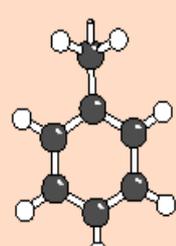
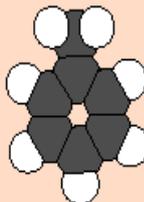
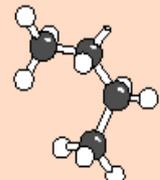
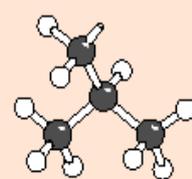
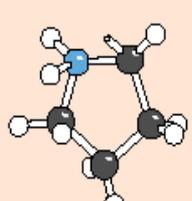
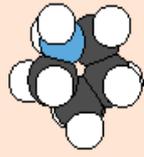
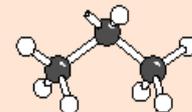
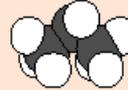
**1. По растворимости в воде,** связано со способностью радикалов взаимодействовать с водой (гидратироваться):

- **гидрофильным** относятся радикалы, содержащие анионные, катионные и полярные незаряженные функциональные группы.

Нейтральные гидрофильные аминокислоты	
 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$  <p>Threonine (Thr, T) Треонин</p>	 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$  <p>Cysteine (Cys, C) Цистеин</p>
 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$  <p>Glycine (Gly, G) Глицин</p>	 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array}$  <p>Serine (Ser, S) Серин</p>
 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\   \\ \text{OH} \end{array}$  <p>Tyrosine (Tyr, Y) Тирозин</p>	 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$  <p>Asparagine (Asn, N) Аспарагин</p>
 $\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} \\ // \quad \backslash \\ \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$  <p>Glutamine (Gln, Q) Глутамин</p>	

- **гидрофобным** относятся радикалы, содержащие метильные группы, алифатические цепи или циклы.

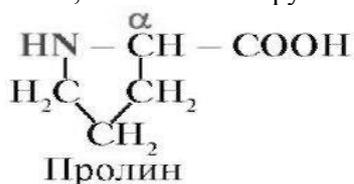
## Нейтральные гидрофобные аминокислоты

 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{S} \\    \\  \text{CH}_3  \end{array}  $  <p><b>Methionine (Met, M)</b></p> <p>Метионин</p>	 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C} \\  / \quad \backslash \\  \text{C}_6\text{H}_4 \quad \text{CH} \\    \\  \text{H}  \end{array}  $  <p><b>Tryptophan (Trp, W)</b></p> <p>Триптофан</p>
 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{C}_6\text{H}_5  \end{array}  $  <p><b>Phenylalanine (Phe, F)</b></p> <p>Фенилаланин</p>	 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH}_3  \end{array}  $  <p><b>Isoleucine (Ile, I)</b></p> <p>Изолейцин</p>
 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_2 \\    \\  \text{CH} \\  / \quad \backslash \\  \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3  \end{array}  $  <p><b>Leucine (Leu, L)</b></p> <p>Лейцин</p>	 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_2\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \quad \backslash \\  \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\    \quad / \\  \text{CH}_2  \end{array}  $  <p><b>Proline (Pro, P)</b></p> <p>Пролин</p>
 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH}_3  \end{array}  $  <p><b>Alanine (Ala, A)</b></p> <p>Аланин</p>	 $  \begin{array}{c}  \text{COOH} \\    \\  \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\    \\  \text{CH} \\  / \quad \backslash \\  \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3  \end{array}  $  <p><b>Valine (Val, V)</b></p> <p>Валин</p>

### 2. По радикалам аминокислот:

- катионные группы  $-\text{NH}_3^+$ ,  $=\text{NH}^+$ ,  $\text{NH}_2-\text{C}=\text{NH}_2^+$
- полярные незаряженные группы  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CONH}_2$ ,  $-\text{SH}$
- неполярные группы  $-\text{CH}_3$ , алифатические цепи, ароматические циклы

**Пролин**, в отличие от других 19 мономеров, не аминокислота, а иминокислота, радикал в пролине, связан как с  $\alpha$ -углеродным атомом, так и с иминогруппой:





Последовательность аминокислотных остатков в пептидной цепи можно рассматривать как форму записи информации. Эта информация определяет пространственную укладку линейной пептидной цепи в более компактную трехмерную структуру, называемую **конформацией** белка. Процесс формирования функционально активной конформации белка носит название **фолдинг**.

**Конформация белков.** Свободное вращение в пептидном остове возможно между атомом азота пептидной группы и соседним  $\alpha$ -углеродным атомом, а также между  $\alpha$ -углеродным атомом и углеродом карбонильной группы. Вследствие чего, первичная структура белков может приобретать более сложные пространственные структуры: вторичную и третичную структуры.

**Вторичная структура** – пространственная структура, формирующаяся в результате образования водородных связей между функциональными группами  $-C=O$  и  $-NH-$  пептидного остова. При этом пептидная цепь может приобретать регулярные структуры двух типов:  **$\alpha$ -спирали** и  **$\beta$ -структуры** (рис. 60).

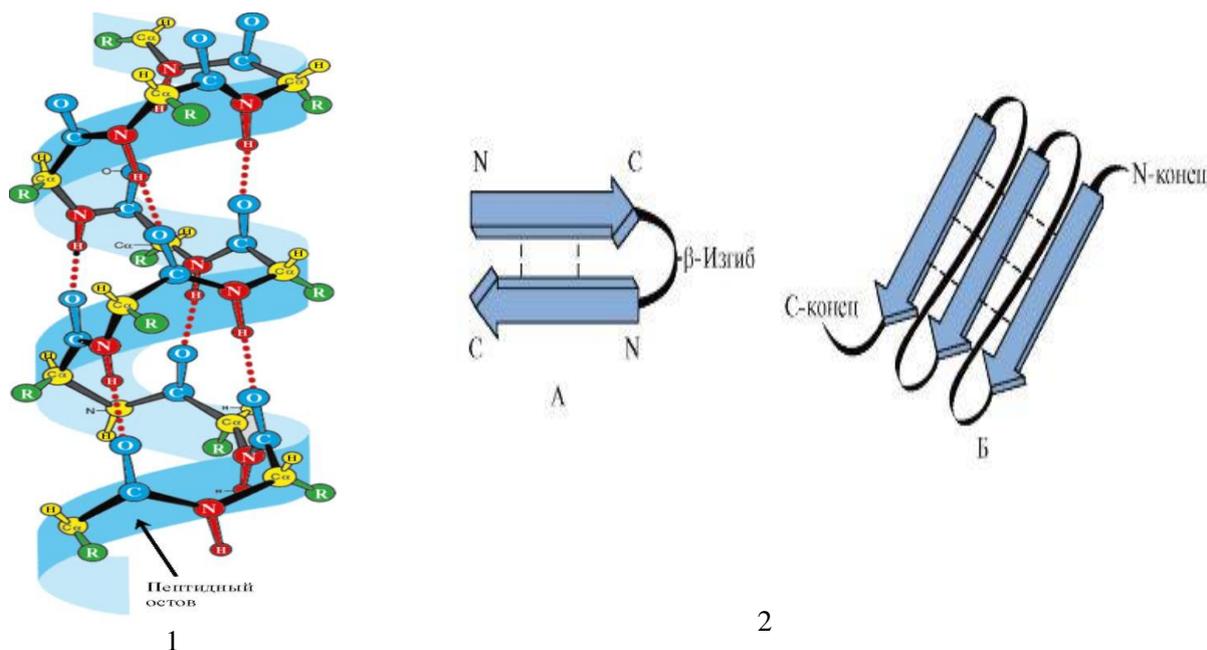


Рис. 60. Вторичная структура белка:

1 –  $\alpha$ -спираль, 2 – параллельные и антипараллельные  $\beta$ -складчатые структуры:  
 А – антипараллельная  $\beta$ -структура, Б – параллельные  $\beta$ -складчатые структуры

В  **$\alpha$ -спирали** водородные связи образуются между атомом кислорода карбонильной группы и водородом амидного азота 4-й от него аминокислоты; боковые цепи аминокислотных остатков располагаются по периферии спирали, не участвуя в образовании вторичной структуры (рис. 60, 1).

Объемные радикалы или радикалы, несущие одинаковые заряды, препятствуют формированию  $\alpha$ -спирали. Остаток пролина, имеющий кольцевую структуру, прерывает  $\alpha$ -спираль из-за отсутствия водорода у атома, поэтому пептидный остов в этом месте приобретает изгиб.

**$\beta$ -структура** формируется между линейными областями пептидного остова одной полипептидной цепи, образуя при этом **параллельные** или **антипараллельные** складчатые структуры. В первом случае N- и C-концы взаимодействующих пептидных цепей совпадают, а во втором – имеют противоположное направление (рис. 60, 2).

В белках также встречаются **области с нерегулярной вторичной** структурой, к которым относят изгибы, петли, повороты полипептидного остова. Они часто располагаются в местах, где меняется направление пептидной цепи, например, при формировании параллельной  $\beta$ -складчатой структуры.

По наличию  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -структур глобулярные белки могут быть разделены на четыре категории. В **первую категорию** включены белки, в которых имеются только  $\alpha$ -спирали, например, миоглобин и гемоглобин. Во **вторую категорию** входят белки, в которых имеются и  $\alpha$ -спирали, и  $\beta$ -структуры, например триозофосфатизомераза или похожий по структуре домен пируваткиназы. В **третью категорию** включены белки, имеющие только вторичную  $\beta$ -структуру. Такие структуры обнаружены в иммуноглобулинах, ферменте супероксиддисмутазе. В **четвертую категорию** включены белки, имеющие в своем составе незначительное количество регулярных вторичных

структур. К таким белкам можно отнести небольшие, богатые цистеином белки или металлопротеины.

**Третичная структура белка** – тип конформации, образующийся за счет взаимодействий между радикалами аминокислот, которые могут находиться на значительном расстоянии друг от друга в пептидной цепи, при этом формируют пространственную структуру, напоминающую глобулу (глобулярные белки) (рис. 61).

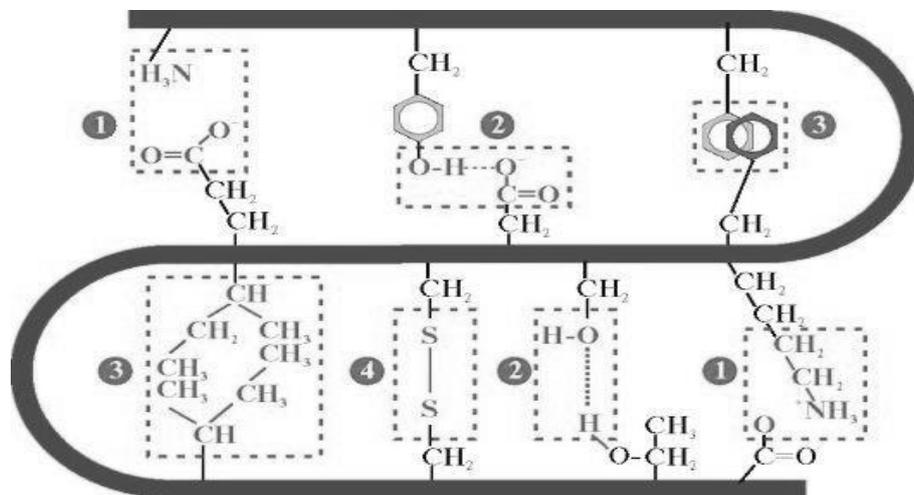


Рис. 61. Типы связей, возникающих между радикалами аминокислот при формировании третичной структуры белка:

- 1 – ионная связь возникает между положительно и отрицательно заряженными функциональными группами;
- 2 – водородная связь возникает между гидрофильной незаряженной и любой другой гидрофильной группой;
- 3 – гидрофобные взаимодействия возникают между гидрофобными радикалами;
- 4 – дисульфидная связь формируется за счет окисления SH-групп остатков цистеина и их взаимодействия друг с другом

Гидрофобные радикалы способны к объединению с помощью **гидрофобных взаимодействий** и межмолекулярных ван-дер-ваальсовых сил, образуя внутри белковой глобулы плотное гидрофобное ядро. Гидрофильные ионизированные и неионизированные радикалы в основном располагаются на поверхности белка и определяют его растворимость в воде. Гидрофильные аминокислотные остатки, оказавшиеся внутри гидрофобного ядра, могут взаимодействовать друг с другом с помощью **ионных и водородных связей** (рис. 61).

Ионные и водородные связи, а также гидрофобные взаимодействия относятся к числу слабых: их энергия незначительно превышает энергию теплового движения молекул при комнатной температуре.

Конформация белка поддерживается за счет возникновения множества таких слабых связей. Так как атомы, из которых состоит белок, находятся в постоянном движении, то возможен разрыв одних слабых связей и образование других, что приводит к небольшим перемещениям отдельных участков полипептидной цепи. Это свойство белков изменять конформацию в результате разрыва одних и образования других слабых связей называется **конформационной лабильностью**.

Функционально активная конформация белка называется **нативной конформацией**. Изменение внутренней среды (например, концентрации глюкозы, ионов кальция, протонов и т.д.) приводит к изменению конформации и нарушению функций белков.

Третичная структура некоторых белков стабилизирована **дисульфидными связями**, образующимися за счет взаимодействия –SH групп двух остатков цистеина. Большинство внутриклеточных белков не имеет в третичной структуре ковалентных дисульфидных связей. Их наличие характерно для секретируемых клеткой белков, что обеспечивает их большую стабильность во внеклеточных условиях. Так, дисульфидные связи имеются в молекулах инсулина и иммуноглобулинов.

**Инсулин** – белковый гормон, синтезирующийся в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы и секретируемый в кровь в ответ на повышение концентрации глюкозы в крови. В структуре инсулина



Молекулы гистонов объединяются в олигомерные комплексы, содержащие восемь мономеров с помощью «лейциновых застёжек», несмотря на значительный одноименный заряд этих молекул.

«**Цинковый палец**» – вариант супервторичной структуры, характерный для ДНК-связывающих белков, имеет вид вытянутого фрагмента на поверхности белка и содержит около 20 аминокислотных остатков (рис. 63, 2). Форму «вытянутого пальца» поддерживает атом цинка, связанный с радикалами четырех аминокислот – двух остатков цистеина и двух – гистидина. В некоторых случаях вместо остатков гистидина находятся остатки цистеина.

**Денатурация белков.** Нативная конформация белков поддерживается за счет слабых взаимодействий, изменение состава и свойств окружающей белок среды, воздействие химических реагентов и физических факторов вызывают изменение их конформации. Разрыв большого количества связей приводит к разрушению нативной конформации и денатурации белков.

**Денатурация белков – это разрушение их нативной конформации под действием денатурирующих агентов, вызванное разрывом слабых связей, стабилизирующих пространственную структуру белка.** Денатурация сопровождается разрушением уникальной трехмерной структуры и активного центра белка и потерей его биологической активности (рис. 64).

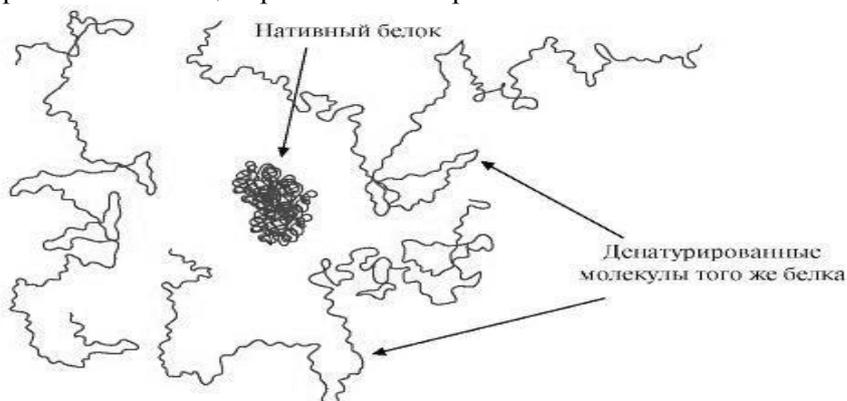


Рис. 64. Структура нативного белка и денатурированных молекул

Все денатурированные молекулы одного белка приобретают случайную конформацию, отличающуюся от других молекул того же белка. Радикалы аминокислот, формирующие активный центр, оказываются пространственно удаленными друг от друга. При денатурации первичная структура белков остается неизменной.

В биохимических исследованиях перед определением в биологическом материале низкомолекулярных соединений обычно из раствора вначале удаляют белки, затем денатурированные белки выпадают в осадок и легко удаляются фильтрованием (табл. 7)

Таблица 7

Реагенты и условия, вызывающие денатурацию белков

Денатурирующие агенты	Особенности действия реагента
Высокая температура (свыше 60°C)	Разрушение слабых связей в белке
Кислоты и щелочи	Изменение ионизации ионогенных групп, разрыв ионных и водородных связей
Мочевина	Разрушение внутримолекулярных водородных связей в результате образования водородных связей с мочевиной
Спирт, фенол, хлорамин	Разрушение гидрофобных, водородных связей
Соли тяжелых металлов	Образование нерастворимых солей белков с ионами тяжелых металлов

В медицине денатурирующие агенты часто применяют для стерилизации медицинского инструмента и материала в автоклавах (денатурирующий агент – высокая температура) и в качестве антисептиков (спирт, фенол, хлорамин) для обработки загрязненных поверхностей, содержащих патогенную микрофлору.

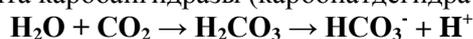
## 4.2. Катаболизм белков

В пищевых продуктах содержание свободных аминокислот очень мало. Подавляющее их количество входит в состав белков, которые гидролизуются в ЖКТ под действием ферментов протеаз (пептидгиролаз). Субстратная специфичность этих ферментов заключается в том, что каждый из них с наибольшей скоростью расщепляет пептидные связи, образованные определёнными аминокислотами.

Протеазы, гидролизующие пептидные связи внутри белковой молекулы, относят к группе *эндопептидаз*. Ферменты, относящиеся к группе *экзопептидаз*, гидролизуют пептидную связь, образованную концевыми аминокислотами. Под действием всех протеаз ЖКТ белки пищи распадаются на отдельные аминокислоты, которые затем поступают в клетки тканей.

**Переваривание белков в желудке.** Желудочный сок – продукт нескольких типов клеток. Обкладочные (париетальные) клетки стенок желудка образуют соляную кислоту, главные клетки секретируют пепсиноген. Добавочные и другие клетки эпителия желудка выделяют муцинсодержащую слизь. Париетальные клетки секретируют в полость желудка также гликопротеин, который называют "внутренним фактором" (фактором Касла). Этот белок связывает "внешний фактор" – витамин В<sub>12</sub>, предотвращает его разрушение и способствует всасыванию.

Основная пищеварительная функция желудка заключается в том, что в нём начинается переваривание белка. Существенную роль в этом процессе играет соляная кислота. Источником Н<sup>+</sup> является Н<sub>2</sub>СО<sub>3</sub>, которая образуется в обкладочных клетках желудка из СО<sub>2</sub>, диффундирующего из крови, и Н<sub>2</sub>О под действием фермента карбоангидразы (карбонатдегидратазы):



Диссоциация Н<sub>2</sub>СО<sub>3</sub> приводит к образованию бикарбоната, который с участием специальных белков выделяется в плазму в обмен на Сl<sup>-</sup>, и ионов Н<sup>+</sup>, которые поступают в просвет желудка путём активного транспорта, катализируемого мембранной Н<sup>+</sup>/К<sup>+</sup>-АТФ-азой. При этом концентрация протонов в просвете желудка увеличивается в 10<sup>6</sup> раз. Ионы Сl<sup>-</sup> поступают в просвет желудка через хлоридный канал.

Концентрация НСl в желудочном соке может достигать 0,16 М, за счёт чего значение рН снижается до 1,0-2,0. Под действием НСl происходит денатурация белков пищи, не подвергшихся термической обработке, что увеличивает доступность пептидных связей для протеаз.

**Переваривание белков в кишечнике.** Желудочное содержимое в процессе переваривания поступает в двенадцатиперстную кишку. Низкое значение рН химуса вызывает в кишечнике выделение белкового гормона секретина, поступающего в кровь. Этот гормон в свою очередь стимулирует выделение из поджелудочной железы в тонкий кишечник панкреатического сока, содержащего НСО<sub>3</sub><sup>-</sup>, что приводит к нейтрализации НСl желудочного сока и ингибированию пепсина. В результате рН резко возрастает от 1,5-2,0 до ~7,0.

Под действием ферментов поджелудочной железы и клеток кишечника завершается переваривание белков. В поджелудочной железе синтезируются проферменты ряда протеаз: трипсиноген, химотрипсиноген, проэластаза, прокарибоксипептидазы А и В. В кишечнике они путём частичного протеолиза превращаются в активные ферменты трипсин, химотрипсин, эластазу и карбоксипептидазы А и В.

**Трипсин** преимущественно гидролизует пептидные связи, образованные карбоксильными группами аргинина и лизина.

**Химотрипсины** наиболее активны в отношении пептидных связей, образованных карбоксильными группами ароматических аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан).

**Карбоксипептидазы А и В** – цинксодержащие ферменты, отщепляют С-концевые остатки аминокислот.

Последний этап переваривания – гидролиз небольших пептидов, происходит под действием ферментов аминопептидаз и дипептидаз, которые синтезируются клетками тонкого кишечника в активной форме. **Аминопептидазы** последовательно отщепляют N-концевые аминокислоты пептидной цепи. **Дипептидазы** расщепляют дипептиды на аминокислоты, но не действуют на трипептиды.

В результате последовательного действия всех пищеварительных протеаз большинство пищевых белков расщепляется до свободных аминокислот. Аминокислоты, образовавшиеся при переваривании белков, быстро всасываются в кишечнике. Транспорт их осуществляется двумя путями: через воротную систему печени, ведущую прямо в печень, и по лимфатическим сосудам, сообщаемым с кровью через грудной лимфатический проток.

Различная скорость проникновения аминокислот через мембраны клеток указывает на наличие транспортных систем, обеспечивающих перенос аминокислот как через внешнюю плазматическую мембрану, так и через внутриклеточные мембраны (рис. 65).

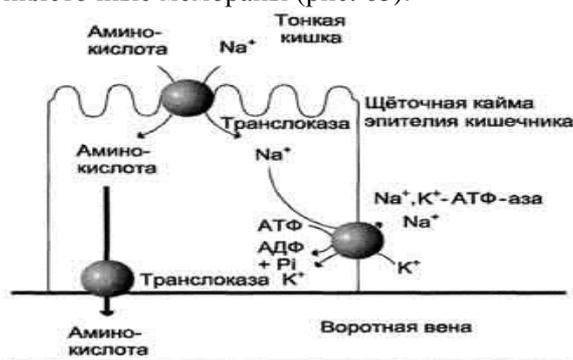


Рис. 65. Механизм всасывания аминокислот в кишечнике:

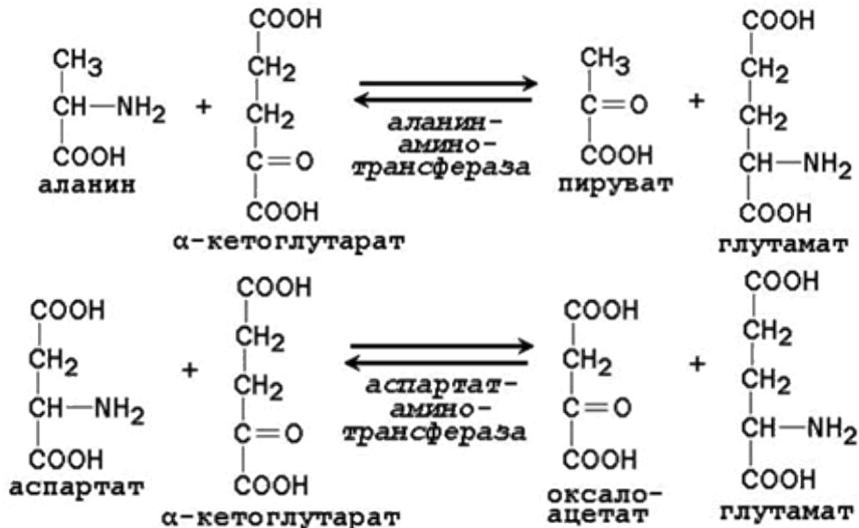
аминокислота поступает в энтероцит путём симпорта с ионом  $\text{Na}^+$ . Далее специфическая транслокатора переносит аминокислоту через мембрану в кровь. Обмен ионов натрия между клетками осуществляется путём первично-активного транспорта с помощью  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФ-азы.

### 4.3. Катаболизм аминокислот

К общим путям метаболизма аминокислот относятся реакции трансаминирования, дезаминирования и декарбоксилирования.

#### 1. Трансаминирование аминокислот – перенос $\text{NH}_2$ -аминогруппы от аминокислоты на $\alpha$ -кетокислоту без промежуточного образования аммиака.

Реакции трансаминирования катализируют ферменты аминотрансферазы (или трансминазы). Кофермент аминотрансфераз – пиридоксальфосфат (производное витамина  $\text{B}_6$ ). В реакции принимает участие альдегидная группа кофермента. Реакция легко обратима. Примеры реакций трансаминирования:



Механизм переноса аминогруппы с аминокислоты на  $\alpha$ -кетокислоту в реакции трансаминирования.

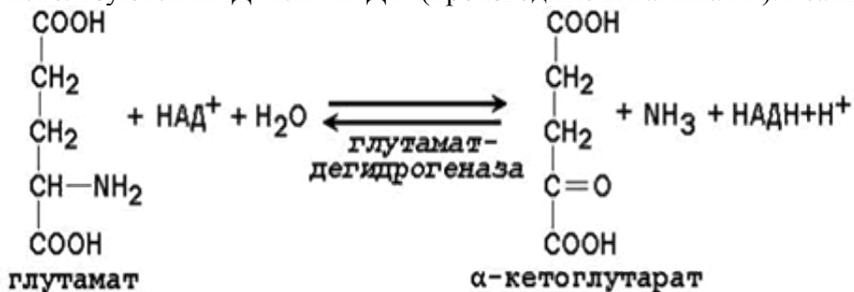
Роль реакций трансаминирования в организме:

- участие в непрямом дезаминировании аминокислот;
- путь синтеза заменимых аминокислот;
- образующиеся в реакции  $\alpha$ -кетокислоты могут включаться в общий путь катаболизма и глюконеогенез.

#### 2. Дезаминирование аминокислот – отщепление аминогруппы от аминокислоты с образованием аммиака $\text{NH}_3$ .

В тканях человека преобладает окислительное дезаминирование, то есть сопряжённое с переносом водорода. Основная роль в окислительном дезаминировании принадлежит

глутаматдегидрогеназе, которая катализирует **прямое окислительное дезаминирование** глутамата. В качестве кофермента используются НАД<sup>+</sup> или НАДФ<sup>+</sup> (производные витамина РР). Реакция обратима:



3. **Непрямое дезаминирование** характерно для большинства аминокислот. Оно называется непрямым, потому что происходит в 2 этапа:

1. на первом этапе аминокислота подвергается трансаминированию с образованием глутамата;
2. на втором этапе происходит окислительное дезаминирование глутамата:



**Ферменты: 1 - аминотрансферазы;**  
**2 - глутаматдегидрогеназа.**

Участие аминотрансфераз в этом процессе позволяет собрать аминокруппы различных аминокислот в составе одной аминокислоты – глутамата, который затем подвергается окислению с образованием аммиака и  $\alpha$ -кетоглутарата.

3. **Декарбоксилирование аминокислот** – отщепление карбоксильной группы от аминокислоты с образованием  $\text{CO}_2$ . Продуктами реакций декарбоксилирования аминокислот являются **биогенные амины**, участвующие в регуляции обмена веществ и физиологических процессов в организме:

- Гистидин → Гистамин;
- Глутамат →  $\gamma$ -аминомасляная кислота (ГАМК);
- Тирозин → Дофамин;
- Триптофан → Триптамин; Триптофан → Серотонин;
- Цистеин → Тиоэтиламин; Цистеин → Таурин.

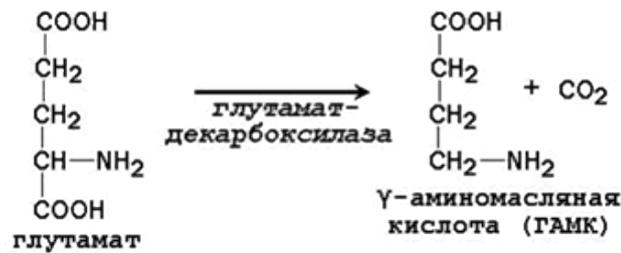
Реакции декарбоксилирования аминокислот и их производных катализируют **декарбоксилазы** аминокислот. Кофермент – **пиридоксальфосфат** (производное витамина В<sub>6</sub>). Реакции являются необратимыми.

Некоторые аминокислоты непосредственно подвергаются декарбоксилированию. Например, реакция декарбоксилирования гистидина:



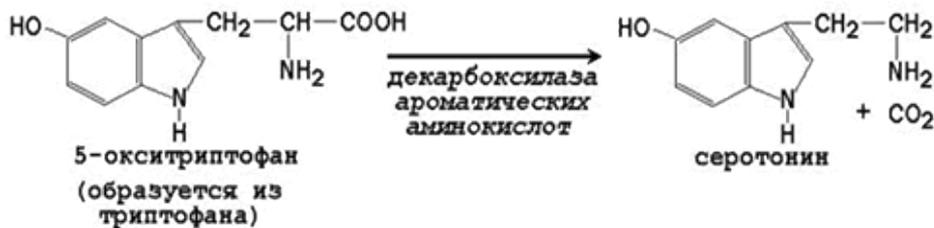
**Гистамин** обладает мощным сосудорасширяющим действием, особенно капилляров в очаге воспаления; стимулирует желудочную секрецию как пепсина, так и соляной кислоты, и используется для исследования секреторной функции желудка.

Реакция декарбоксилирования глутамата:



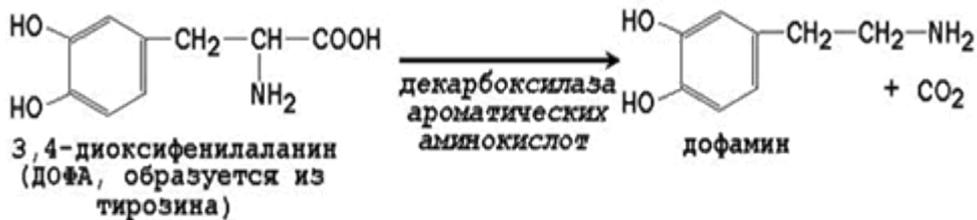
**ГАМК** – тормозный медиатор в центральной нервной системе.

Ряд аминокислот подвергается декарбоксилированию после предварительного окисления. Например, продукт гидроксирования триптофана превращается в серотонин:



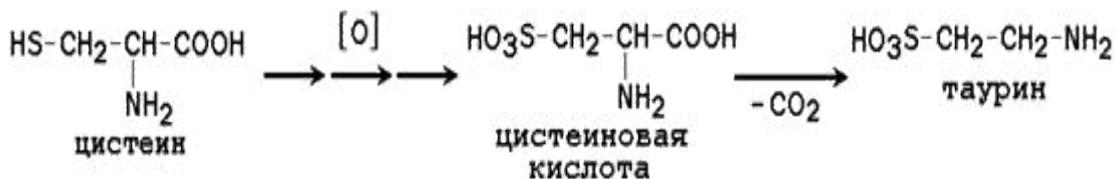
**Серотонин** образуется главным образом в клетках центральной нервной системы, обладает сосудосуживающим действием. Участвует в регуляции артериального давления, температуры тела, дыхания, почечной фильтрации.

Продукт гидроксирования тирозина переходит в дофамин:



**Дофамин** служит предшественником катехоламинов; является медиатором ингибирующего типа в центральной нервной системе.

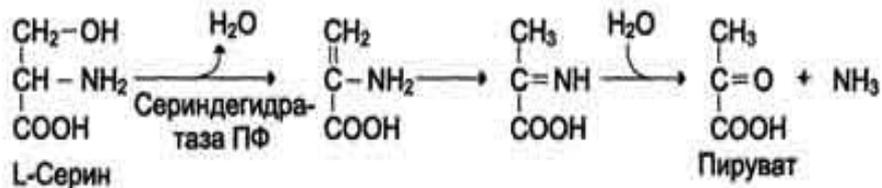
Тиогруппа цистеина окисляется до сульфогруппы, продукт этой реакции декарбоксилируется с образованием таурина:

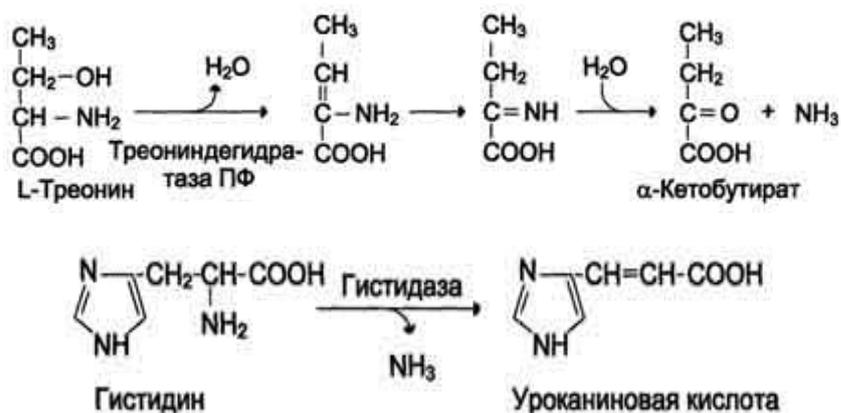


**Таурин** образуется главным образом в печени; участвует в синтезе парных желчных кислот (таурохолевой кислоты).

#### 4.4. Катаболизм аммиака

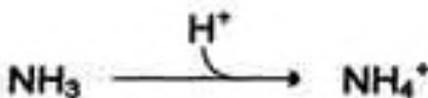
Катаболизм аминокислот в тканях происходит постоянно со скоростью ~100 г/сут. При этом в результате дезаминирования аминокислот освобождается большое количество аммиака.





Значительно меньшие количества его образуются при деаминации биогенных аминов и нуклеотидов.

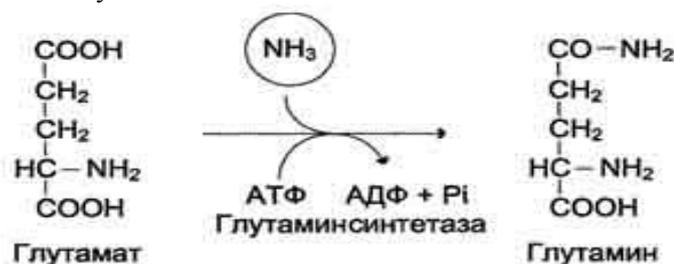
**Часть аммиака образуется в кишечнике** в результате действия бактерий на пищевые белки (**гниение белков** в кишечнике) и поступает в кровь воротной вены. В печени задерживается большое количество аммиака, что поддерживает низкое содержание его в крови. Концентрация аммиака в крови в норме редко превышает 0,4-0,7 мг/л (или 25-40 мкмоль/л). В крови и цитозоле клеток при физиологических значениях pH аммиак переходит в ион аммония -  $\text{NH}_4^+$ , количество неионизированного  $\text{NH}_3$  невелико (~ 1%).



**Аммиак – токсичное соединение.** Даже небольшое повышение его концентрации оказывает неблагоприятное действие на организм, и прежде всего на ЦНС. Так, повышение концентрации аммиака в мозге до 0,6 ммоль вызывает судороги. К симптомам гипераммониемии относят тремор, нечленораздельную речь, тошноту, рвоту, головокружение, судорожные припадки, потерю сознания. В тяжёлых случаях развивается кома с летальным исходом.

**Пути связывания (обезвреживания) аммиака.** Высокая интенсивность процессов деаминации аминокислот в тканях и очень низкий уровень аммиака в крови свидетельствуют о том, что в клетках активно происходит связывание аммиака с образованием нетоксичных соединений, которые выводятся из организма с мочой. Эти реакции можно считать реакциями обезвреживания аммиака. В разных тканях и органах обнаружено несколько типов таких реакций.

Основной реакцией связывания аммиака, протекающей во всех тканях организма, является синтез глутамина под действием глутамин-синтетазы:



Глутаминсинтетаза локализована в митохондриях клеток, для работы фермента необходим кофактор - ионы  $\text{Mg}^{2+}$ . Глутамин легко транспортируется через клеточные мембраны путём облегчённой диффузии (для глутамата возможен только активный транспорт) и поступает из тканей в кровь. Основными тканями-поставщиками глутамина служат мышцы, мозг и печень. С током крови глутамин транспортируется в кишечник и почки.

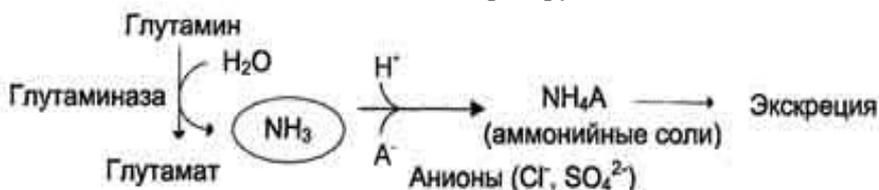
**В клетках кишечника** под действием фермента глутаминазы происходит гидролитическое освобождение амидного азота в виде аммиака:



Образовавшийся в реакции глутамат подвергается трансаминированию с пируватом. Аминогруппа глутаминовой кислоты переносится в состав аланина. Большие количества аланина поступают из кишечника в кровь воротной вены и поглощаются печенью. Около 5% образовавшегося аммиака удаляется в составе фекалий, небольшая часть через воротную вену попадает в печень, остальные ~90% выводятся почками.



**В почках** также происходит гидролиз глутамина под действием глутаминазы с образованием аммиака. Этот процесс является одним из механизмов регуляции кислотно-щелочного равновесия в организме и сохранения важнейших катионов для поддержания осмотического давления. Глутаминаза почек значительно индуцируется при ацидозе, образующийся аммиак нейтрализует кислые продукты обмена и в виде аммонийных солей экскретируется с мочой.



Эта реакция защищает организм от излишней потери ионов  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$ , которые также могут использоваться для выведения анионов и утрачиваться. В почках образуется и выводится около 0,5 г солей аммония в сутки.

Высокий уровень глутамина в крови и лёгкость его поступления в клетки обуславливают использование глутамина во многих анаболических процессах.

**Глутамин – основной донор азота в организме.** Амидный азот глутамина используется для синтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, аспарагина, аминоксахара и других соединений (рис. 66).

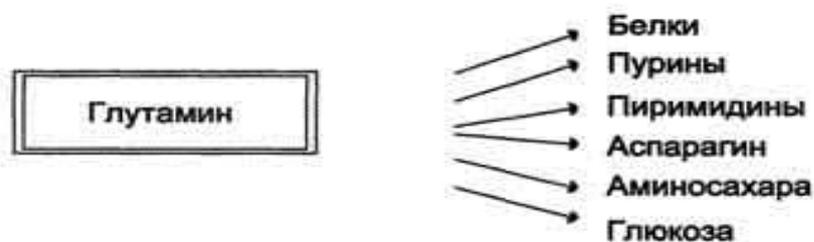
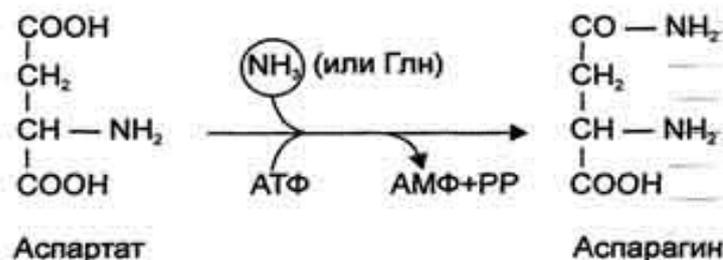


Рис. 66. Пути использования глутамина в организме.

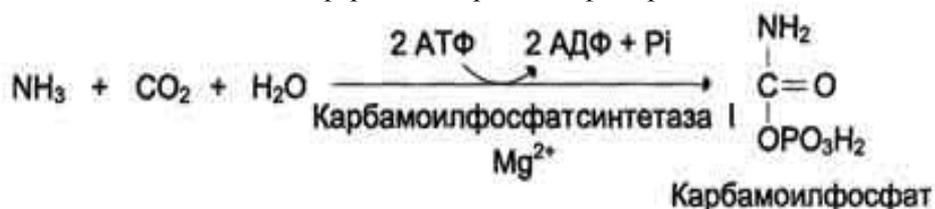
Ещё одной реакцией обезвреживания аммиака в тканях можно считать **синтез аспарагина** под действием аспарагинсинтетазы:



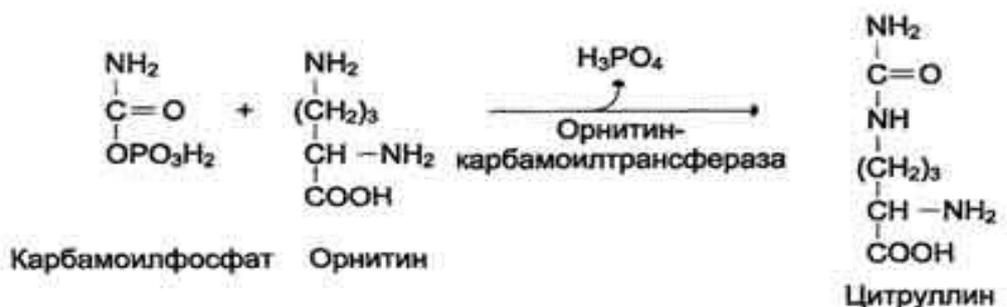
Наиболее значительные количества аммиака обезвреживаются в печени путём **синтеза мочевины**. **Мочевина - основной конечный продукт азотистого обмена**, в составе которого из организма выделяется до 90% всего выводимого азота. Экскреция мочевины в норме составляет ~25 г/сут. При повышении количества потребляемых с пищей белков экскреция мочевины увеличивается.

Синтез мочевины представляет собой циклический процесс, состоящий из нескольких стадий, ключевым соединением которого, замыкающим цикл, является орнитин. Поэтому процесс синтеза мочевины получил название "**орнитиновый цикл**" или "**цикл Кребса-Гензелейта**" (рис. 67).

**1. Реакции синтеза мочевины.** В первой реакции аммиак связывается с диоксидом углерода с образованием карбамоилфосфата, при этом затрачиваются 2 молекулы АТФ. Реакция происходит в митохондриях гепатоцитов под действием фермента карбамоилфосфатсинтетазы:

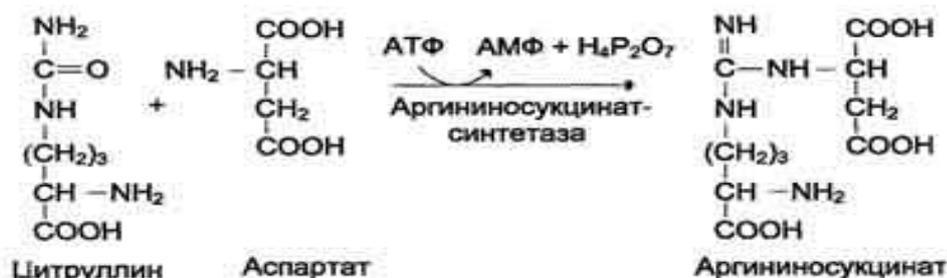


Карбамоилфосфат затем включается в орнитиновый цикл и используется для синтеза мочевины. Далее под действием орнитинкарбамоилтрансферазы карбамоильная группа карбамоилфосфата переносится на α-аминокислоту орнитин, и образуется другая α-аминокислота – цитруллин:

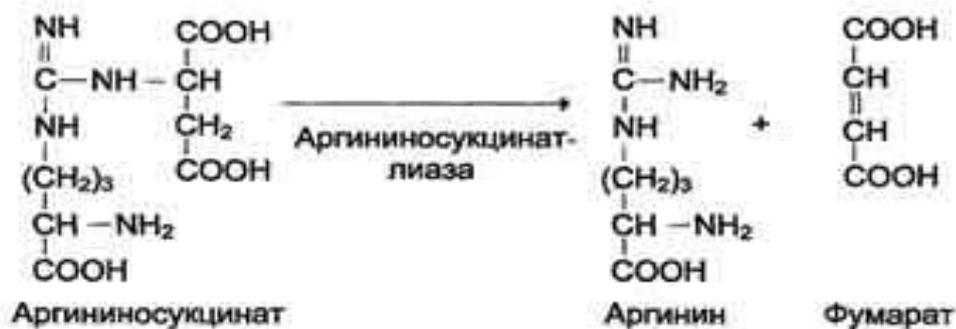


В следующей реакции аргининосукцинатсинтетаза связывает цитруллин с аспартатом и образует аргининосукцинат (аргининоянтарную кислоту). Этот фермент нуждается в ионах  $\text{Mg}^{2+}$ . В реакции затрачивается 1 моль АТФ, но используется энергия двух макроэргических связей.

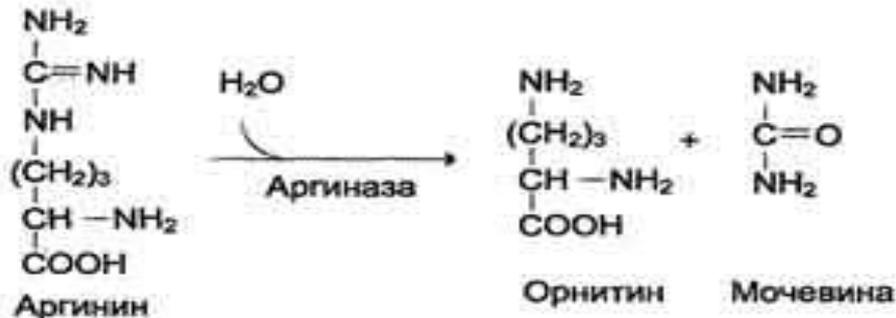
**Аспартат – источник второго атома азота мочевины:**



Далее фермент аргининосукцилатлиаза (аргининосукциназа) расщепляет аргининосукцинат на аргинин и фумарат, при этом аминогруппа аспартата оказывается в молекуле аргинина.



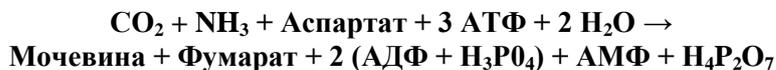
Далее аргинин подвергается гидролизу под действием аргиназы, при этом образуются орнитин и мочевина. Кофакторами аргиназы являются ионы  $\text{Ca}^{2+}$  или  $\text{Mn}^{2+}$ . Высокие концентрации орнитина и лизина, являющихся структурными аналогами аргинина, подавляют активность этого фермента:



Образующийся орнитин взаимодействует с новой молекулой карбамоилфосфата, и цикл замыкается.

Первые две реакции процесса происходят в митохондриях гепатоцитов. Затем цитруллин, являющийся продуктом этих реакций, транспортируется в цитозоль, где и осуществляются дальнейшие превращения.

**Суммарное уравнение синтеза мочевины:**



Окислительное дезаминирование глутамата происходит в митохондриях. Ферменты орнитинового цикла распределены между митохондриями и цитозолем. Поэтому необходим трансмембранный перенос глутамата, цитруллина и орнитина с помощью специфических транслоказ.

На схеме (рис. 67) показаны пути включения азота двух разных аминокислот (аминокислота 1 и аминокислота 2) в молекулу мочевины: одна аминогруппа – в виде аммиака в матриксе митохондрии; вторую аминогруппу поставляет аспартат цитозоля.

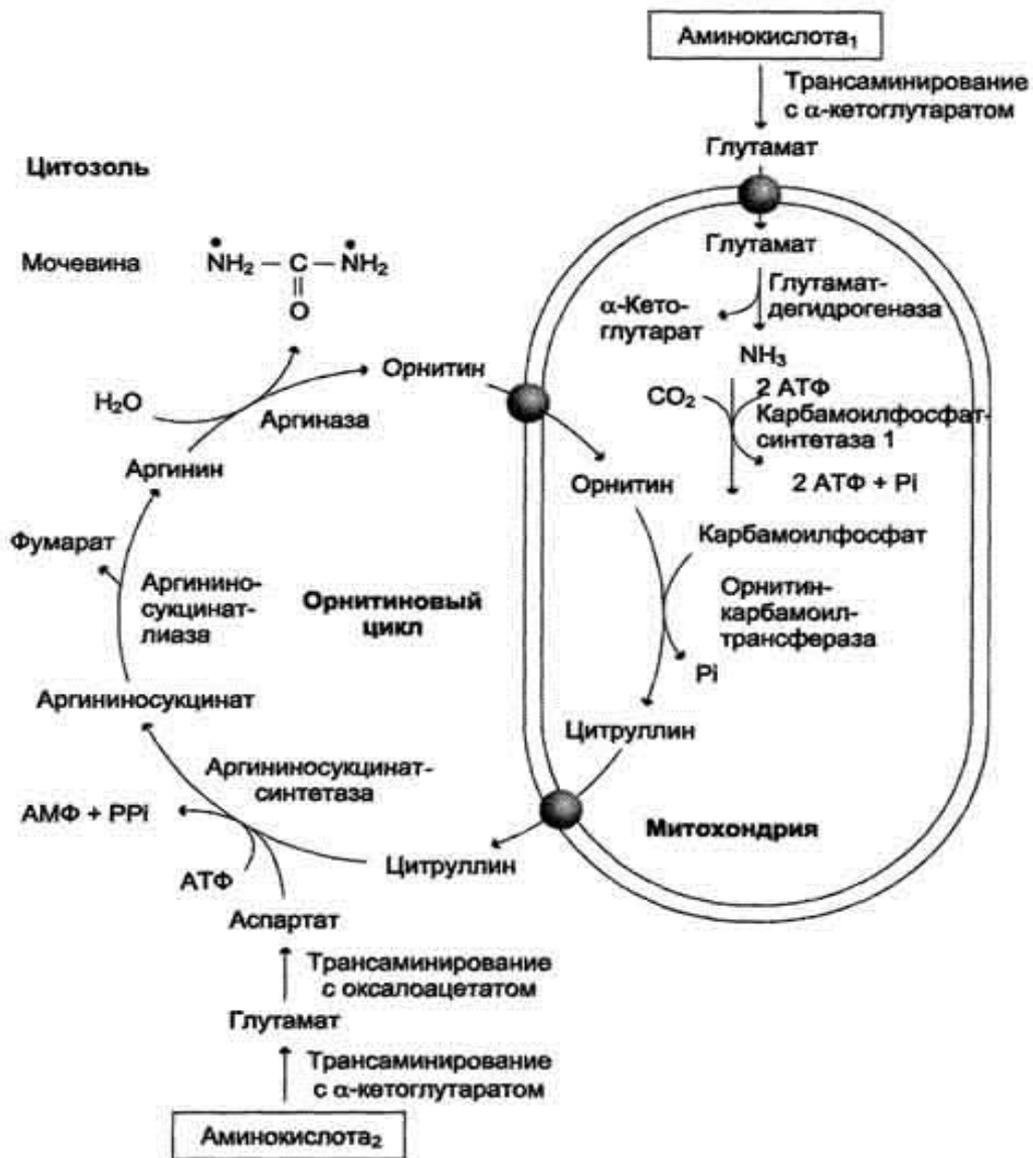


Рис. 67. Орнитиновый цикл Кребса-Гензелейта.

Источником оксалоацетата, необходимого для этой реакции, можно считать превращение фумарата, образующегося в реакциях орнитинового цикла. Фумарат в результате двух реакций цитратного цикла превращается в оксалоацетат, из которого путём трансаминирования образуется аспартат (рис. 68).

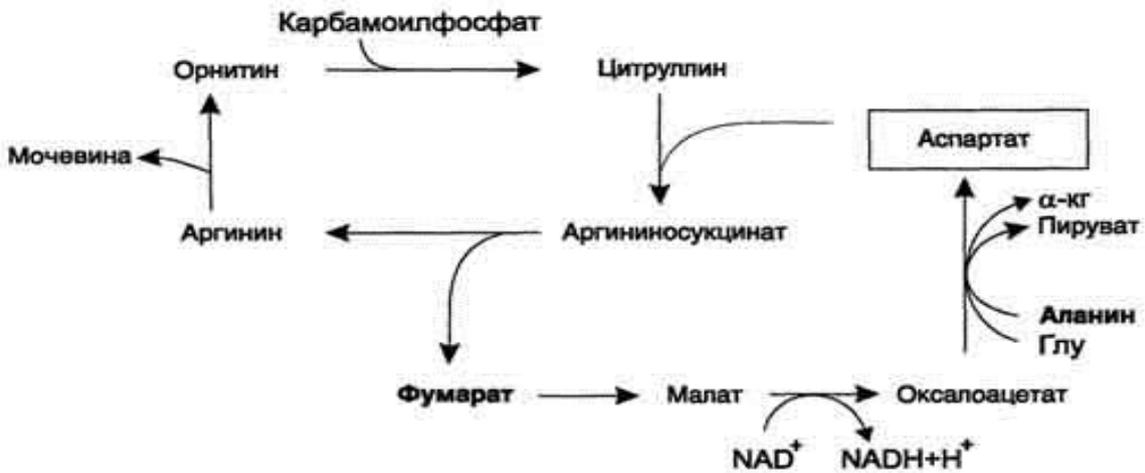


Рис. 68. Цикл регенерации аспартата, сопряжённый с орнитиновым циклом.

Таким образом, с орнитинным циклом сопряжён **цикл регенерации аспартата из фумарата**. Пируват, образующийся в этом цикле из аланина, используется для глюконеогенеза.

Ещё одним источником аспартата для орнитинового цикла является Трансаминирование глутамата с оксалоацетатом.

**2. Энергетический баланс процесса.** В реакциях орнитинового цикла расходуются четыре макроэргических связи трёх молекул АТФ на каждый оборот цикла. Однако процесс превращения аминокислот в безазотистые остатки и мочевины имеет пути компенсации энергозатрат:

- при включении фумарата в ЦТК на стадии дегидрирования малата образуется NADH, который обеспечивает синтез 3 молекул АТФ;
- при окислительном дезаминировании глутамата в разных органах также образуется NADH, соответственно – ещё 3 молекулы АТФ.

**Затраты энергии** происходят также и при трансмембранном переносе веществ, связанном с синтезом и экскрецией мочевины. Первые две реакции орнитинового цикла происходят в митохондриях, а последующие три – в цитозоле. Цитруллин, образующийся в митохондрии, должен быть перенесён в цитозоль, а орнитин, образующийся в цитозоле, необходимо транспортировать в митохондрию. Кроме того, в почках перенос мочевины из крови в мочу происходит путём активного транспорта за счёт градиента ионов натрия, создаваемого  $K^+, Na^+$ -АТФ-азой, что тоже сопряжено с энергозатратами.

Полный набор ферментов орнитинового цикла есть только в гепатоцитах. Отдельные же ферменты орнитинового цикла обнаруживаются не только в печени, но и в других клетках. В энтероцитах, например, имеется карбамоилфосфат-синтетаза I и орнитинкарбамоилтрансфераза, следовательно, может синтезироваться цитруллин. В почках обнаружены аргининосукцинатсинтетаза и аргининосукцинатлиаза. Цитруллин, образовавшийся в энтероцитах, может поступать в почки и превращаться там в аргинин, который переносится в печень и гидролизуется аргиназой. Активность этих рассеянных по разным органам ферментов значительно ниже, чем в печени.

**3. Биологическая роль орнитинового цикла Кребса-Гензелейта.** Орнитинный цикл в печени выполняет 2 функции:

- превращение азота аминокислот в мочевины, которая экскретируется и предотвращает накопление токсичных продуктов, главным образом аммиака;
- синтез аргинина и пополнение его фонда в организме.

Эффективность работы орнитинового цикла при нормальном питании человека и умеренных физических нагрузках составляет примерно 60% его мощности. Запас мощности необходим для избежания гипераммониемии при изменениях количества белка в пище. Увеличение скорости синтеза мочевины происходит при длительной физической работе или длительном голодании, которое сопровождается распадом тканевых белков. При избыточном белковом питании количество ферментов орнитинового цикла в печени увеличивается, что приводит к интенсификации синтеза мочевины.

**Обмен аммиака и аминокислот между органами и тканями.** В катаболизме аминокислот и образовании аммиака участвуют многие ткани. В клетках происходит связывание аммиака. Из организма азот выводится почками в виде двух конечных продуктов азотистого обмена, аммонийных солей (~ 0,5 г/сут), которые образуются в почках, и мочевины (~ 25 г/сут), которая содержит до 90% выводимого азота. Синтез мочевины происходит в печени в орнитинном цикле, причём на образование 1 моля мочевины используется 1 моль аммиака и 1 моль аспарагиновой кислоты. Таким образом, для синтеза 25 г мочевины в сутки затрачивается 6,3 г аммиака и 50 г аспартата.

После приёма пищи из кишечника в плазму крови поступает много аминокислот, причём преобладают аминокислоты с разветвлённой боковой цепью (до 20% от общего количества), которые поглощаются в основном, печенью, мышцами и мозгом (рис. 69). Основное количество глутамин поставляют в кровь **мышцы и мозг**. Из кровеносного русла его поглощают печень и почки, где он подвергается действию глутаминазы. **Почки** - основной источник серина и частично аланина, которые сорбируются из плазмы печенью. **Головной мозг**, в отличие от всех других тканей, способен поглощать и окислять большие количества аминокислот с разветвлённой боковой цепью (валин, лейцин, изолейцин).

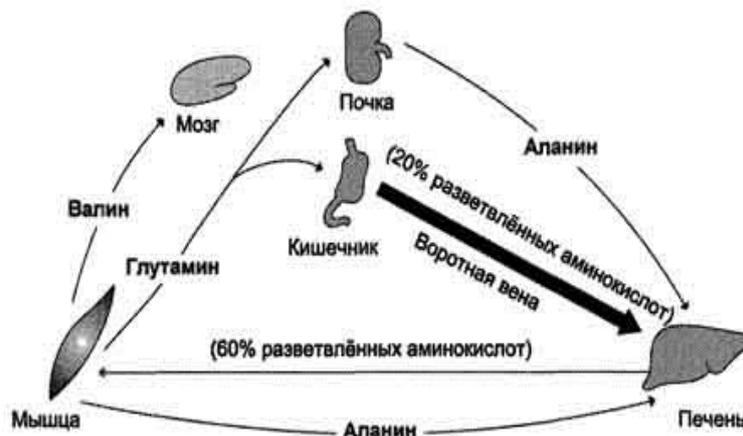


Рис. 69. Обмен аминокислот между тканями и органами в абсорбтивном периоде.

В мышцах происходит усиленный катаболизм этих аминокислот, причём они выступают основными донорами аминогруппы в синтезе аланина из пирувата (глюкозо-аланиновый цикл).

#### 4.5. Пути обмена безазотистого остатка аминокислот

В ходе катаболизма аминокислот происходит отщепление аминогруппы и выделение аммиака. Другим продуктом дезаминирования аминокислот служит их безазотистый остаток в виде  $\alpha$ -кетокислот. Катаболизм аминокислот происходит практически постоянно. За сутки в норме в организме человека распадается примерно 100 г аминокислот, и такое же количество должно поступать в составе белков пищи.

Большая часть безазотистых остатков аминокислот превращается в пируват либо непосредственно (Ала, Сер), либо в результате более сложного пути, превращаясь вначале в один из метаболитов ЦТК. Затем в реакциях цитратного цикла происходит образование оксалоацетата, который превращается в фосфоенолпируват. Из фосфоенолпирувата под действием пируваткиназы образуется пируват. Пируват подвергается окислительному декарбоксилированию и превращается в ацетил-КоА, который окисляется в ЦТК до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с выделением энергии. Такой путь проходят преимущественно аминокислоты пищи.

При недостатке глюкозы в организме фосфоенолпируват включается в глюконеогенез. Это происходит при голодании, длительной физической работе при сахарном диабете и других тяжёлых хронических заболеваниях, сопровождающихся распадом собственных белков организма. Скорость глюконеогенеза из аминокислот регулируется гормонами.

**Гликогенные и кетонные аминокислоты.** Катаболизм всех аминокислот сводится к образованию шести веществ, вступающих в общий путь катаболизма: **пируват, ацетил-КоА,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинил-КоА, фумарат, оксалоацетат.**

Аминокислоты, которые превращаются в пируват и промежуточные продукты ЦТК ( $\alpha$ -КГ, сукцинил-КоА, фумарат) и образуют в конечном итоге оксалоацетат, могут использоваться в процессе глюконеогенеза. Такие аминокислоты относят к группе **гликогенных аминокислот.**

Некоторые аминокислоты в процессе катаболизма превращаются в ацетоацетат (Лиз, Лей) или ацетил-КоА (Лей) и могут использоваться в синтезе кетонных тел. Такие аминокислоты называют **кетогенными.**

Ряд аминокислот используется и для синтеза глюкозы, и для синтеза кетонных тел, так как в процессе их катаболизма образуются 2 продукта - определённый метаболит цитратного цикла и ацетоацетат (Три, Фен, Тир) или ацетил-КоА (Иле). Такие аминокислоты называют смешанными или **гликокетогенными** (рис. 70).

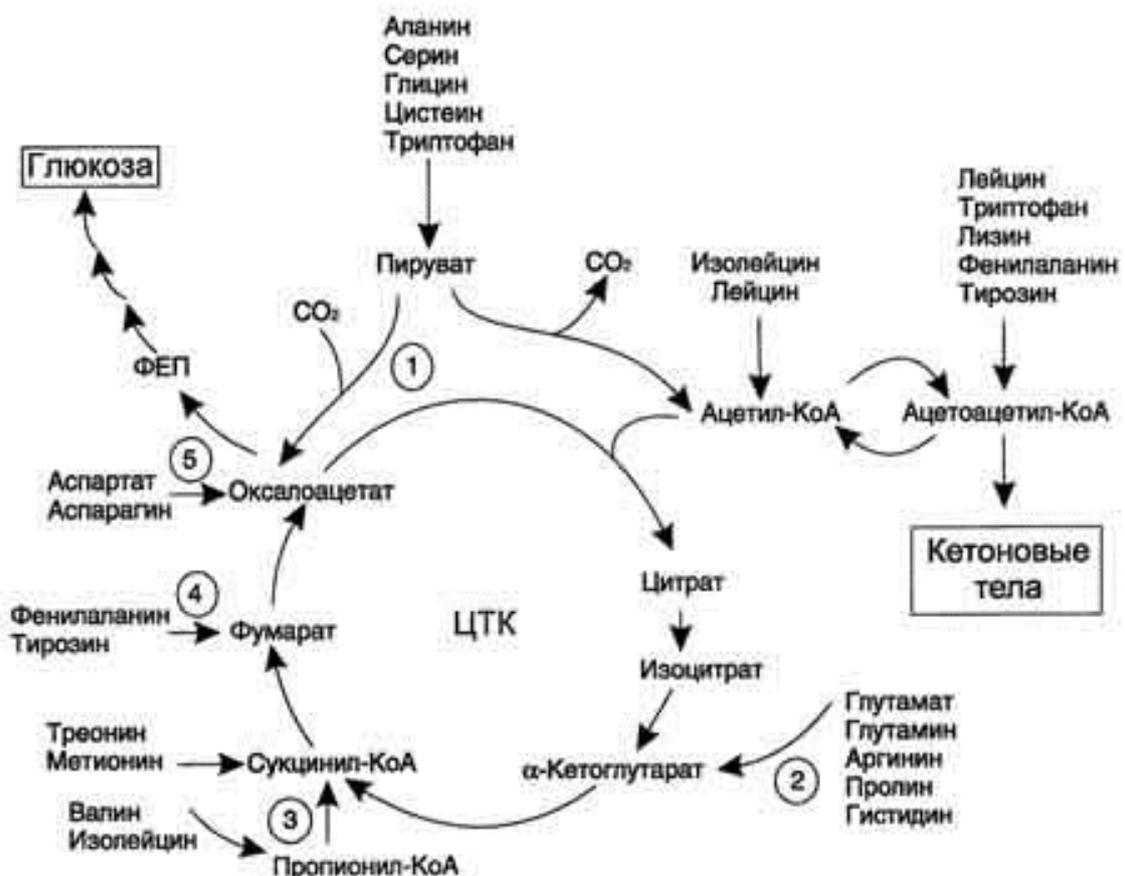


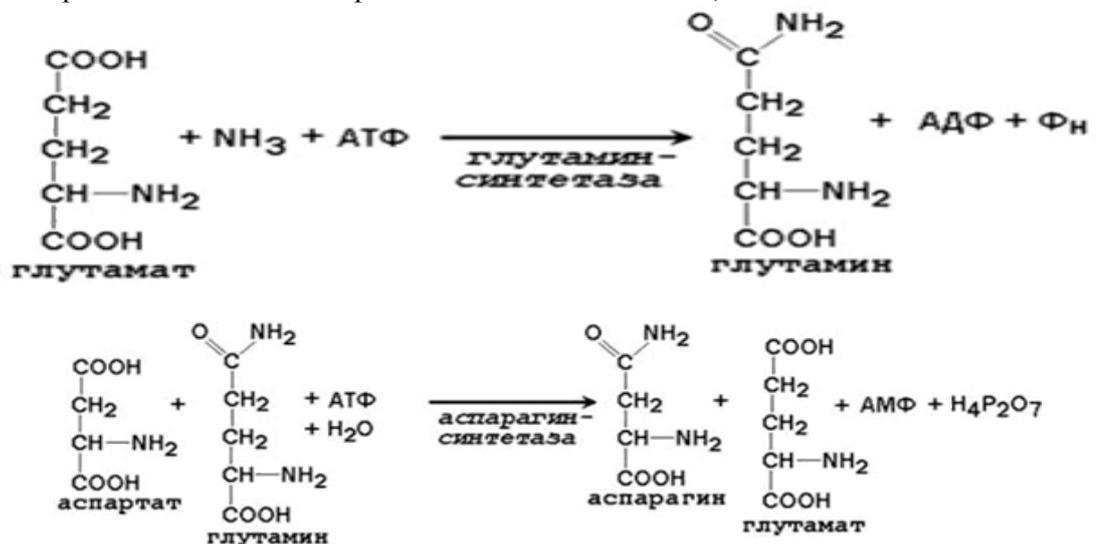
Рис. 70. Включение безазотистого остатка аминокислот в общий путь катаболизма.

**Анаплеротические реакции.** Безазотистые остатки аминокислот используются для восполнения того количества метаболитов общего пути катаболизма, которое затрачивается на синтез биологически активных веществ. Такие реакции называют анаплеротическими. На рисунке 70 выделены пять анаплеротических реакций:



1. Фермент пируваткарбоксилаза (кофермент – биотин), катализирующий эту реакцию, обнаружен в печени и мышцах.

2. Аминокислоты → Глутамат → α-Кетоглутарат. Превращение происходит во многих тканях под действием глутаматдегидрогеназы или аминотрансфераз. Образование глутамина и аспарагина из глутамата и аспартата соответственно происходит во многих тканях, включая головной мозг:



Глутамин, помимо участия в синтезе белка, служит источником азота в биосинтезе гистидина, глюкозамина, пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. С кровью глутамин поступает в печень и почки. Здесь он под действием фермента глутаминазы превращается в глутамат и аммиак. При участии аспарагиназы также происходит образование аммиака из аспарагина.

3. Пропионил-КоА, а затем и сукцинил-КоА могут образоваться также при распаде высших жирных кислот с нечётным числом атомов углерода.

4. Аминокислоты → Фумарат

5. Аминокислоты → Оксалоацетат

Реакции 2, 3 происходят во всех тканях (кроме печени и мышц), где отсутствует пируваткарбоксилаза, а реакции 4 и 5 - в основном в печени. Реакции 1 и 3 (рис. 70) – **основные анаплеротические реакции**.

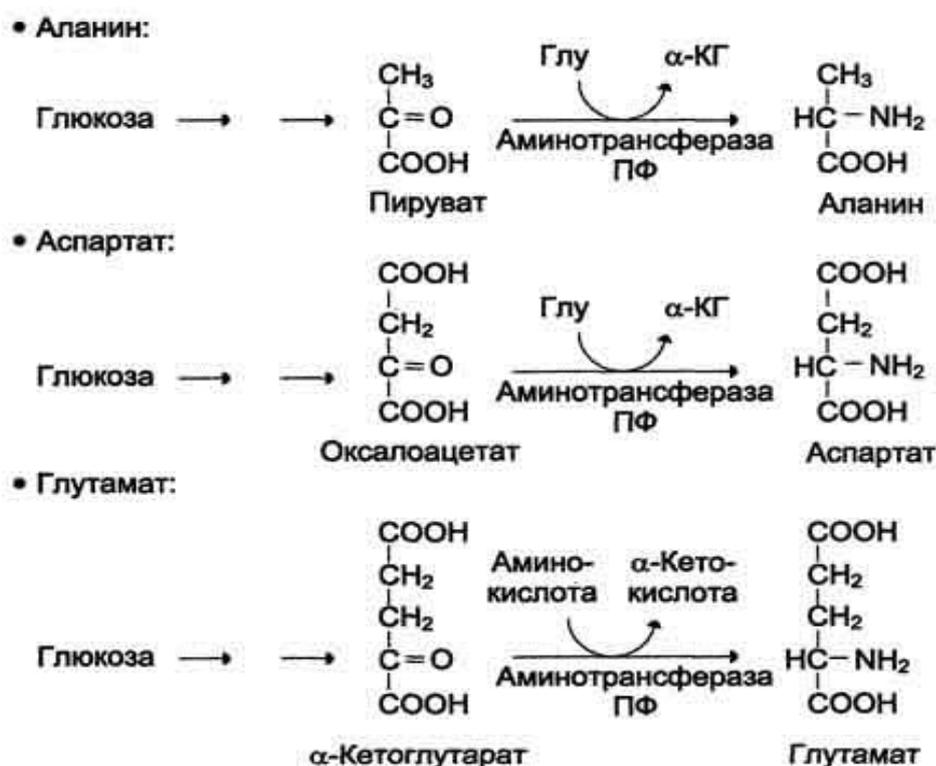
#### 4.6. Анаболизм заменимых аминокислот

В организме человека возможен биосинтез восьми заменимых аминокислот: Ала, Асп, Асн, Сер, Гли, Глу, Глн, Про.

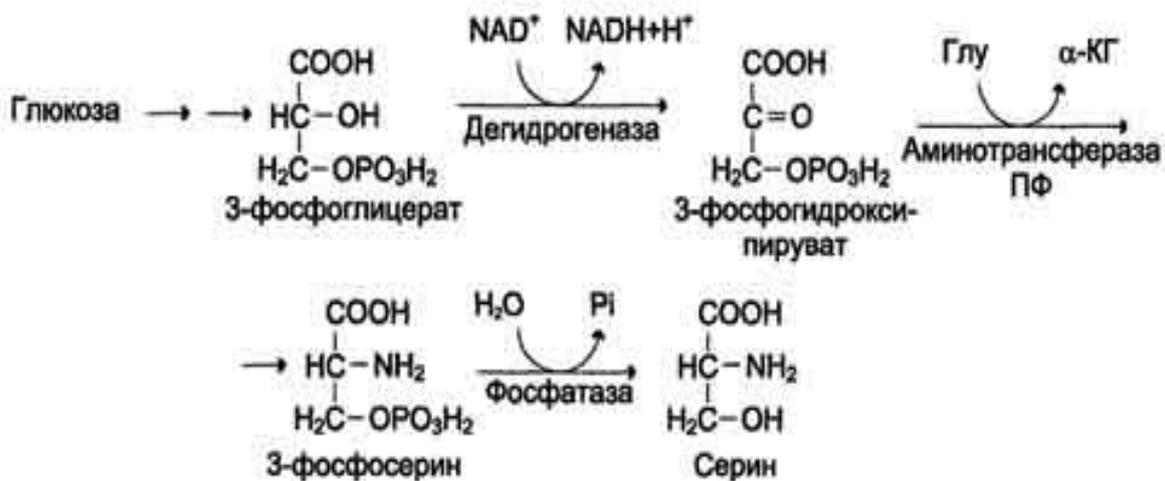
Углеродный скелет этих аминокислот образуется из глюкозы. α-аминогруппа вводится в соответствующие α-кетокислоты в результате реакций трансаминирования. **Универсальным донором α-аминогруппы служит глутамат.**

Эти реакции обратимы и играют большую роль как в процессе синтеза аминокислот, так и при их катаболизме. Такие реакции, выполняющие двойную функцию, называют амфиболическими.

**Амиды глутамин и аспарагин** синтезируются из соответствующих дикарбоновых аминокислот Глу и Асп.

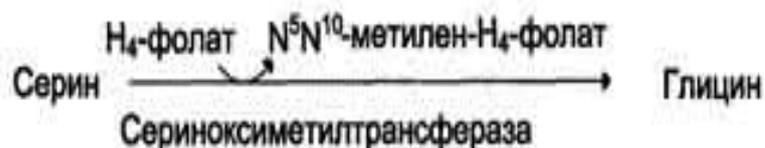


**Серин** образуется из 3-фосфоглицерата – промежуточного продукта гликолиза, который окисляется до 3-фосфопирувата и затем трансаминируется с образованием серина:

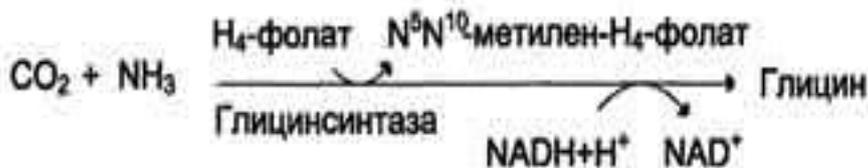


Существует 2 пути синтеза глицина:

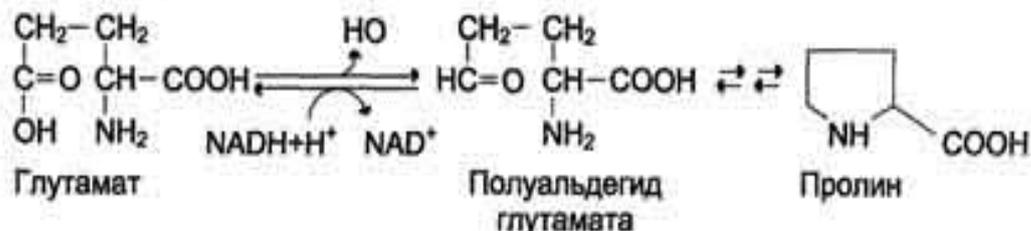
1) из серина с участием производного фолиевой кислоты в результате действия сериноксиметилтрансферазы:



2) в результате действия фермента глицинсинтазы в реакции:



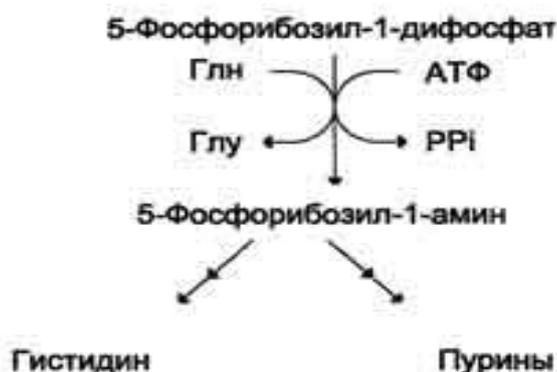
**Пролин** синтезируется из глутамата в цепи обратимых реакций. Эти же реакции используются и при катаболизме пролита.



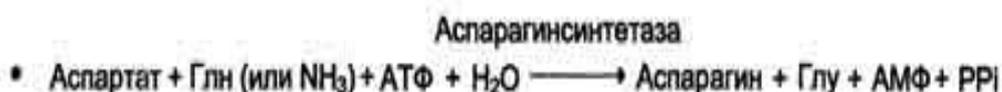
Кроме восьми перечисленных заменимых аминокислот, в организме человека могут синтезироваться ещё четыре аминокислоты.

**Частично заменимые аминокислоты Arg и Gic** синтезируются сложным путём в небольших количествах. Большая их часть должна поступать с пищей: синтез аргинина происходит в реакциях орнитинового цикла; гистидин синтезируется из АТФ и рибозы.

Часть имидазольного цикла гистидина -N=CH-NH- образуется из пуринового ядра аденина, источником которого служит АТФ, остальная часть молекулы - из атомов рибозы. При этом образуется 5-фосфорибозиламин, который кроме синтеза гистидина необходим для синтеза пуринов.

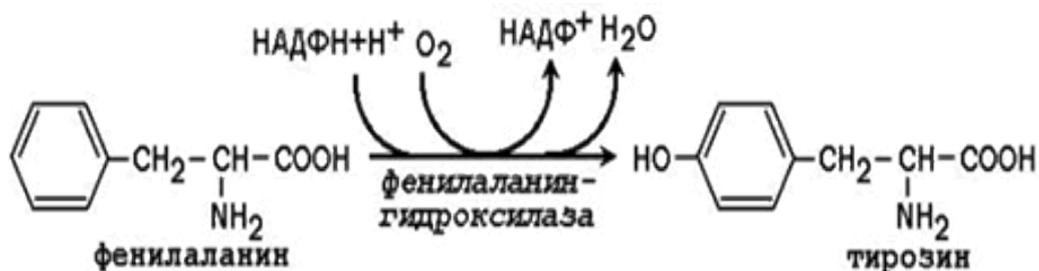


Образование других аминокислот также возможно при наличии соответствующих α-кетокислот, которые могут трансминироваться с глутаматом.

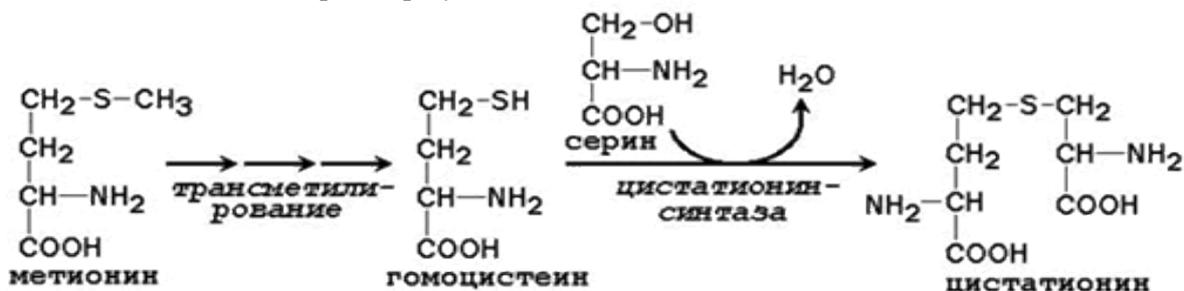


Таким образом, незаменимой частью молекулы аминокислот является их углеродный скелет. Источником таких незаменимых ос-кетокислот служат только белки пищи. Исключение составляют *лизин и треонин*, которые не подвергаются трансминированию, их α-кетоаналоги с пищей практически не поступают и в организме не синтезируются. Единственный источник этих аминокислот – пищевые белки.

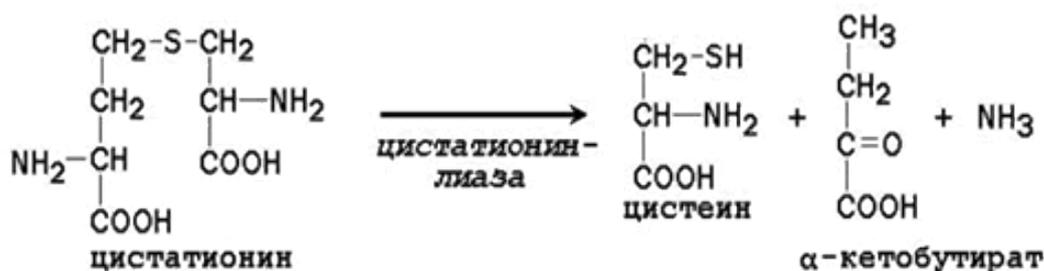
**Синтез с участием незаменимых аминокислот.** Заменяемая аминокислота тирозин может образоваться из незаменимой аминокислоты фенилаланина:



Заменяемая аминокислота цистеин синтезируется при участии незаменимой аминокислоты метионина, которая используется как источник атома серы. После отдачи метильной группы в реакциях трансметилирования метионин превращается в гомоцистеин. При его взаимодействии с заменимой аминокислотой серин образуется цистатионин:



Цистатионин подвергается расщеплению с образованием цистеина и гомосерина, который подвергается деаминации в α-кетобутират:



Таким образом, фенилаланин и метионин, поступающие с пищей, частично используются для синтеза заменимых аминокислот. Поэтому суточная потребность в фенилаланине и метионине может быть существенно снижена при поступлении в организм дополнительных количеств тирозина и цистеина соответственно.

#### 4.7. Трансляция (анаболизм белков)

**Трансляция как механизм перевода генетической информации в фенотипические признаки.** Синтез белка отличается от других матричных биосинтезов тем, что между матрицей (мРНК) и продуктом-белком нет комплементарного соответствия. Поскольку матрица построена из 4 нуклеотидов, а продукт – полипептидная цепь из 20 аминокислот, то существует определенный закон шифрования аминокислот в нуклеотидной последовательности матрицы, т.е. биологический код (рис. 71).

**Биологический код** - это способ записи информации об аминокислотной последовательности белков с помощью последовательности нуклеотидов в ДНК или РНК. Его характеризуют следующие свойства: **триплетность и наличие терминирующих кодонов, специфичность, вырожденность, универсальность, однонаправленность, коллинеарность** (табл. 8).

Таблица 8

Свойства биологического кода

Триплетность и наличие терминирующих кодонов	Кодовое число равно 3. Три нуклеотидных остатка (триплет) кодируют одну аминокислоту. Терминирующие триплеты - UAA, UAG, UGA не кодируют аминокислот, а являются сигналами к прекращению синтеза белка
Специфичность	Каждый триплет кодирует только одну аминокислоту
Вырожденность	Одну аминокислоту могут кодировать несколько триплетов (от 2 до 6)
Универсальность	Почти у всех видов организмов биологический код одинаков
Однонаправленность	Информация, записанная в зрелой мРНК в виде линейной последовательности кодонов (триплетов), считывается в направлении от 5'- к 3'-концу
Коллинеарность	Последовательность кодонов в зрелой мРНК соответствует последовательности аминокислот в синтезированном белке

		ВТОРАЯ БУКВА					
		U	C	A	G		
ПЕРВАЯ БУКВА	U	UUU } Фенил-аланин F UUC } UUA } Лейцин L UUG }	UCU } Серин S UCC } UCA } UCG }	UAU } Тирозин Y UAC } UAA } Стоп-кодон UAG } Стоп-кодон	UGU } Цистеин C UGC } UGA } Стоп-кодон UGG } Триптофан W	U	C
	C	CUU } Лейцин L CUC } CUA } CUG }	CCU } Пролин P CCC } CCA } CCG }	CAU } Гистидин H CAC } CAA } Глутамин Q CAG }	CGU } Аргинин R CGC } CGA } CGG }	C	A
	A	AUU } Изолейцин I AUC } AUA } AUG } Метионин M старт-кодон	ACU } Треонин T ACC } ACA } ACG }	AAU } Аспарагин N AAC } AAA } Лизин K AAG }	AGU } Серин S AGC } AGA } Аргинин R AGG }	A	G
	G	GUU } Валин V GUC } GUA } GUG }	GCU } Аланин A GCC } GCA } GCG }	GAU } Аспарагиновая кислота D GAC } GAA } Глутаминовая кислота E GAG }	GGU } Глицин G GGC } GGA } GGG }	G	U

Рис. 71. Генетический код

**Основными компонентами синтеза белка** являются: аминокислоты, тРНК, аминоацил-тРНК-синтетазы, мРНК, рибосомы, источники энергии, белки - факторы инициации, элонгации и терминации и кофакторы (табл. 9).

Таблица 9

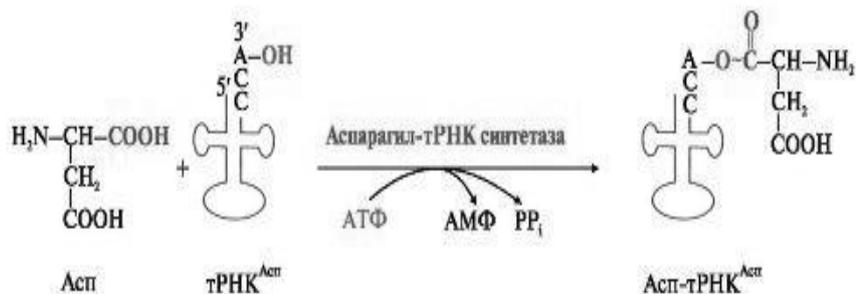
Основные компоненты белок-синтезирующей системы и их функции в процессе трансляции

Компоненты	Функции
1. Аминокислоты	Субстраты для синтеза белков
2. тРНК	Выполняют функцию адапторов - приспособителей аминокислот к кодомам мРНК. Акцепторным концом (-ССА) они взаимодействуют с аминокислотами, а антикодоном - с кодоном мРНК
3. Аминоацил-тРНКсинтетазы	Каждый фермент катализирует реакцию специфического связывания 1 из 20 аминокислот с соответствующей тРНК
4. мРНК	Матрица содержит линейную последовательность кодонов, определяющих первичную структуру белков
5. Рибосомы	Рибонуклеопротеиновые субклеточные структуры, являющиеся местом синтеза белков
6. АТФ, ГТФ	Источники энергии
7. Белковые факторы инициации (IF), элонгации (EF), терминации (RF)	Специфические вне ribосомные белки, необходимые для процесса трансляции
Ионы магния	Кофактор, стабилизирующий структуру рибосом

**Аминоацил-тРНК-синтетазы** катализируют синтез аминоацил-тРНК соединений, которые обеспечивают включение аминокислот в полипептидную цепь. Они обладают абсолютной специфичностью к аминокислоте и относительной к тРНК, так как в связи с вырожденностью кода разных типов тРНК больше, чем аминокислот. Существуют изоакцепторные тРНК, отличающиеся по строению антикодона, но связывающиеся с одной и той же аминокислотой.

Указанием на способность тРНК присоединять определенную аминокислоту служит индекс в верхнем правом углу: тРНК, связывающаяся с глутаматом, обозначается как тРНК<sup>Глу</sup>, а с аланином - тРНК<sup>Ала</sup>. Название каждой из 20 аминоацил-тРНК-синтетаз отражает название аминокислоты, которая активируется в ходе этой реакции. Так, реакцию активации аспартата катализирует

аспарагил-тРНК-синтетаза, которая присоединяет  $\alpha$ -COOH-группу аминокислоты к 3'-ОН концу тРНК за счет энергии АТФ:



События на рибосоме включают этапы: инициации, элонгации и терминации (рис. 72).

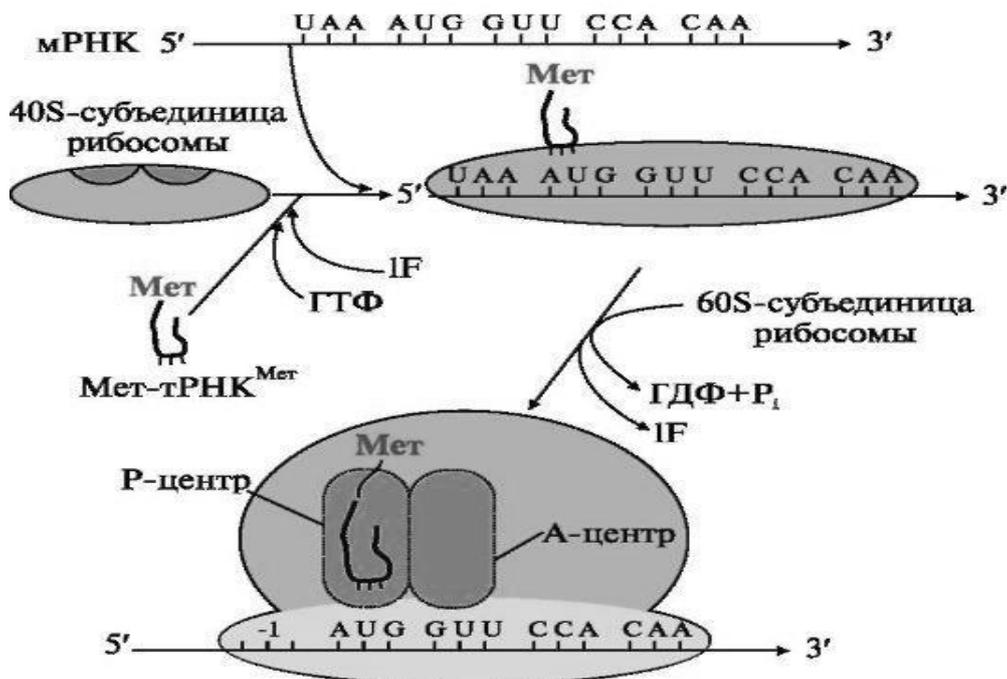


Рис. 72. Инициация белкового синтеза.

Комплекс, состоящий из 40S-субъединицы рибосомы, Met-тРНК<sup>Met</sup>, факторов инициации и молекулы ГТФ, присоединяется к мРНК и перемещается по ней до встречи с иницирующим кодоном AUG. Антикодон Met-тРНК<sup>Met</sup> связывается с кодоном AUG, это сопровождается присоединением к комплексу 60S-субъединицы рибосомы, гидролизом ГТФ и удалением факторов инициации. На рибосоме формируются А- и Р-центры. Met-тРНК<sup>Met</sup> оказывается в Р-центре рибосомы.

**Инициация** начинается с присоединения к мРНК в области «кэпа» малой субъединицы рибосомы 40S, факторов инициации (IF), иницирующей Met-тРНК<sup>Met</sup> и ГТФ. В результате движения этого комплекса по мРНК антикодон Met-тРНК<sup>Met</sup> свяжется с иницирующим кодоном AUG, комплекс останавливается. Происходит присоединение 60S-субъединицы рибосомы, сопровождающееся гидролизом ГТФ и отделением факторов инициации. Формируется 80S-рибосома с двумя активными центрами: **Р** (пептидным) **центром**, в котором находится Met-тРНК<sup>Met</sup>, и **А** (аминоацильным) **центром**, в область которого поступает первый смысловой кодон мРНК.

Этап **элонгации** включает три последовательные стадии (рис. 73).

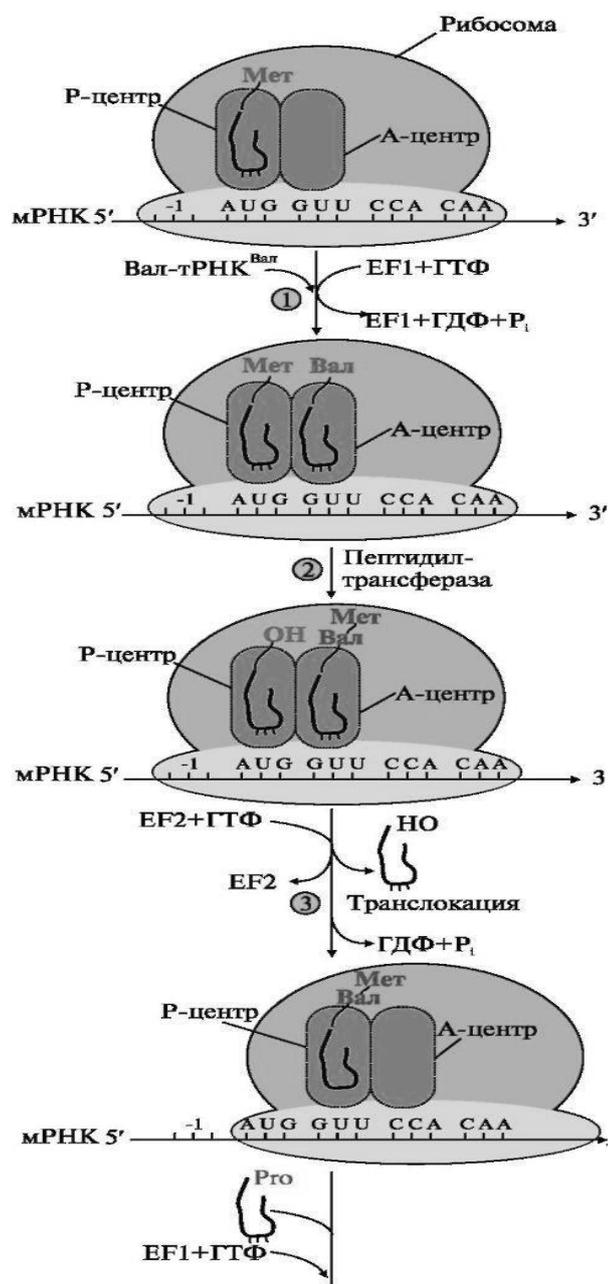


Рис. 73. Элонгация полипептидной цепи

**Связывание aa-тРНК<sup>aa</sup> в А-центре.** В свободный А-центр присоединяется первая aa<sub>1</sub>-тРНК<sup>aa</sup><sub>1</sub> (на рисунке это Вал-тРНК<sup>Вал</sup>), у которой антикодон комплементарен кодону мРНК, находящемуся в области этого центра. Эта фаза процесса требует затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1.

**Элонгация полипептидной цепи:**

1 – связывание aa-тРНК<sup>aa</sup> в А-центре требует затраты энергии ГТФ и участия фактора элонгации EF1 (на схеме aa-тРНК<sup>aa</sup> - Вал-тРНК<sup>Вал</sup>);

2 – образование пептидной связи катализирует пептидилтрансфераза, активный центр которой формируется рРНК, входящей в состав большой субъединицы рибосомы;

3 – перемещение рибосомы по мРНК на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу идет с использованием энергии ГТФ (транслокация) и при участии фактора EF2

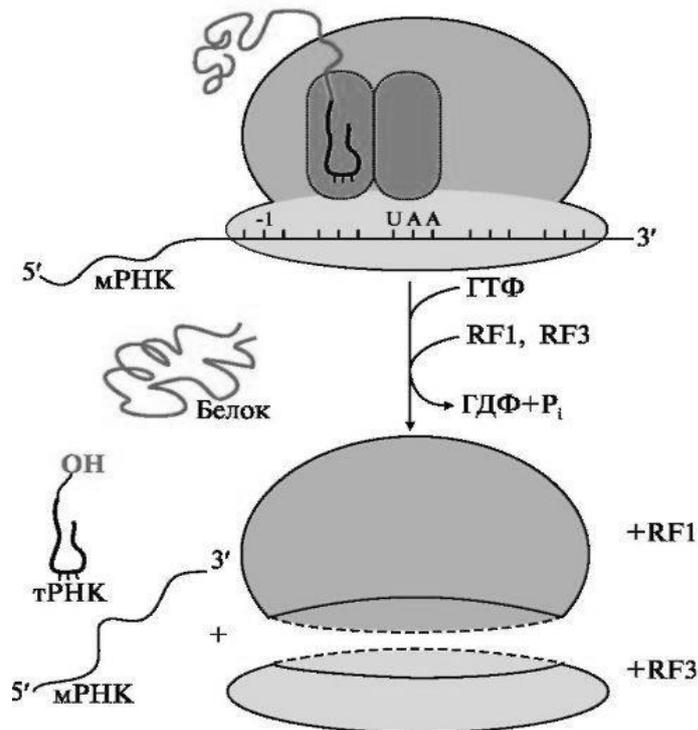


Рис. 77. Терминация синтеза белка.

При попадании в А-центр стоп-кодона вновь синтезированный пептид высвобождается из связи с тРНК и рибосомой с участием факторов терминации и энергии ГТФ.

**Образование пептидной пептидил-тРНК связи.** На этой стадии происходит пептидилтрансферазная реакция, в ходе которой метионин от  $\text{Met-tRNA}^{\text{Met}}$ , входящей в Р-центр, переносится на  $\alpha$ -аминогруппу аминокислоты (валина), находящейся в А-центре в составе  $\text{aa-tRNA}^{\text{aa}}$ , с образованием дипептидилтРНК. В **пептидилтрансферазной реакции** ферментативную активность проявляет рРНК большой субъединицы рибосомы.

**Транслокация** - перемещение рибосомы по мРНК. В ходе этой стадии рибосома сдвигается на один кодон в направлении от 5'- к 3'-концу мРНК за счет энергии ГТФ и при участии фактора элонгации EF2. В результате дипептидил-тРНК ( $\text{Met-Val-tRNA}$ ) из А-центра попадает в Р-центр, а в А-центре оказывается следующий кодон. Свободная  $\text{tRNA}^{\text{Met}}$  теряет связь с Р-центром и покидает рибосому. Далее процесс продолжается по описанной схеме, повторяя стадии от 2 до 3.

**Терминация** трансляции происходит после включения в А-центр одного из стоп кодонов: UAG, UGA, UAA (рис. 73). Белковые факторы терминации RF1 и RF3, взаимодействуя с этими кодонами, при участии пептидилтрансферазы обеспечивают гидролитическое отщепление синтезированного полипептида от тРНК, а также освобождение тРНК из пептидильного центра и диссоциацию рибосомы на субъединицы с затратой энергии молекулы ГТФ.

Название факторов происходит от англ. *releasing factor* – RF, а цифры указывают на их сходство по строению с RF-факторами 1-го и 3-го прокариотов.

Одновременно несколько рибосом могут участвовать в трансляции одной мРНК. Каждая рибосома занимает участок, равный примерно 80 нуклеотидам мРНК. Таким образом, рибосомы располагаются на мРНК с интервалами около 100 нуклеотидов, образуя комплекс, называемый **полисомой**.

Функционально активные белки образуются в результате **посттрансляционных модификаций полипептидных цепей**, синтезированных на рибосомах. Они включают:

- **частичный протеолиз;**
- **фолдинг**, или формирование пространственной структуры, в котором принимают участие белки-шапероны, обеспечивающие образование функционально активной конформации полипептидной цепи;
- **модификации аминокислот:** карбоксилирование, фосфорилирование, йодирование, гидроксильное, ацилирование и гликозилирование;

- **образование дисульфидных связей** между остатками цистеина, участвующими в формировании трехмерной структуры белка;
- **присоединение простетических групп**;
- **образование олигомерных структур**, которое также осуществляется при участии шаперонов.

#### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Гидролиз белков. Ферменты гидролиза: пептидгидролазы.
2. Распад пептидов. Ферменты: эндогидролазы и экзогидролазы.
3. Перечислите основные направления превращения аминокислот.
4. Напишите уравнения реакций дезаминирования аланина.
5. Напишите уравнения декарбоксилирования: валина, фенилаланина, тирозина, гистидина. Какие амины являются биогенными?
6. Напишите схему образования валиладенилата. Какое значение имеет образование аминокциладенилатов?
7. Какие аминокислоты называют первичными, какие вторичными?
8. Какие аминокислоты называют незаменимыми? Какие заменимыми?
9. Напишите схему реакции переаминирования аланина с  $\alpha$ -кетоглутаровой кислотой. Укажите фермент. Какую роль играет  $\alpha$ -кетоглутаровая кислота в дезаминировании белковых аминокислот путем переаминирования?
10. Напишите уравнение реакции переаминирования с участием пиридоксальфосфата между изолейцином и щавелевоуксусной кислотой.
11. Аспарагиновая кислота относится к первичным аминокислотам (почему?). Покажите схему превращения аспарагиновой кислоты в аланин.
12. Осуществите превращения: аргинин  $\rightarrow$  орнитин  $\rightarrow$  полуальдегид глутаминовой кислоты  $\rightarrow$  пролин.
13. Какие соединения образуются в качестве конечных продуктов распада аминокислот? Какова их дальнейшая судьба.
14. Перечислите способы связывания аммиака. Приведите примеры.
15. Изобразите схему орнитинового цикла. Напишите уравнения всех реакций, происходящих в орнитиновом цикле. Укажите ферменты. Как происходит регуляция азотистого обмена?
16. На какие этапы делится процесс биосинтеза белковой молекулы? Дайте короткую характеристику процессов, происходящих на каждом этапе биосинтеза.
17. Составьте формулы аланиладенилата, триптофаниладенилата, а также схему и условия их образования.
18. Как происходит перенос активированных аминокислот на транспортные РНК?
19. Дайте характеристику т-РНК (молекулярная масса, локализация в клетке, вторичная структура, связь структуры с функцией т-РНК). Что называют антикодоном?
20. Что такое рибосомы? Строение рибосом.
21. Дайте характеристику информационной, матричной РНК (молекулярная масса, содержание в клетке, структура). Как происходит синтез матричной РНК. Что такое кодоны?
22. Объясните механизм матричного биосинтеза. Какова роль формилметионил-т-РНК в биосинтезе белка? Что такое инициация, элонгация и терминация?
23. Кодирование белкового синтеза. Как определили, что вступление в белок определенной аминокислоты кодирует триплет нуклеотидов в составе м-РНК?
24. Что такое генетический код (ген, геном)?
25. Перечислите свойства кода и дайте объяснение сущности отдельного свойства.
26. Сущность понятий: «генная инженерия», «клонирование», мутация, мутагены.
27. Регуляция белкового обмена.

#### **Задачи для самостоятельной работы:**

1. На уксусный альдегид последовательно действовали синильной кислотой, аммиаком и водой в присутствии соляной кислоты. Составьте схемы превращений и дайте название полученного продукта.
2. Действием на хлорангидрид аланина диметиловым эфиром глутаминовой кислоты получили дипептид. Составьте схему превращений и дайте название полученного продукта.
3. Действуя на глицин пятихлористым фосфором и на метионин уксусной кислотой, определите при последующем взаимодействии полученных продуктов, какое конечное вещество синтезируется. Напишите уравнения этих реакций.

4. Напишите уравнение реакции получения циангидриновым методом  $\alpha$ -аминомасляной кислоты.
5. Напишите уравнения реакции взаимодействия галогенангидрида  $\alpha$ -бром- $\beta$ -оксипропионовой кислоты с пролином. Предположите, что полученное вещество обработали избытком аммиака и назовите конечный продукт.
6. Напишите уравнение реакции взаимодействия галогенангидрида  $\alpha$ -бром- $\beta$ -тиопропионовой кислоты с триптофаном. Предположите, что полученное вещество обработали избытком аммиака и назовите конечный продукт.
7.  $\beta$ -оксипропионовый альдегид последовательно обработали синильной кислотой, аммиаком и водой в присутствии соляной кислоты. Напишите химические уравнения и назовите конечный продукт.
8. Напишите уравнения реакций получения лизина из  $\delta$ -аминовалерианового альдегида циангидриновым методом.
9. Напишите уравнения реакций получения гистидина из  $\beta$ -имидазолилуксусного альдегида циангидрированным методом.
10. Напишите уравнения реакций получения трипептида из хлорангидрида валил-глицина и аргинина. Назовите полученный трипептид.
11. Напишите уравнение реакции получения трипептида из галогенангидрида метионил-треонина и метилового эфира тирозина. Назовите полученное вещество.
12. Напишите уравнения реакций получения этилового эфира  $\alpha$ -бром- $\beta$ -фенилпропионовой кислоты и его последовательного взаимодействия с избытком аммиака и воды. Назовите конечный продукт.
13. Напишите уравнения реакций: а) лизина с пятихлористым фосфором; б) фенилаланина с уксусной кислотой. Определите конечный продукт синтеза, если полученные в указанных выше реакциях вещества вступят во взаимодействие друг с другом.
14. Напишите химическую формулу пептида валил-глицил-метионил-глутамин.
15. Напишите химическую формулу пептида серил-лейцил-треонил-пролин.
16. Напишите химическую формулу пептида тирозил-гистидил-валил-аспарагин.
17. Напишите химическую формулу пептида триптофил-изолейцил-тирозил-аланин.
18. Напишите химическую формулу пептида фенилаланил-метионил-серил-цистеин.
19. Напишите химическую формулу пептида цистеинил-гистидил-аргинил-лизин.
20. Приведите примеры зависимости биологической активности белков от первичной структуры.
21. Укажите, к какой группе белков относятся альбумин, казеин, фиброин, глобулин. Покажите различие их в свойствах и строении.
22. Что общего и чем отличаются хромопротеиды от металлопротеидов? Укажите на биологическую роль данных белков.
23. Какие амины образуются в результате декарбоксилирования аланина, лизина, тирозина, гистидина и триптофана? Какова роль их в организме? Напишите уравнения реакций декарбоксилирования названных аминокислот и укажите ферменты, ускоряющие данные процессы.
24. Какие метаболиты образуются в результате окислительного дезаминирования глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты и аланина? Напишите уравнения реакций дальнейшего превращения метаболитов в организме. Назовите ферменты..
25. Составьте уравнения реакций переаминирования гистидина и глиоксиловой кислоты. Покажите на данном примере механизм действия пиридоксальфермента.
26. Дайте возможные пути биосинтеза аланина, аспарагиновой кислоты и орнитина в организме. Напишите соответствующие уравнения реакций.
27. Участок правой цепи ДНК имеет такую последовательность нуклеотидов: ГТААЦАЦТАГТТААААТАЦГ... Какова возможная последовательность аминокислот белка, синтезируемого при участии и РНК, транскрибируемой данным фрагментом цепи ДНК? Объясните, используя таблицу генетического кода.
28. Фрагмент левой цепи ДНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: ТГТТТАТЦААГЦААЦ... Какова возможная первичная структура фрагмента белка, фрагментом ДНК? Изобразите схематически последовательность аминокислот в белке. Укажите этапы транскрипции и трансляции.
29. Используя генетический код и принципы матричного механизма биосинтеза белка, напишите возможную последовательность нуклеотидов в гене пептида вазопрессина.
30. Напишите последовательность нуклеотидов в обеих цепях фрагмента молекулы ДНК, если известно, что первичная структура фрагмента кодируемого белка соответствует: ала-тре-лиз—асн-сер-гln-глу-асп...

31. Фрагмент левой цепи ДНК имеет такую структуру: ...ТАТТЦТТТТГТЦАЦГ... Какова первичная структура фрагмента белка, если он синтезируется согласно генетической информации в противоположной цепи ДНК?
32. Часть молекулы белка имеет такую структуру: ...сер-ала-тир-лей-асп... С какими антикодонами тРНК участвуют в биосинтезе этого белка? Объясните механизм трансляции.
33. С какими антикодами тРНК участвуют в синтезе пептида окситоцина? Объясните механизм элонгации.
34. Участок правой цепи ДНК имеет следующую последовательность нуклеотидов: ...АЦААТААААГТТГЦЦЦ ... Какова первичная структура фрагмента белка, соответствующего такой генетической информации? Какой станет первичная структура синтезируемого белка, если в этой цепи ДНК выпадает восьмой нуклеотид?
35. Какой станет первичная структура синтезируемого участка белка, если в участке цепи ДНК ...ГТТААЦАТГЦААТГТ... выпадает десятый нуклеотид? Укажите на каком уровне осуществилась регуляция биосинтеза участка белковой молекулы?
36. Начальная часть одной цепи макромолекулы нормального гемоглобина человека имеет структуру: ...гис-вал-лей-лей-тре-про-глу-глу... Какова структура соответствующей части гена гемоглобина? Постройте схему и определите этапы трансляции и транскрипции.

## Глава 5. МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

### **Цели изучения**

#### **Уметь:**

1. Объяснять роль углеводов в метаболизме человека.
2. Объяснять особенности переваривания и всасывания углеводов в желудочно-кишечном тракте.
3. Интерпретировать связь переключения процессов синтеза и распада глюкозы с ритмом питания и физической нагрузкой.
4. Оценивать значение синтеза и распада гликогена для поддержания гомеостаза глюкозы.

#### **Знать:**

1. Строение основных углеводов пищи, их суточную норму.
2. Причины и проявления нарушений переваривания лактозы и других дисахаридов.
3. Основные этапы (схему и реакции) глюконеогенеза.
4. Пути включения в глюконеогенез лактата, аминокислот и глицерола в зависимости от физиологического состояния организма.
5. Этапы синтеза гликогена. Особенности мобилизации гликогена в печени и мышцах.
6. Регуляцию гликолиза и глюконеогенеза в печени.
7. Механизмы влияния инсулина, глюкагона и адреналина на обмен гликогена в печени и мышцах.

#### **Основные понятия и термины:**

1. Моно-, олиго- и полисахариды.
2. Восстанавливающие и невосстанавливающие дисахариды.
3. Гомо- и полисахариды, и их биологические функции.
4. Катаболизм углеводов, ферментативный комплекс гидролиза углеводов.
5. Облегченная диффузия и активный транспорт.
6. Фосфорилирование моносахаридов.
7. Аэробный и анаэробный катаболизм глюкозы.
8. Биологическое значение катаболизма глюкозы.
9. Пентозофосфатный путь превращения углеводов.
10. Глюконеогенез и его регуляция.
11. Цикл Кори.
12. Гликогенез и гликолиз.
13. Этапы синтеза гликогена и его регуляция.

#### **Сокращения:**

ГЛЮТ (глюкозные транспортеры) – белки-переносчики глюкозы;  
ЦПЭ – цепь переноса электронов;  
ТАГ – триацилглицеролы.

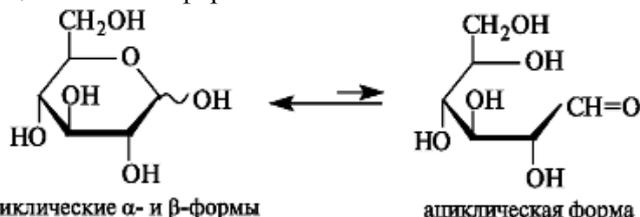
## 5.1. Структурная организация углеводов

Углеводы входят в состав клеток и тканей всех растительных и животных организмов и имеют большое значение как источники энергии в метаболических процессах. Углеводы образуются в растениях в процессе фотосинтеза из диоксида углерода и воды. Для человека основным источником углеводов является растительная пища.

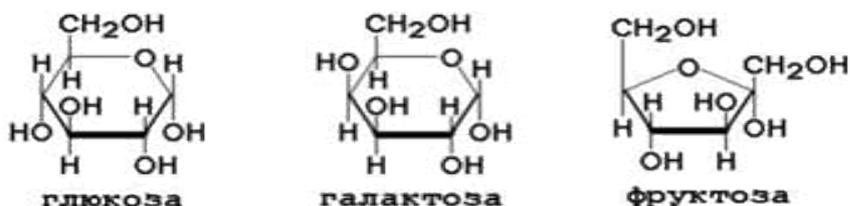
Углеводы делятся на **моносахариды** и **полисахариды**. Моносахариды не гидролизуются с образованием более простых углеводов. Способные к гидролизу полисахариды можно рассматривать как продукты поликонденсации моносахаридов. Промежуточную группу между моно- и полисахаридами составляют **олигосахариды**, имеющие относительно небольшую молекулярную массу.

**Моносахариды** – вещества с богатой реакционной способностью. В их молекулах имеются следующие наиболее важные реакционные центры:

- полуацетальный гидроксил;
- спиртовые гидроксильные группы (все, кроме полуацетальной);
- карбонильная группа ациклической формы.

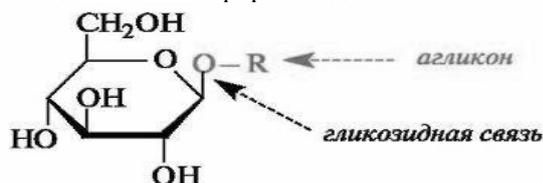


**Глюкоза** – содержится в растительных соках, плодах, фруктах и особенно в винограде. Она является обязательным компонентом крови и тканей животных и непосредственным источником энергии для клеточных реакций.

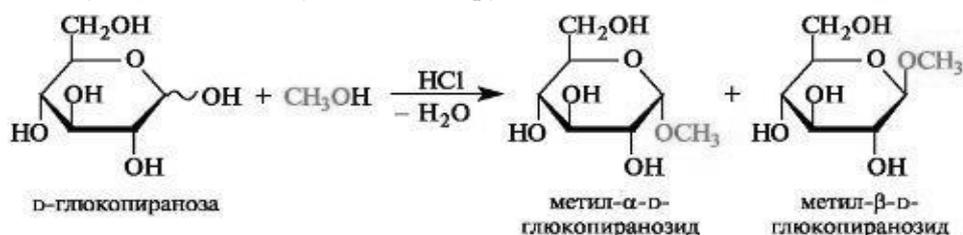


**Гликозиды** – относятся производные циклических форм углеводов, в которых полуацетальная гидроксильная группа заменена группой OR. Неуглеводный компонент гликозида называют **агликоном**. Связь между аномерным центром (в альдозах это C-1, в кетозах - C-2) и -OR группой называют гликозидной.

Гликозиды являются ацетальными циклическими формами альдоз или кетоз.



Гликозиды глюкозы называют гликозидами, рибозы – рибозидами и т.п. Гликозиды образуются при взаимодействии моносахаридов со спиртами в условиях кислотного катализа; при этом в реакцию вступает только полуацетальная группа -ОН.



Ферментативный гидролиз гликозидов лежит в основе расщепления полисахаридов, осуществляемого в животных организмах.

**Сложные эфиры.** Моносахариды легко ацилируются ангидридами органических кислот, образуя сложные эфиры с участием всех гидроксильных групп. Большое значение имеют эфиры

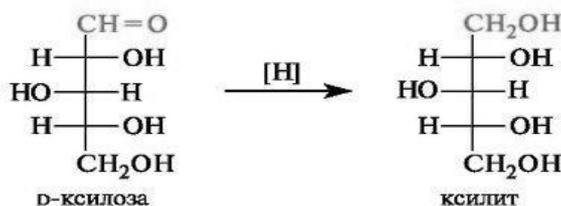
неорганических кислот, в частности эфиры фосфорной кислоты – фосфаты. Они содержатся во всех растительных и животных организмах и представляют собой метаболически активные формы моносахаридов. Наиболее важную роль играют фосфаты d-глюкозы и d-фруктозы.

#### ФОСФАТЫ МОНОСАХАРИДОВ



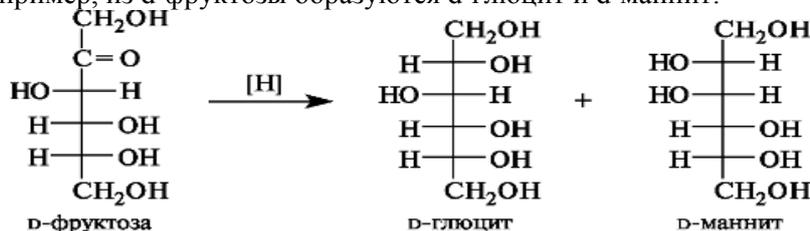
Эфиры серной кислоты (сульфаты) – входят в состав полисахаридов соединительной ткани.

**Восстановление.** При восстановлении моносахаридов (их альдегидной или кетонной группы) образуются альдиты.



Шестиатомные спирты - *D-глюцит* (сорбит) и *D-маннит* - получают при восстановлении соответственно глюкозы и маннозы. Альдиты легко растворимы в воде, обладают сладким вкусом, некоторые из них (ксилит и сорбит) используются как заменители сахара для больных сахарным диабетом.

При восстановлении альдоз получается лишь один полиол, при восстановлении кетоз – смесь двух полиолов; например, из d-фруктозы образуются d-глюцит и d-маннит:

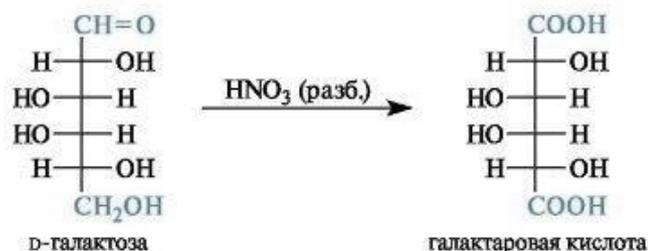


**Окисление.** Реакции окисления используют для обнаружения моносахаридов, в частности глюкозы, в биологических жидкостях (моча, кровь). Мягкими окислителями (бромная вода) можно окислить альдегидную группу в карбоксильную, при этом образуются альдоновые кислоты. Так, при окислении d-глюкозы бромной водой получается d-глюконовая кислота.

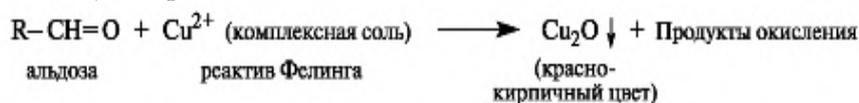
В медицине используется ее кальциевая соль – глюконат кальция:



Действие более сильных окислителей (азотная кислота, перманганат калия, и даже ионов  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Ag}^+$ ) приводит к глубокому распаду моносахаридов с разрывом углерод-углеродных связей. Углеродная цепь сохраняется только в отдельных случаях, например при окислении d-глюкозы в d-глюконовую кислоту или d-галактозы в галактаровую (слизевую) кислоту.



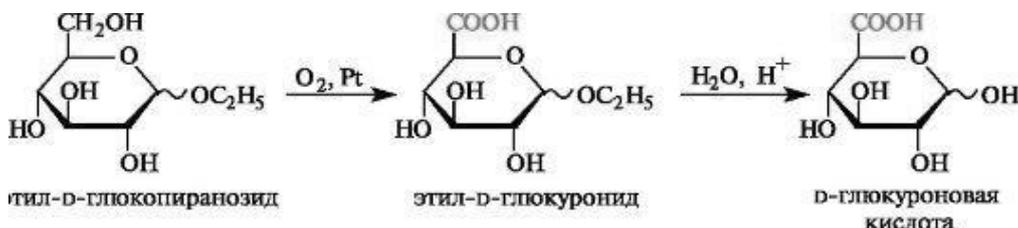
Альдозы легко окисляются комплексными соединениями меди (II) и серебра – соответственно реактивами Фелинга и Толленса. Такие реакции возможны в связи с присутствием альдегидной (открытой) формы в таутомерной смеси.



Благодаря способности восстанавливать ионы  $\text{Cu}^{2+}$  или  $\text{Ag}^+$  моносахариды и их производные, содержащие потенциальную альдегидную группу, называют **восстанавливающими**.

Гликозиды не проявляют восстановительной способности и не дают положительной пробы с этими реактивами. Однако кетозы способны восстанавливать катионы металлов, так как в щелочной среде они изомеризуются в альдозы.

Прямое окисление звена  $-\text{CH}_2\text{OH}$  моносахаридов в карбоксильную группу невозможно из-за присутствия более склонной к окислению альдегидной группы, поэтому для превращения моносахарида в урсную кислоту окислению подвергают моносахарид с защищенной альдегидной группой, например, в виде гликозида.



Образование гликозидов глюкуроновой кислоты – **глюкуронидов** является примером биосинтетического процесса **конъюгации**, т.е. процесса связывания лекарственных средств или их метаболитов с биогенными веществами, а также с токсичными веществами с последующим выведением из организма с мочой.

#### ГЛЮКУРОНИДЫ

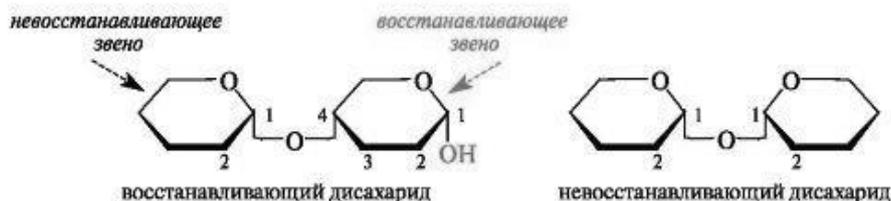


**Олигосахариды** – углеводы, построенные из нескольких остатков моносахаридов (от 2 до 10), связанных между собой гликозидной связью.

Простейшими олигосахаридами являются дисахариды (биозы), которые состоят из остатков двух моносахаридов и представляют собой гликозиды (полные ацетали), в которых один из остатков выполняет роль агликона.

Существуют два типа связывания моносахаридных остатков:

- за счет полуацетальной группы  $-\text{OH}$  одного моносахарида и любой спиртовой группы другого (в примере ниже – гидроксил при С-4); это группа **восстанавливающих дисахаридов**;
- с участием полуацетальных групп  $-\text{OH}$  обоих моносахаридов; это группа **невосстанавливающих дисахаридов**.

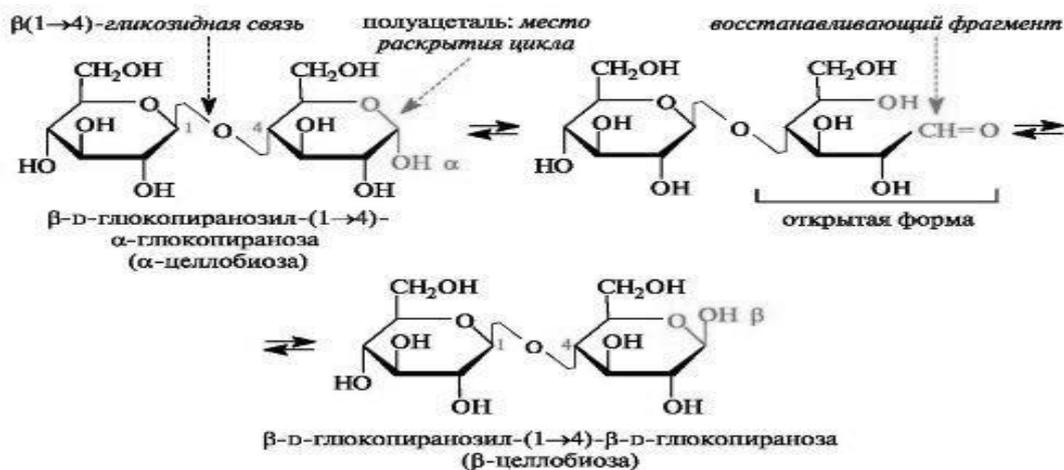


**Восстанавливающие дисахариды.** В дисахариде имеется свободная полуацетальная гидроксильная группа, вследствие чего сохраняется способность к раскрытию цикла. Представителями восстанавливающих дисахаридов являются мальтоза, целлобиоза, лактоза.

**Мальтоза** (солодовый сахар (от лат. *maltum* – солод)), является продуктом расщепления крахмала под действием фермента  $\beta$ -амилазы, выделяемого слюнной железой, а также содержащегося в солоде (проросших, а затем высушенных и измельченных зернах хлебных злаков). Мальтоза имеет менее сладкий вкус, чем сахароза.

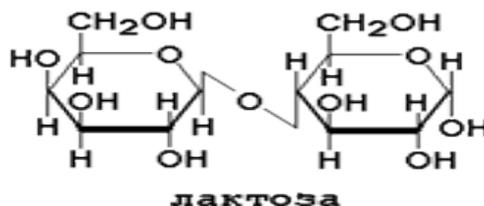
Мальтоза – дисахарид, в котором остатки двух молекул d-глюко- пиранозы связаны  $\alpha(1,4)$ -гликозидной связью.

**Целлобиоза** – дисахарид, в котором остатки двух молекул d-глюкопиранозы связаны  $\beta(1,4)$ -гликозидной связью, образуется при неполном гидролизе полисахарида целлюлозы. Отличие целлобиозы от мальтозы состоит в том, что аномерный атом углерода, участвующий в образовании гликозидной связи, имеет  $\beta$ -конфигурацию.

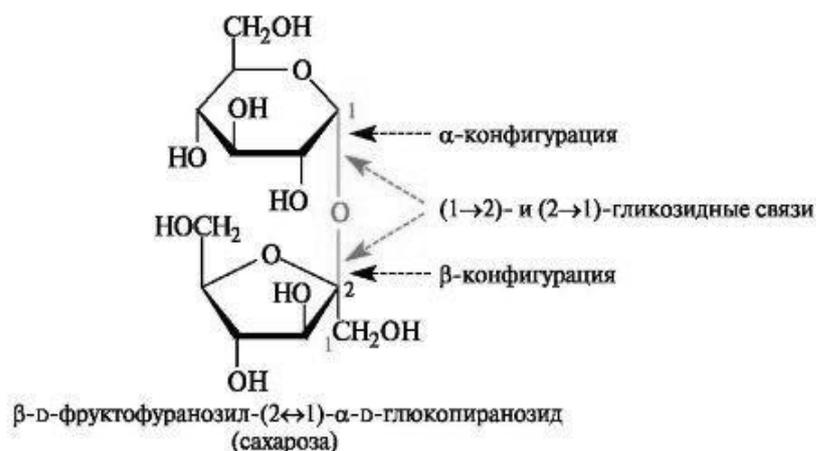


Мальтоза расщепляется ферментом  $\alpha$ -глюкозидазой, который не активен по отношению к целлобиозе. Целлобиоза способна расщепляться ферментом  $\beta$ -глюкозидазой, но этот фермент в человеческом организме отсутствует, поэтому целлобиоза и соответствующий полисахарид целлюлоза не могут перерабатываться в организме человека. Жвачные животные могут питаться целлюлозой (клетчаткой) трав, поскольку находящиеся в их желудочно-кишечном тракте бактерии обладают  $\beta$ -глюкозидазой.

**Лактоза** – дисахарид, в котором остатки d-галактопиранозы и d-глюкопиранозы связаны  $\beta(1,4)$ -гликозидной связью, содержится в молоке (4-5%) и получается из молочной сыворотки после отделения творога (отсюда и ее название «молочный сахар»).



**Невосстанавливающие дисахариды.** Важнейшим из невосстанавливающих дисахаридов является **сахароза**.



Сахароза – дисахарид, в котором остатки α-d-глюкопиранозы и β-d-фруктофуранозы связаны гликозидными связями за счет полуацетальных гидроксильных групп каждого моносахарида. Ее источником служат сахарный тростник, сахарная свекла (до 28% от сухого вещества), соки растений и плодов.

**Полисахариды** составляют основную массу органической материи в биосфере Земли. Они выполняют три важные биологические функции, выступая в роли структурных компонентов клеток и тканей, энергетического резерва и защитных веществ.

В полисахаридах растительного происхождения наиболее часто встречаются (1,4)-гликозидные связи, а в полисахаридах животного и бактериального происхождения имеются связи и других типов. На одном конце полимерной цепи находится остаток восстанавливающего моносахарида. Поскольку его доля во всей макромолекуле очень мала, полисахариды практически не проявляют восстановительных свойств.

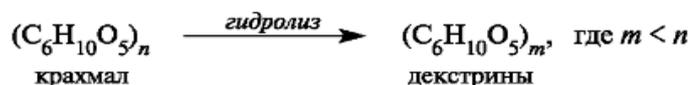
Полисахаридам характерен типичный для высокомолекулярных веществ более высокий уровень структурной организации макромолекул. Наряду с первичной структурой, т.е. с определенной последовательностью мономерных остатков, важную роль играет вторичная структура, определяемая пространственным расположением макромолекулярной цепи. Полисахаридные цепи могут быть разветвленными или неразветвленными (линейными).

Полисахариды делят на группы: **гомополисахаридов**, состоящих из остатков одного моносахарида и **гетерополисахаридов**, состоящих из остатков разных моносахаридов.

К **гомополисахаридам** относятся многие полисахариды растительного (крахмал, целлюлоза, пектиновые вещества), животного (гликоген, хитин) и бактериального (декстрины) происхождения.

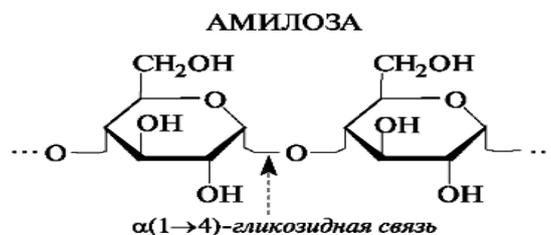
**Крахмал** состоит из полимеров двух типов, построенных из d-глюкопиранозы: **амилозы** (10-20%) и **амилопектина** (80-90%). Крахмал образуется в растениях в процессе фотосинтеза и «запасается» в клубнях, корнях, семенах.

В холодной воде крахмал нерастворим, а в горячей набухает и некоторая часть его постепенно растворяется. При быстром нагревании крахмала из-за содержащейся в нем влаги (10-20%) происходит гидролитическое расщепление макромолекулярной цепи на более мелкие осколки и образуется смесь полисахаридов, называемых **декстринами**. Декстрины лучше растворяются в воде, чем крахмал.



Такой процесс расщепления крахмала, или **декстринизация**, осуществляется при хлебопечении. Крахмал муки, превращенный в декстрины, легче усваивается вследствие большей растворимости.

**Амилоза** – полисахарид, в котором остатки d-глюкопиранозы связаны α(1-4)-гликозидными связями, т.е. дисахаридным фрагментом амилозы является мальтоза.



Цепь амилозы неразветвленная, включает до тысячи глюкозных остатков, молекулярная масса до 160 тыс. Макромолекула амилозы свернута в спираль (рис. 78, 1).

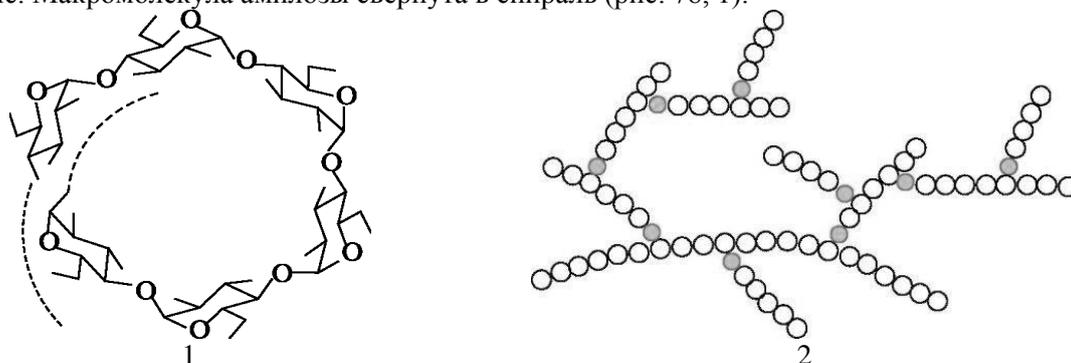


Рис. 78. Структура амилозы и амилопектина:

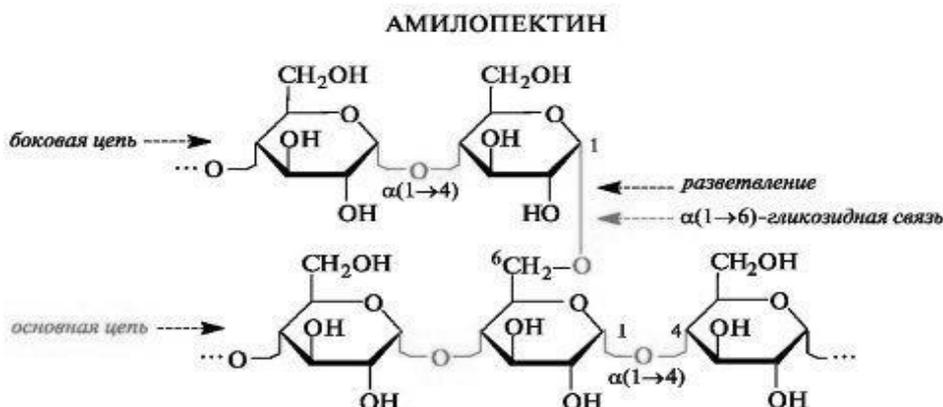
1- Спиралевидная структура амилозы (вид вдоль оси спирали);

2- Разветвленная макромолекула амилопектина (цветные кружки - места ответвления боковых цепей)

На каждый виток спирали приходится шесть моносахаридных звеньев. Во внутренний канал спирали могут входить соответствующие по размеру молекулы, например молекулы иода, образуя комплексы, называемые *соединениями включения*. Комплекс амилозы с иодом имеет синий цвет. Это используется в аналитических целях для открытия как крахмала, так и иода (иодкрахмальная проба).

**Амилопектин** в отличие от амилозы имеет разветвленное строение (рис. 78, 2). Его молекулярная масса достигает 1-6 млн.

Амилопектин – разветвленный полисахарид, в цепях которого остатки D-глюкопиранозы связаны  $\alpha(1,4)$ -гликозидными связями, а в точках разветвления –  $\alpha(1,6)$ -связями. Между точками разветвления располагаются 20-25 глюкозных остатков.



Гидролиз крахмала в желудочно-кишечном тракте происходит под действием ферментов, расщепляющих  $\alpha(1-4)$ - и  $\alpha(1-6)$ -гликозидные связи. Конечными продуктами гидролиза являются глюкоза и мальтоза.

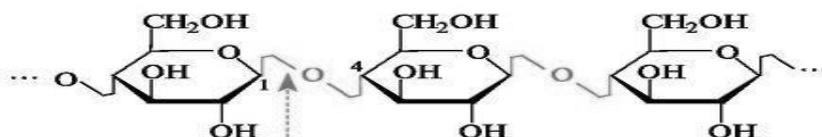
**Гликоген** в животных организмах является структурным и функциональным аналогом крахмала. По строению он подобен амилопектину, но имеет еще большее разветвление цепей. Сильное разветвление способствует выполнению гликогеном энергетической функции. Молекулярная масса гликогена достигает 100 млн. Так, макромолекула гликогена из-за большого

размера не проходит через мембрану и остается внутри клетки в качестве резервного углевода, пока не возникнет потребность в энергии.

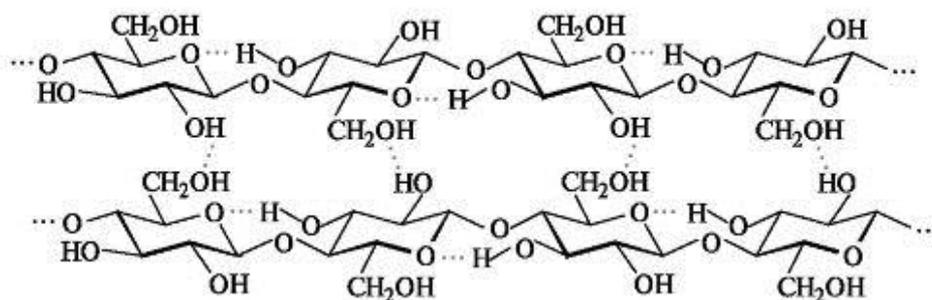
Аналогично гликогену в животных организмах такую же роль резервного полисахарида в растениях выполняет амилопектин, имеющий менее разветвленное строение. Это связано с тем, что в растениях значительно медленнее протекают метаболические процессы и не требуется быстрого притока энергии, как животному организму (стрессовые ситуации, физическое или умственное напряжение).

**Целлюлоза** (клетчатка), наиболее распространенный растительный полисахарид. Обладает большой механической прочностью и выполняет функцию опорного материала растений. Древесина содержит 50-70% целлюлозы; хлопок представляет собой почти чистую целлюлозу. Целлюлоза является важным сырьем для ряда отраслей промышленности (целлюлозно-бумажной, текстильной и т.п.).

Целлюлоза – линейный полисахарид, в котором остатки d-глюко- пиранозы связаны  $\beta(1-4)$ -гликозидными связями. Макромолекулярная цепь не имеет разветвлений, в ней содержится 2,5-12 тыс. глюкозных остатков, что соответствует молекулярной массе от 400 тыс. до 1-2 млн.



$\beta$ -Конфигурация аномерного атома углерода приводит к тому, что макромолекула целлюлозы имеет строго линейное строение из-за водородных связей внутри цепи, а также между соседними цепями:



Такая упаковка цепей обеспечивает высокую механическую прочность, волокнистость, нерастворимость в воде и химическую инертность, что делает целлюлозу прекрасным материалом для построения клеточных стенок растений. Целлюлоза не расщепляется обычными ферментами желудочно-кишечного тракта.

Большое практическое значение имеют эфирные производные целлюлозы: ацетаты (искусственный шелк), нитраты (взрывчатые вещества, коллоксилин) и другие (вискозное волокно, целлофан).

**Гетерополисахариды**, к числу которых относятся многие животные и бактериальные полисахариды, изучены меньше, но играют важную биологическую роль. Гетерополисахариды в организме связаны с белками и образуют сложные надмолекулярные комплексы

**Полисахариды соединительной ткани.** Среди них наиболее полно изучены хондроитинсульфаты (кожа, хрящи, сухожилия), гиалуроновая кислота (стекловидное тело глаза, пуповина, хрящи, суставная жидкость), гепарин (печень). По структуре эти полисахариды имеют некоторые общие черты: их неразветвленные цепи состоят из дисахаридных остатков, в состав которых входят уроновая кислота (d-глюкуроновая, d-галактуоновая) и аминсахар (N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин). Некоторые из них содержат остатки серной кислоты. Полисахариды соединительной ткани иногда называют кислыми мукополисахаридами (от лат. *mucus* - слизь), поскольку они содержат карбоксильные группы и сульфогруппы.

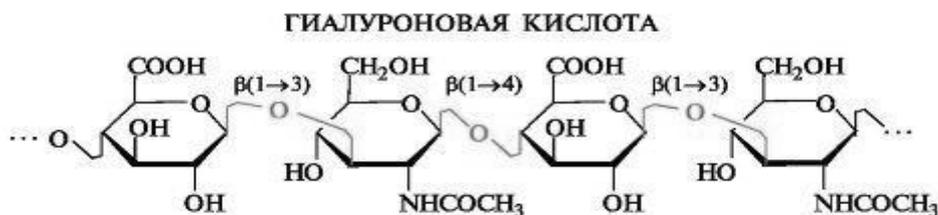
**Хондроитинсульфаты** состоят из дисахаридных остатков N-ацетилированного хондрозина, соединенных  $\beta(1-4)$ -гликозидными связями. N-ацетилхондрозин построен из остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-галактозамина, связанных  $\beta(1-3)$ -гликозидной связью.



Как свидетельствует название, эти полисахариды являются эфирами серной кислоты (сульфатами). Сульфатная группа образует эфирную связь с гидроксильной группой N-ацетил-D-галактозамина, находящейся в положении 4 или 6. Соответственно различают хондроитин-4-сульфат и хондроитин-6-сульфат. Молекулярная масса хондроитинсульфатов составляет 10-60 тыс.



**Гиалуроновая кислота.** Этот полисахарид построен из дисахаридных остатков, соединенных  $\beta(1-4)$ -гликозидными связями:



Дисахаридный фрагмент состоит из остатков D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, связанных  $\beta(1-3)$ -гликозидной связью.

**Гепарин.** В гепарине в состав повторяющихся дисахаридных единиц входят остатки d-глюкозамина и одной из уоновых кислот - d-глюкуроновой или l-идуруновой. В количественном отношении преобладает l-идуруновая кислота. Внутри дисахаридного фрагмента осуществляется  $\alpha(1-4)$ -гликозидная связь, а между дисахаридными фрагментами -  $\alpha(1-4)$ -связь, если фрагмент оканчивается l-идуруновой кислотой, и  $\beta(1-4)$ -связь, если d-глюкуроновой кислотой.



Аминогруппа у большинства остатков глюкозамина сульфатирована, а у некоторых из них ацетилирована. Кроме того, сульфатные группы содержатся у ряда остатков l-идуруновой кислоты (в положении 2), а также глюкозамина (в положении 6). Остатки d-глюкуроновой кислоты не сульфатированы. В среднем на один дисахаридный фрагмент приходится 2,5-3 сульфатные группы. Молекулярная масса гепарина равна 16-20 тыс. Гепарин препятствует свертыванию крови, т.е. проявляет антикоагулянтные свойства.

Многие гетерополисахариды, включая рассмотренные выше, содержатся не в свободном, а в связанном виде с полипептидными цепями. Такие высокомолекулярные соединения относят к смешанным биополимерам, для которых в настоящее время используется термин *гликоконъюгаты*.

## 5.2. Катаболизм углеводов

Основным источником углеводов организма являются углеводы пищи, к которым относится крахмал. Кроме того, в пище содержатся глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза и лактоза. Норма углеводов в питании составляет 400-500 г в сутки. Углеводы обеспечивают более 50% калорий, необходимых человеку в сутки.

Пищевые углеводы подвергаются перевариванию в пищеварительном тракте под действием ферментов, которые гидролизуют гликозидные связи и образуют мономеры, способные всасываться, поступать в кровь, а затем в ткани (рис. 79).

Амилаза слюны расщепляет  $\alpha$ -1,4-гликозидные связи в крахмале. В ротовой полости происходит лишь частичное переваривание крахмала до декстринов.

Желудочный сок не содержит ферментов, расщепляющих пищевые углеводы, амилаза слюны инактивируется в желудке.

Последующее переваривание нерасщепленного или частично расщепленного крахмала происходит в кишечнике. В двенадцатиперстной кишке рН желудочного содержимого нейтрализуется бикарбонатами, содержащимися в секрете поджелудочной железы, и создается оптимальное значение рН 7,5-8 для действия панкреатической  $\alpha$ -амилазы.

**$\alpha$ -Амилаза** поджелудочной железы гидролизует в верхнем отделе тонкого кишечника декстрины и оставшиеся нерасщепленными молекулы крахмала, расщепляя  $\alpha$ 1,4-гликозидные связи. Гидролиз происходит путем последовательного отщепления дисахаридных остатков.

**Панкреатическая амилаза** не гидролизует  $\alpha$ 1,6-гликозидные связи и продуктами реакции являются мальтоза и изомальтоза. Мальтоза и изомальтоза вместе с другими пищевыми дисахаридами - сахарозой и лактозой – гидролизуются **специфическими гликозидазами** на поверхности клеток тонкого кишечника до соответствующих мономеров.

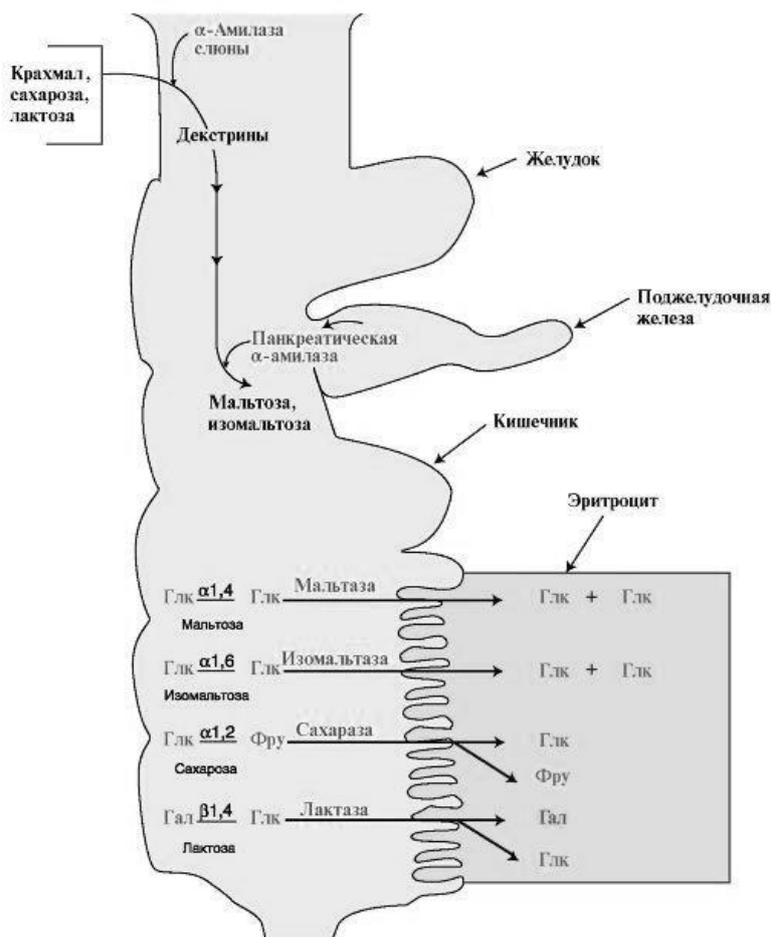


Рис. 79. Переваривание углеводов: Глк – глюкоза, Фру – фруктоза, Гал – галактоза

Гликозидазы тонкого кишечника синтезируются в клетках, образуют на поверхности клеток крупные **ферментативные комплексы** с различной субстратной специфичностью: **сахарозо-**

**изомальтазный** (гидролизует связи в сахарозе, изомальтозе, мальтозе), **гликоамилазный** (проявляет экзоамилазную активность, катализирует гидролиз олигосахаридов, а также расщепляет связи в мальтозе),  **$\beta$ -гликозидазный** (расщепляет лактозу).

**Транспорт моносахаридов из просвета кишечника в клетки слизистой** осуществляется путем **облегченной диффузии и активного транспорта** (рис. 80).

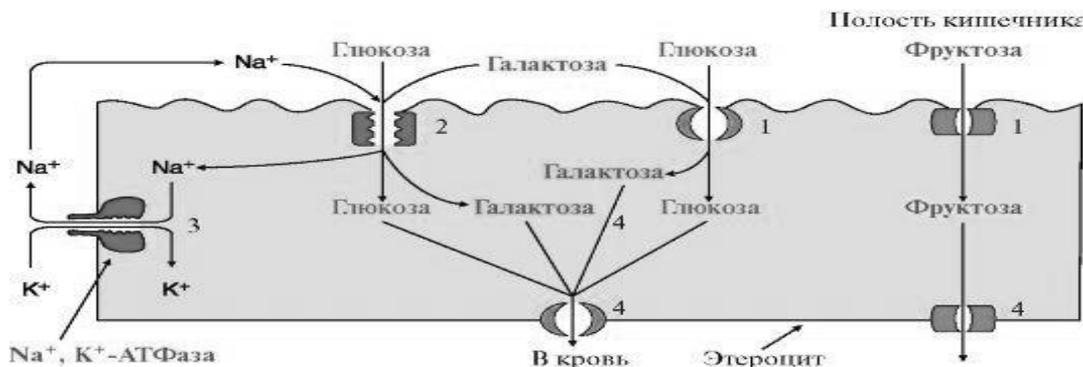


Рис. 80. Всасывание углеводов в кишечник.

Этапы всасывания:

1 - всасывание глюкозы, галактозы и фруктозы из кишечника путем облегченной диффузии с помощью специальных белков-переносчиков;

2 - транспорт глюкозы и галактозы в энтероцит путем  $\text{Na}^+$ -зависимого вторично-активного транспорта. Белки-переносчики участвуют во всасывании глюкозы из просвета кишечника в энтероцит против градиента концентрации;

3 - энергию, необходимую для транспорта, обеспечивает  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФаза, которая работает, как насос, откачивая из клетки  $\text{Na}^+$  в обмен на  $\text{K}^+$  и обеспечивает градиент концентрации  $\text{Na}^+$ ;

4 - транспорт моносахаридов из энтероцитов в кровь путем облегченной диффузии.

В случае активного транспорта глюкоза и  $\text{Na}^+$  проходят с люминальной стороны, связываясь с разными участками белка-переносчика. При этом  $\text{Na}^+$  поступает в клетку по градиенту и «тащит» глюкозу за собой (вторичноактивный транспорт). Градиент концентрации  $\text{Na}^+$  создается работой  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФазы (первично-активный транспорт).

Глюкоза из энтероцитов перемещается во внеклеточную жидкость и далее в кровь с помощью облегченной диффузии. Поступающая из кишечника глюкоза кровью воротной вены транспортируется в печень, где часть ее задерживается, а часть через общий кровоток поступает в клетки других органов и тканей.

**Поступление глюкозы в клетки из кровотока** происходит путем облегченной диффузии при участии специальных белков-переносчиков – ГЛЮТ (глюкозные транспортеры). ГЛЮТ обнаружены во всех тканях. Существует несколько изоформ ГЛЮТ, которые различаются по локализации и средству к глюкозе. ГЛЮТ пронумерованы в порядке их обнаружения (табл. 10).

Таблица 10

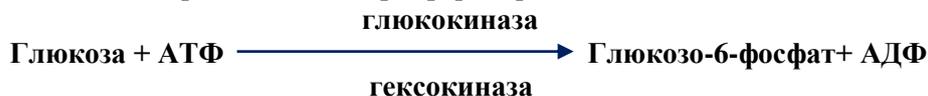
Распределение белков - транспортеров глюкозы (ГЛЮТ)

Тип ГЛЮТ	Локализация в органах
ГЛЮТ-1	Преимущественно в плаценте, мозге, почках, толстой кишке, меньше в жировой ткани, мышцах
ГЛЮТ-2	Преимущественно в печени, $\beta$ -клетках островков Лангерганса, энтероцитах
ГЛЮТ-3	Во многих тканях, включая мозг, плаценту, почки
ГЛЮТ-4 инсулинозависимый	В мышцах (скелетных, сердечной), жировой ткани (находятся почти полностью в цитоплазме)
ГЛЮТ-5	В тонкой кишке, в меньшей мере в почках, скелетных мышцах, жировой ткани, мозге. Переносчик фруктозы

После этого возможен облегченный транспорт глюкозы в клетки. При снижении концентрации инсулина в крови белки транспортеры глюкозы снова перемещаются в цитозоль и поступление глюкозы в эти ткани прекращается. В метаболические пути глюкоза и другие моносахариды включаются только в виде фосфорных эфиров.

**Фосфорилирование свободных моносахаридов – обязательная реакция на пути их использования в клетках**, она приводит к образованию более реакционноспособных соединений и поэтому может рассматриваться как реакция активации.

Глюкоза, поступающая в клетки органов и тканей, фосфорилируется с использованием АТФ, превращаясь в глюкозо-6-фосфат. Фосфорилирование глюкозы – практически **необратимая реакция**. Образование глюкозо-6-фосфата в клетке – это своеобразная «ловушка» для глюкозы, т.к. мембрана клетки непроницаема для фосфорилированной глюкозы:



**Глюкокиназа** имеет высокое значение  $K_t = 10$  ммоль/л и катализирует фосфорилирование глюкозы в гепатоцитах в период пищеварения (абсорбтивный период).

**Гексокиназа** отличается от глюкокиназы высоким сродством к глюкозе и низким значением  $K_t < 0,1$  ммоль/л. Следовательно, этот фермент, в отличие от глюкокиназы, активен между приемами пищи (постабсорбтивный период).

Образовавшийся в клетках глюкозо-6-фосфат, может использоваться в различных процессах, основными из которых является: 1 – синтез гликогена (форма депонирования глюкозы), 2 – синтез некоторых аминокислот, гетерополисахаридов, пентоз, липидов, 3 – катаболизм глюкозы до лактата или до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , который служит основным источником энергии для организма (рис. 81).



Рис. 81. Метаболизм глюкозы в клетках

**Дефосфорилирование глюкозо-6-фосфата** возможно в печени, почках и клетках эпителия кишечника. В клетках этих органов имеется фермент глюкозо-6-фосфатаза, катализирующий отщепление фосфатной группы гидролитическим путем:



Свободная глюкоза способна поступать из этих органов в кровь.

### 5.3. Катаболизм глюкозы: аэробный и анаэробный гликолиз

**Гликолиз – совокупность реакций превращения глюкозы в пируват ПВК.** Реакции гликолиза протекают в цитозоле, сопровождается выделением энергии, которая приводит к генерированию АТФ. Представляет окислительно-восстановительный процесс и протекает:

1. В аэробных условиях в присутствии кислорода, называется дыханием. Конечные продукты –  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$
2. В анаэробных условиях без доступа кислорода, называется брожением. Конечные продукты – кислоты и спирты.

Таким образом, **гликолиз** – специфический путь катаболизма глюкозы, в результате которого происходит расщепление глюкозы с образованием двух молекул пирувата – **аэробный гликолиз** (рис. 82, реакции 1-10,) или две молекулы лактата – **анаэробный гликолиз** (рис. 82, реакции 1-11).

Аэробный и анаэробный гликолиз начинается с реакции фосфорилирования глюкозы (рис. 82, реакция 1) и образования глюкозо-6-фосфата, который является своеобразной ловушкой для глюкозы, т.к. мембрана клетки непроницаема для фосфорилированной глюкозы (нет соответствующих транспортных белков). Все промежуточные соединения гликолиза также находятся в фосфорилированной форме; источником фосфатных групп в реакциях фосфорилирования являются АТФ и  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

Все этапы гликолитического пути окисления глюкозы происходят в цитозоле. Большинство реакций гликолиза, за исключением трех (реакции 1, 3, 10), обратимы.

В аэробном и анаэробном гликолизе можно выделить два этапа:

Этап А. Превращение глюкозы в две молекулы глицеральдегид-3-фосфата (рис. 82, реакции 1-5). Эта серия реакции протекает с потреблением АТФ.

Этап Б. Превращение глицеральдегидфосфата в пируват или лактат (рис. 82, реакции 6-10 и 6-11).

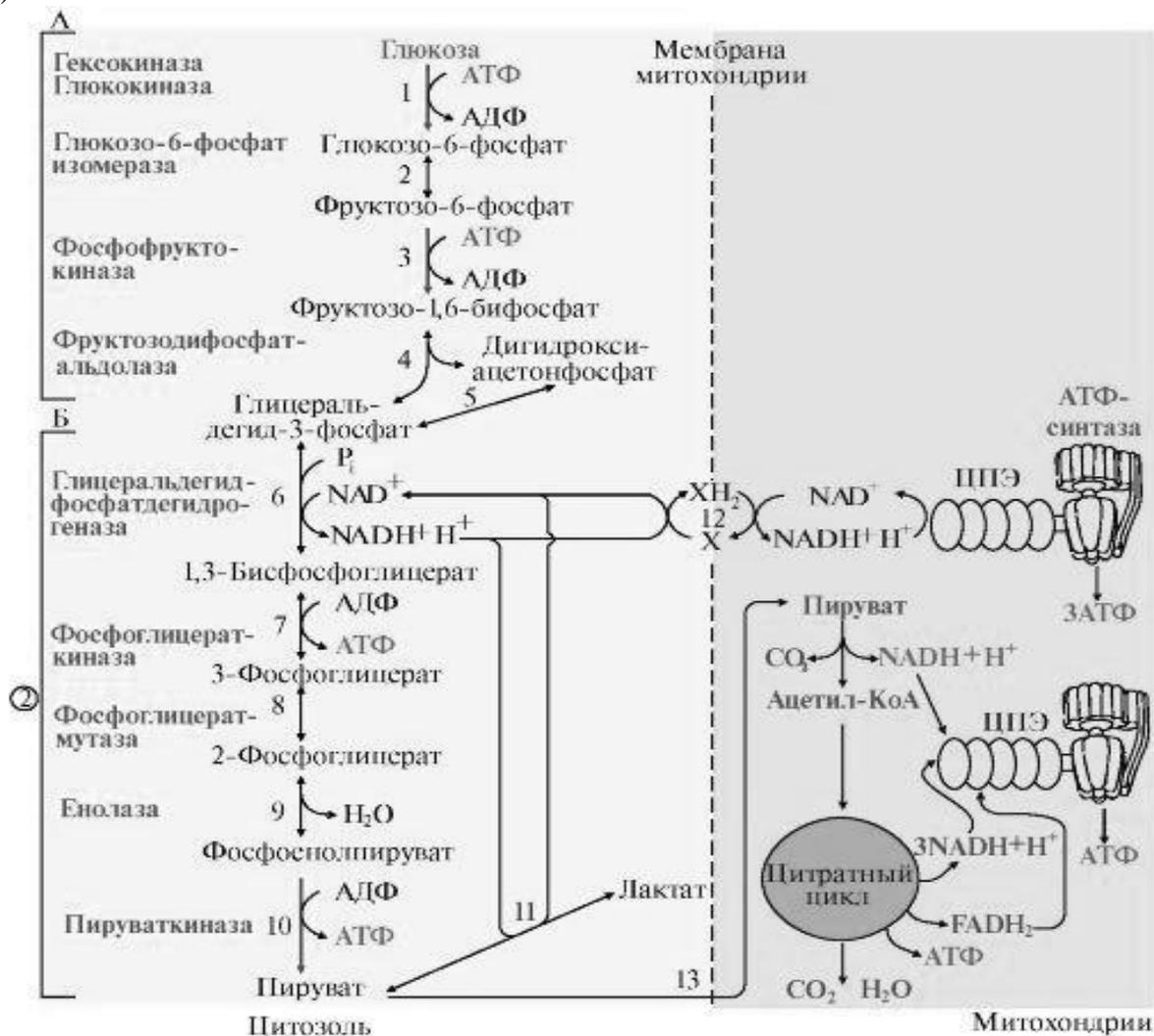
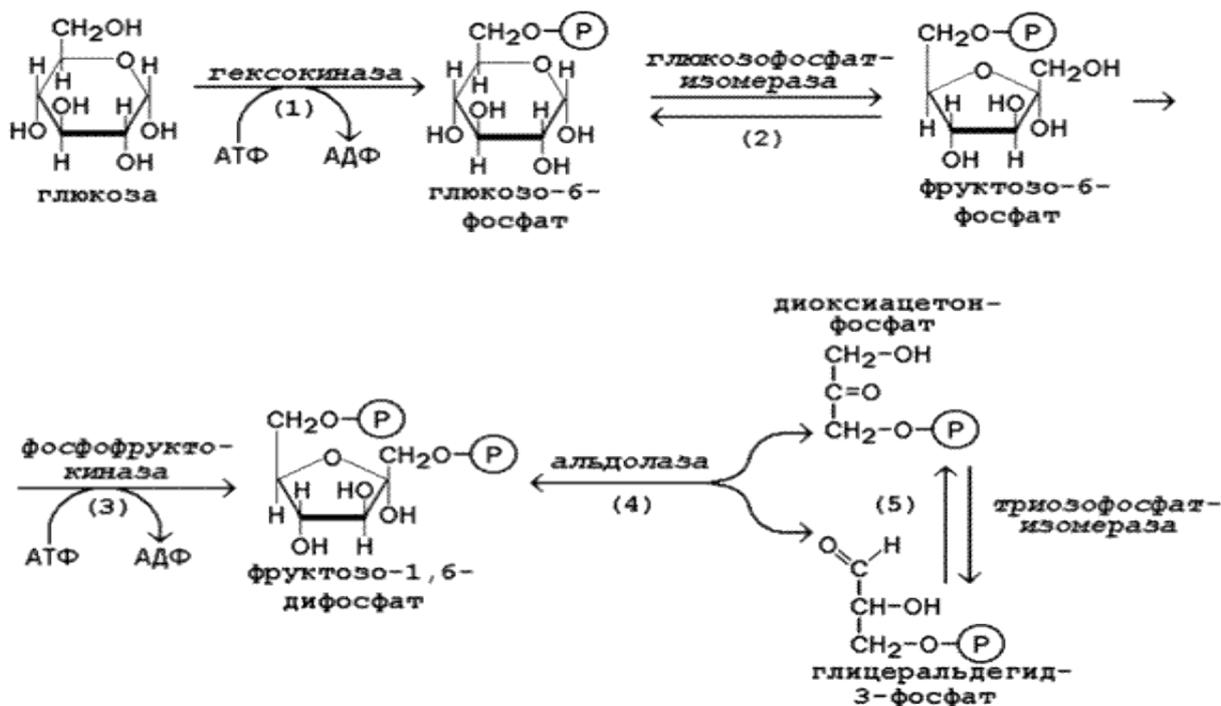


Рис. 82. Аэробный и анаэробный распад глюкозы:

- 1-10 – реакции аэробного гликолиза; 1-11 – реакции анаэробного гликолиза;
- 12 – челночный механизм транспорта водорода в митохондрии (малат-аспартатный или глицерофосфатный) X, XH<sub>2</sub> – переносчики водорода из цитозоля в митохондрии;
- (2) стехиометрический коэффициент.

Этап А (реакции 1-5) – молекула глюкозы превращается в две молекулы триозы: глицеральдегид-3-фосфат и дигидроксиацетонфосфат, который изомеризуется в глицеральдегид-3-фосфат. В результате образуется две молекулы глицеральдегид-3-фосфата и дальнейший процесс удваивается.

На этом этапе происходят две реакции фосфорилирования с затратой двух молекул АТФ (реакции 1 и 3).



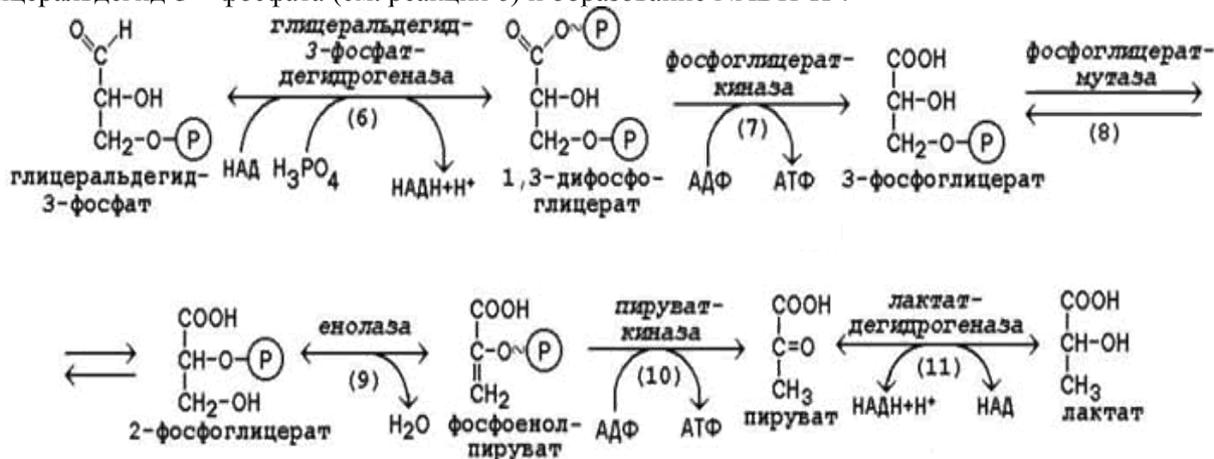
Этап Б (реакции 6-10) обеспечивает синтез АТФ. Реакция 6 – дегидрирование двух молекул глицеральдегид-3-фосфата, катализируемая NAD-зависимой дегидрогеназой. Регенерация  $\text{NAD}^+$  из образующейся  $\text{NADH}^+ \text{H}^+$  происходит в аэробном гликолизе с участием ЦПЭ и челночных механизмов транспорта водорода из цитозоля в митохондрии (реакция 12). В этой реакции синтезируется АТФ путем окислительного фосфорилирования АДФ.

Реакции 7 и 10 – субстратное фосфорилирование АДФ; протекают как в аэробном, так и в анаэробном гликолизе.

Реакция 11 – регенерация NAD в анаэробном гликолизе. Акцептором водорода является пируват, который превращается в лактат.

Реакция 13 – перенос пирувата в митохондрии и окисление его до конечных продуктов в общем пути катаболизма

Превращение глицеральдегидфосфата в пируват или лактат (рис. 82, реакции 6-10 и 6-11). Эти реакции связаны с образованием АТФ. На этом этапе происходит реакция дегидрирования глицеральдегид-3 – фосфата (см. реакция 6) и образование  $\text{NADH}^+ \text{H}^+$ .



**Регенерация  $\text{NAD}^+$** , необходимого для окисления новых молекул глицеральдегид-3-фосфата, происходит при аэробном гликолизе посредством его окисления в ЦПЭ (реакция 12). При этом перенос водорода в митохондрии происходит с помощью специальных систем, называемых **челночными**, с помощью которых водород транспортируется через мембрану при участии пар субстратов, один из которых окисляется в цитозоле, а другой – в митохондриях, т.е. с обеих сторон митохондриальной мембраны находится специфическая дегидрогеназа.

**Образование АТФ** при аэробном гликолизе может идти двумя путями: путем **субстратного фосфорилирования**, когда для синтеза АТФ из АДФ и  $H_3PO_4$  используется энергия макроэргической связи субстрата (рис. 82, реакции 6, 10) и путем **окислительного фосфорилирования** за счет энергии переноса электронов и протонов по ЦПЭ (реакции 6, 12).

Таким образом, аэробный распад глюкозы – это процесс полного ее окисления до  $CO_2$  и  $H_2O$ , а аэробный гликолиз – часть аэробного распада глюкозы.

**Основное биологическое** назначение катаболизма глюкозы заключается в использовании энергии, освобождающейся в этом процессе для синтеза АТФ.

Аэробный катаболизм глюкозы происходит во многих органах и тканях и служит основным, хотя и не единственным, источником энергии для жизнедеятельности. Некоторые ткани находятся в наибольшей зависимости от катаболизма глюкозы. Например, клетки мозга расходуют до 100 г глюкозы в сутки, окисляя ее аэробным путем. Поэтому недостаточное снабжение мозга глюкозой или гипоксия проявляются симптомами, свидетельствующими о нарушении функций мозга (головокружения, судороги, потеря сознания).

**Баланс АТФ при аэробном гликолизе.** Реакции, связанные с синтезом АТФ в аэробном гликолизе, происходят после распада глюкозы на две фосфотриозы. На этом этапе происходят две реакции субстратного фосфорилирования и синтезируется две молекулы АТФ (рис. 82, реакции 7 и 10). Кроме того, одна молекула глицеральдегид-3-фосфата дегидрируется (рис. 101, реакция 6), а NADH передает водород в митохондриальную ЦПЭ, где синтезируется **три или две молекулы АТФ** (в зависимости от челночного механизма, который работает в клетке) путем окислительного фосфорилирования.

Следовательно, окисление до пирувата одной молекулы глицеральдегид-3-фосфата сопряжено с синтезом **пяти молекул АТФ** (если участвует малатаспартатный челнок). Учитывая, что из глюкозы образуется две фосфотриозы, полученную величину нужно удвоить и затем вычесть две молекулы АТФ, затраченные на первом этапе. Таким образом, суммарный эффект аэробного гликолиза составляет  $(5 \times 2) - 2 = 8$  АТФ.

Энергетическая эффективность аэробного катаболизма глюкозы до конечных продуктов определяется количеством АТФ, синтезируемого в аэробном гликолизе и окислении пирувата в общем пути катаболизма. В результате аэробного гликолиза образуются две молекулы пирувата. Энергетическая эффективность окисления пирувата составляет 15 моль АТФ, а двух молекул пирувата – соответственно 30 моль АТФ.

Таким образом, выход АТФ при окислении 1 моль глюкозы до  $CO_2$  и  $H_2O$  равна сумме: 8 моль АТФ (энергетический эффект аэробного гликолиза) + 30 моль АТФ (эффект окисления 2 моль пирувата в ОПК) **и составляет 38 моль АТФ.**

В процессе аэробного распада глюкозы происходят шесть реакций дегидрирования. Одна из них протекает на стадии гликолиза и пять – в общем пути катаболизма. Субстратами для специфических дегидрогеназ являются: глицеральдегид-3-фосфат, пируват, изоцитрат,  $\alpha$ -кетоглутарат, сукцинат, малат. Кроме того, в процессе аэробного распада глюкозы протекают три реакции, сопряженные с субстратным фосфорилированием АДФ (две реакции в гликолизе и одна в цитратном цикле).

**Баланс АТФ при анаэробном гликолизе.** Анаэробный распад глюкозы происходит в мышцах, впервые минуты мышечной работы, в эритроцитах (нет митохондрий), а также в разных органах в условиях ограниченного снабжения их кислородом, в том числе в клетках опухолей.

Анаэробный гликолиз по сравнению с аэробным менее эффективен. В этом процессе катаболизм 1 моль глюкозы без участия митохондриальной дыхательной цепи сопровождается синтезом 2 моль АТФ и 2 моль лактата. АТФ образуется за счет двух реакций субстратного фосфорилирования (рис. 83, реакции 7 и 10).

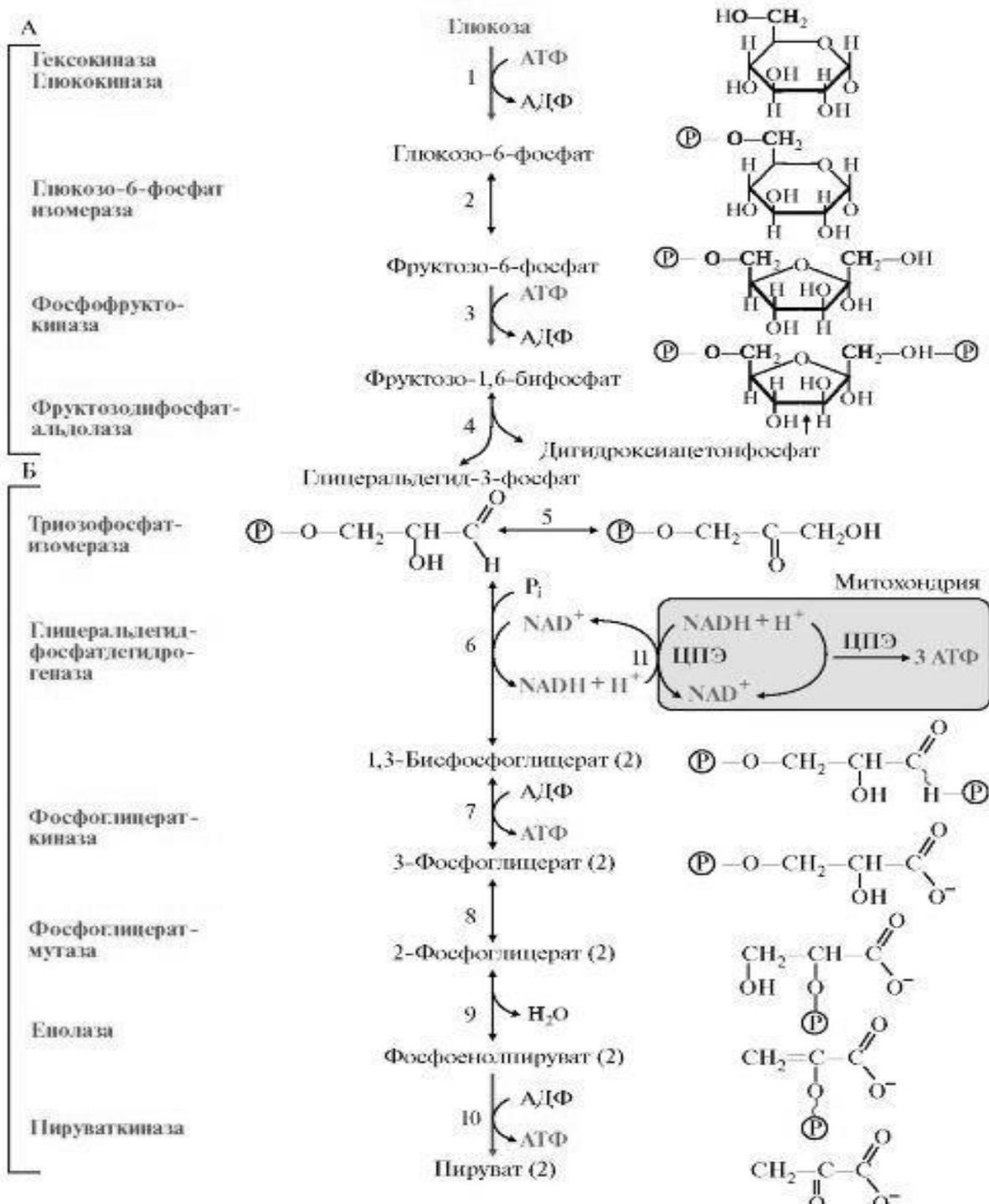


Рис. 83. Последовательность реакций в аэробном гликолизе:

А - подготовительный этап (реакции 1-5), сопряженный с использованием АТФ (реакции 1, 3);

Б - этап, сопряженный с синтезом АТФ (реакции 6-10);

X – малатаспартатная челночная система переноса водорода из цитозоля в митохондрии; (2) – стехиометрический коэффициент; (P) – фосфатный остаток. ~ - макроэнергетическая связь с фосфатным остатком в 1,3-бисфосфоглицерате и фосфоенолпирувате; 11 – транспорт водорода в митохондрии на ЦПЭ (глицерофосфатный или малатаспартатный челнок).

Поскольку глюкоза распадается на две фосфотриозы, то с учетом стехиометрического коэффициента, равного двум, количество моль синтезированного АТФ равно 4. Учитывая 2 моль АТФ, использованные на первом этапе гликолиза, получаем конечный энергетический эффект процесса, равный 2 моль АТФ. Таким образом, 10 цитозольных ферментов, катализирующих превращение глюкозы в пируват вместе с лактатдегидрогеназой, катализирующей восстановление

пирувата в лактат (рис. 83, реакция 11), обеспечивают в анаэробном гликолизе синтез 2 моль АТФ (на 1 моль глюкозы) без участия кислорода.

**Лактат** - конечный продукт анаэробного гликолиза транспортируется в другие ткани, например в печень, сердечную мышцу, где превращается в пируват, который затем может окисляться в ОПК до  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  с образованием АТФ.



Окисление молочной кислоты в мышце сердца не только ведет к образованию энергии, но и способствует поддержанию постоянства рН крови. Концентрация лактата в крови зависит от интенсивности и длительности работы. В условиях покоя концентрация лактата равна 1 ммоль/л, при тяжелой работе она может превышать 15 ммоль/л, что приводит к понижению рН крови – лактоацидозу.

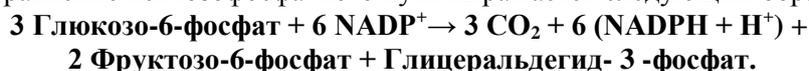
**Процесс катаболизма глюкозы, кроме энергетического значения, имеет также и анаболическое значение.** Метаболиты гликолиза используются для синтеза ряда соединений. Так, фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат участвуют в образовании рибозо-5-фосфата - структурного компонента нуклеотидов; 3-фосфоглицерат может включаться в синтез аминокислот, таких как серин, глицин, цистеин. В печени и жировой ткани ацетил-КоА, образующийся из пирувата, используется как субстрат при синтезе жирных кислот, холестерина, а дигидроксиацетонфосфат как субстрат для синтеза глицерол-3-фосфата, необходимого для синтеза триацилглицеролов (ТАГ).

**Регуляция катаболизма глюкозы в скелетных мышцах.** Основное значение гликолиза – синтез АТФ, поэтому его скорость должна коррелировать с затратами энергии в организме. Большинство реакций гликолиза обратимы за исключением трех, катализируемых **гексокиназой, фосфофруктокиназой и пируваткиназой**. Регуляторные факторы, изменяющие скорость гликолиза, а значит, и образование АТФ, направлены на необратимые реакции. Показателем потребления АТФ является накопление АДФ и АМФ – продуктов распада АТФ. Даже небольшой расход АТФ ведет к заметному увеличению АДФ и АМФ. При высоком уровне АТФ снижается скорость цикла лимонной кислоты и дыхательной цепи. В этих условиях процесс гликолиза также замедляется.

#### 5.4 Пентозофосфатный путь превращения глюкозы

**Пентозофосфатный путь** является альтернативным путем окисления глюкозы. К синтезу АТФ этот путь не приводит. Этот процесс поставляет клеткам кофермент NADPH (использующийся как донор водорода в реакциях восстановления и гидроксирования) и обеспечивает клетки рибозо-5-фосфатом (который участвует в синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот). Все ферменты пентозофосфатного пути локализованы в цитозоле.

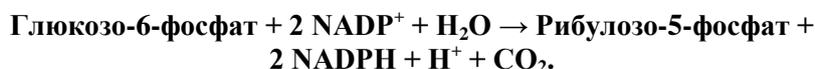
Суммарное уравнение пентозофосфатного пути выражается следующим образом:



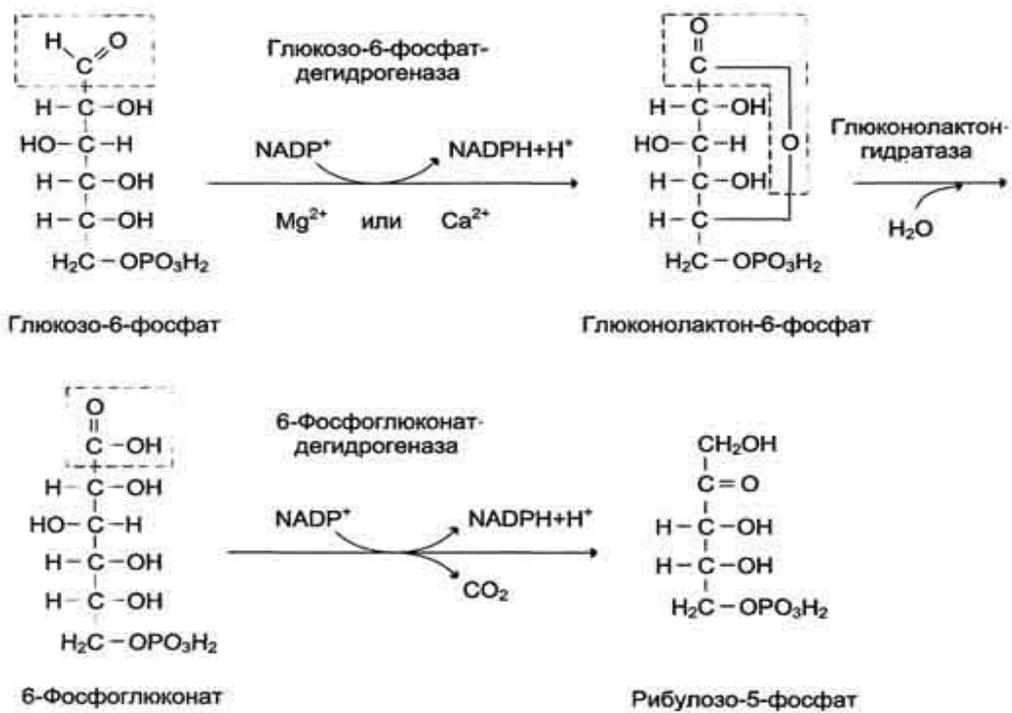
В пентозофосфатном пути превращения глюкозы можно выделить окислительный и неокислительный этапы образования пентоз.

**Окислительный этап** поставляет клеткам два основных продукта  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  и пентозы. Образование пентоз включает две реакции дегидрирования. Коферментом дегидрогеназ является  $\text{NADP}^+$ , который восстанавливается до  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ . Пентозы образуются в результате реакции окислительного декарбоксилирования.

Суммарное уравнение окислительного этапа пентозофосфатного пути можно представить в виде:

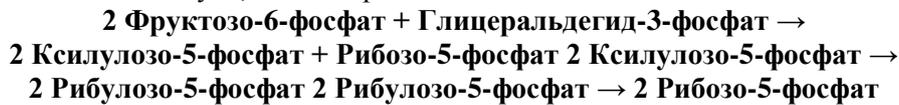


Реакции окислительного этапа служат основным источником NADPH в клетках.

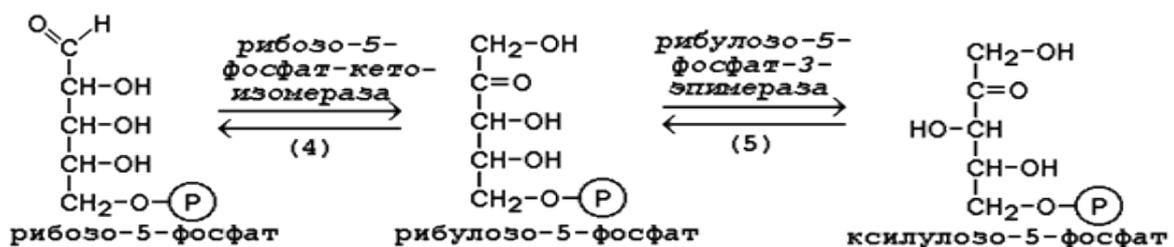


**Неокислительный этап** не связан с образованием NADPH, он служит для синтеза пентоз. Этот этап включает обратимые реакции переноса двух и трех углеродных фрагментов с одной молекулы на другую, в результате которых рибулозо-5-фосфат превращается в рибозо-5-фосфат и ксилулозо-5-фосфат, и далее за счёт переноса углеродных фрагментов в метаболиты гликолиза - фруктозо-6-фосфат и глицеральдегид-3-фосфат. В этих превращениях принимают участие ферменты пентозофосфатизомеразы, транскетолаза и трансальдолаза.

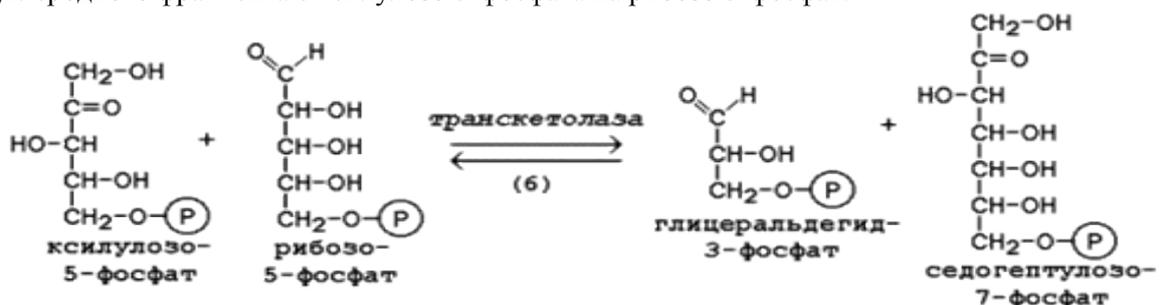
Последовательность превращений, приводящих к образованию рибозо-5-фосфата из таких продуктов гликолитического пути, можно представить в виде:



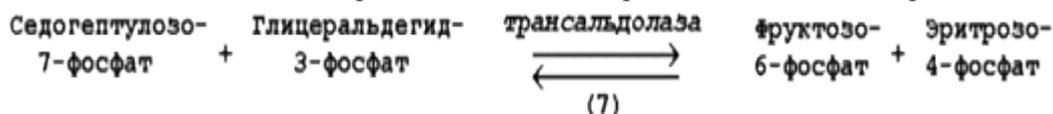
Транскетолаза в качестве кофермента использует тиаминдифосфат (ТДФ) – дифосфорный эфир витамина В<sub>1</sub>. Неокислительный этап образования пентоз обратим. С помощью этого пути избыток пентоз, превышающий потребности клетки, может быть возвращен в фонд гексоз.



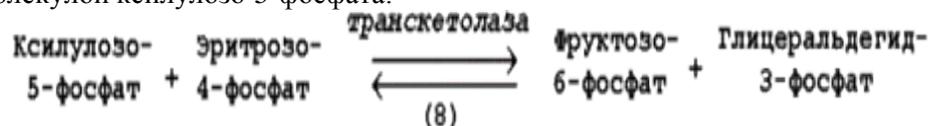
Следующая реакция протекает при участии фермента транскетолазы, коферментом которой является тиаминдифосфат (производное витамина В<sub>1</sub>). В этой реакции происходит перенос двухуглеродного фрагмента с ксилулозо-5-фосфата на рибозо-5-фосфат:



Образовавшиеся продукты взаимодействуют между собой в реакции, которая катализируется трансальдозой и заключается в переносе остатка дигидроксиацетона на глицеральдегид-3-фосфат:



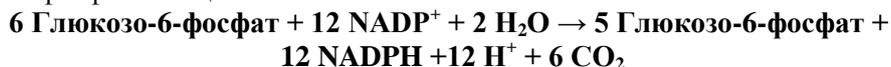
Продукт этой реакции эритрозо-4-фосфат участвует во второй транскетолазной реакции вместе со следующей молекулой ксилулозо-5-фосфата:



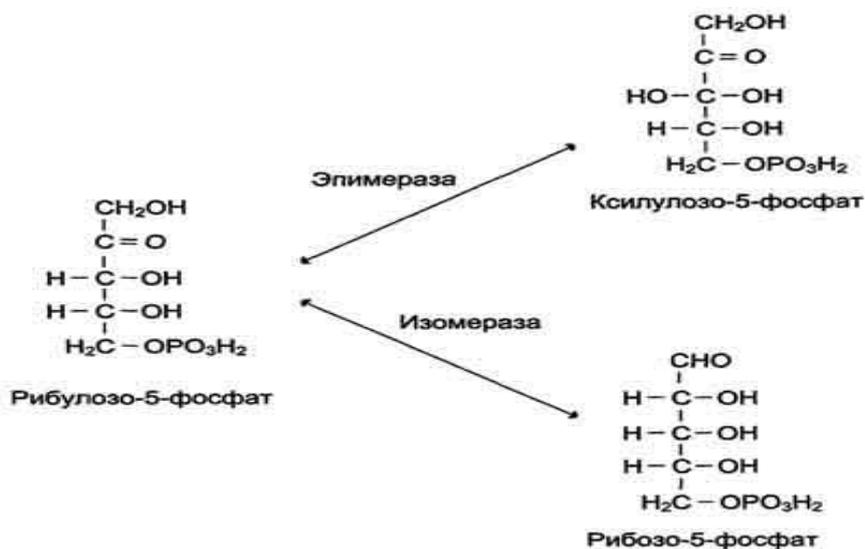
Таким образом, три молекулы пентозофосфатов в результате реакций неокислительной стадии превращаются в две молекулы фруктозо-6-фосфата и одну молекулу глицеральдегид-3-фосфата. Фруктозо-6-фосфат может изомеризоваться в глюкозо-6-фосфат, а глицеральдегид-3-фосфат может подвергаться окислению в гликолизе или изомеризоваться в дигидроксиацетонфосфат. Последний вместе с другой молекулой глицеральдегид-3-фосфата может образовывать фруктозо-1,6-дифосфат, который также способен переходить в глюкозо-6-фосфат.

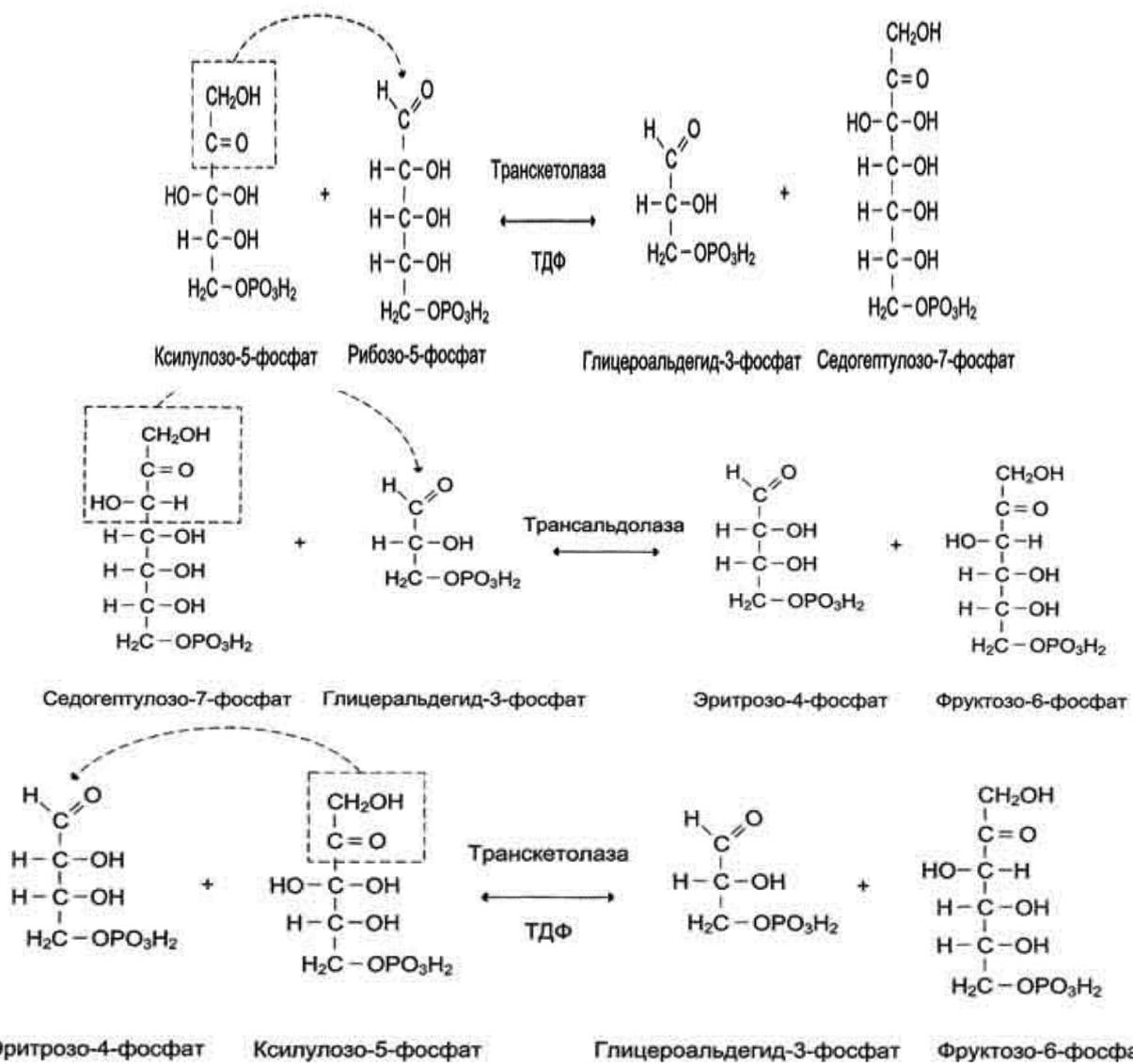
**Пентозофосфатный путь** превращения глюкозы, как окислительный этап, так и неокислительный, может функционировать в печени, жировой ткани, молочной железе, коре надпочечников, эритроцитах, т.е. в органах, где активно протекают реакции гидроксирования и восстановления. Например, при синтезе жирных кислот, холестерина, обезвреживания ксенобиотиков в печени и активных форм кислорода в эритроцитах и других тканях.

Окислительный этап синтеза пентоз и этап возвращения пентоз в гексозы (неокислительный этап в обратном направлении) вместе составляют циклический процесс (пентозофосфатный цикл) – за один оборот цикла полностью распадается одна молекула глюкозы (рис. 97, В). Суммарное уравнение пентозофосфатного цикла:



Это означает, что из 6 молекул глюкозы образуются 6 молекул рибулозо-5-фосфат (пентозы) и 6 молекул  $\text{CO}_2$ :





Протекание пентозофосфатного цикла позволяет клеткам продуцировать NADPH, необходимый для синтеза жиров, не накапливая пентозы.

Энергия, выделяющаяся при распаде глюкозы, трансформируется в энергию высокоэнергетического донора водорода - NADPH. Гидрированный NADPH служит источником водорода для восстановительных синтезов, а энергия NADPH преобразуется и сохраняется во вновь синтезированных веществах (рис. 84).

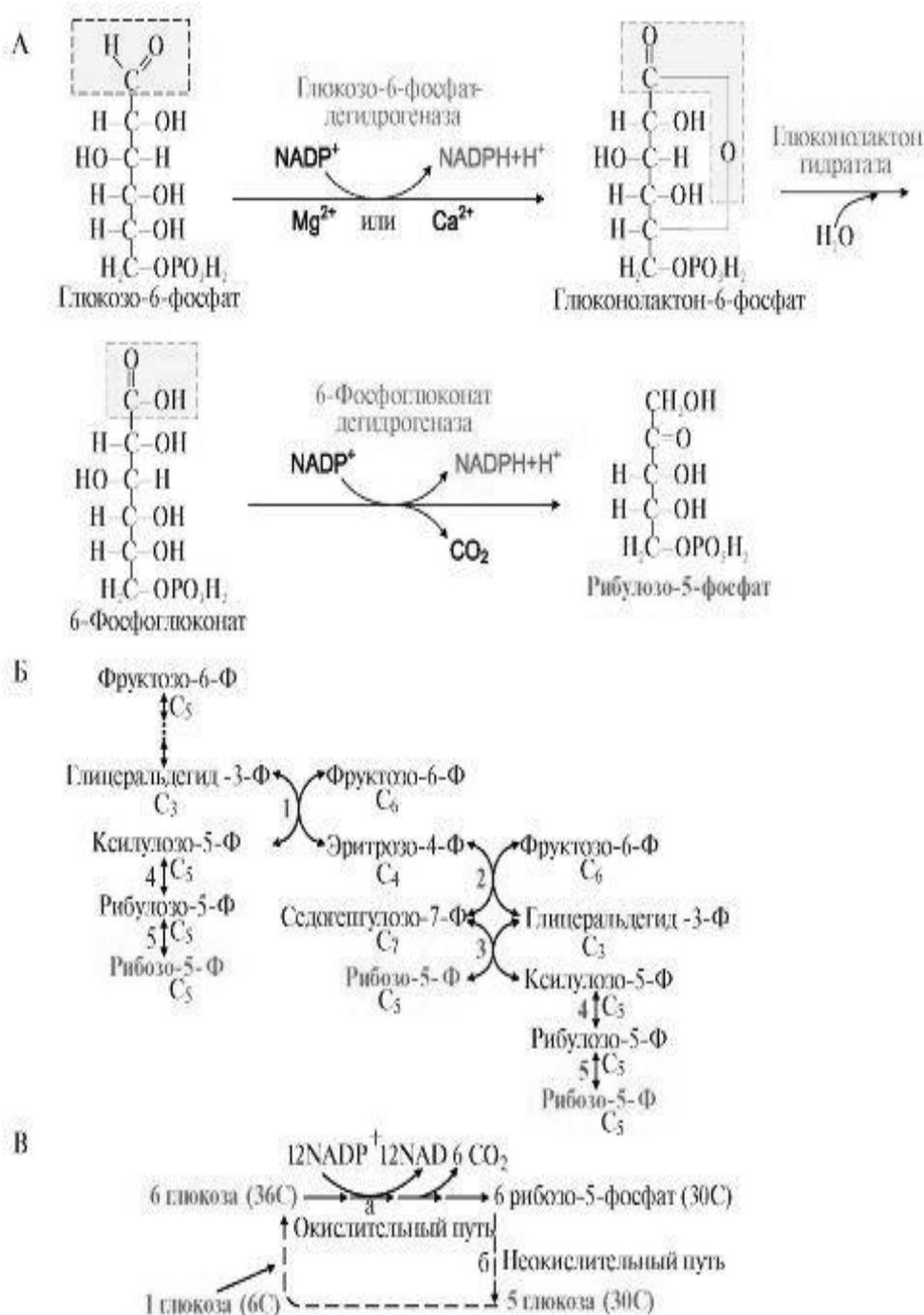


Рис. 84. Пентозофосфатный цикл превращения глюкозы:

А – окислительный этап пентозофосфатного пути;

Б – неокислительный этап пентозофосфатного пути;

В - пентозофосфатный цикл.

Этап А включает две реакции дегидрирования. Во второй из этих реакций одновременно происходит декарбонилирование, углеродная часть укорачивается, образуя пентозы. Коферментом дегидрогеназ является  $\text{NADP}^+$ , который восстанавливается до  $\text{NADPH} + \text{H}^+$ ;

Этап Б – неокислительный этап пентозофосфатного пути: Ф – остаток фосфорной кислоты,  $\text{C}_3$ – $\text{C}_6$  – число углеродных атомов. Ферменты: 1 – транскетолаза, кофермент ТДФ; 2 – трансальдолаза; 3 – транскетолаза, кофермент ТДФ; 4, 5 – пентозофосфатизомеразы.

Этап В – пентозофосфатный цикл: а – окислительный этап; б – неокислительный этап в обратном направлении с  $\text{H}_2\text{O}_2$  предохраняет цистеиновые остатки в протомерах гемоглобина от окисления активными формами кислорода, а значит, обеспечивает сохранение его конформации и функции.

Для регенерации окисленного глутатиона в восстановленную форму используется в качестве донора водорода  $\text{NADPH}^+\text{H}^+$ , который образуется в реакциях окислительного пентозофосфатного этапа превращения глюкозы, одна из которых катализируется глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (рис. 85).

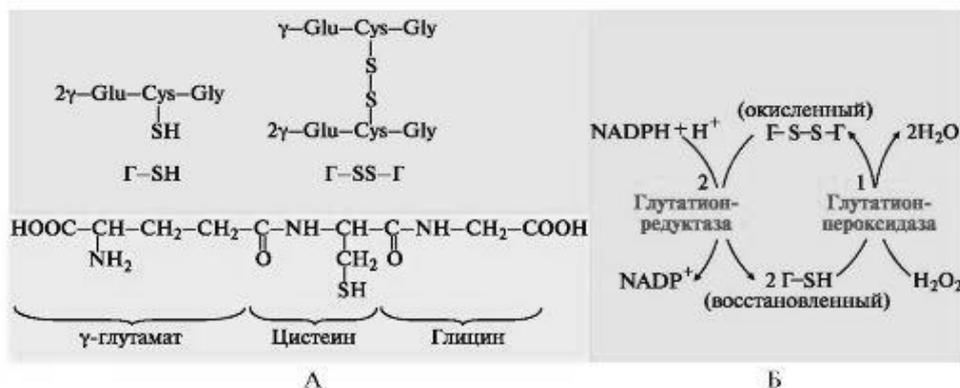


Рис. 85. Восстановление глутатиона с участием  $\text{NADPH}^+\text{H}^+$ :

А – строение глутатиона:  $\Gamma\text{-SH}$  - восстановленная форма;  $\Gamma\text{-S-S-}\Gamma$  – окисленная форма;

Б – участие глутатиона в обезвреживании пероксида водорода и его регенерация:

1 – взаимодействие глутатиона с  $\text{H}_2\text{O}_2$  с образованием воды и окисленной формы глутатиона;

2 – регенерация глутатиона с использованием в качестве донора водорода  $\text{NADPH}^+\text{H}^+$ , образуемой на окислительном этапе пентозофосфатного пути превращения глюкозы

## 5.5. Глюконеогенез и его регуляция

**Глюконеогенез** – это процесс синтеза глюкозы из веществ неуглеводной природы. Субстратами глюконеогенеза являются **пируват, лактат, глицерол, аминокислоты**. Важнейшей функцией глюконеогенеза является **поддержание уровня глюкозы** в крови в период длительного голодания и интенсивных физических нагрузок. Постоянное поступление глюкозы в качестве источника энергии особенно необходимо для нервной ткани и эритроцитов. Процесс протекает главным образом в печени и менее интенсивно – в корковом веществе почек, а также в слизистой оболочке кишечника.

Большинство реакций гликолиза и глюконеогенеза являются обратимыми и катализируются одними и теми же ферментами. Представлена схема метаболических путей: гликолиза (слева) и глюконеогенеза (справа). Ферменты указаны синим цветом (рис. 85).

Катализатором превращения пирувата в оксалоацетат является биотинсодержащий митохондриальный фермент – пируваткарбоксилаза (рис. 105). В митохондриях под действием ферментов малатдегидрогеназы и аминотрансферазы образуется малат и аспартат из оксалоацетата, которые пассивным антипортом удаляются из митохондрии. В цитозоле малат и аспартат в результате соответствующих реакций превращаются в оксалоацетат, который декарбоксилируется и фосфорилируется под действием фосфоенолпируваткарбоксикиназы (ФЕПКК).

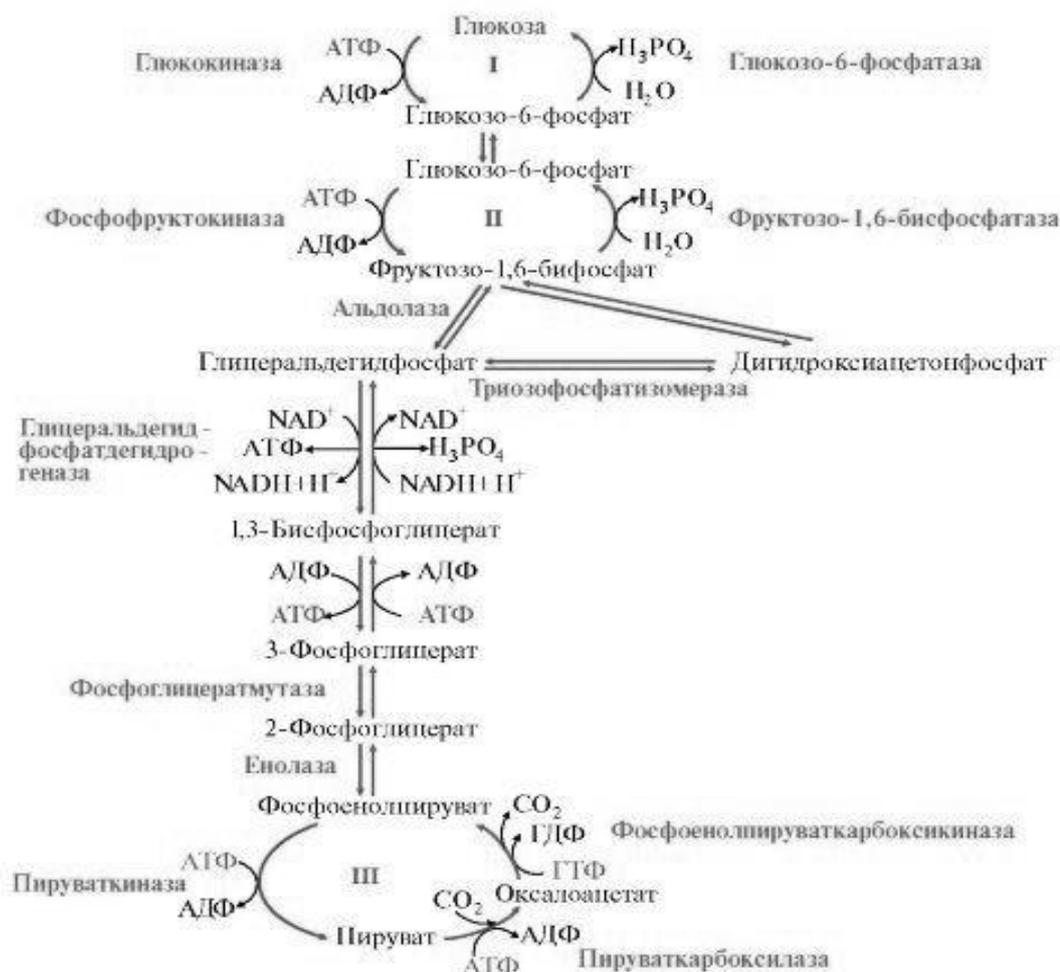


Рис. 85. Схема гликолиза и глюконеогенеза.

Все остальные реакции глюконеогенеза протекают в цитозоле (рис. 86).



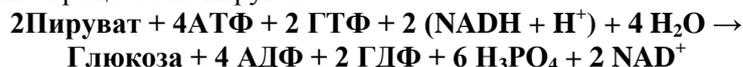
Рис.86. Превращение пирувата в оксалоацетат

В ходе этого процесса на синтез 1 моль глюкозы из 2 моль пирувата расходуется 4 моль АТФ и 2 моль ГТФ.

Основные этапы превращения пирувата в оксалоацетат:

- 1 – транспорт пирувата из цитозоля в митохондрию;
- 2 – превращение пирувата в оксалоацетат (ОА);
- 3 – превращение оксалоацетата в малат или аспартат (АСП);
- 4 – транспорт аспартата и малата из митохондрии в цитозоль;
- 5 – превращение аспартата и малата в оксалоацетат в цитоплазме;
- 6 – поступление оксалоацетата в глюконеогенез

Суммарное уравнение процесса из пирувата:



Использование лактата в качестве субстрата в глюконеогенезе связано с транспортом его в печень и превращением в пируват (рис. 87). В период мышечного сокращения в мышце пируват

превращается в лактат, т.к. направление лактатдегидрогеназной реакции в работающих мышцах и печени обусловлено преобладанием восстановленной формы – NADH над окисленной формой NAD<sup>+</sup> из-за недостатка кислорода. Лактат из мышцы транспортируется в печень, где он превращается в пируват (благодаря хорошему снабжению кислородом O<sub>2</sub> и высокому содержанию NAD<sup>+</sup>, а затем в глюкозу (в процессе глюконеогенеза), которая поступит с током крови в мышечную ткань и эритроциты. Эту последовательность событий называют **глюкозолактатным циклом или циклом Кори**.



Рис. 87. Цикл Кори:

- 1 – поступление лактата из сокращающейся мышцы и эритроцитов с током крови в печень;
- 2, 3 – синтез глюкозы из лактата в печени;
- 4 – поступление глюкозы из печени с током крови в работающую мышцу и в эритроциты;
- 5, 6 – использование глюкозы как энергетического субстрата сокращающейся мышцей и эритроцитами с образованием лактата.

Часть пирувата, образовавшегося из лактата, окисляется в печени до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O. Энергия, выделяющаяся при окислении, используется для синтеза АТФ, необходимого в процессе глюконеогенеза. Помимо печени, потребителями лактата являются почки и сердечная мышца, где он также окисляется до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O с образованием АТФ. В мышцах в покое отношение NAD<sup>+</sup>-NADH повышается и лактат может превращаться в пируват, который будет окисляться до CO<sub>2</sub> и H<sub>2</sub>O с образованием АТФ.

## 5.6. Гликогеногенез

**Синтез гликогена называется гликогеногенез, мобилизация гликогена – гликогенолиз.**

Гликоген – основной резервный полисахарид в клетках животных и представляет разветвленный гомополисахарид, мономером которого является глюкоза. Синтезируется в период пищеварения (через 1-2 часа после приема углеводной пищи) в основном в печени и в мышцах.

Гранулы гликогена плохо растворимы в воде и не влияют на осмотическое давление в клетке. Поэтому в клетке депонируется гликоген, а не свободная глюкоза. С гранулами связаны некоторые ферменты, участвующие в обмене гликогена, что облегчает взаимодействие ферментов с субстратами.

Синтез идет двумя путями:

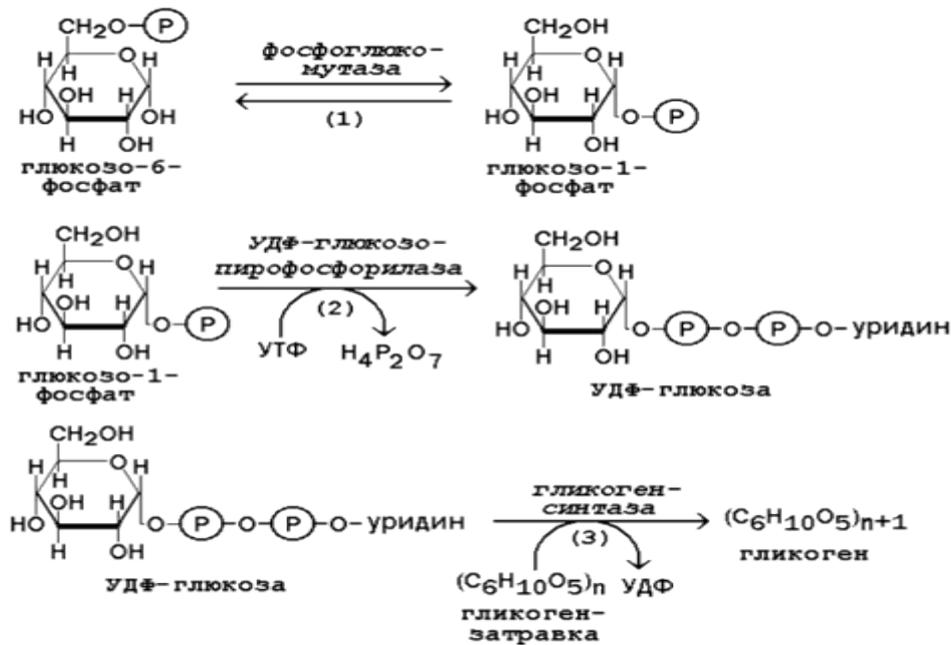
1. Перенос олигосахаридных фрагментов с одного полисахарида на существующий гликоген
2. Перенос остатков глюкозы

Источником глюкозы является УДФ-глюкоза, которая образуется из глюкозо-1-фосфата и УТФ при участии фермента глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазы. Когда длина синтезируемой цепи увеличивается на 11-12 остатков глюкозы, фермент ветвления – глюкозил-1,4-1,6-трансфераза образует боковую цепь путем переноса фрагмента из 5-6 остатков глюкозы на внутренний остаток глюкозы (рис. 88).

Основные этапы синтеза гликогена:

- 1 – фосфорилирование глюкозы с использованием энергии АТФ и образованием глюкозо-6-фосфата;
- 2 – изменение положения фосфатной группы и преобразование глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат;
- 3 – образование УДФ-глюкозы субстрата для синтеза гликогена с использованием энергии УТФ;





Основным механизмом регуляции активности этих ферментов является модификация путем фосфорилирования–дефосфорилирования. Фосфорилированная фосфорилаза или **фосфорилаза а** высокоактивна, в то же время фосфорилированная гликогенсинтаза или **синтаза b** неактивна.

Таким образом, если оба фермента находятся в фосфорилированной форме, в клетке идет расщепление гликогена с образованием глюкозы.

В дефосфорилированном состоянии, наоборот, активна **гликогенсинтаза а**, в этой ситуации в клетке идет синтез гликогена из глюкозы.

Процессы синтеза и мобилизации гликогена в печени происходит при участии инсулина, глюкагона и адреналина, а в мышцах – инсулина и адреналина. Влияние этих гормонов на синтез и распад гликогена осуществляется путем изменения в противоположном направлении активности двух ключевых ферментов: гликогенсинтазы и гликогенфосфорилазы с помощью их фосфорилирования и дефосфорилирования (рис. 89).

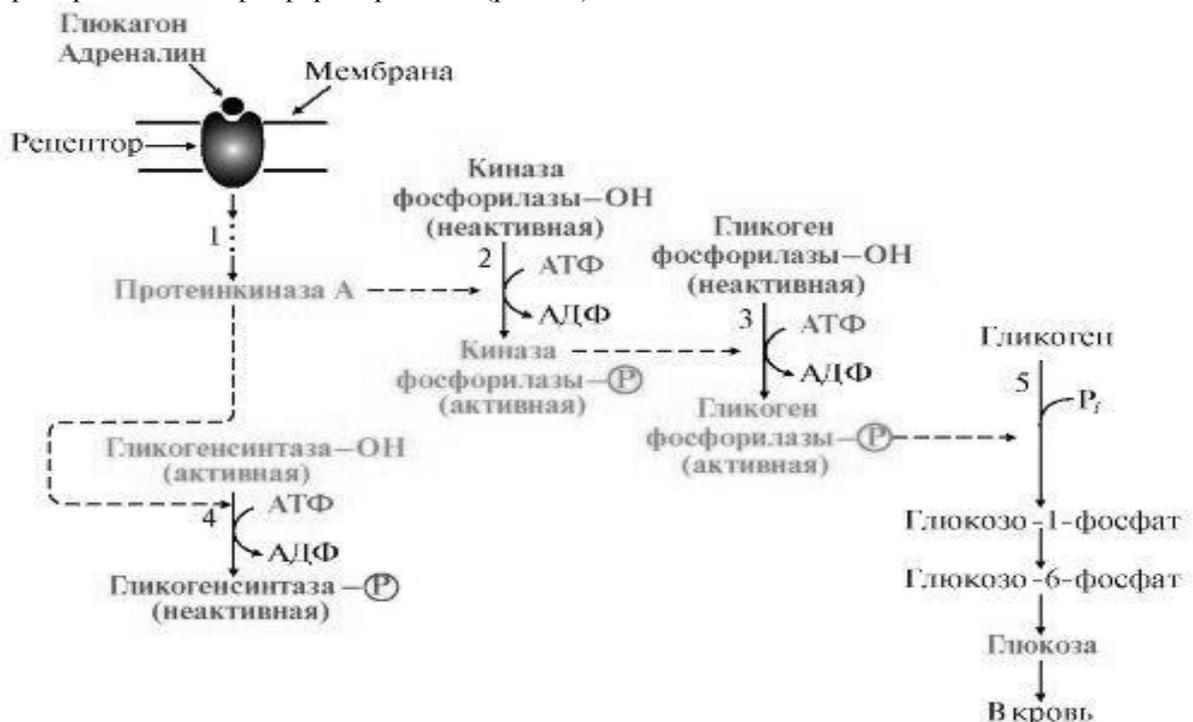


Рис. 89. Регуляция синтеза и распада гликогена в печени глюкагоном и адреналином.

Этапы регуляция синтеза и распада гликогена в печени глюкагоном и адреналином:

1 – глюкагон и адреналин взаимодействуют со специфическими мембранным рецепторами. Комплекс гормон-рецептор передает сигнал через аденилатциклазную систему на протеинкиназу А, переводя ее в активное состояние;

2 – протеинкиназа А фосфорилирует и активирует киназу фосфорилазы;

3 – киназа фосфорилазы фосфорилирует гликогенфосфорилазу, переводя ее в активную форму;

4 – протеинкиназа А фосфорилирует также гликогенсинтазу, переводя ее в неактивное состояние;

5 – в результате ингибирования гликогенсинтазы и активации гликогенфосфорилазы ускоряется распад гликогена

Адреналин имеет сходный с глюкагоном механизм действия на клетки печени. Но возможно включение и другой эффекторной системы передачи сигнала в клетку печени. Какая система передачи сигнала в клетку будет использована, зависит от типа рецепторов, с которыми взаимодействует адреналин. Так, присоединение адреналина к  $\beta_2$ -рецепторам клеток печени приводит в действие аденилатциклазную систему. Взаимодействие же адреналина с  $\alpha_j$ -рецепторами «включает» инозитолфосфатный механизм трансмембранной передачи гормонального сигнала. Результатом действия обеих систем является фосфорилирование ключевых ферментов, изменение их активности и переключение синтеза гликогена на его распад.

Активация адреналином мышечной гликогенфосфорилазы происходит несколько иначе, так как распад гликогена в скелетных мышцах стимулируется мышечными сокращениями.

**Значение регуляции обмена гликогена.** При передаче гормонального сигнала через внутриклеточные посредники происходит значительное его усиление, поэтому активация фосфорилазы гликогена при участии любой системы передачи сигнала в клетку печени позволяет быстро получить большое количество глюкозы из гликогена. Усиление гормонального сигнала в мышцах имеет большое значение для обеспечения энергетическим материалом интенсивной работы в условиях стресса, например при бегстве от опасности.

Так, регуляция скоростей синтеза и распада гликогена в печени поддерживает постоянство концентрации глюкозы в крови (3,3-5,5 ммоль/л). Регуляция обмена гликогена в мышцах обеспечивает энергетическим материалом, как интенсивную работу мышц, так и энергозатраты в состоянии покоя.

### **Вопросы для самоконтроля:**

1. Общая характеристика углеводов. Классификация углеводов.
2. Характеристика важнейших моносахаридов. Их строение, классификация.
3. Важнейшие дисахариды: мальтоза, сахароза, целлобиоза, лактоза, их строение.
4. Важнейшие полисахариды: крахмал, гликоген, целлюлоза. Их состав и строение.
5. Содержание углеводов в животных и растительных организмах. Роль углеводов в питании человека и животных.
6. Составьте формулы фосфорных эфиров: глюкозо-6-фосфата, глюкозо-1-фосфата, фруктозо-1,6-дифосфата, рибозо-5-фосфата, 5-фосфорибозил-1-пирофосфата, рибулозо-5-фосфата. Отметьте особенности фосфорных эфиров моносахаридов.
7. Назовите пути распада сложных углеводов до простых?
8. Изобразите схему ступенчатого гидролиза крахмала.
9. Какие ферменты участвуют в гидролизе крахмала?
10. Изобразите схему гидролиза амилозы и амилопектина с участием различных амилаз.
11. Что такое фосфоролит?
12. Изобразите схему фосфоролита гликогена. К какому классу ферментов относятся фосфорилазы?
13. Составьте уравнение реакции фосфоролита мальтозы. Укажите фермент.
14. Составьте уравнение реакции гидролиза лактозы. Укажите фермент.
15. Перечислите конечные продукты распада сложных углеводов в результате гидролиза и фосфоролита.
16. Образование глюкозо-6-фосфата и ее взаимоотношения с фосфорными эфирами других гексоз. Напишите уравнение реакции образования глюкозо-6-фосфата. Укажите фермент.
17. Перечислите четыре направления превращения глюкозо-6-фосфата.
18. Напишите уравнение реакции гидролиза глюкозо-6-фосфата. Укажите фермент. В каких органах животных происходит этот процесс?

19. Напишите уравнение реакции изомеризации глюкозо-6-фосфата в глюкозо-1-фосфат. Укажите фермент.
20. Укажите дальнейшее превращение глюкозо-1-фосфата.
21. Биологический смысл пентофосфатного пути превращения глюкозы (схема распада по таблице).
22. Напишите уравнение реакции изомеризации глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат. Укажите фермент.
23. Напишите уравнение реакции образования фруктозо-1,6-дифосфата и схему его дихотомического распада.
24. Составьте схему окислительно-восстановительного превращения 3-фосфоглицеринового альдегида до пирувата.
25. Каким образом происходят превращения пировиноградной кислоты в анаэробных условиях?
26. В чём состоит молочнокислое брожение?
27. Как происходит спиртовое брожение?
28. Превращения пировиноградной кислоты в анаэробных условиях (окислительное декарбоксилирование). Изобразите схему превращения пировиноградной кислоты в ацетил-КоА.
29. Напишите реакцию взаимодействия ацетил-КоА с енолалосалоацетатом.
30. Как происходит образование цитрил-КоА и дальнейшее превращение его в сукцинилалосетат?
31. Напишите схему образования β-кетоглутарата в сукцинат.
32. Изобразите схему превращений двухосновных кислот до щавелевоуксусной кислоты.
33. Что такое фотосинтез? Изобразите общую схему фотосинтеза.
34. Участие АТФ и оксиредуктаз в восстановлении воды.
35. Составьте формулу рибулозо-1,5-дифосфата и изобразите его енольную и оксиформы.
36. Изобразите схему связывания углекислого газа с рибулозо-1,5-дифосфатом.
37. Напишите уравнение реакции превращения 3-фосфоглицериновой кислоты в 3-фосфоглицериновый альдегид.
38. Изобразите общую схему биосинтеза фосфорных эфиров моносахаридов, исходя из 3-фосфоглицеринового альдегида.
39. Что такое глюконеогенез?
40. Как происходит биосинтез сахарозы в растениях, лактозы в животных организмах?
41. Как происходит биосинтез гликогена? Что такое трансгликозилирование?
42. Изобразите синтез фрагмента амилозы исходя из мальтозы.

**Задачи для самостоятельной работы:**

1. В организме древесного жучка целлюлоза гидролизуется при участии фермента целлюлазы. Напишите уравнение реакции гидролиза целлюлозы (только четыре звена молекулы). Какие полисахариды гидролизуются инулазой, хитиназой и ксиланазой? В чем особенность строения соответствующих ферментам полисахаридов? Дайте структуру мономеров.
2. Установите сходство и различие между фосфоролизом и гидролизом полисахаридов. Приведите примеры.
3. Напишите уравнения реакций фосфорилирования галактозы при участии соответствующей киназы и дальнейшего перехода фосфорного эфира галактозы во фруктозо-6-фосфат. Дайте полное название метаболитов и ферментов, ускоряющих эти реакции.
4. Фермент L-арабинозодегидрогеназа ускоряет окисление L-арабинозы:  

$$\text{L-арабиноза} + \text{НАД} \rightarrow \text{L-арабино-}\gamma\text{-лактон} + \text{НАД}\cdot\text{H}_2$$
 Напишите полное уравнение этой реакции и объясните, по какому пути деструкции идет подобное превращение.
5. Фермент фосфофруктокиназа ускоряет превращение:  

$$\beta,\text{D-фруктофураноза-1-фосфат} + \text{АТФ} \rightarrow \beta,\text{D-фруктофураноза-1,6-дифосфат} + \text{АДФ}$$
 Напишите полное уравнение реакции и укажите, в каком процессе эта реакция является начальным этапом.
6. При каком пути деструкции моносахаридов приведенная ниже реакция занимает центральное место:  

$$\text{фруктоза-1,6-дифосфат} \rightarrow \text{фосфодиоксиацетон} + \text{3-фосфоглицериновый альдегид}$$
 Напишите полное химическое уравнение и объясните значение этого пути распада моносахаридов для организма.
7. Какова судьба пировиноградной кислоты в организме в анаэробных и аэробных условиях? Ответ подтвердите соответствующими уравнениями реакций.

8. Напишите уравнения реакций фосфорилирования АДФ на уровне субстрата при распаде моносахаридов по дихотомическому пути.
9. Покажите значение метаболитов цикла трикарбоновых и дикарбоновых кислот в общем обмене веществ. Напишите соответствующие химические уравнения.
10. Укажите, на каких этапах цикла три- и дикарбоновых кислот происходит высвобождение окисленных углеродных атомов ацетильных остатков. Ответ подтвердите соответствующими уравнениями реакций.
11. Покажите значение метаболитов апотомического распада моносахаридов в липидном и нуклеиновом обмене. Напишите полные уравнения реакций, укажите ферменты, ускоряющие соответствующие этапы превращения.
12. Используя схему превращений метаболитов в цикле трикарбоновых и дикарбоновых кислот, найдите этапы дегидрирования метаболитов, напишите химические уравнения и, учитывая особенности передачи энергии на синтез АТФ через систему дыхательных ферментов, подсчитайте количество синтезированных молекул АТФ за один цикл превращений.
13. При фотосинтетическом биосинтезе моносахаридов происходит превращение 3-фосфоглицериновой кислоты в 3-фосфоглицериновый альдегид. Помня, что данное превращение представляет собой обращение соответствующего этапа дихотомического распада глюкозы, напишите полные уравнения реакций с указанием ферментов, ускоряющих эти реакции.
14. Укажите, в чем отличие дихотомического пути распада углеводов от апотомического. Найдите пути взаимного перехода одного из них в другой. Ответ подтвердите соответствующими уравнениями реакций.
15. Назовите донаторов гликозильных остатков при биосинтезе полисахаридов. Ответ подтвердите примерами.

## Глава 6. МЕТАБОЛИЗМ ЛИПИДОВ

### **Цели изучения:**

#### **Уметь:**

1. Объяснять роль липидов в метаболизме человека.
2. Объяснять особенности переваривания и всасывания липидов в желудочно-кишечном тракте.
3. Оценивать значение синтеза и распада липидов для метаболических процессов организма.

#### **Знать:**

1. Строение липидов. Суточную норму липидов в питании.
2. Биологические функции липидов в организме человека.
3. Причины и проявления нарушений переваривания липидов.
4. Основные этапы синтеза высших жирных кислот. Регуляция синтеза жирных кислот.
5. Пути использования высших жирных кислот в клетках.
6. Общие этапы биосинтеза ацилглицеролов и фосфолипидов. Факторы, способствующие развитию ожирения.
7. Интенсивность процессов липолиза и липосинтеза при различных физиологических состояниях. Роль гормонов.
8. Последовательность реакций синтеза фосфатидилхолина и его роль в организме. Понятие о липотропном эффекте фосфолипидов и липотропных факторах.

### **Основные понятия и термины:**

1. Жирные кислоты. Эссенциальные жирные кислоты.
2. Фосфолипиды (глицерофосфолипиды, сфинголипиды, плазмалогены, сфинголипиды, сфингомиелины).
3. Стероиды (холестерол и его эфиры, желчные кислоты).
4. Переваривание жиров и других липидов.
5. Всасывание продуктов гидролиза липидов в тонком кишечнике.
6. Ресинтез жиров.
7. Синтез и мобилизация жиров в жировой ткани и печени.
8. Гормональная регуляция синтеза жиров.
9.  $\beta$ -окисление жирных кислот.
10.  $\alpha$ - и  $\omega$ -окисление жирных кислот.
11. Синтез кетоновых тел в печени.
12. Синтез жирных кислот.
13. Регуляция синтеза жирных кислот.

### **Сокращения:**

МАГ, ДАГ, ТАГ – моно-, ди- или триацилглицеролы;  
ТАФ – тромбоцитактивирующий фактор;  
ХМ – хиломикроны;  
АХАТ – ацилхолестеролацилтрансфераза;  
ЛПНП – липопротеины.

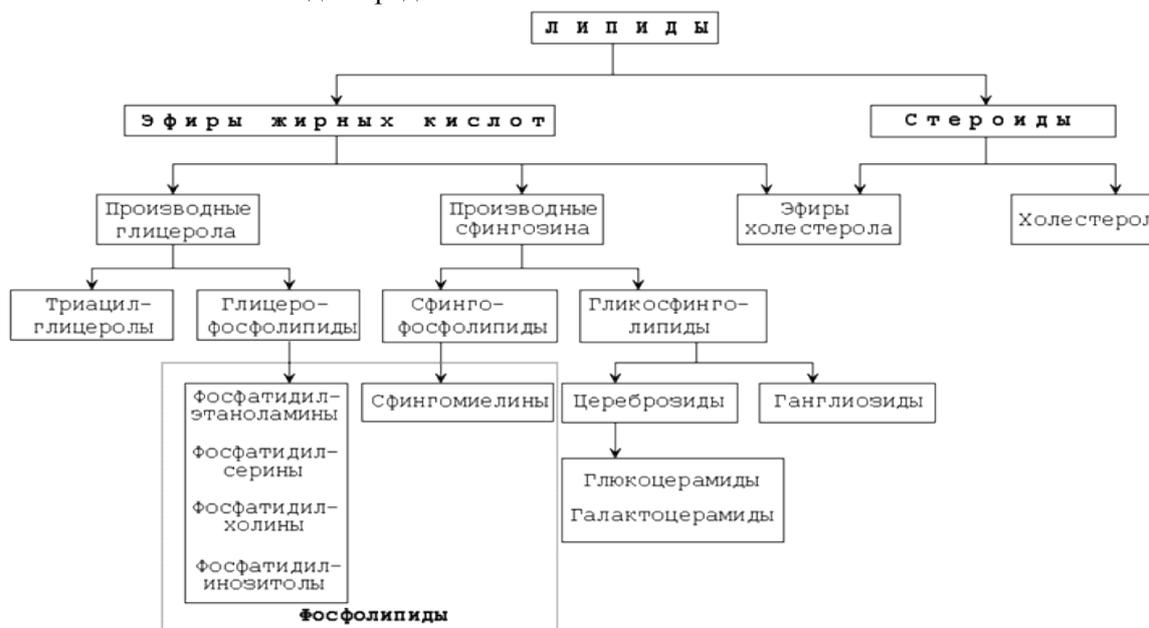
## 6.1. Структурная организация липидов

**Липиды** – это большая группа соединений, которые существенно различаются по своему химическому строению и биологической роли.

**Общими признаками** липидов являются:

- нерастворимость в воде;
- растворимость в неполярных растворителях (эфир, хлороформ, бензол);
- наличие в структуре высших углеводородных радикалов;
- распространённость в живых организмах.

Основные классы липидов представлены на схеме:



**Липиды выполняют в организме ряд функций:**

1. Энергетическая функция – при окислении липидов в организме выделяется энергии больше, чем при распаде такого же количества углеводов или белков. Источниками энергии служат триацилглицеролы и свободные жирные кислоты.
2. Структурная функция – липиды образуют основу клеточных мембран и липопротеинов крови. В образовании этих структур участвуют фосфолипиды, гликолипиды и холестерол.
3. Защитная функция – тканевые липиды (триацилглицеролы) предохраняют внутренние органы от механических, термических и других воздействий.
4. Регуляторная функция – липиды служат источниками биологически активных веществ, в частности, витаминов и гормонов. Например, холестерол является предшественником желчных кислот, надпочечниковых и половых гормонов, витамина D<sub>3</sub>; арахидоновая кислота, которая относится к жирным кислотам, может превращаться в простагландины и другие гормоноподобные вещества.

Структурными компонентами различных липидов являются **жирные кислоты**.

**Жирные кислоты, не содержащие двойных связей, называют насыщенными.** Основной насыщенной жирной кислотой в липидах человека является пальмитиновая (до 30–35%).

**Жирные кислоты, содержащие двойные связи, называют ненасыщенными.** Ненасыщенные жирные кислоты представлены моноеновыми (с одной двойной связью) и полиеновыми (с двумя и большим числом двойных связей). Если в составе жирной кислоты содержатся две и более двойных связей, то они располагаются через CH<sub>2</sub>-группу (табл. 11).

Таблица 11

Строение жирных кислот

Название кислоты	Cn : m	ω	Структура кислот
<b>Насыщенные</b>			
Миристиновая	14:0		CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH
Пальмитиновая	16:0		CH <sub>3</sub> -(CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH

Стеариновая	18:0		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
<b>Моноеновые</b>			
Пальмитоолеиновая	16:1 $\Delta$ 9		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Олеиновая	18:1 $\Delta$ 9		$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
<b>Полиеновые</b>			
Линолевая*	18:2 $\Delta$ 9,12	6	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ $(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
$\alpha$ -Линоленовая*	18:3 $\Delta$ 9, 12, 15	3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ $\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$
Эйкозатриеновая	20:3 $\Delta$ 8, 11, 14	6	
Арахидоновая**	20:4 $\Delta$ 5, 8, 11, 14	6	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-(\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH})_4$ $(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Эйкозопентаеновая (тимнодоновая)	20:5 $\Delta$ 5,8, 11,14, 17	3	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-(\text{CH}=\text{CH}-$ $\text{CH}_2)_5(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Докозопентаеновая (клупанодоновая)	22:5 $\Delta$ 7, 10, 13, 16,19	3	
Докозагексаеновая	22:6 $\Delta$ 4, 7, 10, 13, 16,19	3	
<p>Сп:m - число атомов углерода (n) и число двойных связей (m) в молекуле жирной кислоты; <math>\omega</math> (6,3) – номер углеродного атома, у которого находится первая двойная связь, считая от <math>\omega</math> – (метильного) атома углерода; <math>\Delta</math> – позиция двойной связи, считая с первого, карбоксильного атома углерода;</p> <p>* - жирные кислоты, которые не синтезируются в организме (незаменимые);</p> <p>** - арахидоновая кислота может синтезироваться из линолевой кислоты.</p>			

Имеется несколько способов изображения структуры жирных кислот. При обозначении жирной кислоты цифровым символом (табл. 16, вторая графа) общее количество атомов углерода представлено цифрой до двоеточия, после двоеточия указывают число двойных связей.

Позицию двойной связи обозначают знаком  $\Delta$ , после которого указывают номер атома углерода, ближайшего к карбоксилу, у которого находится двойная связь. Например, С18:1 $\Delta$ 9 означает, что жирная кислота содержит 18 атомов углерода и одну двойную связь у 9-го атома углерода, считая от углеродного атома карбоксильной группы.

Позиция двойной связи может быть указана и другим способом – по расположению первой двойной связи, считая от метильного атома углерода жирной кислоты. Например, линолевая кислота может быть обозначена как С18:2 $\omega$ 9,12 или С18:2 $\omega$ -6. По положению первой двойной связи от метильного углерода **полиеновые жирные кислоты** делят на семейства  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6.

Двойные связи в жирных кислотах в организме человека имеют цис-конфигурацию, делает алифатическую цепь жирной кислоты изогнутой, что нарушает упорядоченное расположение насыщенных радикалов жирных кислот в фосфолипидах мембран (рис. 90) и снижает температуру плавления.

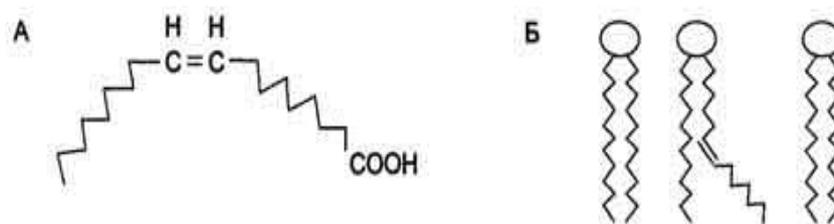


Рис. 90. Конфигурации радикалов жирных кислот:

- А – излом радикала жирной кислоты при двойной связи в цис-конфигурации;  
 Б – нарушение упорядоченного расположения радикалов насыщенных жирных кислот в гидрофобном слое мембран ненасыщенной кислотой с цис-конфигурацией двойной связи.

Жирные кислоты с транс-конфигурацией двойной связи могут поступать в организм с пищей, например в составе маргарина. В этих кислотах отсутствует излом, характерный для цис-связи, поэтому жиры, содержащие такие ненасыщенные кислоты, имеют более высокую температуру плавления, т.е. более твердые по консистенции.

Большинство жирных кислот синтезируется в организме человека, однако полиеновые кислоты (линолевая и  $\alpha$ -линоленовая) не синтезируются и должны поступать с пищей, их называют **незаменимыми, или эссенциальными**.

Основные источники полиеновых жирных кислот для человека – жидкие растительные масла и рыбий жир, в котором содержится много кислот семейства  $\omega$ -3 (табл. 12, 13).

Таблица 12

Состав жирных кислот и температура плавления некоторых пищевых жиров

Жиры	Темпера-тура плавления, °С	Насыщенные кислоты, %	Ненасыщенные жирные кислоты, %				
			18:1	18:2	18:3	20:4	20:5
<b>Жиры</b>							
Молочный*	+(28-33)	52-70	27-40	3-5	<1	сл.	-
Свиной	+(36-46)	37-45	37-50	8-10	1	сл.	-
Говяжий	+(44-51)	53-60	42-43	3-5	<1	-	-
Бараний	+(46-55)	55-65	36-43	3	0	-	-
Рыбий	-(2-7)	16-20	20-22	2	3	3	6-8
<b>Масла</b>							
Подсолнечное	-(16-19)	10-12	21-34	51-68	2	-	-
Оливковое	(0-6)	10-19	64-85	4-14	<1	-	-
Кукурузное	-(10-20)	10-14	38-40	43-47	<3	-	-
В рыбьем жире, кроме указанных кислот, присутствуют 22:5 жирная кислота (клубанодоновая) - до 10% и 22:6 (цервоновая) - до 10%, которые необходимы для формирования структур фосфолипидов нервной системы человека. В других типах природных жиров они практически отсутствуют;							
* - жирные кислоты с числом атомов углерода от 4 до 10 содержатся в основном в липидах молока.							

Жиры, содержащие преимущественно насыщенные кислоты, являются твёрдыми (говяжий, бараний), а содержащие большое количество ненасыщенных – жидкими. Из животных пищевых жиров наиболее насыщен бараний жир, который практически не содержит незаменимых кислот.

Ценными пищевыми жирами являются рыбий жир и растительные масла, содержащие незаменимые жирные кислоты. В организме рыб полиеновые жирные кислоты  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 также не синтезируются, рыбы получают их с пищей (водоросли, планктон).

Чем больше двойных связей в жирных кислотах липидов, тем ниже температура их плавления. В таблице 13 выделены основные жирные кислоты в липидах человека.

Таблица 13

Состав жирных кислот подкожного жира человека

Название кислоты	Cn:m	Содержание, %
Миристиновая	14:0	2-4
Пальмитиновая	16:0	23-30
Стеариновая	18:0	8-12
Олеиновая	18:1	20-25
Линолевая	18:2	10-15
Линоленовая	18:3	<2
Эйкозатриеновая	20:3	<1
Арахидоновая	20:4	<2
Эйкозопентаеновая	20:5	<1
<b>Общее количество:</b>		
Насыщенных кислот		33-38
Ненасыщенных кислот		42-58

**Ацилглицеролы – сложные эфиры трёхатомного спирта глицерола и жирных кислот.**

Глицерол может быть связан с одной, двумя или тремя жирными кислотами, соответственно образуя моно-, ди- или триацилглицеролы (МАГ, ДАГ, ТАГ). Основную массу липидов в организме человека составляют триацилглицеролы – жиры. У человека с массой тела 70 кг в норме содержится до 10 кг жиров. Они запасаются в жировых клетках – адипоцитах и используются при голодании как источники энергии.

Моно- и диацилглицеролы образуются на промежуточных этапах распада и синтеза триацилглицеролов. Атомы углерода в глицероле по-разному ориентированы в пространстве, поэтому ферменты различают их и специфически присоединяют жирные кислоты у первого, второго и третьего атомов углерода.

В молекуле природного жира содержатся разные жирные кислоты. Как правило, в позициях 1 и 3 находятся более насыщенные жирные кислоты, а во второй позиции – полиеновая кислота (рис. 91).

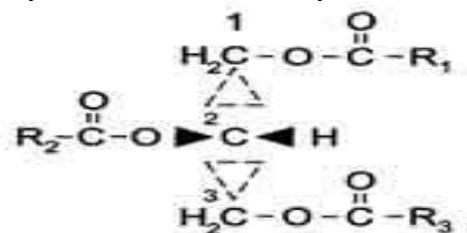


Рис. 91. Пространственное расположение углеродных атомов глицерола.

В названии триацилглицерола перечисляются названия радикалов жирных кислот, начиная с первого углеродного атома глицерола, например пальмитоил-линоленоил-олеоилглицерол.

**Фосфолипиды – разнообразная группа липидов, содержащих в своём составе остаток фосфорной кислоты.** Фосфолипиды делят на глицерофосфолипиды, основу которых составляет трёхатомный спирт глицерол, и сфингофосфолипиды – производные аминок спирта сфингозина. Фосфолипиды имеют амфифильные свойства, т.к. содержат алифатические радикалы жирных кислот и различные полярные группы. Благодаря своим свойствам фосфолипиды не только являются основой всех клеточных мембран, но и образуют поверхностный гидрофильный слой липопротеинов крови, выстилают поверхность альвеол, предотвращая слипание стенок во время выдоха.

Некоторые фосфолипиды участвуют в передаче гормонального сигнала в клетки. Сфингомиелины являются фосфолипидами, формирующими структуру миелиновых оболочек и других мембранных структур нервных клеток.

**Глицерофосфолипиды** (ранее используемые названия – фосфоглицериды или фосфоацилглицеролы) представляют собой молекулы, в которых две жирные кислоты связаны сложноэфирной связью с глицеролом в первой и второй позициях; в третьей позиции находится остаток фосфорной кислоты, к которому, в свою очередь, могут быть присоединены различные заместители, чаще всего аминок спирты (табл. 14, рис. 92).

Таблица 14

#### Классификация глицерофосфолипидов и сфинголипидов

Фосфолипиды	Сфинголипиды
<b>Триацилглицеролы</b>	
Сфингомиелины*	
Глицерофосфолипиды	Гликолипиды
<b>Диацилглицеролы</b>	
Фосфатидилхолин	Цероброзида
<b>Моноацилглицеролы</b>	
Фосфатидилсерин	Глобозиды
Фосфатидилэтаноламин	Сульфатиды
Фосфатидилглицерол	Ганглиозиды
Фосфатидилинозитолбисфосфат	
Фосфатидная кислота	
Кардиолипин (дифосфатидилглицерол)	
*Сфингомиелины относят как к фосфолипидам, так и сфинголипидам	

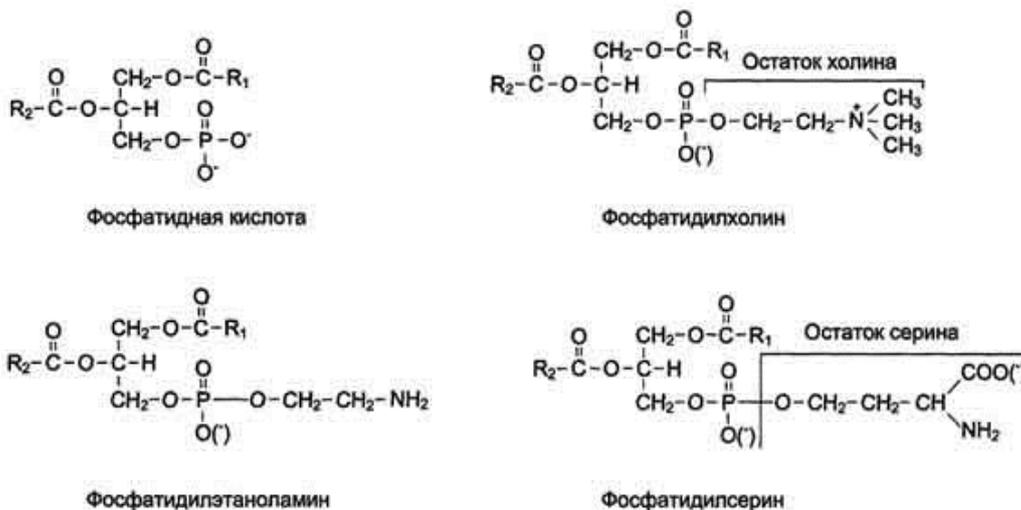


Рис. 92. Основные глицерофосфолипиды в организме человека

*Если в третьем положении имеется только фосфорная кислота, то глицерофосфолипид называется фосфатидной кислотой.* Её остаток называют "фосфатидил"; он входит в название остальных глицерофосфолипидов, после которого указывают название заместителя атома водорода в фосфорной кислоте, например фосфатидилэтаноламин, фосфатидилхолин и т.д.

Фосфатидная кислота в свободном состоянии в организме содержится в небольшом количестве, но является промежуточным продуктом на пути синтеза как триацилглицеролов, так и глицерофосфолипидов. У глицерофосфолипидов, как и у триацилглицеролов, во второй позиции находятся преимущественно полиеновые кислоты; в молекуле фосфатидилхолина, входящего в структуру мембран, это чаще всего арахидоновая кислота.

*Плазмалогены – фосфолипиды, у которых в первом положении глицерола находится не жирная кислота, а остаток спирта с длинной алифатической цепью, связанный простой эфирной связью.* Характерный признак плазмалогенов – двойная связь между первым и вторым атомами углерода в алкильной группе (рис. 93).

Плазмалогены бывают 3 видов: фосфатидальэтаноламины, фосфатидальхолины и фосфатидальсерины. Плазмалогены составляют до 10% фосфолипидов мембран нервной ткани; особенно много их в миелиновых оболочках нервных клеток.

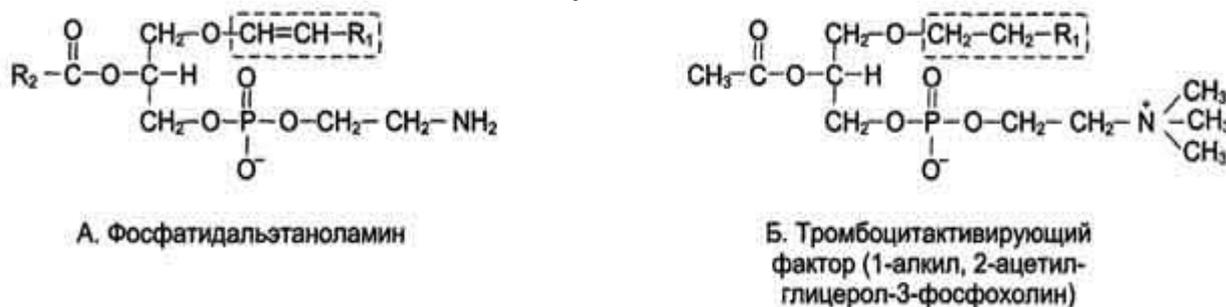


Рис. 93. Плазмалогены

Некоторые типы плазмалогенов вызывают очень сильные биологические эффекты, действуя как медиаторы. Например, Тромбоцитактивирующий фактор (ТАФ) стимулирует агрегацию тромбоцитов. ТАФ отличается от других плазмалогенов отсутствием двойной связи в алкильном радикале и наличием ацетильной группы во втором положении глицерола вместо жирной кислоты.

*Сфинголипиды.* Аминоспирт сфингозин, состоящий из 18 атомов углерода, содержит гидроксильные группы и аминогруппу. Образует большую группу липидов, в которых жирная кислота связана с ним через аминогруппу.

Продукт взаимодействия сфингозина и жирной кислоты называют "церамид" (рис.94).

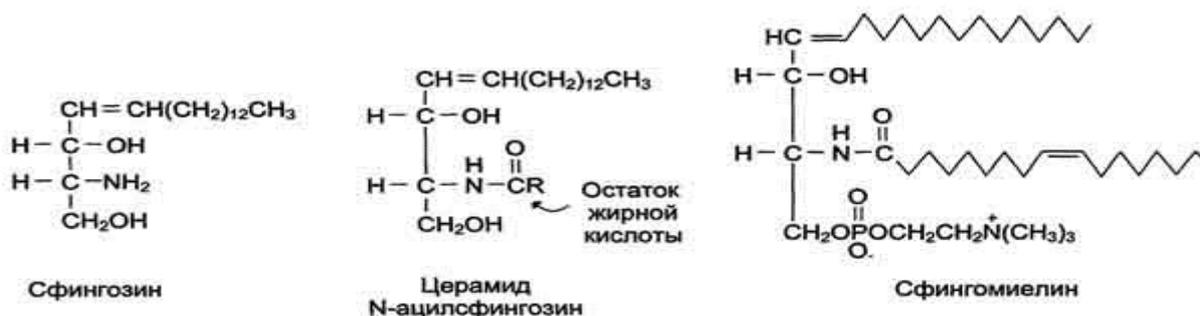


Рис. 94. Производные сфингозина: церамид и сфингомиелин

В церамидах жирные кислоты связаны необычной (амидной) связью, а гидроксильные группы способны взаимодействовать с другими радикалами. Церамиды отличаются радикалами жирных кислот, входящих в их состав. Обычно это жирные кислоты с большой длиной цепи – от 18 до 26 атомов углерода.

**Сфингомиелины** образуются в результате присоединения к ОН-группе церамида фосфорной кислоты, связанной с холином (рис. 113). Сфингомиелины – основные компоненты миелина и мембран клеток мозга и нервной ткани. Сфингомиелины, как и глицерофосфолипиды, имеют амфифильные свойства, обусловленные, с одной стороны, радикалом жирной кислоты и алифатической цепью самого сфингозина, а с другой – полярной областью фосфорилхолина.

**Гликолипиды.** Церамиды – основа большой группы липидов – гликолипидов. Водород в гидроксильной группе церамида может быть замещён на разные углеводные фрагменты, что определяет принадлежность гликолипида к определённому классу. Гликолипиды находятся в основном в мембранах клеток нервной ткани. Названия "цереброзиды" и "ганглиозиды" указывают на ткани, откуда они впервые были выделены.

**Цереброзиды.** Цереброзиды имеют в своём составе моносахариды. Наиболее распространены цереброзиды, имеющие в своём составе галактозу (галактоцереброзид), реже - глюкозу (глюкоцереброзид). Цереброзиды содержат необычные жирные кислоты, например, галактоцереброзид френозин содержит цереброновую кислоту – 2-гидроксикислоту, содержащую 24 атома углерода (рис. 95).

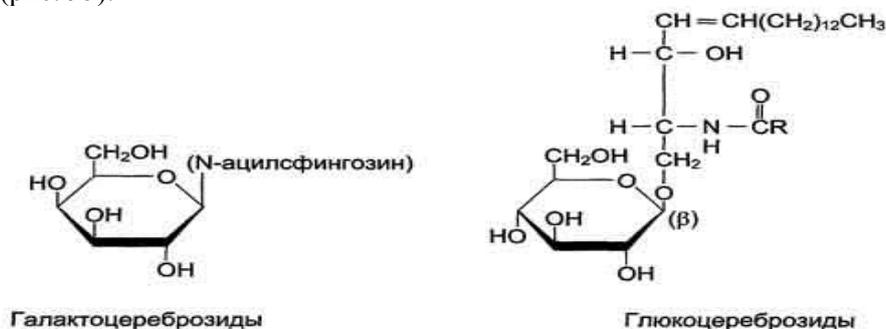


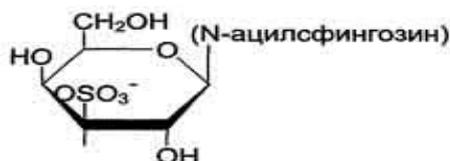
Рис. 95. Цереброзиды

**Глобозиды** отличаются от цереброзидов тем, что имеют в своём составе несколько углеводных остатков, связанных с церамидами:

**Церамид—глюкоза—галактоза—галактоза—N-ацетилгалактоза**

Цереброзиды и глобозиды относят к нейтральным сфинголипидам, так как они не содержат заряженных групп.

**Сульфатиды.** Гидроксил у третьего углеродного атома моносахарида, входящего в состав цереброзида, может связывать остаток серной кислоты, т.е. сульфатироваться. В этом случае образуются сульфатиды, обладающие свойствами кислот и поэтому называемые кислыми сфинголипидами.



При физиологических значениях pH сульфатированный углеводный остаток имеет отрицательный заряд. Около 25% цереброзидов мозга представляют собой сульфатированные производные. Сульфатиды в значительных количествах находят в белом веществе мозга.

**Ганглиозиды** являются наиболее сложными по составу липидами. Они содержат несколько углеводных остатков, среди которых присутствует N-ацетилнейраминавая кислота. Нейраминавая кислота представляет собой углевод, состоящий из 9 атомов углерода и входящий в группу сиаловых кислот.

Строение ганглиозида  $G_{m2}$  может быть представлено следующей схемой:

**Церамид—глюкоза—галактоза—N-ацетилгалактозамин**

**N-ацетилнейраминавая кислота**

Ганглиозиды обозначают буквой G, например  $G_{m2}$ . Нижний индекс в виде букв M, D, T и Q означает, что молекула ганглиозида содержит 1, 2, 3 или 4 остатка сиаловых кислот. Цифра у нижнего индекса обозначает специфическую последовательность углеводов в ганглиозиде (рис. 97).

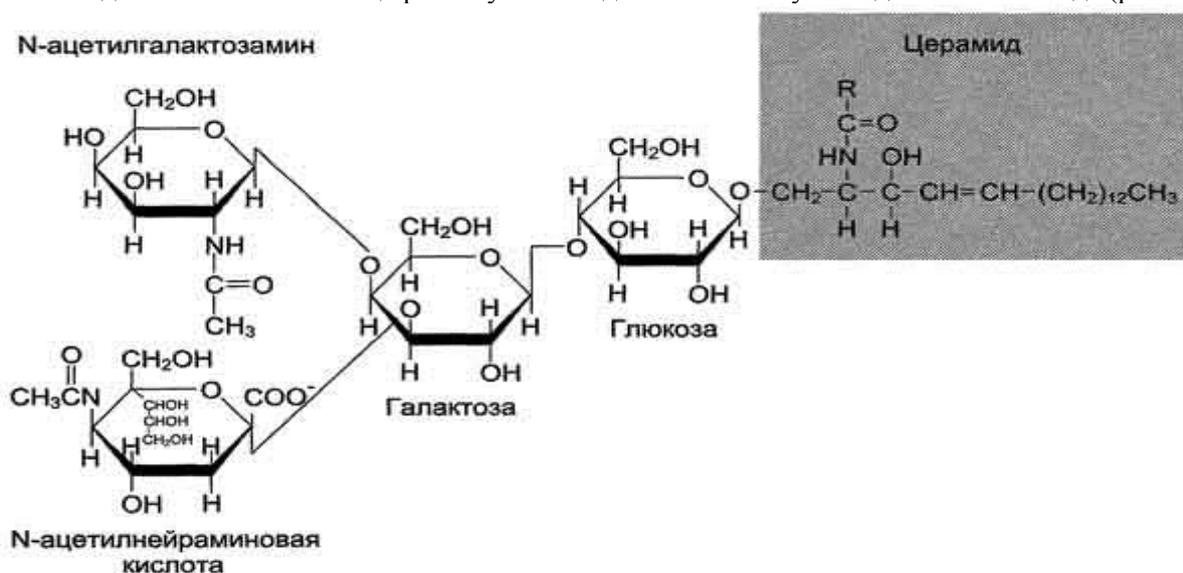


Рис. 97. Ганглиозид  $G_{m2}$

Ганглиозиды содержатся в основном в ганглиозных клетках нервной ткани и в плазматических мембранах многих клеток – эритроцитов, гепатоцитов, клеток селезёнки и других органов. Главная роль ганглиозидов определяется их участием в осуществлении межклеточных контактов. Некоторые ганглиозиды служат своеобразными рецепторами для ряда бактериальных токсинов.

**Стероиды это производные восстановленных конденсированных циклических систем – циклопентанпергидрофенантронов.**

Основной стероид в организме человека – холестерол, остальные стероиды – его производные. Растения, грибы и дрожжи не синтезируют холестерол, но образуют разнообразные фитостеролы и микостеролы, не усваиваемые организмом человека. Бактерии не способны синтезировать стероиды.

Холестерол входит в состав мембран и влияет на структуру бислоя, увеличивая её жёсткость. Из холестерола синтезируются жёлчные кислоты, стероидные гормоны и витамин  $D_3$ . Нарушение обмена холестерола приводит к развитию атеросклероза.

**Холестерол** представляет собой молекулу, содержащую 4 конденсированных кольца, обозначаемые латинскими буквами A, B, C, D, разветвлённую боковую цепь из 8 углеродных атомов в положении 17, 2 "ангулярные" метальные группы (18 и 19) и гидроксильную группу в положении 3.

Наличие гидроксильной группы позволяет относить холестерол к спиртам, поэтому его правильное химическое название "холестерол", однако в медицинской литературе часто используют термин "холестерин". Присоединение жирных кислот сложноэфирной связью к гидроксильной группе приводит к образованию эфиров холестерола (рис. 98).

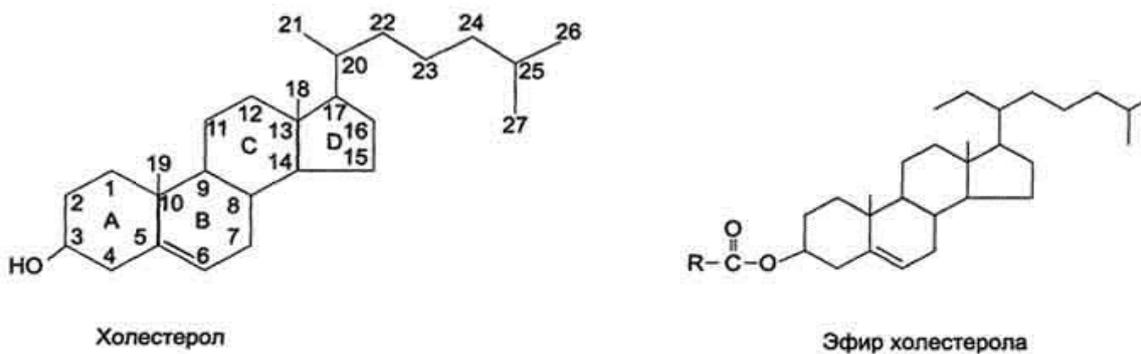


Рис. 98. Холестерол и его эфиры

В незтерифицированной форме холестерол входит в состав мембран различных клеток. Гидроксильная группа холестерола обращена к водному слою, а жёсткая гидрофобная часть молекулы погружена во внутренний гидрофобный слой мембраны.

В крови 2/3 холестерола находится в этерифицированной форме и 1/3 – в виде свободного холестерола. Эфиры холестерола служат формой его депонирования в некоторых клетках (например, печени, коры надпочечников, половых желёз). Из этих депо холестерол используется для синтеза жёлчных кислот и стероидных гормонов.

**Жёлчные кислоты** обладают поверхностно-активными свойствами и участвуют в переваривании жиров, эмульгируя их и делая доступными для действия панкреатической липазы. Жёлчные кислоты это производные холестерола с пятиуглеродной боковой цепью в положении 17, которая заканчивается карбоксильной группой. В организме человека синтезируются две жёлчные кислоты: холевая, которая содержит три гидроксильные группы в положениях 3, 7, 12 (рис. 99), и хенодезоксиколевая, содержащая две гидроксильные группы в положениях 3 и 7.

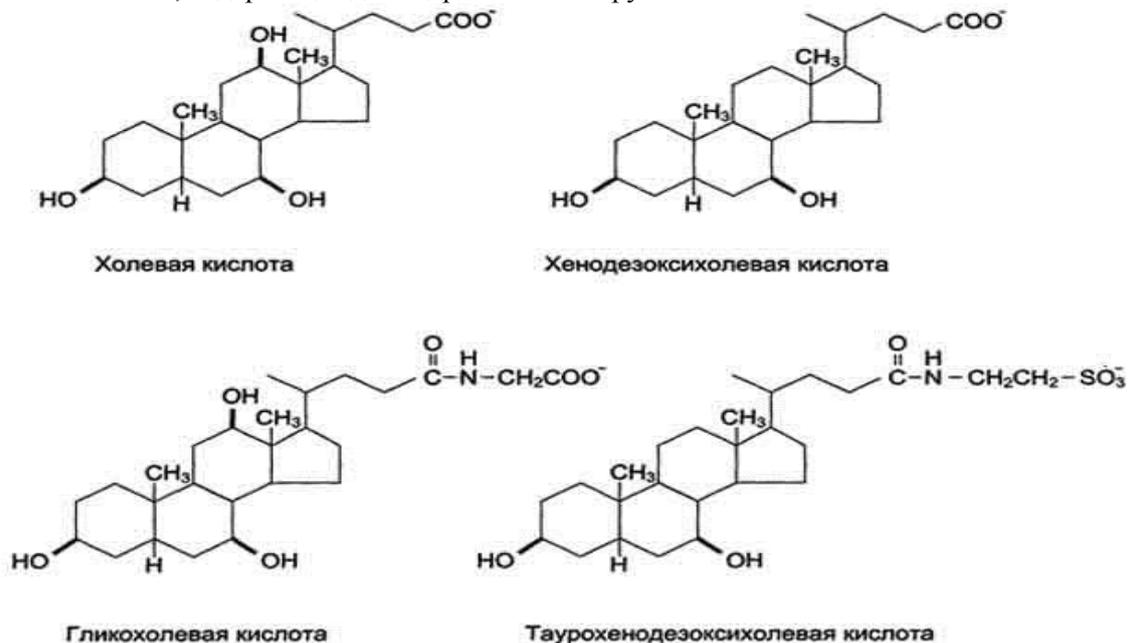


Рис. 99. Жёлчные кислоты

Так как карбоксильные группы этих жёлчных кислот имеют  $pK \sim 6$ , они не полностью диссоциированы при физиологических значениях pH в кишечнике и не являются эффективными эмульгаторами. В печени эмульгирующие свойства жёлчных кислот увеличиваются за счёт реакции конъюгации, в которой к карбоксильной группе жёлчных кислот присоединяются таурин или глицин, полностью ионизированные при pH кишечного сока.

## 6.2. Катаболизм липидов

С пищей в организм ежедневно поступает от 80 до 150 г липидов. Основную массу составляют жиры, наряду с глюкозой служащие главными источниками энергии. Хотя калорийность жиров значительно выше, чем углеводов (9 по сравнению с 4,7 ккал/моль), при рациональном питании жиры обеспечивают не более 30% от общего количества калорий, поступающих с пищей.

Масла содержат в своём составе полиеновые жирные кислоты, которые не синтезируются в организме; поэтому жидкие жиры должны составлять не менее одной трети жиров пищи. С липидами в организм поступают и жирорастворимые витамины А, D, E, К. Переваривание липидов пищи происходит в кишечнике. Основные продукты гидролиза (жирные кислоты и 2-моноацилглицеролы) после всасывания подвергаются ресинтезу и последующей упаковке в хиломикроны (ХМ) в клетках слизистой оболочки кишечника.

**Эмульгирование жиров.** Жиры составляют до 90% липидов, поступающих с пищей. Переваривание жиров происходит в тонком кишечнике, однако, уже в желудке небольшая часть жиров гидролизуется под действием "липазы языка". Этот фермент синтезируется железами на дорсальной поверхности языка и относительно устойчив при кислых значениях pH желудочного сока. Поэтому он действует в течение 1-2 ч на жиры пищи в желудке.

Основной процесс переваривания происходит в тонкой кишке. Так как жиры – нерастворимые в воде соединения, то они могут подвергаться действию ферментов, растворённых в воде только на границе раздела фаз вода/жир. Поэтому действию панкреатической липазы, гидролизующей жиры, предшествует эмульгирование жиров. Эмульгирование (смешивание жира с водой) происходит в тонком кишечнике под действием солей жёлчных кислот (рис. 100).

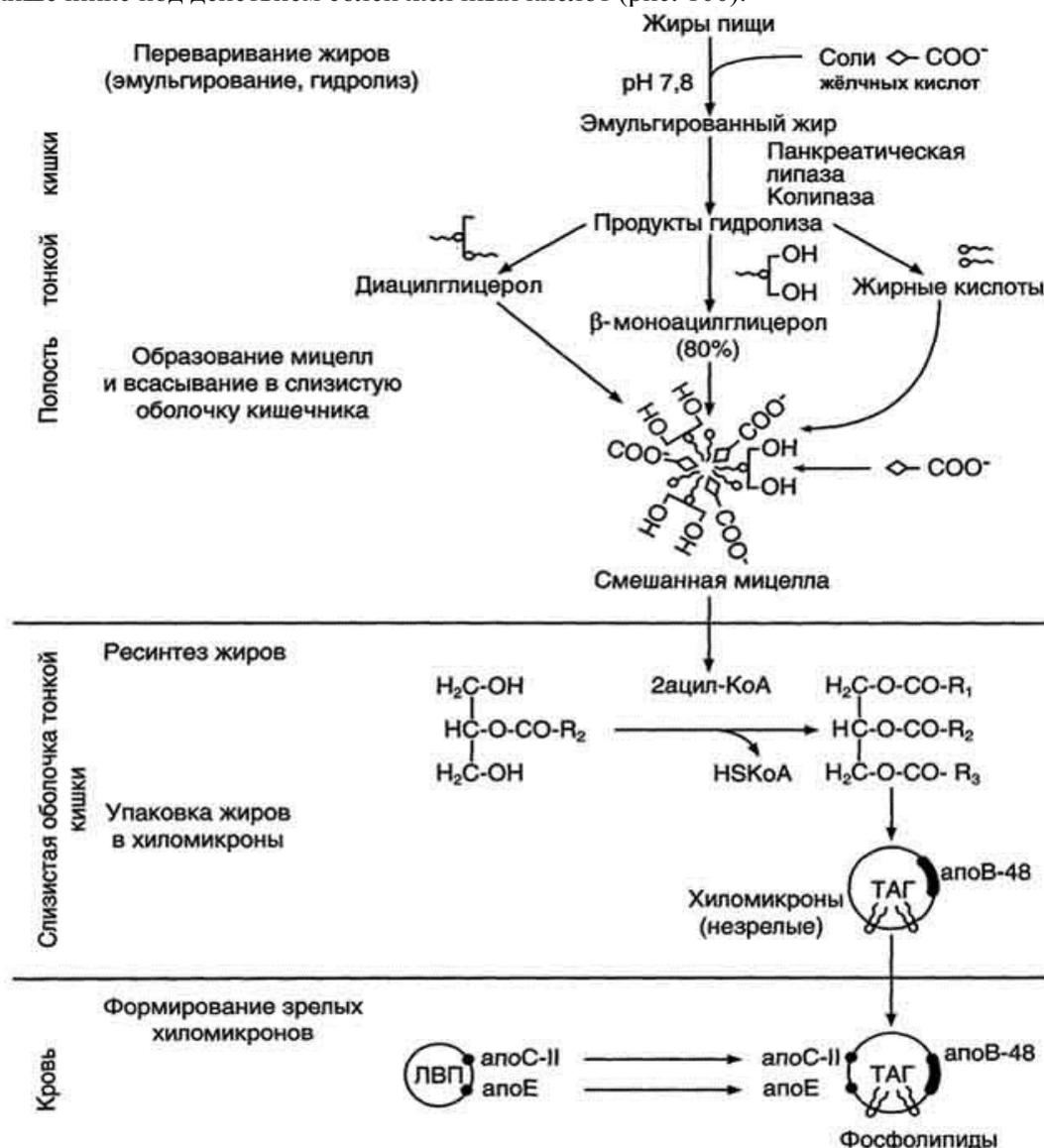
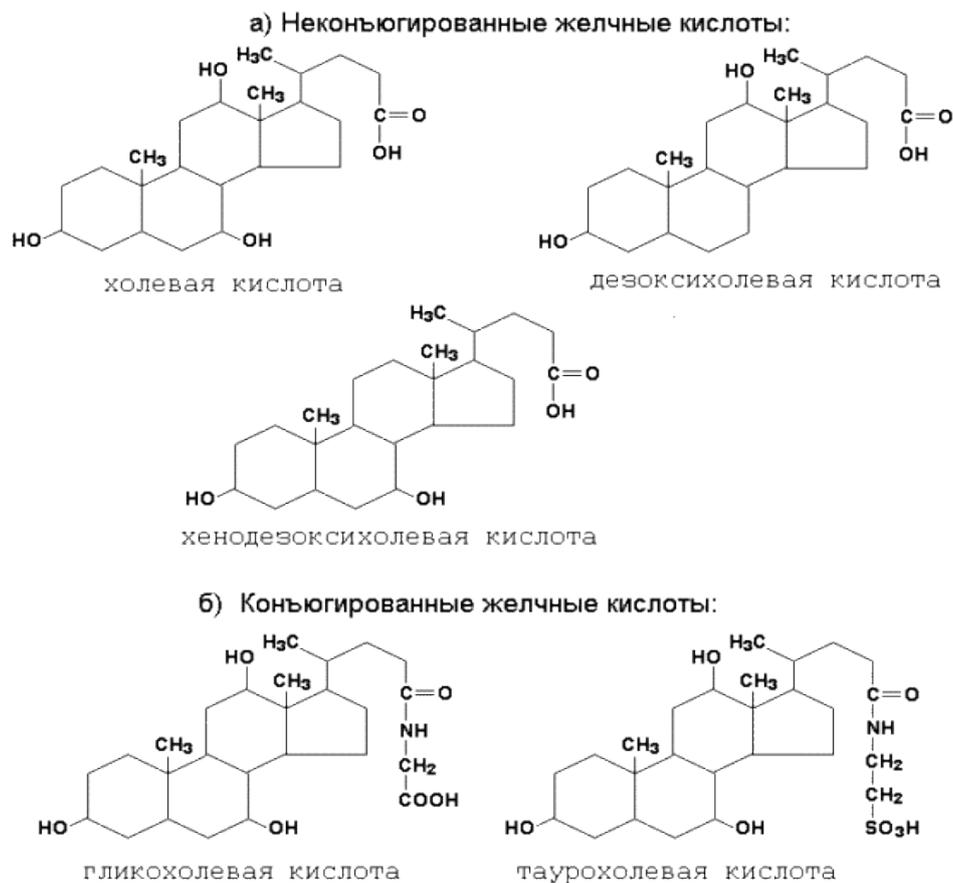


Рис. 100. Этапы поступления экзогенных жиров в организм

Жёлчные кислоты синтезируются в печени из холестерина и секретируются в жёлчный пузырь. Содержимое жёлчного пузыря – жёлчь. Это вязкая жёлто-зелёная жидкость, содержащая главным образом жёлчные кислоты; в небольшом количестве имеются фосфолипиды и холестерол.

Жёлчные кислоты представляют собой в основном конъюгированные жёлчные кислоты, т.е. в виде соединений с глицином или таурином:



Желчные кислоты обладают **амфифильными** свойствами: гидроксильные группы и боковая цепь гидрофильны, циклическая структура гидрофобна. Эти свойства обуславливают участие желчных кислот в переваривании липидов:

1) желчные кислоты способны **эмульгировать** жиры, их молекулы своей неполярной частью адсорбируются на поверхности жировых капель, в то же время гидрофильные группы вступают во взаимодействие с окружающей водной средой. В результате снижается поверхностное натяжение на границе раздела липидной и водной фаз, вследствие чего крупные жировые капли разбиваются на более мелкие;

2) желчные кислоты наряду с колипазой желчи участвуют в **активировании панкреатической липазы**, сдвигая её оптимум рН в кислую сторону;

3) желчные кислоты образуют с гидрофобными продуктами переваривания жиров водорастворимые комплексы, что способствует их **всасыванию** в стенку тонкого кишечника.

После приёма жирной пищи жёлчный пузырь сокращается и жёлчь изливается в просвет двенадцатиперстной кишки. Жёлчные кислоты действуют как детергенты, располагаясь на поверхности капель жира и снижая поверхностное натяжение. В результате крупные капли жира распадаются на множество мелких. Эмульгирование приводит к увеличению площади поверхности раздела фаз жир/вода, что ускоряет гидролиз жира панкреатической липазой. Эмульгированию способствует и перистальтика кишечника.

**Гормоны, активирующие переваривание жиров.** При поступлении пищи в желудок, а затем в кишечник клетки слизистой оболочки тонкого кишечника начинают секретировать в кровь пептидный гормон **холецистокинин** (панкреозимин). Этот гормон действует на жёлчный пузырь, стимулируя его сокращение, и стимулируя секрецию пищеварительных ферментов, в том числе панкреатической липазы.

Другие клетки слизистой оболочки тонкого кишечника в ответ на поступление из желудка кислого содержимого выделяют гормон секретин. **Секретин** – гормон пептидной природы, стимулирующий секрецию бикарбоната ( $\text{HCO}_3^-$ ) в сок поджелудочной железы.

**Переваривание жиров панкреатической липазой.** Переваривание жиров происходит при гидролизе жиров панкреатической липазой. Оптимальное значение  $\text{pH} \approx 8$  для панкреатической липазы достигается путём нейтрализации кислого содержимого, поступающего из желудка, бикарбонатом, выделяющимся в составе сока поджелудочной железы:



Выделяющийся углекислый газ способствует дополнительному перемешиванию содержимого тонкой кишки.

Панкреатическая липаза выделяется в полость тонкой кишки из поджелудочной железы вместе с белком колипазой (рис. 101).

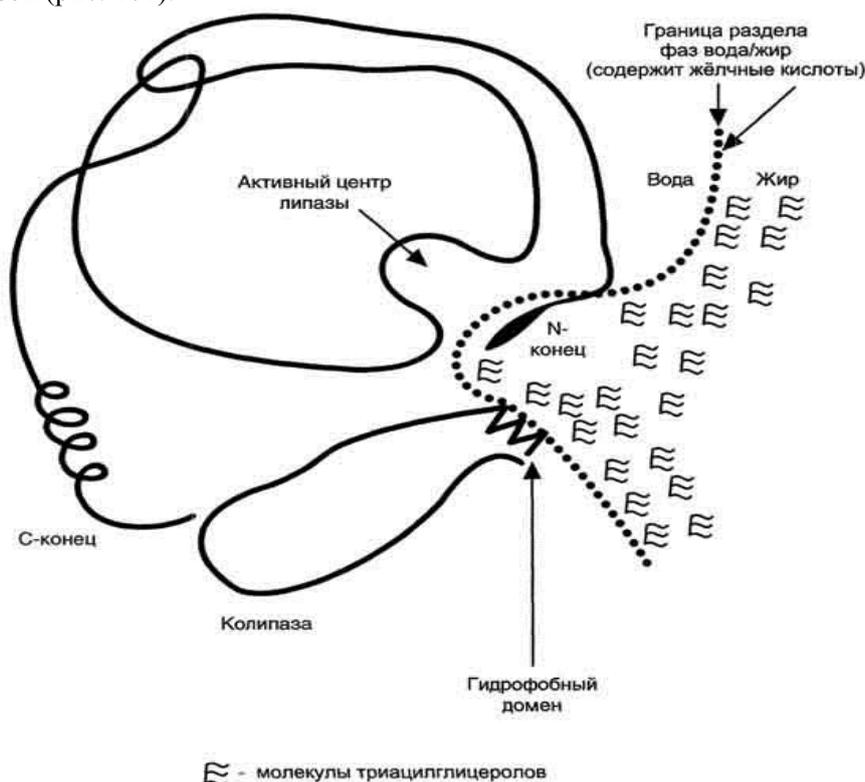
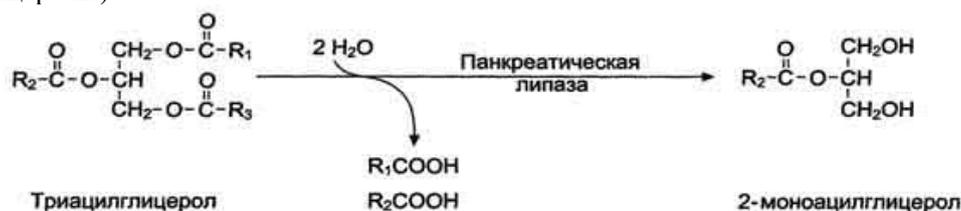


Рис. 101. Расположение панкреатической липазы и колипазы на границе раздела фаз вода/жир

Колипаза попадает в полость кишечника в неактивном виде и частичным протеолизом под действием трипсина превращается в активную форму. Колипаза своим гидрофобным доменом связывается с поверхностью мицеллы эмульгированного жира. Другая часть молекулы способствует формированию такой конформации панкреатической липазы, при которой активный центр фермента максимально приближен к своим субстратам – молекулам жиров (рис. 101), поэтому скорость реакции гидролиза жира резко возрастает.

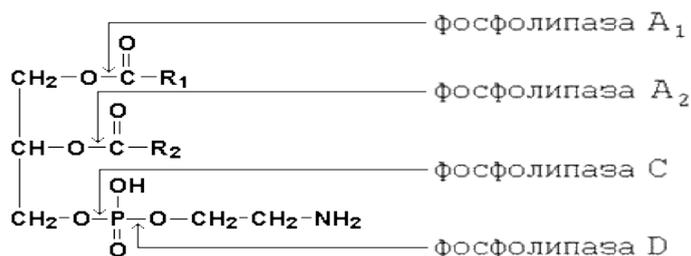
Панкреатическая липаза гидролизует жиры преимущественно в положениях 1 и 3, поэтому основными продуктами гидролиза являются свободные жирные кислоты и 2-моноацилглицеролы ( $\beta$ -моноацилглицеролы):



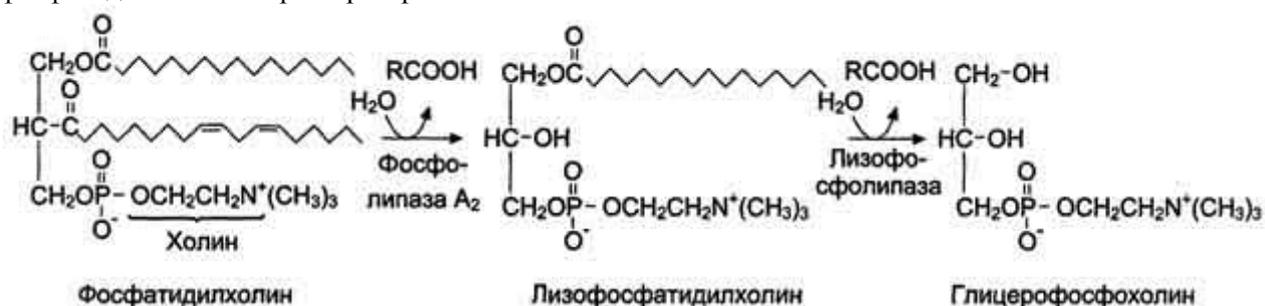
Молекулы 2-моноацилглицеролов также обладают детергентными свойствами и способствуют эмульгированию жира.

**Переваривание других липидов.** Кроме жиров, с пищей поступают фосфолипиды, эфиры холестерина, однако количество этих липидов в составе пищи значительно меньше, чем жиров ( $\approx 10\%$ ).

**Переваривание глицерофосфолипидов.** В переваривании глицерофосфолипидов участвуют несколько ферментов, синтезирующихся в поджелудочной железе. Специфичность действия фосфолипаз:



Фосфолипаза A<sub>2</sub> гидролизует сложноэфирную связь у второго атома углерода глицерола, превращая глицерофосфолипиды в соответствующие лизофосфолипиды. Например, гидролиз фосфатидилхолинов при переваривании:



Фосфолипаза A<sub>2</sub> секретируется в кишечник в виде профермента и активируется уже в полости кишечника путём частичного протеолиза. Жирная кислота в положении 1 отщепляется под действием лизофосфолипазы, а глицерофосфохолин гидролизруется далее до глицерола, холина и фосфорной кислоты, которые всасываются. Лизофосфолипиды – эффективные эмульгаторы жира, ускоряющие его переваривание.

**Переваривание эфиров холестерина.** В составе пищи холестерол находится в основном в виде эфиров. Гидролиз эфиров холестерина происходит под действием холестеролэстеразы – фермента, который также синтезируется в поджелудочной железе и секретируется в кишечник:



Продукты гидролиза (холестерол и жирные кислоты) всасываются в составе смешанных мицелл.

**Всасывание продуктов гидролиза липидов в тонком кишечнике** происходит в три этапа:

- образование смешанных мицелл и всасывание продуктов гидролиза;
- ресинтез жиров в слизистой оболочке тонкого кишечника;
- образование эфиров холестерола.

**Образование смешанных мицелл и всасывание продуктов гидролиза.** Продукты гидролиза липидов: жирные кислоты с длинным углеводородным радикалом, 2-моноацилглицеролы, холестерол, а также соли жёлчных кислот образуют в просвете кишечника структуры, называемые **смешанными мицеллами**.

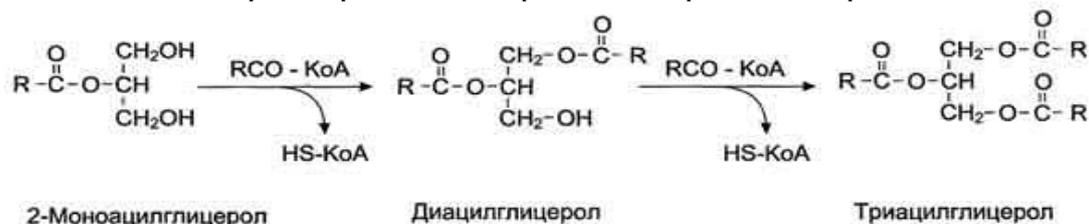
Смешанные мицеллы построены таким образом, что гидрофобные части молекул обращены внутрь мицеллы, а гидрофильные – наружу, поэтому мицеллы хорошо растворяются в водной фазе содержимого тонкой кишки. Стабильность мицелл обеспечивается в основном солями жёлчных кислот. Мицеллы сближаются со щёточной каймой клеток слизистой оболочки тонкого кишечника, и липидные компоненты мицелл диффундируют через мембраны внутрь клеток. Вместе с продуктами

гидролиза липидов всасываются жирорастворимые витамины А, D, E, K и соли жёлчных кислот. Наиболее активно соли жёлчных кислот всасываются в подвздошной кишке.

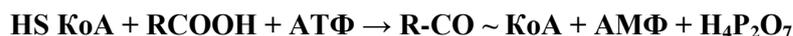
Жёлчные кислоты далее попадают через воротную вену в печень, из печени вновь секретируются в жёлчный пузырь и далее опять участвуют в эмульгировании жиров. Этот путь жёлчных кислот называют "*энтерогепатическая циркуляция*". Каждая молекула жёлчных кислот за сутки проходит 5-8 циклов, и около 5% жёлчных кислот выделяется с фекалиями.

Всасывание жирных кислот со средней длиной цепи, образующихся, например, при переваривании липидов молока, происходит без участия смешанных мицелл. Эти жирные кислоты из клеток слизистой оболочки тонкого кишечника попадают в кровь, связываются с белком альбумином и транспортируются в печень.

**Ресинтез жиров в слизистой оболочке тонкого кишечника.** После всасывания продуктов гидролиза жиров жирные кислоты и 2-моноацилглицеролы в клетках слизистой оболочки тонкого кишечника включаются в процесс ресинтеза с образованием триацилглицеролов:



Жирные кислоты вступают в реакцию этерификации только в активной форме в виде производных коэнзима А, поэтому первая стадия ресинтеза жиров – реакция активации жирной кислоты:



Реакция катализируется ферментом ацил-КоА-синтетазой (тиокиназой). Затем ацил~КоА участвует в реакции этерификации 2-моноацилглицерола с образованием сначала диацилглицерола, а затем триацилглицерола. Реакции ресинтеза жиров катализируют ацилтрансферазы.

В реакциях ресинтеза жиров участвуют жирные кислоты с длинной углеводородной цепью. Также участвуют не только жирные кислоты, всосавшиеся из кишечника, но и жирные кислоты, синтезированные в организме, поэтому по составу ресинтезированные жиры отличаются от жиров, полученных с пищей.

Однако возможности "адаптировать" в процессе ресинтеза состав пищевых жиров к составу жиров организма человека ограничены, поэтому при поступлении с пищей жиров с необычными жирными кислотами, например бараньего жира, в адипоцитах появляются жиры, содержащие кислоты, характерные для бараньего жира (насыщенные разветвлённые жирные кислоты).

**Образование эфиров холестерина.** В клетках слизистой оболочки тонкой кишки всосавшиеся молекулы холестерина также превращаются в эфиры путём взаимодействия с ацил-КоА. Эту реакцию катализирует ацилхолестеролацилтрансфераза (АХАТ). От активности этого фермента зависит скорость поступления экзогенного холестерина в организм.

В клетках эпителия тонкой кишки из жиров, образовавшихся в результате ресинтеза, а также из эфиров холестерина, жирорастворимых витаминов, поступивших с пищей, формируются липопротеиновые комплексы – хиломикроны, которые далее доставляют жиры в периферические ткани.

**Нарушения переваривания и всасывания жиров** может быть следствием нескольких причин:

– нарушение секреции жёлчи из жёлчного пузыря при механическом препятствии оттоку жёлчи. Это состояние может быть результатом сужения просвета жёлчного протока камнями, образующимися в жёлчном пузыре, или сдавлением жёлчного протока опухолью, развивающейся в окружающих тканях.

- нарушение секреции сока поджелудочной железы и недостаточная секреция панкреатической липазы также приводят к снижению скорости гидролиза жиров.

В обоих случаях нарушение переваривания и всасывания жиров приводит к уменьшению секреции жёлчи, снижению способности панкреатической липазы гидролизовать жиры, а также к увеличению количества жиров в фекалиях – возникает **стеаторея** (жирный стул). В норме содержание жиров в фекалиях составляет не более 5%.

При стеаторее нарушается всасывание жирорастворимых витаминов (А, D, E, K) и незаменимых жирных кислот, поэтому при длительно текущей стеаторее развивается

недостаточность этих незаменимых факторов питания с соответствующими клиническими симптомами.

### 6.3. Анаболизм триацилглицеролов

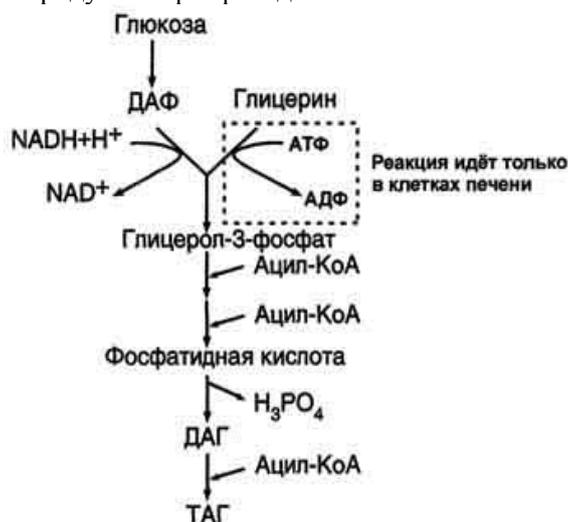
Жиры – наиболее выгодная и основная форма депонирования энергии. Запасы гликогена в организме не превышают 300 г и обеспечивают организм энергией не более суток. Депонированный жир может обеспечивать организм энергией при голодании в течение длительного времени (до 7-8 недель). Синтез жиров активируется в абсорбтивный период и происходит в основном в жировой ткани и печени. Жировая ткань является местом депонирования жира. Печень выполняет важную роль превращения части углеводов пищи в жиры, которые затем секретируются в кровь в составе ЛПОНП и доставляются в другие ткани (в первую очередь, в жировую).

Синтез жиров в печени и жировой ткани стимулируется инсулином. Мобилизация жира активируется в тех случаях, когда глюкозы недостаточно для обеспечения энергетических потребностей организма: в постабсорбтивный период, при голодании и физической работе под действием гормонов глюкагона, адреналина, соматотропина. Жирные кислоты поступают в кровь и используются тканями как источники энергии.

**Синтез жиров в жировой ткани и печени.** Синтез жиров происходит в абсорбтивный период в печени и жировой ткани. Биосинтез триацилглицеролов и глицерофосфолипидов происходит в цитоплазме клеток. Непосредственными субстратами в синтезе жиров являются ацетил-КоА и глицерол-3-фосфат.

Метаболический путь синтеза жиров в печени и жировой ткани одинаков, за исключением разных путей образования глицерол-3-фосфата.

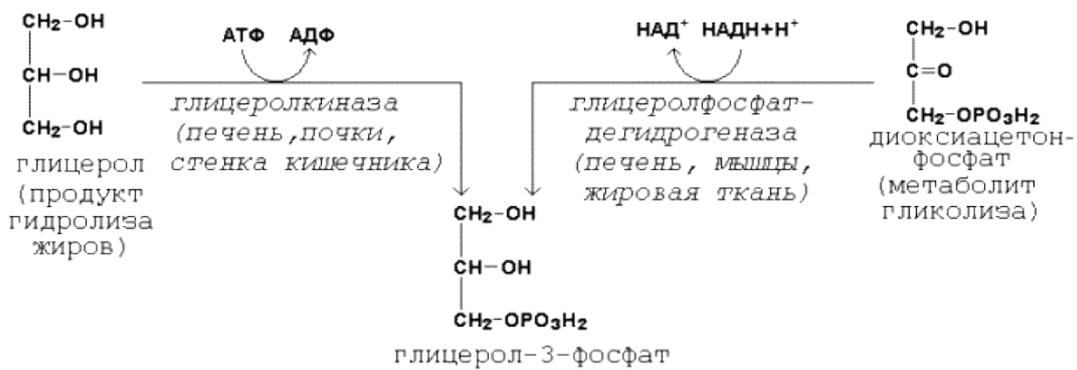
**Образование глицерол-3-фосфата.** Синтез жиров в печени и жировой ткани идёт через образование промежуточного продукта – фосфатидной кислоты:



Предшественник фосфатидной кислоты – глицерол-3-фосфат, образующийся в печени двумя путями:

- восстановлением дигидроксиацетонфосфата – промежуточного метаболита гликолиза;
- фосфорилированием глицеролкиназой свободного глицерола, поступающего в печень из крови (продукт действия ЛП-липазы на жиры хиломикрон (ХМ) и ЛПОНП).

Образование глицерол-3-фосфат двумя путями:



Первая реакция ацилирования глицерол-3-фосфата осуществляется за счёт КоА-производной насыщенной жирной кислоты, например, пальмитиновой. Образуется сложноэфирная связь в 1-м положении (рис. 102, реакция 1).

Вторая реакция ацилирования идёт, за счёт КоА-тиоэфира ненасыщенной жирной кислоты, например, олеиновой (рисунок 102, реакция 2).

В процессе синтеза триацилглицеролов происходит дефосфорилирование фосфатидной кислоты при помощи фосфатацетилтрансферазы (рисунок 115, реакция 3).

В дальнейшем 1,2-диацилглицерол ацилируется третьей молекулой ацил-КоА, которая может содержать остаток как ненасыщенной, так и насыщенной жирной кислоты (рисунок 102, реакция 4).

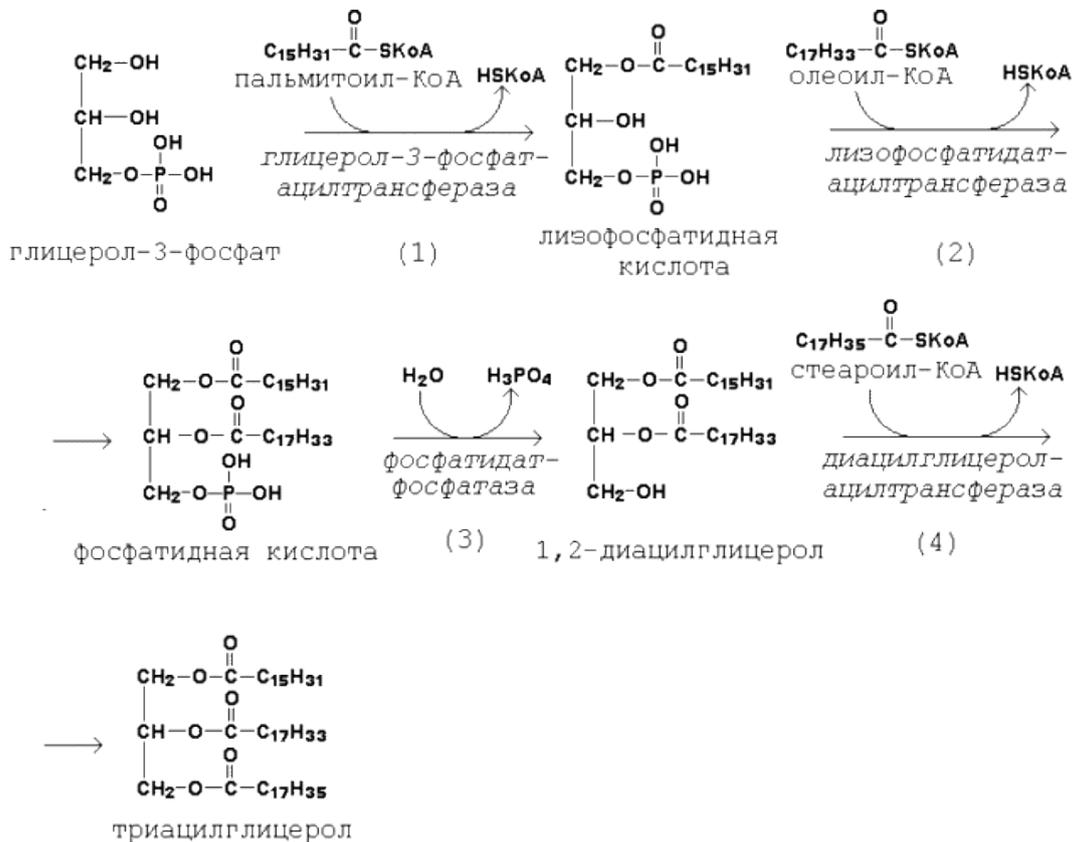


Рис. 102. Реакции биосинтеза триацилглицеролов

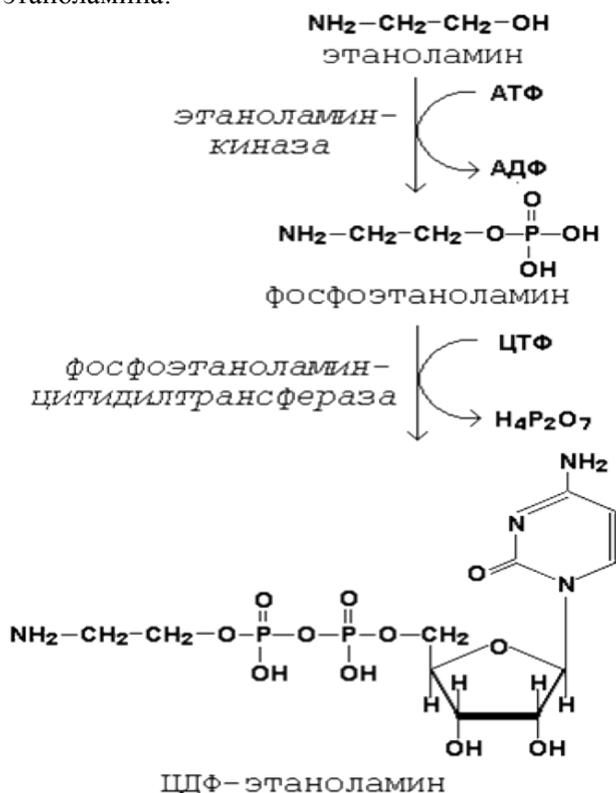
В организме здорового человека процессы биосинтеза и катаболизма триацилглицеролов взаимно уравновешены.

В жировой ткани глицеролкиназа отсутствует, и восстановление дигидроксиацетонфосфата – единственный путь образования глицерол-3-фосфата. Следовательно, синтез жиров в жировой ткани может происходить только в абсорбтивный период, когда глюкоза поступает в адипоциты с помощью белка-переносчика глюкозы ГЛЮТ-4, активного только в присутствии инсулина, и распадается по пути гликолиза.

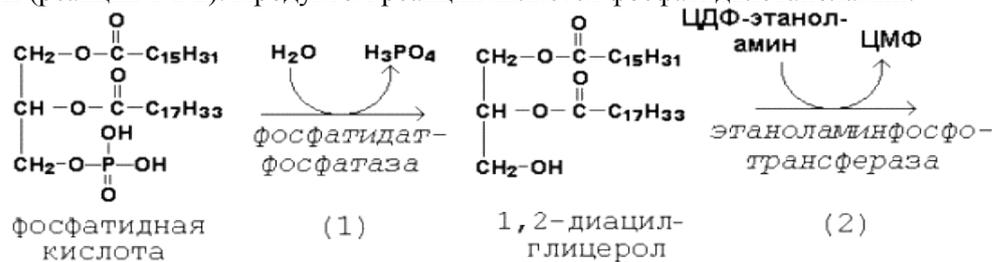
**Синтез глицерофосфолипидов.** Глицерофосфолипиды являются производными фосфатидной кислоты и одного из аминоспиртов (например, этаноламина, холина или серина).

Подобно другим предшественникам в биосинтезе липидов, аминоспирты, участвующие в синтезе фосфолипидов, вступают в реакцию в активной форме – в виде соединения с цитидиндифосфатом (ЦДФ).

Реакции активации этаноламина:



Обратите внимание, что в реакциях активации аминоспиртов принимают участие два нуклеозидтрифосфата – АТФ и ЦТФ. Далее остаток фосфоэтанолamina с ЦДФ-этанолamina переносится на 1,2-диацилглицерол, образующийся в результате дефосфорилирования фосфатидной кислоты (реакции 1 и 2). Продуктом реакции является фосфатидилэтаноламин.



Синтез фосфатидилхолина происходит путём трёхкратного метилирования фосфатидилэтанолamina. Донором метильных групп служит S-аденозилметионин (реакция 3). Фосфатидилхолин может образоваться также путём активации холина, подобно этаноламину.

Фосфатидилсерин образуется в реакции прямого взаимодействия фосфатидилэтанолamina и серина:



**Липотропные факторы** – вещества, способствующие синтезу фосфолипидов и препятствующие отложению триацилглицеролов в тканях.

**Липотропный эффект** этих соединений связан с тем, что общим предшественником триацилглицеролов и фосфолипидов является фосфатидная кислота. При недостатке липотропных факторов фосфатидная кислота используется преимущественно для синтеза триацилглицеролов. Они нерастворимы в воде и накапливаются в клетках, способствуя их жировому перерождению.

**Синтез жиров в жировой ткани.** В жировой ткани для синтеза жиров используются в основном жирные кислоты, освобожденные при гидролизе жиров ХМ и ЛПОНП (рис. 103).

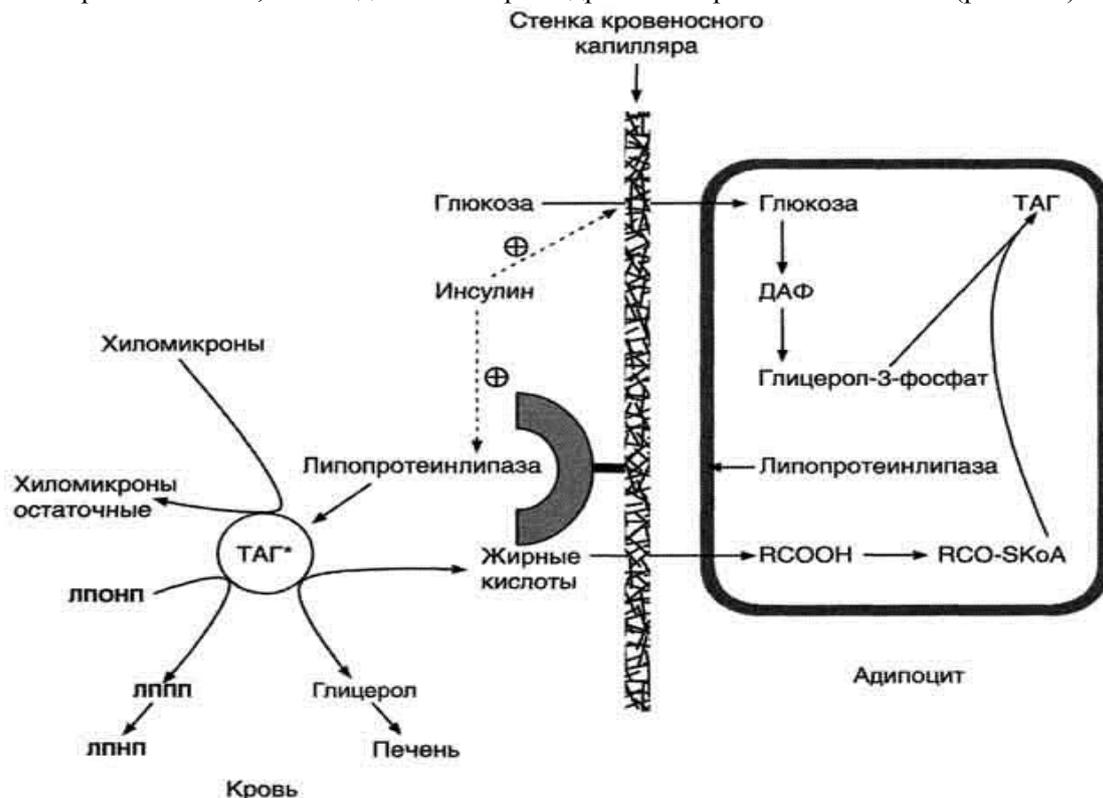


Рис. 103. Депонирование жира в адипоцитах в абсорбтивном периоде  
 ТАГ – триацилглицеролы в составе ХМ и ЛПОНП;  
 ДАФ – дигидроксиацетонфосфат.

Жирные кислоты поступают в адипоциты, превращаются в производные КоА и взаимодействуют с глицерол-3-фосфатом, образуя сначала лизофосфатидную кислоту, а затем фосфатидную. Фосфатидная кислота после дефосфорилирования превращается в диацилглицерол, который ацилируется с образованием триацилглицерола. Кроме жирных кислот, поступающих в адипоциты из крови, в этих клетках идёт и синтез жирных кислот из продуктов распада глюкозы. В адипоцитах для обеспечения реакций синтеза жира распад глюкозы идёт по двум путям: гликолиз, обеспечивающий образование глицерол-3-фосфата и ацетил-КоА, и пентозофосфатный путь, окислительные реакции которого обеспечивают образование NADPH, служащего донором водорода в реакциях синтеза жирных кислот.

Молекулы жиров в адипоцитах объединяются в крупные жировые капли, не содержащие воды, и поэтому являются наиболее компактной формой хранения топливных молекул. Подсчитано, что, если бы энергия, запасаемая в жирах, хранилась в форме сильно гидратированных молекул гликогена, то масса тела человека увеличилась бы на 14-15 кг.

**Синтез ТАГ в печени. Образование ЛПОНП в печени и транспорт жиров в другие ткани.** Печень – основной орган, где идёт синтез жирных кислот из продуктов гликолиза. В гладком эндоплазматическом ретикулуме (ЭР) гепатоцитов жирные кислоты активируются и сразу же используются для синтеза жиров, взаимодействуя с глицерол-3-фосфатом. Как и в жировой ткани, синтез жиров идёт через образование фосфатидной кислоты.

Белки, синтезированные в шероховатом ЭР (1), в аппарате Гольджи (2), формируют комплекс с ТАГ, называемый ЛПОНП, который комплектуется в секреторных гранулах (3), транспортируются к клеточной мембране и секретируются в кровь (рис. 104).

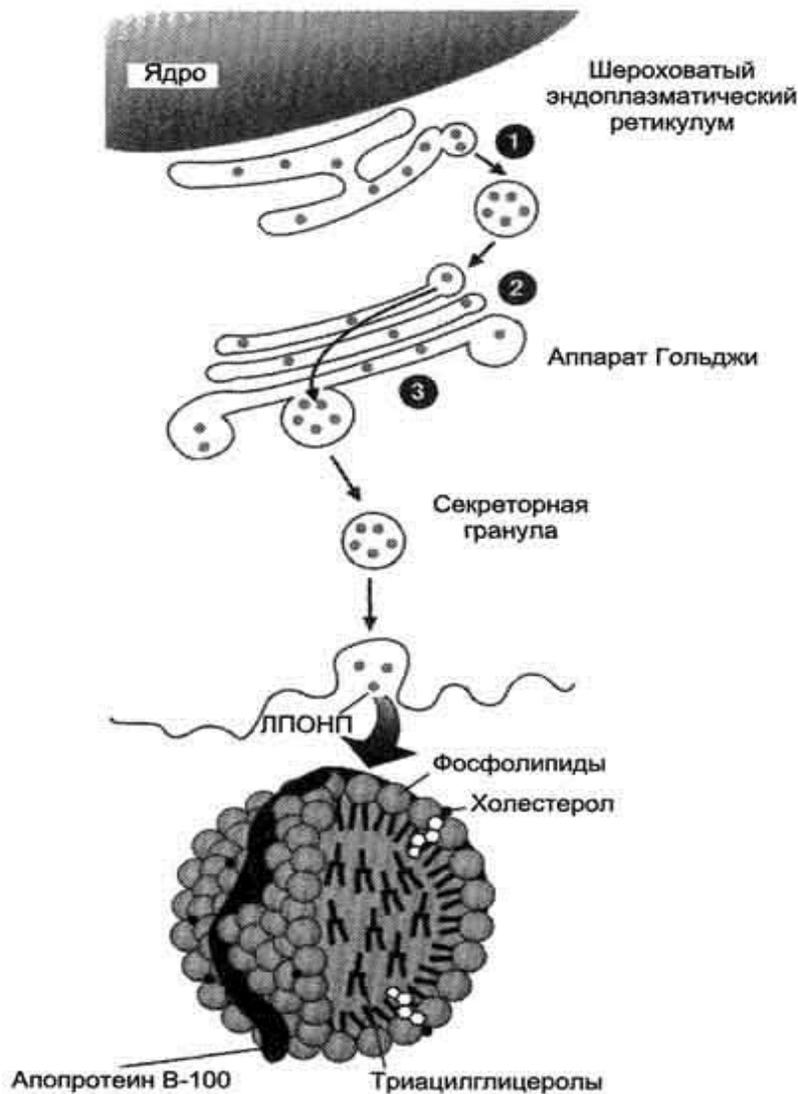


Рис. 104. Синтез и секреция ЛПОНП в печени

В состав ЛПОНП, кроме жиров, входят холестерол, фосфолипиды и белок – *apoB-100*. Это очень "длинный" белок, содержащий 11536 аминокислот. Одна молекула apoB-100 покрывает поверхность всего липопротеина.

ЛПОНП из печени секретируются в кровь (рис. 104), где на них, как и на ХМ, действует ЛП-липаза. Жирные кислоты поступают в ткани, в частности в адипоциты, и используются для синтеза жиров. В процессе удаления жиров из ЛПОНП под действием ЛП-липазы ЛПОНП сначала превращаются в ЛГШП, а затем в ЛПНП. В ЛПНП основными липидными компонентами служат холестерол и его эфиры, поэтому ЛПНП являются липопротеинами, доставляющими холестерол в периферические ткани. Глицерол, освободившийся из липопротеинов, кровью транспортируется в печень, где опять может использоваться для синтеза жиров.

Скорость синтеза жирных кислот и жиров в печени существенно зависит от состава пищи. Если в пище содержится более 10% жиров, то скорость синтеза жиров в печени резко снижается.

**Мобилизация жиров из жировой ткани**, т.е. гидролиз внутриклеточного жира осуществляется под действием фермента гормон чувствительной липазы – ТАГ-липазы. Этот фермент отщепляет одну жирную кислоту у первого углеродного атома глицерола с образованием диацилглицерола, а затем другие липазы гидролизуют его до глицерола и жирных кислот, которые поступают в кровь. Глицерол как водорастворимое вещество транспортируется кровью в свободном виде, а жирные кислоты (гидрофобные молекулы) в комплексе с белком плазмы – альбумином.

После еды при повышении концентрации глюкозы в крови увеличивается секреция инсулина. Инсулин активирует транспорт глюкозы внутрь адипоцитов, действуя на GLUT-4, и синтез ЛП-липазы в адипоцитах. ЛП-липаза, связанная с эндотелием сосудов, гидролизует жиры в составе ХМ и

ЛПОНП. АпоС-II на поверхности ХМ и ЛПОНП активирует ЛП-липазу. Жирные кислоты проникают в адипоцит, а глицерол транспортируется в печень. Так как в адипоцитах нет фермента глицеролкиназы, то свободный глицерол не может использоваться для синтеза ТАГ в этой ткани. Активированные жирные кислоты взаимодействуют с глицерол-3-фосфатом, образующимся из дигидроксиацетонфосфата, и через фосфатидную кислоту превращаются в ТАГ, которые депонируются в адипоцитах (место депонирования жиров).

**Гормональная регуляция синтеза и мобилизации жиров.** Какой процесс будет преобладать в организме – синтез жиров (липогенез) или их распад (липолиз), зависит от поступления пищи и физической активности. В абсорбтивном состоянии под действием инсулина происходит липогенез, в постабсорбтивном состоянии – липолиз, активируемый глюкагоном. Адреналин, секреция которого увеличивается при физической активности, также стимулирует липолиз.

**Регуляция синтеза жиров.** В абсорбтивный период при увеличении соотношения инсулин/глюкагон в печени активируется синтез жиров. В жировой ткани индуцируется синтез ЛП-липазы в адипоцитах и увеличивается поступление жирных кислот в адипоциты.

Одновременно инсулин активирует белки-переносчики глюкозы – ГЛЮТ-4, также поступление глюкозы в адипоциты и гликолиз. В результате образуются все необходимые компоненты для синтеза жиров: глицерол-3-фосфат и активные формы жирных кислот. В печени инсулин активирует ферменты путём дефосфорилирования и индуцирует их синтез. В результате увеличиваются активность и синтез ферментов, участвующих в превращении части глюкозы, поступающей с пищей, в жиры.

Это – регуляторные ферменты гликолиза, пируватдегидрогеназный комплекс и ферменты, участвующие в синтезе жирных кислот из ацетил-КоА. Результат действия инсулина на обмен углеводов и жиров в печени – увеличение синтеза жиров и секреция их в кровь в составе ЛПОНП. ЛПОНП доставляют жиры в капилляры жировой ткани, где действие ЛП-липазы обеспечивает быстрое поступление жирных кислот в адипоциты, где они депонируются в составе триацилглицеринов.

Запасание жиров в жировой ткани – основная форма депонирования источников энергии в организме человека (табл. 15). Запасы жиров в организме человека массой 70 кг составляют 10 кг, но у многих людей количество жиров может быть значительно больше.

Жиры образуют в адипоцитах жировые вакуоли. Жировые вакуоли иногда заполняют значительную часть цитоплазмы. Скорость синтеза и мобилизации подкожного жира происходит неравномерно в разных частях организма, что связано с неодинаковым распределением рецепторов гормонов на адипоцитах.

Таблица 15

Запасы энергии в организме человека (масса 70 кг)

Форма энергии	Локализация	Количество энергии, ккал
Глюкоза и жирные кислоты	Кровь	100
Гликоген	Печень/мышцы	760
Жиры	Жировая ткань	110 000
Белки	Скелетные мышцы	25 000

**Регуляция мобилизации жиров.** Мобилизация депонированных жиров стимулируется глюкагоном и адреналином и, в меньшей степени, некоторыми другими гормонами (соматотропным, кортизолом). В постабсорбтивный период и при голодании глюкагон, действуя на адипоциты через аденилатциклазную систему, активирует протеинкиназу А, которая фосфорилирует и, таким образом, активирует гормончувствительную липазу, что инициирует липолиз и выделение жирных кислот и глицерина в кровь.

При физической активности увеличивается секреция адреналина, который действует через  $\beta$ -адренергические рецепторы адипоцитов, активирующие аденилатциклазную систему. Вероятно, действие адреналина двояко: при низких концентрациях в крови преобладает его антилиполитическое действие через  $\alpha_2$ -рецепторы, а при высокой - преобладает липолитическое действие через  $\beta$ -рецепторы.

Для мышц, сердца, почек, печени при голодании или физической работе жирные кислоты становятся важным источником энергии. Печень перерабатывает часть жирных кислот в кетоновые тела, используемые мозгом, нервной тканью и некоторыми другими тканями как источники энергии.

В результате мобилизации жиров концентрация жирных кислот в крови увеличивается приблизительно в 2 раза, однако абсолютная концентрация жирных кислот в крови невелика даже в этот период.  $T_{1/2}$  жирных кислот в крови тоже очень мал (менее 5 мин), что означает существование быстрого потока жирных кислот из жировой ткани к другим органам. Когда постабсорбтивный период сменяется абсорбтивным, инсулин активирует специфическую фосфатазу, которая дефосфорилирует гормончувствительную липазу, и распад жиров останавливается.

При голодании увеличивается секреция глюкагона, при физической работе – адреналина. Эти гормоны, действуя через аденилатциклазную систему, стимулируют мобилизацию жиров.

**Нарушения жирового обмена.** Жировая ткань составляет 20-25% от общей массы тела у женщин и 15-20% у мужчин. Однако избыточное накопление жира в адипоцитах (ожирение) широко распространено среди взрослого населения, около 50% людей страдает ожирением.

Ожирение – важнейший фактор риска развития инфаркта миокарда, инсульта, сахарного диабета, артериальной гипертензии и желчнокаменной болезни. Ожирением считают состояние, когда масса тела превышает 20% от "идеальной" для данного индивидуума.

Образование адипоцитов происходит ещё во внутриутробном состоянии, начиная с последнего триместра беременности, и заканчивается в препубертатный период. После этого жировые клетки могут увеличиваться в размерах при ожирении или уменьшаться при похудании, но их количество не изменяется в течение жизни.

#### 6.4. Катаболизм жирных кислот

Жирные кислоты поступают с пищей или синтезируются в организме (кроме полиеновых кислот). Субстраты, необходимые для синтеза жирных кислот, образуются при катаболизме глюкозы и таким образом, часть глюкозы превращается сначала в жирные кислоты, а затем в жиры. Хотя специфический путь катаболизма жирных кислот заканчивается образованием ацетил-КоА, служащим исходным субстратом для синтеза жирных кислот, процессы синтеза и окисления жирных кислот необратимы. Они происходят в разных компартментах клеток (биосинтез протекает в цитозоле, а окисление – в митохондриях) и катализируются разными ферментами. Окисление жирных кислот как источников энергии увеличивается в постабсорбтивный период, при голодании и физической работе. В этих состояниях их концентрация в крови увеличивается в результате мобилизации из жировых депо, и они активно окисляются печенью, мышцами и другими тканями.

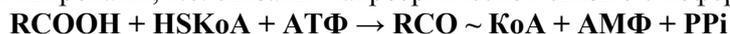
При голодании часть жирных кислот в печени превращается в другие "топливные" молекулы – кетоновые тела. Они, в отличие от жирных кислот, могут использоваться нервной тканью как источник энергии. При голодании и длительной физической работе кетоновые тела служат источником энергии для мышц и некоторых других тканей.

***$\beta$ -Окисление жирных кислот – специфический путь катаболизма жирных кислот, при котором от карбоксильного конца жирной кислоты последовательно отделяется по 2 атома углерода в виде ацетил-КоА.***

Метаболический путь « $\beta$ -окисление» назван так потому, что реакции окисления жирной кислоты происходят у  $\beta$ -углеродного атома. Реакции  $\beta$ -окисления и последующего окисления ацетил-КоА в ЦТК служат одним из основных источников энергии для синтеза АТФ по механизму окислительного фосфорилирования, происходит только в аэробных условиях.

**Этапы  $\beta$ -окисления:**

**1. 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 синтетаза. Выделившийся в ходе реакции пиррофосфат гидролизуется ферментом пиррофосфатазой:



Выделение энергии при гидролизе макроэргической связи пиррофосфата 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.

**2. Транспорт жирных кислот с длинной углеводородной цепью в митохондриях.**  $\beta$ -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 карнитинацилтрансфераза I (карнитинпальмитоилтрансфераза I), катализирующий реакцию с образованием ацилкарнитина.

Образовавшийся ацилкарнитин проходит через межмембранное пространство к наружной стороне внутренней мембраны и транспортируется с помощью карнитинацилкарнитинтранслоказы на внутреннюю поверхность внутренней мембраны митохондрий, где фермент карнитинацилтрансфераза II катализирует перенос ацила на внутримитохондриальный КоА (рис. 105).

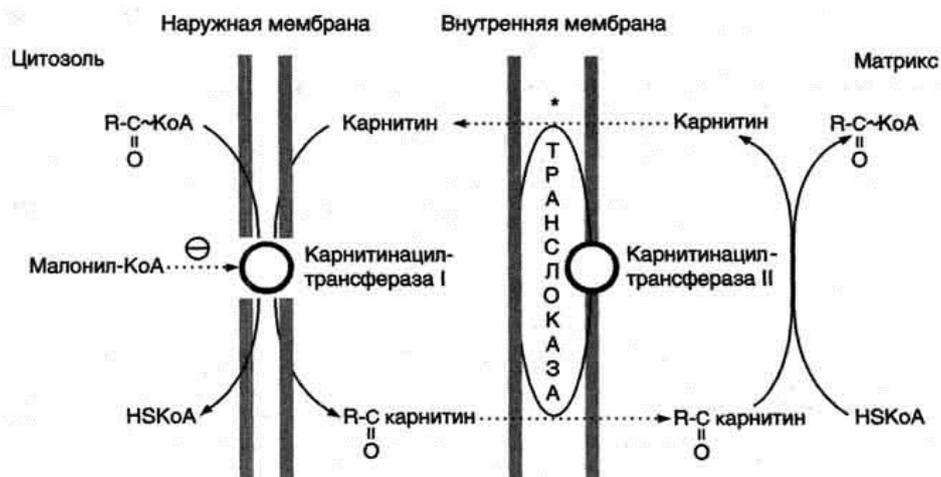


Рис. 105. Перенос жирных кислот с длинным углеводородным радикалом через мембраны митохондрий: Фермент карнитинацилтрансфераза I – регуляторный фермент  $\beta$ -окисления; ингибируется малонил-КоА – промежуточным метаболитом, образующимся при биосинтезе жирных кислот.

\* - карнитинацилкарнитинтранслоказа.

Ацил-КоА становится доступным для ферментов  $\beta$ -окисления. Свободный карнитин возвращается на цитозольную сторону. На внутренней поверхности внутренней мембраны находится фермент карнитинацил трансфераза II, катализирующий обратный перенос ацила с карнитина на внутримитохондриальный КоА. После этого ацил-КоА включается в реакции  $\beta$ -окисления.

$\beta$ -окисление жирных кислот – специфический путь катаболизма жирных кислот, протекающий в матриксе митохондрий только в аэробных условиях и заканчивающийся образованием ацетил-КоА. Водород из реакций  $\beta$ -окисления поступает в ЦПЭ, а ацетил-КоА окисляется в цитратном цикле, также поставляющем водород для ЦПЭ. Поэтому  $\beta$ -окисление жирных кислот - важнейший метаболический путь, обеспечивающий синтез АТФ в дыхательной цепи.

$\beta$ -окисление начинается с дегидрирования ацил-КоА FAD-зависимой ацил-КоА дегидрогеназой с образованием двойной связи между  $\alpha$ - и  $\beta$ -атомами углерода в продукте реакции - еноил-КоА. Восстановленный в этой реакции кофермент  $FADH_2$  передаёт атомы водорода в ЦПЭ на кофермент Q. В результате синтезируются 2 молекулы АТФ (рис. 106).

В следующей реакции  $\beta$ -окисления по месту двойной связи присоединяется молекула воды таким образом, что ОН-группа находится у  $\beta$ -углеродного атома ацила, образуя  $\beta$ -гидроксиацил-КоА. Затем  $\beta$ -гидроксиацил-КоА окисляется  $NAD^+$ -зависимой дегидрогеназой. Восстановленный  $NADH$ , окисляясь в ЦПЭ, обеспечивает энергией синтез 3 молекул АТФ.

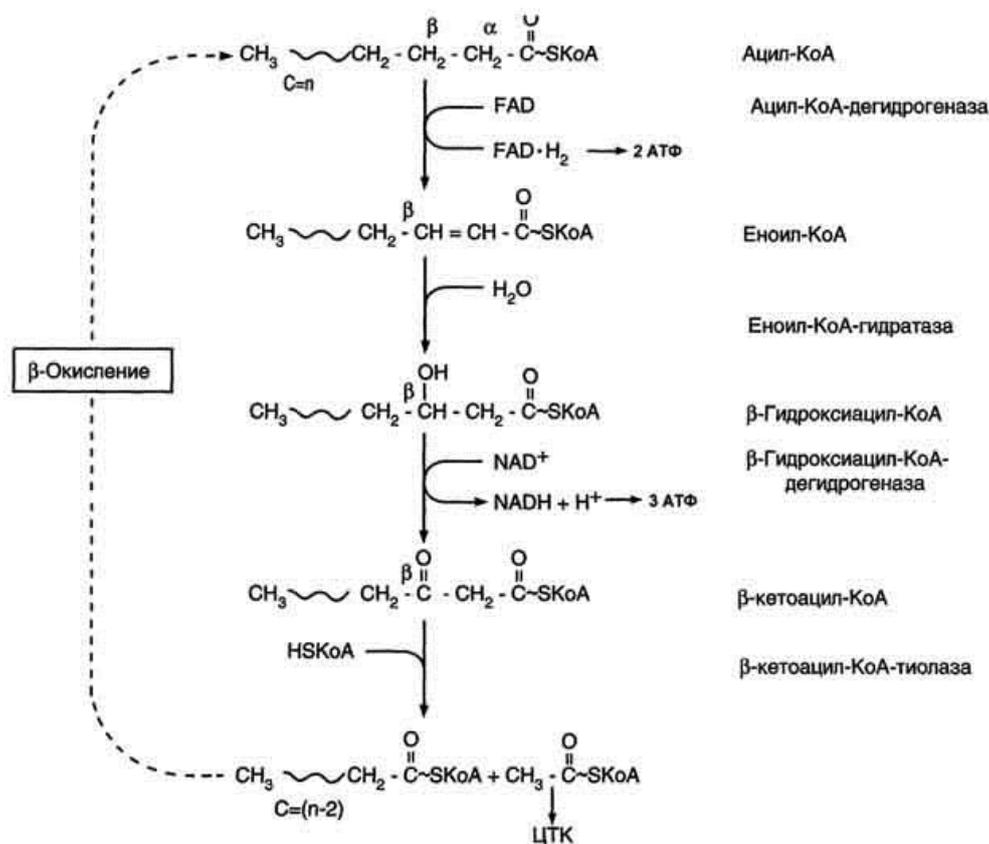
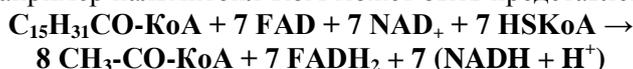


Рис. 106.  $\beta$ -окисление жирных кислот

Образовавшийся  $\beta$ -кетоацил-КоА подвергается тиолитическому расщеплению ферментом тиолазой, так как по месту разрыва связи С-С через атом серы присоединяется молекула кофермента А. В результате этой последовательности из 4 реакций от ацил-КоА отделяется двухуглеродный остаток - ацетил-КоА. Жирная кислота, укороченная на 2 атома углерода, опять проходит реакции дегидрирования, гидратации, дегидрирования, отщепления ацетил-КоА. Эту последовательность реакций обычно называют "циклом  $\beta$ -окисления", имея в виду, что одни и те же реакции повторяются с радикалом жирной кислоты до тех пор, пока вся кислота не превратится в ацетильные остатки.

**Продуктами каждого цикла  $\beta$ -окисления являются  $FADH_2$ ,  $NADH$  и ацетил-КоА.** Хотя реакции в каждом "цикле" одни и те же, остаток кислоты, который входит в каждый последующий цикл, короче на 2 углеродных атома. В последнем цикле окисляется жирная кислота из 4 атомов углерода, поэтому образуются 2 молекулы ацетил-КоА, а не 1, как в предыдущих. Суммарное уравнение  $\beta$ -окисления, например пальмитоил-КоА может быть представлено таким образом:



Если рассчитывать выход АТФ при окислении пальмитиновой кислоты, то из общей суммы молекул АТФ необходимо вычесть 2 молекулы, так как на активацию жирной кислоты тратится энергия 2 макроэргических связей (см. реакцию активации жирной кислоты) (табл. 16).

Таблица 16

Синтез АТФ при полном окислении пальмитиновой кислоты

$\beta$ -Окисление	Количество молекул АТФ
7 NADH (от пальмитоил-КоА до ацетил-КоА), окисление каждой молекулы кофермента в ЦПЭ обеспечивает синтез 3 молекул АТФ	21
7 FADHa, окисление каждой молекулы кофермента в ЦПЭ обеспечивает синтез 2 молекул АТФ	14
Окисление каждой из 8 молекул ацетил-КоА в ЦТК обеспечивает синтез 12 молекул АТФ	96
<b>Суммарное количество молекул АТФ, синтезированных при окислении одной молекулы пальмитоил-КоА</b>	<b>131</b>

Во многих тканях окисление жирных кислот – важный источник энергии. Это ткани с высокой активностью ферментов ЦТК и дыхательной цепи – клетки красных скелетных мышц, сердечная мышца, почки. Эритроциты, в которых отсутствуют митохондрии, не могут окислять жирные кислоты.

Жирные кислоты не служат источником энергии для мозга и других нервных тканей, так как жирные кислоты не проходят через гематоэнцефалический барьер, как и другие гидрофобные вещества.

**3. Регуляция скорости  $\beta$ -окисления.**  $\beta$ -Окисление это метаболический путь, прочно связанный с работой ЦПЭ и общего пути катаболизма. Поэтому его скорость регулируется потребностью клетки в энергии, т.е. соотношениями АТФ/АДФ и NADH/NAD<sup>+</sup>, так же, как и скорость реакций ЦПЭ и общего пути катаболизма.

Скорость  $\beta$ -окисления в тканях зависит от доступности субстрата, т.е. от количества жирных кислот, поступающих в митохондрии. Концентрация свободных жирных кислот в крови повышается при активации липолиза в жировой ткани при голодании под действием глюкагона и при физической работе под действием адреналина. В этих условиях жирные кислоты становятся преимущественным источником энергии для мышц и печени, так как в результате  $\beta$ -окисления образуются NADH и ацетил-КоА, ингибирующие пируватдегидрогеназный комплекс. Превращение пирувата, образующегося из глюкозы, в ацетил-КоА замедляется. Накапливаются промежуточные метаболиты гликолиза и, в частности, глюкозо-6-фосфат. Глюкозо-6-фосфат ингибирует гексокиназу и, следовательно, препятствует использованию глюкозы в процессе гликолиза. Таким образом, преимущественное использование жирных кислот как основного источника энергии в мышечной ткани и печени сберегает глюкозу для нервной ткани и эритроцитов.

Скорость  $\beta$ -окисления зависит также от активности фермента карнитинацилтрансферазы I. В печени этот фермент ингибируется малонил-КоА, веществом, образующимся при биосинтезе жирных кислот. В абсорбтивный период в печени активируется гликолиз и увеличивается образование ацетил-КоА из пирувата. Первая реакция синтеза жирных кислот - превращение ацетил-КоА в малонил-КоА. Малонил-КоА ингибирует  $\beta$ -окисление жирных кислот, которые могут использоваться для синтеза жира.

**Окисление ненасыщенных жирных кислот.** Около половины жирных кислот в организме человека ненасыщенные.  $\beta$ -окисление этих кислот идёт обычным путём до тех пор, пока двойная связь не окажется между третьим и четвёртым атомами углерода (рис. 107).

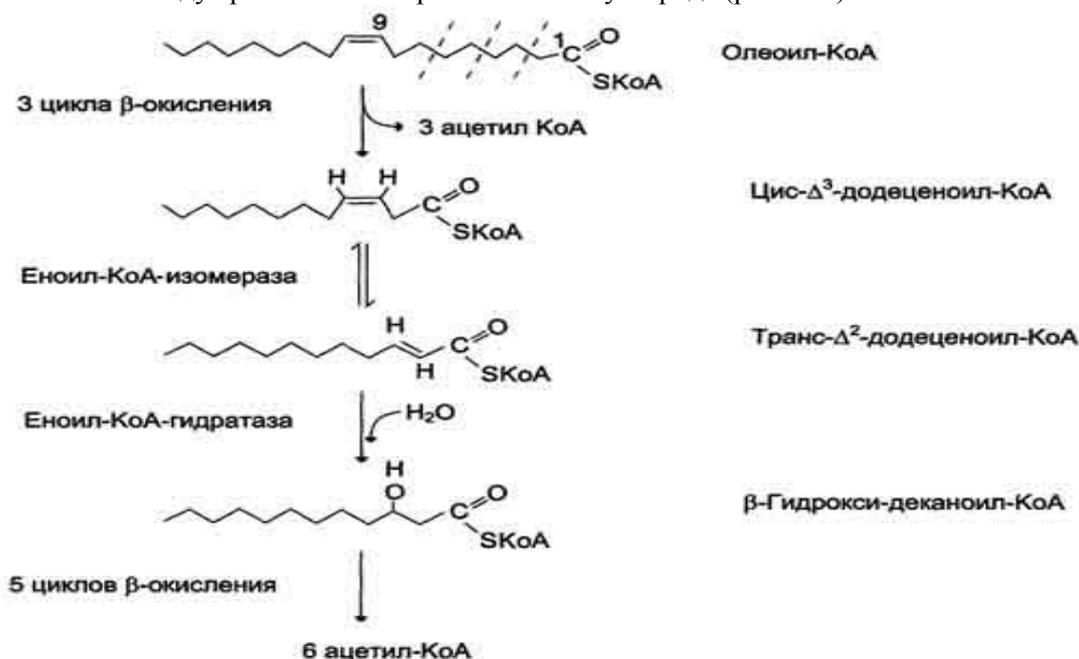


Рис. 107. Окисление жирных кислот с одной двойной связью.

Затем фермент еноил-КоА изомераза перемещает двойную связь из положения 3-4 в положение 2-3 и изменяет цис-конформацию двойной связи на транс-, которая требуется для  $\beta$ -окисления. В этом цикле  $\beta$ -окисления первая реакция дегидрирования не происходит, так как двойная связь в

радикале жирной кислоты уже имеется. Далее циклы  $\beta$ -окисления продолжаются, не отличаясь от обычного пути.

**$\alpha$ -окисление жирных кислот.** В липидах мозга и других отделах нервной ткани преобладают жирные кислоты с очень длинной цепью – более 20 углеродных атомов. Они окисляются по типу  $\alpha$ -окисления, при котором от жирной кислоты отщепляется по одному атому углерода, выделяющемуся в виде  $\text{CO}_2$  (рис. 108).

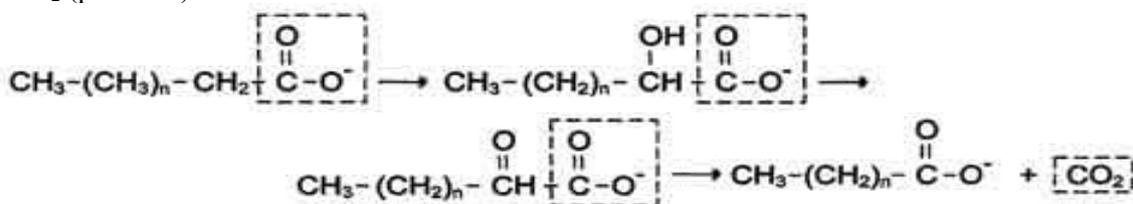


Рис. 108.  $\alpha$ -окисление жирных кислот

$\alpha$ -окислению подвергаются также жирные кислоты с разветвлённой углеводородной цепью, например фитановая, поступающая в организм с растительной пищей. Этот путь катаболизма жирных кислот не связан с синтезом АТФ.

**Нарушения окисления жирных кислот:**

- нарушение переноса жирных кислот в митохондрии возникает у людей с наследственными дефектами карнитинацилтрансферазы I или ферментов синтеза карнитина;
- генетический дефект дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной углеводородной цепи наиболее распространён по сравнению с другими наследственными заболеваниями – 1:15 000. Частота дефектного гена среди европейской популяции – 1:40.

Во всех случаях, когда нарушается  $\beta$ -окисление, жирные кислоты накапливаются в клетках и распадаются по пути  $\omega$ -окисления, которое в норме идёт с очень низкой скоростью. Окисление происходит по метильному  $\omega$ -атому углерода (рис. 109), и в результате образуются дикарбоновые кислоты, выделяющиеся с мочой.

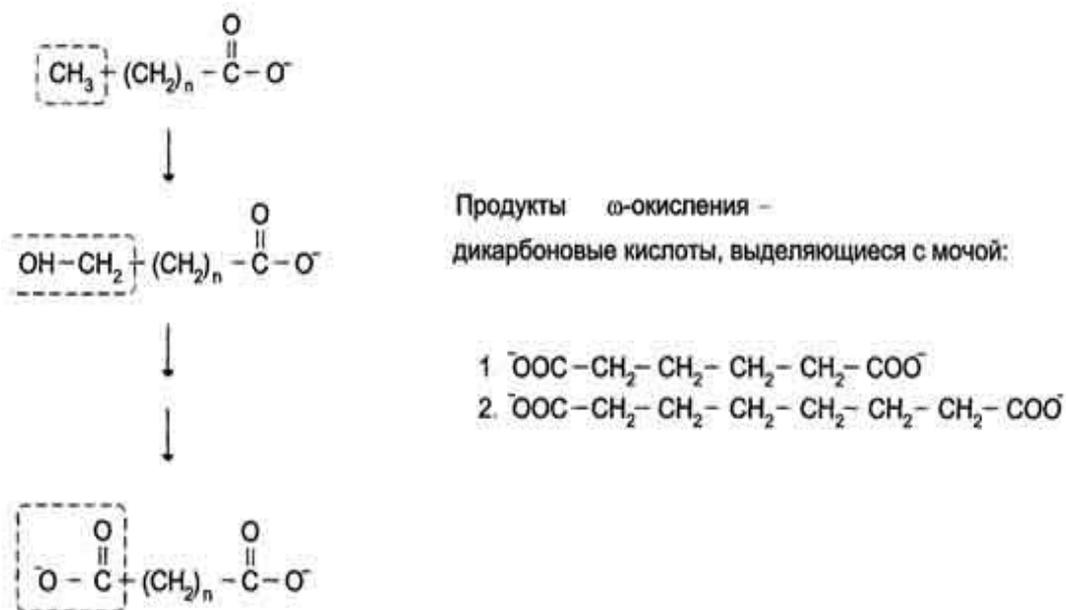


Рис. 109.  $\omega$ -окисление жирных кислот: 1 – адипиновая кислота; 2 – субериновая кислота.

$\omega$ -окисление жирных кислот активируется в тех случаях, когда активность  $\beta$ -окисления жирных кислот снижена. Определение адипиновой и субериновой кислот в моче может служить диагностическим признаком нарушения  $\beta$ -окисления.

## 6.5. Анаболизм кетоновых тел

При голодании, длительной физической работе и в случаях, когда клетки не получают достаточного количества глюкозы, жирные кислоты используются многими тканями как основной источник энергии.

В отличие от других тканей мозг и другие отделы нервной ткани практически не используют жирные кислоты в качестве источника энергии. В печени часть жирных кислот превращается в кетоновые тела, которые окисляются мозгом, нервной тканью, мышцами, обеспечивая достаточное количество энергии для синтеза АТФ и уменьшая потребление глюкозы.

К кетоновым телам относят  $\beta$ -гидроксибутират, ацетоацетат и ацетон. Первые две молекулы могут окисляться в тканях, обеспечивая синтез АТФ. Ацетон образуется только при высоких концентрациях кетоновых тел в крови и, выделяясь с мочой, выдыхаемым воздухом и потом, позволяет организму избавляться от избытка кетоновых тел.

**Синтез кетоновых тел в печени.** При низком соотношении инсулин/глюкагон в крови в жировой ткани активируется распад жиров. Жирные кислоты поступают в печень в большем количестве, чем в норме, поэтому увеличивается скорость  $\beta$ -окисления.

Скорость реакций ЦТК в этих условиях снижена, так как оксалоацетат используется для глюконеогенеза. В результате скорость образования ацетил-КоА превышает способность ЦТК окислять его. Ацетил-КоА накапливается в митохондриях печени и используется для синтеза кетоновых тел. Синтез кетоновых тел происходит только в митохондриях печени.

Синтез кетоновых тел начинается с взаимодействия двух молекул ацетил-КоА, которые под действием фермента тиолазы образуют ацетоацетил-КоА (рис. 110).

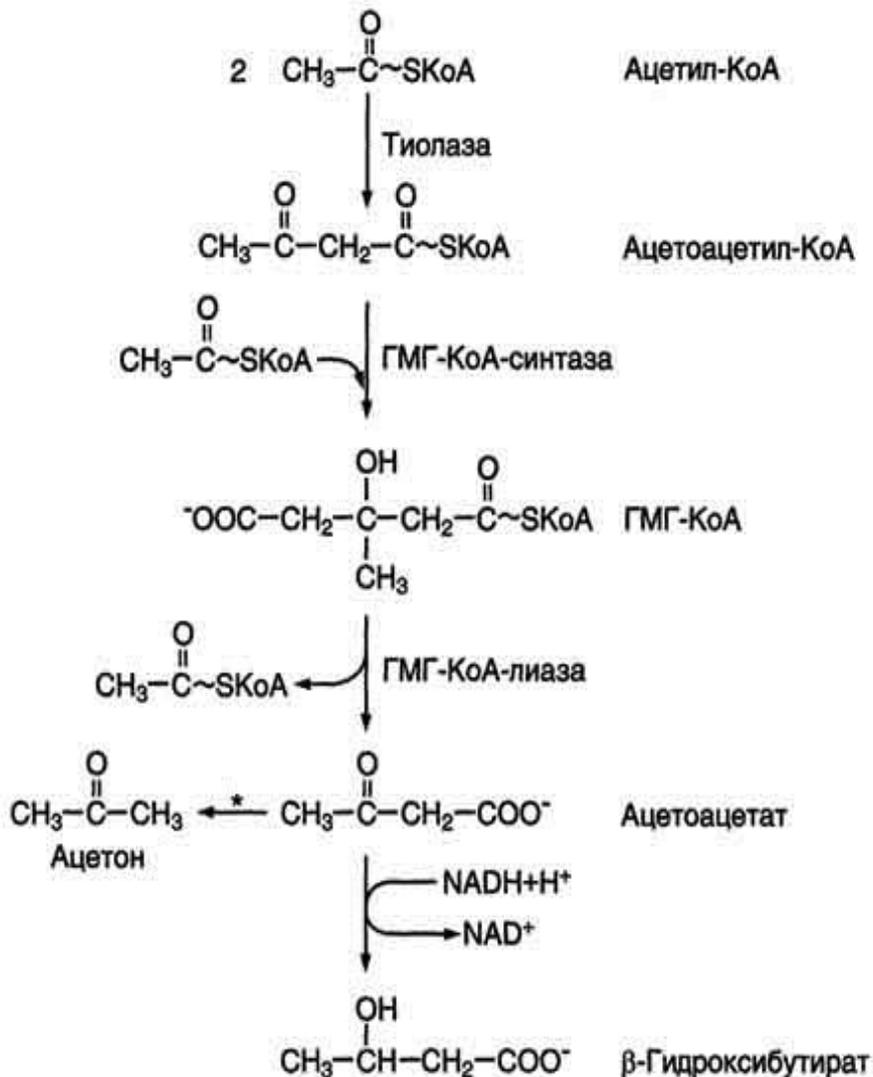


Рис. 110. Синтез кетоновых тел в митохондриях гепатоцитов

Регуляторный фермент синтеза кетоновых тел (ГМГ-КоА-синтаза) ингибируется свободным КоА – реакция идёт неферментативно при высокой концентрации кетоновых тел в крови.

С ацетоацетил-КоА взаимодействует третья молекула ацетил-КоА, образуя 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (ГМГ-КоА). Эту реакцию катализирует фермент ГМГ-КоА-синтаза. Далее ГМГ-КоА-лиаза катализирует расщепление ГМГ-КоА на свободный ацетоацетат и ацетил-КоА.

Ацетоацетат может выделяться в кровь или превращаться в печени в другое кетоновое тело – β-гидроксибутират путём восстановления.

В клетках печени при активном β-окислении создаётся высокая концентрация NADH. Это способствует превращению большей части ацетоацетата в β-гидроксибутират, поэтому основное кетоновое тело в крови – именно β-гидроксибутират. При голодании для многих тканей жирные кислоты и кетоновые тела становятся основными топливными молекулами. Глюкоза используется в первую очередь нервной тканью и эритроцитами.

При высокой концентрации ацетоацетата часть его неферментативно декарбоксилируется, превращаясь в ацетон. Ацетон не утилизируется тканями, но выделяется с выдыхаемым воздухом и мочой. Таким путём организм удаляет избыточное количество кетоновых тел, которые не успевают окисляться, но, являясь водорастворимыми кислотами, вызывают ацидоз.

**Кетоацидоз.** В норме концентрация кетоновых тел в крови составляет 1-3 мг/дл (до 0,2 мМ/л), но при голодании значительно увеличивается. Увеличение концентрации кетоновых тел в крови называют *кетонемией*, выделение кетоновых тел с мочой – *кетонурией*.

Накопление кетоновых тел в организме приводит к кетоацидозу: уменьшению щелочного резерва (компенсированному ацидозу), а в тяжёлых случаях – к сдвигу pH (некомпенсированному ацидозу), так как кетоновые тела (кроме ацетона) являются водорастворимыми органическими кислотами (pK~3,5), способными к диссоциации:



Ацидоз достигает опасных величин при сахарном диабете, так как концентрация кетоновых тел при этом заболевании может достигать до 400-500 мг/дл. Тяжёлая форма ацидоза – одна из основных причин смерти при сахарном диабете. Накопление протонов в крови нарушает связывание кислорода гемоглобином, влияет на ионизацию функциональных групп белков, нарушая их конформацию и функцию.

## 6.6. Анаболизм жирных кислот

С пищей в организм поступают разнообразные жирные кислоты, в том числе и незаменимые. Значительная часть заменимых жирных кислот синтезируется в печени, в меньшей степени – в жировой ткани и лактирующей молочной железе. Источником углерода для синтеза жирных кислот служит ацетил-КоА, образующийся при распаде глюкозы в абсорбтивном периоде. Таким образом, избыток углеводов, поступающих в организм, трансформируется в жирные кислоты, а затем в жиры.

### **1. Синтез пальмитиновой кислоты. Образование ацетил-КоА и его транспорт в цитозоль.**

Синтез жирных кислот происходит в абсорбтивный период. Активный гликолиз и последующее окислительное декарбоксилирование пирувата способствуют увеличению концентрации ацетил-КоА в матриксе митохондрий.

Место синтеза жирных кислот – цитоплазма клеток, где имеется мультиферментный комплекс **синтетаза высших жирных кислот**. Этот комплекс состоит из ферментов, связанных с **ацилпереносящим белком**, который содержит две свободные SH-группы (АПБ-SH). Синтез происходит путём полимеризации двууглеродных фрагментов, конечным продуктом его является пальмитиновая кислота – насыщенная жирная кислота, содержащая 16 атомов углерода. Обязательными компонентами, участвующими в синтезе, являются НАДФН (кофермент, образующийся в реакциях пентозофосфатного пути окисления углеводов) и АТФ.

Ацетил-КоА, образуется в митохондриях из пирувата – продукта гликолитического распада глюкозы, поступает из митохондрий в цитоплазму при помощи цитратного механизма:



Однако внутренняя мембрана митохондрий непроницаема для ацетил-КоА, поэтому в матриксе митохондрий ацетил-КоА конденсируется с оксалоацетатом с образованием цитрата при участии цитратсинтазы: В цитоплазме цитрат реагирует с HS-КоА и АТФ, вновь распадаясь на ацетил-КоА и оксалоацетат (фермент – **цитратлиаза**).

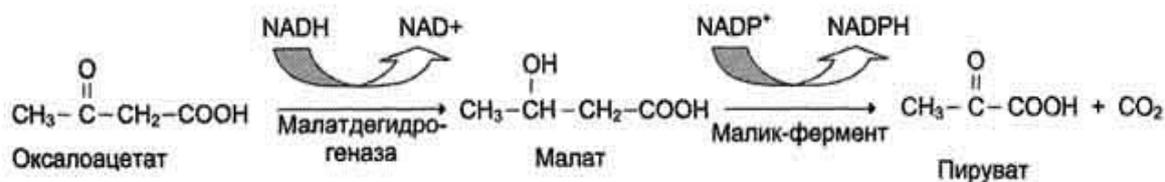


Затем транслоказа переносит цитрат в цитоплазму. Перенос цитрата в цитоплазму происходит только при увеличении количества цитрата в митохондриях, когда изоцитратдегидрогеназа и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа ингибированы высокими концентрациями NADH и АТФ.

В цитоплазме цитрат расщепляется под действием фермента цитратлиазы:

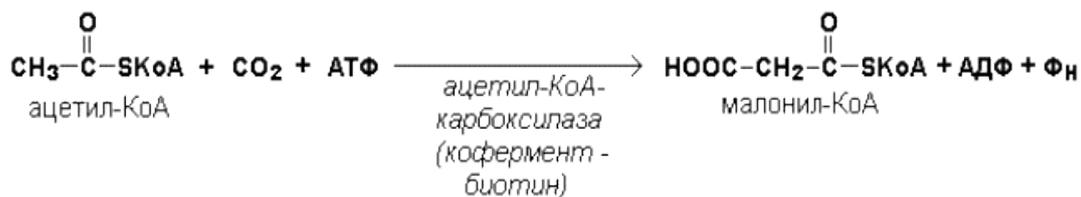


Ацетил-КоА в цитоплазме служит исходным субстратом для синтеза жирных кислот, а оксалоацетат в цитозоле подвергается следующим превращениям:



Пируват транспортируется обратно в матрикс митохондрий. Восстановленный в результате действия малик-фермента NADPH используется как донор водорода для последующих реакций синтеза жирных кислот. Другой источник NADPH – окислительные стадии пентозофосфатного пути катаболизма глюкозы.

Первая реакция синтеза жирных кислот – карбоксилирование ацетил-КоА с образованием малонил-КоА:



Фермент, катализирующий эту реакцию (ацетил-КоА-карбоксилаза), относят к классу лигаз. Он содержит ковалентно связанный биотин (рис. 111).

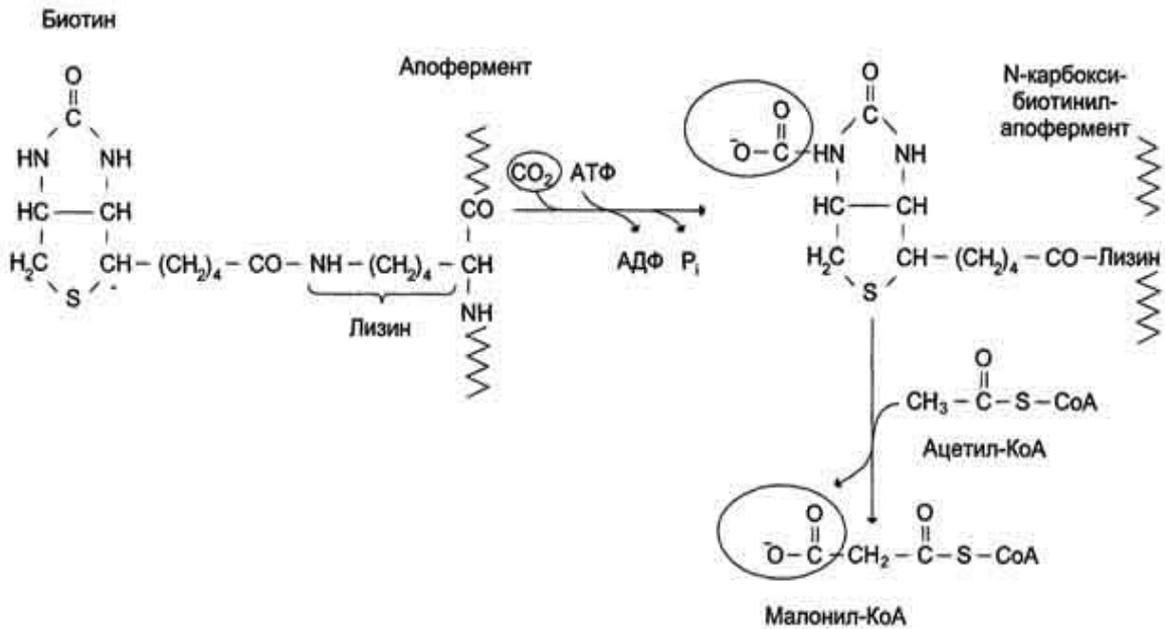
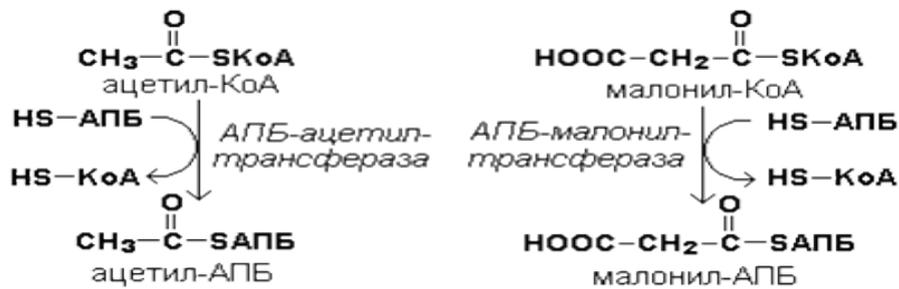


Рис. 111. Роль биотина в реакции карбоксилирования ацетил-КоА

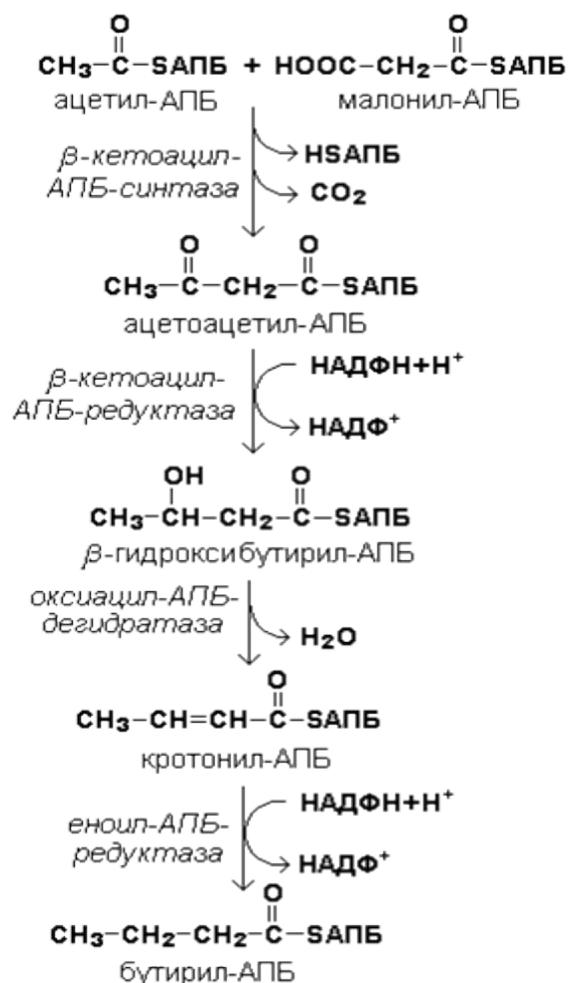
В первой стадии реакции  $\text{CO}_2$  ковалентно связывается с биотином за счёт энергии АТФ, во второй стадии  $\text{COO}^-$  переносится на ацетил-КоА с образованием малонил-КоА. Активность фермента ацетил-КоА-карбоксилазы определяет скорость всех последующих реакций синтеза жирных кислот.

После образования малонил-КоА синтез жирных кислот продолжается на мультиферментном комплексе – синтезе жирных кислот (пальмитоилсинтетазе). Этот фермент состоит из 2 идентичных протомеров, каждый из которых имеет доменное строение и, соответственно, 7 центров, обладающих разными каталитическими активностями.

Затем ацетил-КоА и малонил-КоА взаимодействуют с SH-группами ацилпереносящего белка:



Далее происходит их конденсация, декарбоксилирование и восстановление образовавшегося продукта:



Продукт реакции взаимодействует с новой молекулой малонил-КоА и цикл многократно повторяется вплоть до образования остатка пальмитиновой кислоты.

Первая реакция – перенос ацетильной группы ацетил-КоА на тиоловую группу цистеина ацетилтрансацилазным центром (рис. 112).

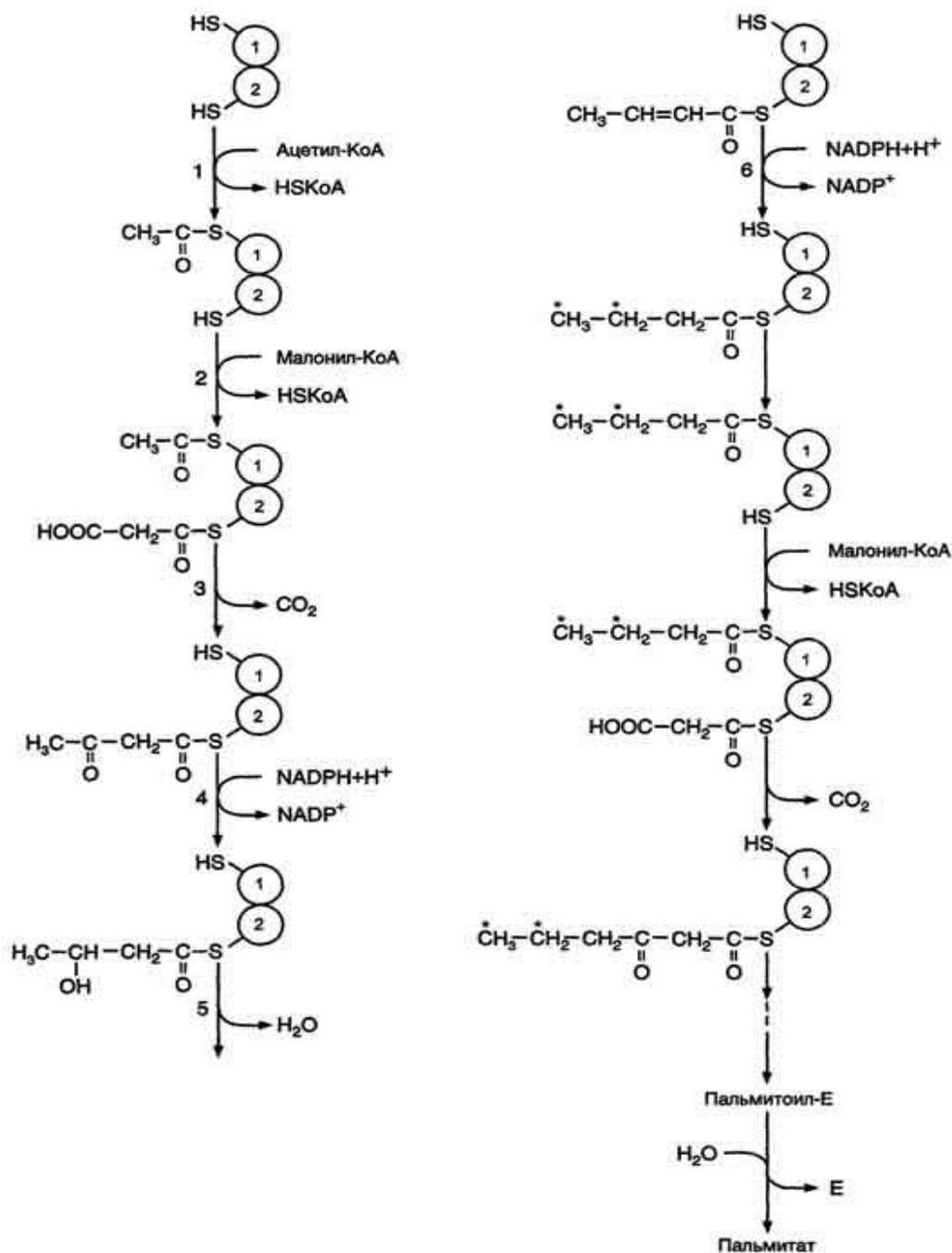


Рис. 112. Синтез пальмитиновой кислоты

Синтаза жирных кислот: в первом протомере SH-группа принадлежит цистеину, во втором – фосфопантетеину. После окончания первого цикла радикал бутирила переносится на SH-группу первого протомера. Затем повторяется та же последовательность реакций, что и в первом цикле. Пальмитоил-E – остаток пальмитиновой кислоты, связанный с синтазой жирных кислот. В синтезированной жирной кислоте только 2 дистальных атома углерода, обозначенные \*, происходят из ацетил-КоА, остальные – из малонил-КоА.

Затем от малонил-КоА остаток малонила переносится на сульфгидрильную группу ацилпереносящего белка малонилтрансацилазным центром. После этого комплекс готов к первому циклу синтеза.

Ацетильная группа конденсируется с остатком малонила по месту отделившегося  $\text{CO}_2$ . Реакция катализируется кетоацилсинтазным центром. Образовавшийся радикал ацетоацетила последовательно восстанавливается кетоацил-редуктазой, затем дегидратируется и опять восстанавливается еноилредуктазой – активными центрами комплекса. В результате первого цикла реакций образуется радикал бутирила, связанный с субъединицей синтазы жирных кислот.

Перед вторым циклом радикал бутирила переносится из позиции 2 в позицию 1 (где находился ацетил в начале первого цикла реакций). Затем остаток бутирила подвергается тем же превращениям и удлиняется на 2 углеродных атома, происходящих из малонил-КоА.

Аналогичные циклы реакций повторяются до тех пор, пока не образуется радикал пальмитиновой кислоты, который под действием тиоэстеразного центра гидролитически отделяется от ферментного комплекса, превращаясь в свободную пальмитиновую кислоту (пальмитат, рис. 113).

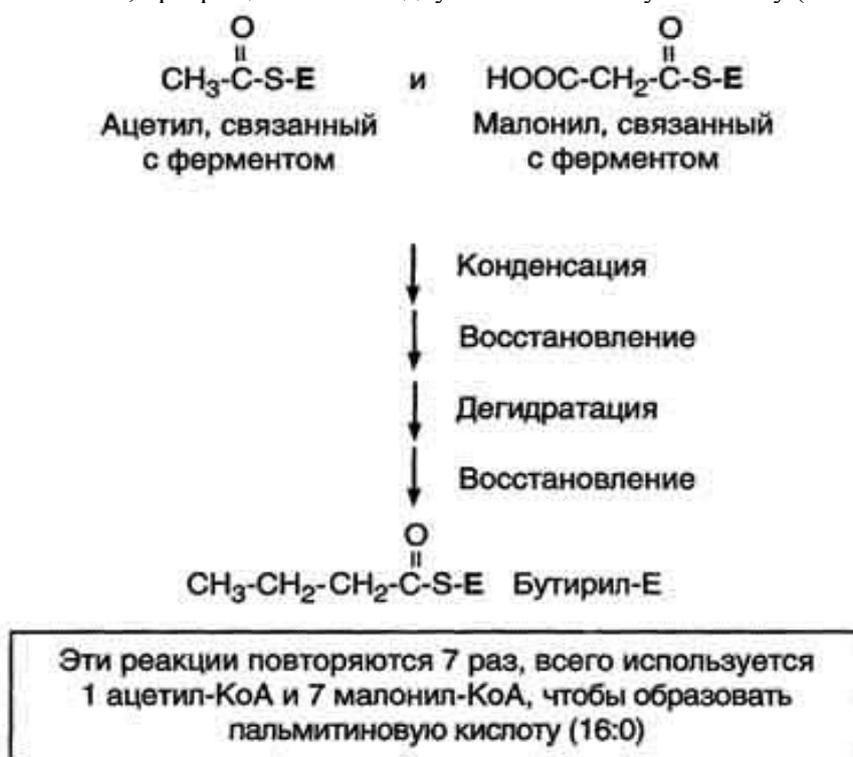
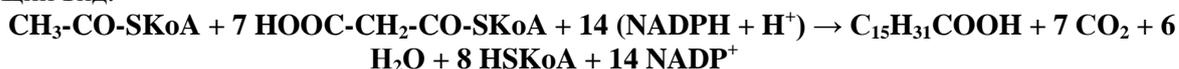


Рис. 113. Общая схема реакций синтеза пальмитиновой кислоты

Суммарное уравнение синтеза пальмитиновой кислоты из ацетил-КоА и малонил-КоА имеет следующий вид:



**Основные источники водорода для синтеза жирных кислот.** В каждом цикле биосинтеза пальмитиновой кислоты проходят 2 реакции восстановления, донором водорода в которых служит кофермент NADPH. Восстановление NADP<sup>+</sup> происходит в реакциях:

- дегидрирования в окислительных стадиях пентозофосфатного пути катаболизма глюкозы;
- дегидрирования малата малик-ферментом;
- дегидрирования изоцитрата цитозольной NADP-зависимой дегидрогеназой.

**Регуляция синтеза жирных кислот.** Регуляторный фермент синтеза жирных кислот ацетил-КоА-карбоксилаза регулируется несколькими способами:

1. ассоциация/диссоциация комплексов субъединиц фермента. В неактивной форме ацетил-КоА-карбоксилаза представляет собой отдельные комплексы, каждый из которых состоит из 4 субъединиц. Активатор фермента – цитрат; он стимулирует объединение комплексов, в результате чего активность фермента увеличивается. Ингибитор – пальмитоил-КоА; он вызывает диссоциацию комплекса и снижение активности фермента

2. фосфорилирование/дефосфорилирование ацетил-КоА-карбоксилазы. В постабсорбтивном состоянии или при физической работе глюкагон или адреналин активируют протеинкиназу А и стимулируют фосфорилирование субъединиц ацетил-КоА карбоксилазы, который неактивен, и синтез жирных кислот останавливается.

**Индукция синтеза ферментов.** Длительное потребление богатой углеводами и бедной жирами пищи приводит к увеличению секреции инсулина, который стимулирует индукцию синтеза ферментов: ацетил-КоА-карбоксилазы, синтазы жирных кислот, цитратлиазы, изоцитратдегидрогеназы. Следовательно, избыточное потребление углеводов приводит к ускорению

превращения продуктов катаболизма глюкозы в жиры. Голодание или богатая жирами пища приводит к снижению синтеза ферментов и, соответственно, жиров.

**Синтез жирных кислот из пальмитиновой кислоты. Удлинение жирных кислот.** В ЭР происходит удлинение пальмитиновой кислоты с участием малонил-КоА. Последовательность реакций сходна с той, что происходит при синтезе пальмитиновой кислоты, однако в данном случае жирные кислоты связаны не с синтазой жирных кислот, а с КоА.

Ферменты, участвующие в элонгации, могут использовать в качестве субстратов не только пальмитиновую, но и другие жирные кислоты (рис. 114), поэтому в организме могут синтезироваться не только стеариновая кислота, но и жирные кислоты с большим числом атомов углерода.

Радикал пальмитиновой кислоты удлиняется на 2 углеродных атома, донором которых служит малонил-КоА.

Основной продукт элонгации в печени – стеариновая кислота (С 18:0), однако в ткани мозга образуется большое количество жирных кислот с более длинной цепью – от С<sub>20</sub> до С<sub>24</sub>, которые необходимы для образования сфинголипидов и гликолипидов. В нервной ткани происходит синтез и других жирных кислот –  $\alpha$ -гидроксикислот. Оксидазы со смешанными функциями гидроксилируют С<sub>22</sub> и С<sub>24</sub> кислоты с образованием лигноцериновой и цереброновой кислот, обнаруживаемых только в липидах мозга.

**Образование двойных связей в радикалах жирных кислот.** Включение двойных связей в радикалы жирных кислот называется *десатурацией*.

Основные жирные кислоты, образующиеся в организме человека в результате десатурации (рис. 115), – пальмитоолеиновая (С16:1 $\Delta$ 9) и олеиновая (С18:1 $\Delta$ 9).

Образование двойных связей в радикалах жирных кислот происходит в ЭР в реакциях с участием молекулярного кислорода, NADH и цитохрома b<sub>5</sub>.

Ферменты десатуразы жирных кислот, имеющиеся в организме человека, не могут образовывать двойные связи в радикалах жирных кислот дистального девятого атома углерода, т.е. между девятым и метильным атомами углерода. Поэтому жирные кислоты семейства  $\omega$ -3 и  $\omega$ -6 не синтезируются в организме, являются незаменимыми и обязательно должны поступать с пищей, так как выполняют важные регуляторные функции.

Для образования двойной связи в радикале жирной кислоты требуется молекулярный кислород, NADH, цитохром b<sub>5</sub> и FAD-зависимая редуктаза цитохрома b<sub>5</sub>. Атомы водорода, отщепляемые от насыщенной кислоты, выделяются в виде воды. Один атом молекулярного кислорода включается в молекулу воды, а другой также восстанавливается до воды с участием электронов NADH, которые передаются через FADH<sub>2</sub> и цитохром b<sub>5</sub>.

Эйкозаноиды – биологически активные вещества, синтезируемые большинством клеток из полиеновых жирных кислот, содержащих 20 углеродных атомов (слово "эйкоза" по гречески означает 20).

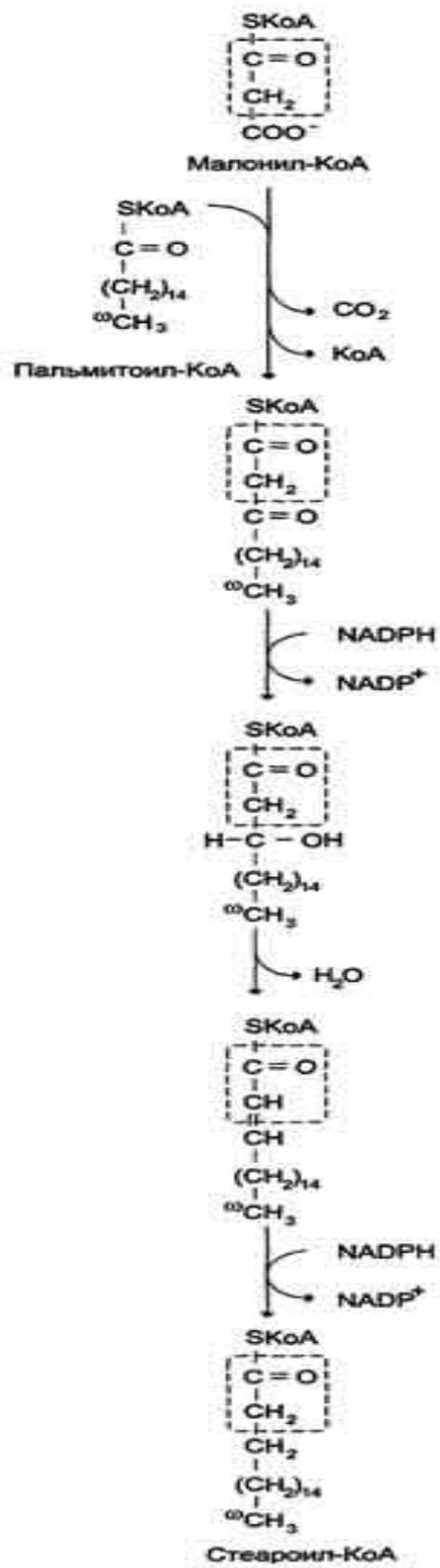


Рис. 114. Удлинение пальмитиновой кислоты

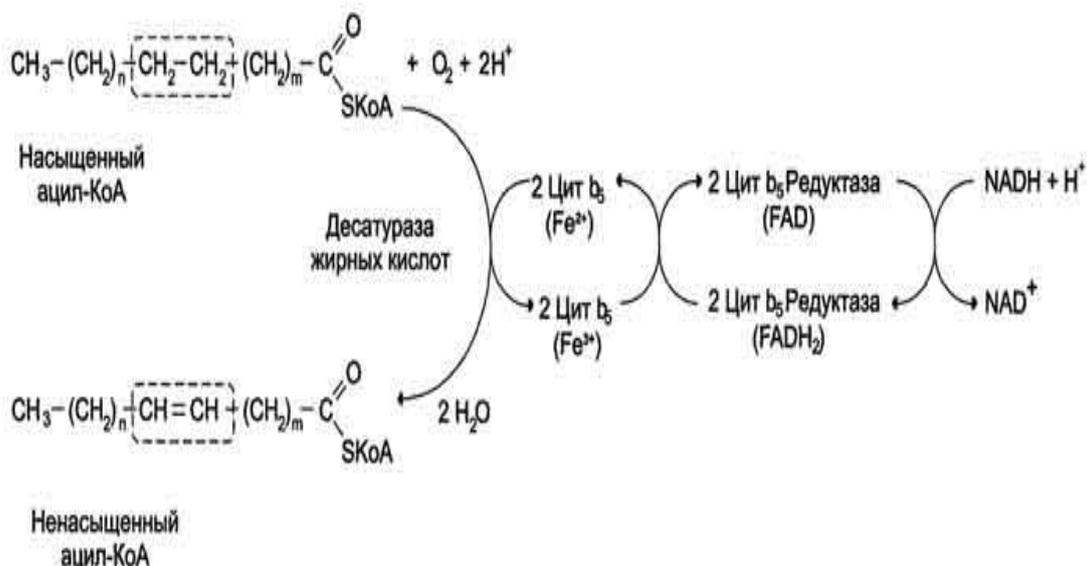


Рис. 115. Образование ненасыщенных жирных кислот

### Вопросы для самоконтроля:

1. Что такое липиды? На какие группы, и по каким признакам делятся липиды?
2. Дайте характеристику простым липидам, приведите их примеры.
3. Дайте характеристику сложным липидам, приведите их примеры.
4. Напишите уравнение гидролитического распада жиров, восков и стеридов.
5. Изобразите схему  $\beta$ -окисления миристиновой ( $\text{C}_{14}$ ) кислоты.
6. Приведите уравнения дальнейшего превращения ацетил-КоА, конечного продукта  $\beta$ -окисления жирных кислот.
7. Каким превращениям подвергаются глицерин, высшие и полициклические спирты, образовавшиеся при гидролизе липидов?
8. Напишите все уравнения процесса биосинтеза жирных кислот.
9. Как происходит биосинтез триглицеридов и восков?
10. Каковы источники биосинтеза полициклических спиртов?
11. Приведите пути распада и биосинтез фосфатидов, схему распада фосфолипидов (фосфатид-лецитина).
12. Как происходят превращения холина?
13. Схема биосинтеза фосфатидов. Роль цитидинмонофосфата.
14. Какова роль липидов в формировании клеточных мембран?
15. Покажите взаимосвязь обмена липидов и углеводов.

### Задачи для самостоятельной работы:

1. Напишите уравнение реакции ступенчатого ферментативного гидролиза триглицеридов: пальмитодиолеина, олеодилаурина, триолеина.
2. Высшие жирные кислоты разрушаются преимущественно путем  $\beta$ -окисления. Осуществите ступенчатый ферментативный распад пальмитолеиновой кислоты указанным путем. Назовите промежуточные продукты и ферменты, ускоряющие процесс.
3. Линолевая кислота разрушается путем  $\beta$ -окисления. Напишите уравнения реакций ступенчатого ферментативного распада линолевой кислоты.
4. HS-КоА необходим для активирования высших жирных кислот. Укажите пути его высвобождения в организме животных и напишите соответствующие уравнения реакций.
5. В биосинтезе пальмитиновой кислоты одной из промежуточных стадий является превращение: капроил - S-КоА  $\rightarrow$  каприл - S-КоА. Напишите уравнения реакций и укажите ферменты, ускоряющие эти реакции
6. Фосфатидным путем осуществите биосинтез коламинфосфатида. Напишите полные химические уравнения и укажите ферменты, ускоряющие реакции.
7. Путем реакций трансацилирования глицерофосфата осуществите синтез триглицерида  $\alpha, \alpha$ -диолео- $\beta$ -пальмитина.

8. Моноглицеридным путем осуществите биосинтез  $\alpha,\alpha$ -дипальмито- $\beta$ -стеарина. Отметьте преимущество указанного типа биосинтеза от фосфатидного.
9. Осуществите биосинтез серинфосфатида. Напишите полные уравнения реакций и укажите ферменты, ускоряющие эти реакции.
10. Напишите уравнения гидролиза пальмитоэргостерида и стеароситостерида; дайте названия ферментам, ускоряющие реакции. Укажите в каких организмах возможно присутствие данных стеридов.
11. Осуществите биосинтез мевалоновой кислоты из ацетил-S-CoA. Покажите роль мевалоновой кислоты в биосинтезе стеридов.
12. В биосинтезе стеариновой кислоты одной из промежуточных стадий является превращение: каприл-S-CoA  $\rightarrow$  капринил-S-CoA. Напишите уравнения реакций и укажите ферменты, ускоряющие эти процессы.
13. Церотиновая кислота входит в состав карнаубского воска. Завершающим этапом ее биосинтеза является превращение: лигноцерил-S-CoA  $\rightarrow$  церотил-S-CoA. Напишите уравнения реакций и укажите ферменты, ускоряющие эти реакции.
14. Запомните реакции  $\beta$ -окисления жирных кислот—одного из центральных метаболических путей, обеспечивающих клетки энергией. Напишите реакцию, катализируемую FAD-зависимой дегидрогеназой. Укажите коэффициент фосфорилирования для этой реакции.
15. Рассчитайте выход АТФ при окислении стеариновой кислоты, сравните с выходом АТФ при окислении линолевой кислоты.
16. Напишите реакцию, катализируемую регуляторным ферментом  $\beta$ -окисления жирных кислот. Укажите локализацию этого фермента в клетке. Как изменится активность этого фермента в печени в условиях, когда в крови концентрация глюкозы равна 6,9 ммоль/л и активируется синтез жирных кислот?
17. В  $\beta$ -окислении жирных кислот участвуют несколько типов ацил-CoA-дегидрогеназ: на первом этапе работает фермент, дегидрирующий жирные кислоты с большой длиной углеродной цепи (от C<sub>18</sub> до C<sub>12</sub>), после того как жирные кислоты укорачиваются до C<sub>12</sub>, начинает работать другая дегидрогеназа, которая дегидрирует жирные кислоты со средней длиной цепи (от C<sub>12</sub> до C<sub>6</sub>). Это необходимо знать, т.к. одно из наиболее распространенных генетических заболеваний (гетерозиготы 1:40)—дефект фермента дегидрогеназы жирных кислот со средней длиной цепи. Частота таких больных составляет 1:15000. Дефект данного фермента нарушает  $\beta$ -окисление жирных кислот, и этот важнейший путь, обеспечивающий клетки энергией, нормально не функционирует. Почему у таких больных в период между приемами пищи развивается гипогликемия и гипокетонемия?
18. Какие положения правильны для ситуации, когда увеличивается синтез кетоновых тел при голодании?
19. Какие положения правильны для ситуации, когда в клетках печени увеличивается синтез кетоновых тел?

### Список рекомендуемой литературы:

1. Биологическая химия с упражнениями и задачами: учебник / под ред. чл.корр. РАМН Е.С. Северина. – М.: ГЕОТАР-МЕД, 2010. – 624 с.
2. Биоорганическая химия: учебник / Н.А. Тюкавкина, Ю.И. Бауков. – М.: Медицина, 1991. – 528 с.
3. Биологическая химия / Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В. – М.: ООО Медицинское информационное агентство, 2008. – 364 с.
4. Вшивков А.А. Химические основы жизни. Учебное пособие. – Екатеринбург: Изд-во Урал.ун-та, 2008. – 227 с.
5. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. – М.: Высшая школа, 2003. – 478 с.
6. Ленинджер А. Основы биохимии: Краткий курс с упражнениями и задачами. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2002. – 448 с.
7. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. – М.: Просвещение, 1985. – 502 с.
8. Филиппович Ю.Б., Севастьянова Г.А., Щеголева Л.И. Упражнения и задачи по биологической химии. – М.: Просвещение, 1986. – 151 с.
9. Чоксум С.К. Упражнения и задачи по биологической химии (Аминокислоты. Пептиды. Белки). – Кызыл: ТывГУ, 2000. – 34 с.
10. Чоксум С.К. Учебно-методическое пособие. Биохимия и основы биорегуляции организмов. – Кызыл: ТывГУ, 2006. – 60 с.
11. Филиппович Ю.Б. Основные вопросы биологической химии. – М.: Просвещение, 1969. – 462 с.
12. Биологическая неорганическая химия. Структура и реакционная способность. Том 1 [Электронный ресурс] / Бертини Ивано [и др.]. – Электрон. текстовые данные. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 504 с. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/37019>. – ЭБС «IPRbooks»
13. Биологическая неорганическая химия. Структура и реакционная способность. Том 2 [Электронный ресурс] / Бертини Ивано [и др.]. – Электрон. текстовые данные. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 640 с. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/37020>. – ЭБС «IPRbooks»
14. Биологическая химия [Электронный ресурс]: учебник/ А.Д. Таганович [и др.]. – Электрон. текстовые данные. – Минск: Вышэйшая школа, 2013. – 672 с. – Режим доступа: <http://www.iprbookshop.ru/24052>. – ЭБС «IPRbooks»

Учебное издание

**Ооржак Урана Спартаковна**

**БИОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**  
**Часть 1**

Учебное пособие

Редактор *А.Р. Норбу*  
Дизайн обложки *К.К. Сарыглар*

Сдано в набор: 23.01.2018  
Подписано в печать: 20.02.2018  
Формат бумаги 60×84 <sup>1</sup>/<sub>8</sub>. Бумага офсетная.  
Физ. печ.л. 21,6. Усл. печ.л. 20,2.  
Заказ № 1391. Тираж 25 экз.

667000, г. Кызыл, Ленина, 36  
Тувинский государственный университет  
Издательство ТувГУ