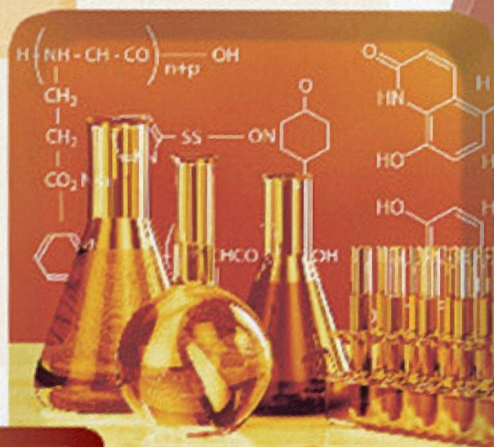


ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева

БИОХИМИЯ

УЧЕБНИК и ПРАКТИКУМ
2-е издание



УМО ВО
РЕКОМЕНДУЕТ

УМО рекомендует

Юрайт
ИЗДАТЕЛЬСТВО
biblio-online.ru

Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева

БИОХИМИЯ

УЧЕБНИК И ПРАКТИКУМ ДЛЯ ВУЗОВ

Под редакцией С. И. Щукина

2-е издание, исправленное и дополненное

Рекомендовано Учебно-методическим отделом высшего образования в качестве учебника и практикума для студентов высших учебных заведений, обучающихся по инженерно-техническим направлениям и специальностям

Рекомендовано Учебно-методическим объединением вузов Российской Федерации по образованию в области радиотехники, электроники, биомедицинской техники и автоматизации в качестве учебника и практикума для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению подготовки дипломированных специалистов «Биомедицинская техника» по специальностям «Биотехнические и медицинские аппараты и системы», «Инженерное дело в медико-биологической практике» и направлению подготовки бакалавров и магистров «Биомедицинская инженерия»

**Книга доступна на образовательной платформе «Юрайт» urait.ru,
а также в мобильном приложении «Юрайт.Библиотека»**

Москва • Юрайт • 2021

УДК 557.1(075.32)

ББК 28.072я723

Е80

Ответственный редактор:

Щукин Сергей Игоревич — доктор технических наук, профессор, декан научно-учебного комплекса «Радиоэлектроника, лазерная и медицинская техника» факультета биомедицинских технических систем и устройств, заведующий кафедрой медико-технических информационных технологий факультета биомедицинской техники Московского государственного технического университета имени Н. Э. Баумана.

Авторы:

Ершов Юрий Алексеевич — доктор химических наук, заслуженный деятель науки Российской Федерации, профессор кафедры медико-технических информационных технологий факультета биомедицинской техники Московского государственного технического университета имени Н. Э. Баумана;

Зайцева Наталья Ильинична.

Рецензенты:

Белобородов В. Л. — доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова;

Саврасов Г. В. — доктор химических наук, профессор факультета биомедицинской техники Московского государственного технического университета имени Н. Э. Баумана.

Ершов, Ю. А.

Е80 Биохимия : учебник и практикум для / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева ; под ред. С. И. Щукина. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2021. — 323 с. — (). — .

ISBN 978-5-534-07505-2

В учебнике на современном научном уровне изложен материал по структурной и метаболической химии. Содержатся сведения по химическому составу биологических систем и структурной организации живой материи, описаны последовательности основных метаболических реакций, а также представлены главные направления развития этой новой отрасли науки и техники.

Соответствует актуальным требованиям Федерального государственного образовательного стандарта образования и требованиям,

Для студентов , обучающихся -
техническим специальностям.

УДК 557.1(075.32)

ББК 28.072я723

Рыскиваем правообладателей: <https://www.biblio-online.ru/inform>

Пожалуйста, обратитесь в Отдел договорной работы: +7 (495) 744-00-12; e-mail: expert@urait.ru

© Ершов Ю. А., Зайцева Н. И., 2016

© Ершов Ю. А., Зайцева Н. И., 2016,
с изменениями

© ООО «Издательство Юрайт», 2021

ISBN 978-5-534-07505-2

Оглавление

Предисловие	6
Глава 1. Особенности биогенных вещества биохимических превращений	9
1.1. Предмет, методы и объекты биохимии	9
1.2. Химические процессы в высокоорганизованных системах.....	10
1.3. Клетка — основной структурный элемент живой материи	14
1.4. Состав живой материи	21
Глава 2. Вода и ее роль в процессе жизнедеятельности.....	25
2.1. Коллигативные свойства воды. Осмотическое давление плазмы крови. Гомеостаз.....	25
2.2. Кислотно-основной статус человека	29
2.3. Теория кислот и оснований	30
2.4. Буферные свойства растворов.....	33
2.5. Экспериментальное определение кислотно-основных свойств органических соединений методом титриметрии	39
Глава 3. Аминокислоты и белки	41
3.1. Общие структурные свойства аминокислот	42
3.2. Белки и их главные биологические функции	55
3.3. Структура белков	66
3.4. Классификация белков. Биологические функции белков.....	69
Глава 4. Ферменты — биокатализаторы	75
4.1. Каталитическая активность ферментов	75
4.2. Реакционная и субстратная специфичность	77
4.3. Классификация ферментов на основе реакционной и субстратной специфичности	79
4.4. Активные центры ферментов	83
4.5. Активаторы и ингибиторы ферментов.....	86
Глава 5. Кинетика биологических процессов.....	88
5.1. Кинетические уравнения. Порядок реакции. Период полупревращения	88
5.2. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, среды и температуры. Уравнение Михаэлиса — Ментен и его параметры	97
5.3. Фармакокинетика	101

Глава 6. Углеводы	103
6.1. Моносахариды	103
6.2. Олиго- и полисахариды	106
Глава 7. Липиды и биомембраны	111
7.1. Биологические функции липидов	111
7.2. Жирные кислоты	112
7.3. Триацилглицериды — запасаемая форма липидов	113
7.4. Краткая характеристика клеточных мембран	114
7.5. Фосфо- и сфинголипиды — структурные компоненты биомембран	115
7.6. Стероидные липиды. Липопротеины	120
7.7. Мицеллярные растворы липидов. Образование мембран	121
Глава 8. ДНК И РНК — хранение и реализация наследственной информации.....	124
8.1. Строение и функции ДНК и РНК	124
8.2. Азотистые основания и нуклеотиды	126
8.3. Нуклеотиды и их функции	129
8.4. Первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры ДНК ...	131
8.5. Генетический код. Репликация ДНК	134
8.6. Денатурация и ренатурация ДНК	136
Глава 9. Витамины — незаменимые компоненты пищи	139
9.1. Номенклатура и классификация витаминов	139
9.2. Характеристика и физиологическое значение витаминов	141
Глава 10. Минеральные вещества и микроэлементы	159
10.1. Роль минеральных веществ и микроэлементов в процессе жизнедеятельности	159
10.2. Использование макро- и микроэлементов в биомедицинской практике	162
Глава 11. Метаболизм и биоэнергетика.....	171
11.1. Энергетическая взаимосвязь анаболизма и катаболизма	171
11.2. АТФ и NADPH — переносчики энергии от катаболических реакций к анаболическим	173
11.3. Термодинамические основы биохимии	175
11.4. Прогноз направления метаболической реакции	181
11.5. Энергия Гиббса гидролиза АТФ	185
Глава 12. Метаболизм углеводов	188
12.1. Гликолиз — центральный путь катаболизма глюкозы	188
12.2. Спиртовое и молочно-кислое брожение	191
Глава 13. Цикл лимонной кислоты (Кребса)	193
13.1. Роль ацетил-СоА. Вторичные пути катаболизма глюкозы	193
13.2. Окислительно-восстановительные реакции, сопряженные с образованием АТФ, и их стандартные потенциалы	197

13.3. Транспорт электронов в процессе окислительного фосфорилирования. Дыхательная цепь митохондрий и ее компоненты	200
13.4. Взаимосвязь регуляторных механизмов гликолиза, цикла лимонной кислоты и окислительного фосфорилирования	206
Глава 14. Метаболизм жиров	208
14.1. Пути и энергетика метаболизма жирных кислот в тканях животных. Двухстадийная модель окисления жирных кислот.....	208
14.2. Регуляция биосинтеза жирных кислот. Биосинтез триацилглицеридов, глицерофосфатидов и фосфатидилхолина	214
14.3. Гормональная регуляция биосинтеза триацилглицеридов. Биосинтез холестерина и других стероидов. Генетические дефекты липидного обмена. Лизосомные болезни	219
Глава 15. Метаболизм аминокислот и нуклеотидов	222
15.1. Пути и энергетика метаболизма аминокислот в тканях животных ..	222
15.2. Наследственные нарушения катаболизма фенилаланина.....	228
15.3. Выведение аминного азота из организма	231
15.4. Биосинтез мочевины (орнитиновый цикл).....	232
15.5. Небелковые азотистые компоненты крови.....	235
15.6. Биосинтез аминокислот	235
15.7. Пути и энергетика биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов.....	238
15.8. Круговорот азота в природе. Биофиксация азота	252
Глава 16. Биосинтез углеводов.....	255
16.1. Пути и энергетика глюконеогенеза. Глюконеогенез в период восстановления после мышечной работы	255
16.2. Общее уравнение фотосинтеза растений. Пути и энергетика фотосинтеза глюкозы из CO ₂ . Крахмал и целлюлоза. Цикл Кальвина	263
Глава 17. Основы биотехнологии	269
17.1. Промышленное применение приемов и методов биотехнологии.....	269
17.2. Биохимические основы биотехнологий получения и переработки сырья	273
17.3. Управление биотехнологическими процессами	274
17.4. Основные понятия биотехнологии.....	276
Вопросы и задачи	287
Приложение	306
Таблицы. Питание, пищеварение, выделение.....	306
Предметный указатель	309
Рекомендуемая литература	321
Новые издания по дисциплине «Биохимия» и смежным дисциплинам.....	322

Предисловие

Современная биохимия, изучающая протекание химических реакций в организме, представляет обширную научную область, в которую входят почти все отрасли химии и биологии. Высокий уровень знаний по этим дисциплинам — необходимое условие эффективной подготовки инженеров для работы в областях, смежных с медициной: биотехнологии и медицинской техники.

Данный учебник ориентирован на изучение биологической химии (биохимии) в техническом колледже.

В учебнике на современном научном уровне изложен материал по структурной и метаболической биохимии. Рассмотрены основные биохимические компоненты организма человека и их роль в обеспечении различных биохимических процессов и физиологических функций организма. Особое внимание уделено физико-химической сущности биохимических процессов. На молекулярном уровне рассмотрены механизмы тех явлений, с которыми приходится встречаться в медицинской практике.

Каждая глава учебника содержит информацию, необходимую специалисту при рассмотрении физико-химической сущности процессов и их механизмов, происходящих в живом организме на молекулярном и клеточном уровнях. Представлены методы, позволяющие выполнять расчет различных характеристик процессов. Такие знания позволят более глубоко понять функции как отдельных систем, так и организма в целом, а также его взаимодействие с технической аппаратурой.

Первые главы учебника содержат материал по химическому составу биологических систем и структурной организации живой материи, а также физико-химические законы, определяющие функциональные свойства биогенных веществ. Здесь же обсуждаются принципы структурной организации биомолекул, рассматриваются структура и химические свойства белков, нуклеиновых кислот, углеводов и липидов, содержится информация о теории растворов, рассмотрены основные вопросы кинетики химических реакций и основы ферментативной кинетики. Изложение общих положений современной теории растворов электролитов служит основой для последующего изучения электролитного баланса человеческого организма и выяснения последствий его нарушения. Кроме того, представленный теоретический материал является ключевым для понимания важнейшей роли буферных систем организма и кислотно-основного статуса крови человека, а также

роли гидролитических процессов в метаболизме. Изложенные основы ферментативной кинетики дают представление о методах научного подхода к изучению механизмов протекания метаболических процессов и каталитической активности ферментов.

В последующих главах описаны последовательности основных метаболических реакций. Вначале студент знакомится с такими важнейшими теоретическими обобщениями, как первое и второе начало термодинамики, некоторыми основными понятиями термодинамики открытых систем. Здесь приведены практические сведения по определению термодинамических параметров биохимических процессов. Изложенный материал позволит читателю получить представление об энергетическом балансе человеческого организма, о специфических особенностях преобразования одних видов энергии в другие в процессах жизнедеятельности. Далее рассмотрены метаболические пути превращения основных биомолекул: углеводов, белков и жиров. При этом акцент сделан на то, что многие на первый взгляд сложные процессы метаболизма легко понять, если рассматривать их как этапы, необходимые для сопряжения реакции расщепления аденозинтрифосфата с реакциями биосинтеза.

Последняя глава книги посвящена вопросам биотехнологии. Представлены основные направления развития этой новой отрасли науки и техники. Особое внимание уделено современным научным подходам к математическому моделированию биотехнологических процессов микробиологического синтеза, начиная от моделей накопления биомассы, антибиотиков, аминокислот и других продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и заканчивая моделями, учитывающими возрастную структуру популяции, автоселекцию и адаптацию микробных сообществ.

Заключают книгу контрольные вопросы и задачи, разбитые по главам в соответствии с изложенным в них материалом.

Авторы надеются, что учебник будет полезен в процессе подготовки в технических вузах квалифицированных специалистов, которые впоследствии будут работать в смежных с медициной областях, и с благодарностью примут критические замечания и пожелания по изложенным в нем материалам.

В результате изучения материалов курса студент должен освоить:

трудовые действия

- владения навыками написания химических формул и реакций;
- расчета энергетики и кинетики химических реакций;
- описания кинетики химических реакций с помощью дифференциальных уравнений;
- анализа кинетических кривых протекания химических реакций во времени;

необходимые умения

- рассчитывать кислотность буферных смесей инъекционных растворов и жидких сред организма;

- характеризовать первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуру белков, входящих в состав организма;
- классифицировать углеводы, липиды, нуклеотиды;
- описывать центральные метаболические пути;
- количественно описывать динамику биохимических и физиологических процессов с помощью дифференциальных уравнений биокинетики;
- согласовывать параметры медицинских систем для хирургии, терапии и диагностики с биохимическими характеристиками организма;

необходимые знания

- закономерностей кислотно-основных свойств буферных систем организма; структур аминокислот, пептидов и белков; функционирования ферментов, фармакокинетики; структур моно-, олиго- и полисахаридов; структур липидов и мембран; структур и функций ДНК и РНК; метаболизма основных биоконпонентов организма; биоэнергетики;
- величин, характеризующих кислотность буферных систем организма; динамики функционирования ферментов и фармакокинетику; биоэнергетики метаболических и физиологических процессов; биохимический состав тест проб в норме и патологии;
- понятий биомолекулы, биологические растворы, аминокислоты и пептиды, белки, углеводы, липиды мембраны, пиримидиновые основания, ДНК и РНК, витамины и микроэлементы, АТР-цикл, гликолиз, цикл лимонной кислоты, константа Михаэлиса, константы поступления, всасывания и элиминации лекарственных веществ;
- методики построения структурных формул основных биохимических компонентов организма; описания основных биохимических реакций в организме; расчета энергетики биохимических превращений; расчета кинетики биохимических превращений; построения метаболических путей.

Глава 1

ОСОБЕННОСТИ БИОГЕННЫХ ВЕЩЕСТВ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ

Биологическая химия (биохимия) — наука о веществах, входящих в состав живых организмов, и о химических превращениях одних биогенных (синтезируемых живой природой) веществ в другие.

Иными словами, биохимия — это органическая химия биогенных веществ. Биохимия изучает процессы, протекающие в организме, как *in vivo* (в живых системах), так и *in vitro* (в колбе). Провести четкие границы между биохимией и смежными науками, такими как биология, клетки, анатомия, физиология, генетика и фармакология, достаточно сложно, и чаще всего эти границы весьма произвольны. Перекрытие этих областей знаний не случайно: зачастую у них общие объекты исследований, например нервная клетка, митохондрия и т.д., различны лишь подходы и методы изучения.

1.1. Предмет, методы и объекты биохимии

Биохимия сформировалась в самостоятельную науку в XIX в. Принципиальное значение для развития биохимии имел первый синтез мочевины — вещества, являющегося конечным продуктом белкового обмена у большинства позвоночных и человека, проведенный Ф. Велевром в 1828 г. и подорвавший существовавшие до этого представления о «жизненной силе», якобы участвующей в синтезе различных веществ, который происходит в организме. Внедрение в биологию идей и методов физики и химии, а также стремление объяснить различные биологические явления, такие как наследственность, изменчивость, мышечное сокращение, строением и свойствами биополимеров привело в середине XX в. к выделению из биохимии молекулярной биологии. Биохимия — одна из наук, входящих в комплекс, включающий физико-химическую биологию (совместно с молекулярной биологией), биофизику и биоорганическую химию.

Основной задачей биохимии является изучение химического состава живых организмов и химических процессов, лежащих в основе их жизнедеятельности.

Предметом изучения современной биохимии являются функции биологических систем. Связь между химическими и физическими

явлениями, лежащими в основе этих функций, изучает *физическая биохимия* — количественная биохимия, основанная на теоретических и экспериментальных методах физической химии, которая определяет законы протекания химической реакции, ее скорость, выход продуктов в зависимости от свойств участвующих в ней веществ и условий протекания процесса. Биохимические реакции осуществляются только в водной среде, как правило, при низкой (для человека около 37°C) и постоянной температуре.

В физической химии используемые для исследований методы анализа подразделяют на физические и химические. К *физическим* относятся методы, не разрушающие изучаемый объект и базирующиеся в основном на спектральных свойствах вещества. Разделы физической химии, положения которых применяются при исследованиях, — это термодинамика, химическая кинетика, строение вещества.

Химический анализ может быть качественным (т.е. отвечать на вопрос, из каких веществ состоит данная биологическая проба или объект) и количественным (сколько того или иного вещества находится в объекте или пробе). Химический анализ — это предмет изучения аналитической химии. При помощи количественного химического анализа было определено, например, что в человеке содержится около 10 кг сухого вещества.

Процессы, с которыми имеют дело биохимики, — одна из специфических форм протекания химических процессов. Главной особенностью биологических систем является высокий уровень их организации. Биохимия дает представление о том, как химические законы проявляются в таких высокоорганизованных системах.

1.2. Химические процессы в высокоорганизованных системах

Понятие живой материи ввел В. И. Вернадский. Живым веществом он назвал совокупность масс всех организмов. Живой мир чрезвычайно многообразен. К настоящему времени биологи описали более миллиона видов живых организмов. Масса живого вещества на планете оценивается в 10^{13} — 10^{14} т. Каждый организм представляет собой совокупность упорядоченно взаимодействующих структур, образующих единое целое, называемое *системой*. В живых системах процессы протекают непрерывно в сложных последовательных и параллельных химических реакциях, в результате которых происходит рост, деление, питание, выделение клеток, а также их движение и взаимодействие между собой.

В биохимии вся совокупность химических превращений в живом организме объединена понятием *метаболизм* (*обмен веществ*). Органические вещества неживого происхождения называют *абиогенными* веществами, а продукты метаболизма — *биогенными* веществами.

Отличительными признаками живого объекта являются следующие.

1. Высокая организация при сложном внутреннем строении. Любая составная часть организма имеет специальное назначение и выполняет определенные функции (клеточное строение и специфичность клеток организма).

2. Способность к самовоспроизведению (рост, размножение).

3. Способность извлекать, преобразовывать и использовать энергию окружающей среды.

4. Умение «обучаться» (термин, под которым подразумевается как способность реагировать на воздействие окружающей среды, изменяться, приспособляясь к ее условиям, так и приобретение новых навыков и свойств под воздействием этих условий — адаптация, развитие).

5. Способность живого организма поддерживать постоянный состав внутренней среды вопреки резким изменениям внешних условий.

Биохимические превращения выполняют следующие основные функции:

1) снабжение химической энергией за счет расщепления богатых энергией пищевых веществ;

2) превращение молекул пищевых веществ в строительные блоки, используемые в последующих метаболических процессах для построения клеточных компонентов (макромолекул);

3) сборка клеточных компонентов (белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов и пр.);

4) синтез и разрушение биомолекул, выполняющих специфические функции клетки.

Живые клетки поддерживают свою внутреннюю упорядоченность в динамическом стационарном состоянии за счет веществ и свободной энергии, поступающих из внешней среды и преобразуемых в процессе метаболизма.

Для синтеза органических веществ живые организмы используют неорганические вещества: воду, углекислый газ, аммиак, соли. Различия между растениями и животными состоят в том, что у животных подобный синтез происходит в значительно меньших объемах, так как ряд веществ поступает в их организм уже в «готовом» виде.

Живые организмы способны синтезировать большое количество соединений жирного и ароматического рядов. В синтезе углеводов в организме участвуют органические молекулы, имеющие в своем составе три атома углерода: молекулы молочной кислоты, пировиноградной кислоты, глицерина и т.п. Эти вещества получили название *гликогенообразователей*, так как с их участием в печени происходит синтез гликогена.

Из продуктов превращения углеводов в организме образуются жиры. Из промежуточных продуктов превращения углеводов и жиров синтезируются некоторые α -кетокислоты: щавелевоуксусная, α -кетоглутаровая, пировиноградная и др. α -Кетокислоты, присоединяя аммиак, превращаются в соответствующие аминокислоты. Однако в организмах животных происходит синтез не всех необходимых для

жизнедеятельности аминокислот. Полный набор аминокислот, требующийся для образования белков, синтезируется только в зеленых растениях. Животные организмы способны к синтезу только некоторых циклических соединений, например холестерина, основным «строительным» материалом которого является уксусная кислота. Организм человека не может синтезировать «простую» молекулу, имеющую бензольное кольцо, но легко синтезирует гетероциклические соединения — производные пурина, пиримидина и пиррола. Исходными материалами для синтеза пурина являются молекулы глицина, углекислого газа, муравьиной кислоты и глутамина. В синтезе пиримидина участвуют карбаминовая и янтарная кислоты.

Все живые организмы подразделяют на две группы в зависимости от способа усвоения поступающего из среды углерода.

Автотрофные клетки используют в качестве единственного источника углерода углекислый газ (CO_2), из которого они строят углеродсодержащие биомолекулы. К этой группе принадлежат фотосинтезирующие бактерии и клетки зеленых растений.

Гетеротрофные клетки получают углерод в виде достаточно сложных органических соединений, например глюкозы. К ним относятся клетки животных и большинства микроорганизмов.

Следует отметить, что в природе существуют организмы, содержащие оба описанных выше типа клеток (авто- и гетеротрофные). Такие организмы носят название *миксотрофы* (от греч. *mixis* — смешение и *trophe* — пища, питание). Эти организмы обладают способностью питаться как неорганическими, так и органическими веществами. К миксотрофам относятся имеющие хлорофилл жгутиковые, способные в сильно загрязненных водоемах питаться органическими веществами, а также растения-полупаразиты, насекомоядные растения.

В биосфере автотрофы и гетеротрофы сосуществуют как участники единого цикла, при котором осуществляется непрерывный круговорот углерода и кислорода между животным и растительным миром (рис. 1.1). Источником энергии этого процесса является Солнце.

Помимо углерода, кислорода и энергии всем живым организмам необходим азот. Азот требуется для синтеза аминокислот, пуриновых и пиримидиновых оснований. Из 20 необходимых аминокислот человек получает «готовыми» из пищи только 10, которые организм не способен синтезировать сам. Растения могут синтезировать все аминокислоты из азота и его соединений. Поскольку основное количество азота (80 %) содержится в газообразном виде (N_2), все живое, в конечном счете, зависит от организмов, способных его фиксировать. Азот фиксируют, например, цианобактерии (сине-зеленые водоросли). Они ведут независимое существование, поскольку полностью автотрофны, т.е. усваивают азот, углекислый газ и способны к фотосинтезу. Азотфиксирующие бактерии, как правило, живут в почве. Некоторые из них существуют в виде симбионтов на корневых клубеньках растений. Нитрифицирующие бактерии окисляют аммиак до нитритов и нитратов,

а денитрифицирующие вновь превращают нитраты в аммиак. Таким образом, азот, как углерод и кислород, совершает непрерывный круговорот (рис. 1.2).

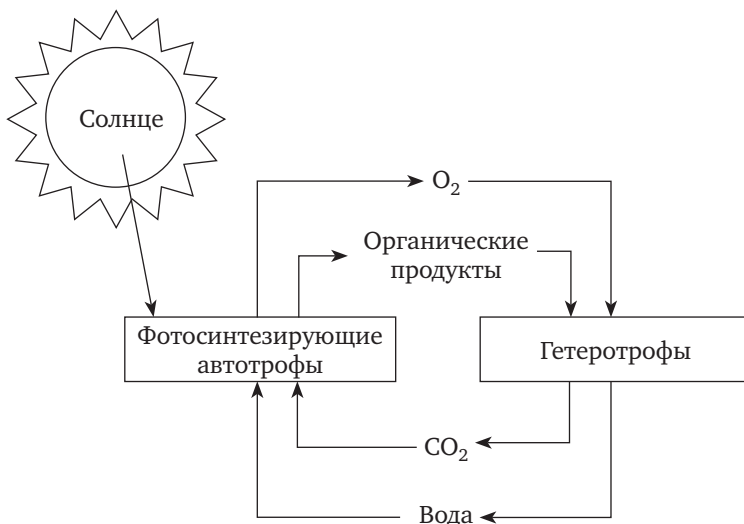


Рис. 1.1. Круговорот углерода и кислорода между животным и растительным миром

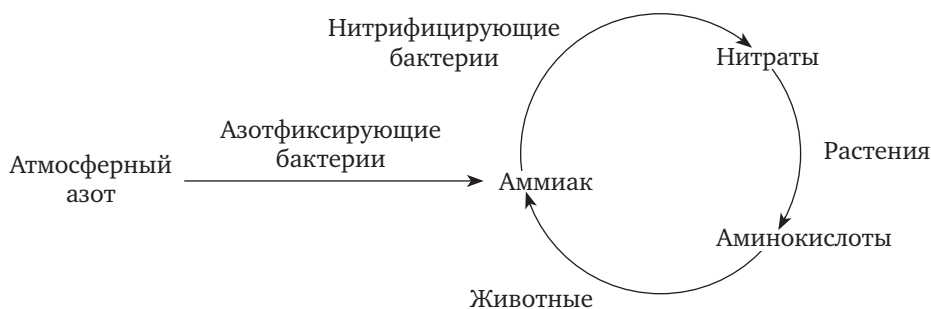


Рис. 1.2. Круговорот азота в биосфере

Все метаболические процессы — *цепные*, и их можно подразделить на цепи биосинтеза (*анаболизма*) и цепи деградации (*катаболизма*).

Цепные процессы (реакции) можно представить так:

вещество		вещество		вещество		вещество	
A	→	B	→	C	→	D	→...

Цепные реакции образуют сети, состоящие как из процессов ассимиляции (синтеза), так и диссимиляции (распада).

Ассимиляция — *анаболизм* — накопление, потребление, синтез — связана с ростом и развитием. Диссимиляция — *катаболизм* — выделение, распад, деструкция (химическое расщепление) — связана, в част-

ности, со старением организма и отмиранием каких-либо органов в процессе жизнедеятельности, рассасывания.

Ассимиляционный и диссимиляционный процессы связаны между собой так, что сохраняется постоянство внутренней среды в организме по всем показателям для обеспечения нормальной жизнедеятельности в окружающей среде.

Динамическое постоянство внутренней среды (крови, лимфы, тканевой жидкости) и устойчивость основных физиологических функций (кровообращения, дыхания, терморегуляции, обмена веществ и т.д.) организма человека и животных называется *гомеостазом*.

Минимальный объем веществ, необходимый для поддержания жизни человека, находящегося в состоянии покоя, называется *основным обменом*. Например, в организм человека для обеспечения основного обмена требуется вводить 100 г белка в сутки.

Клеточный метаболизм — это система ферментативных превращений как веществ, так и энергии, начинающихся от исходных веществ и завершающихся биосинтезом живой материи. Простейшими единицами метаболической активности являются *ферменты*, каждый из которых, как правило, катализирует какую-нибудь одну химическую реакцию. Поскольку метаболические процессы — это последовательные превращения, то можно говорить о мультиферментных системах, действующих совместно в определенной последовательности.

Большинство ферментов представляет собой растворимые в воде *глобулярные белки*, каталитическими свойствами могут обладать также и структурные белки клетки.

1.3. Клетка — основной структурный элемент живой материи

Живая природа является неоднородной целостной системой, которой свойственна иерархическая организация (рис. 1.3). Совокупность всех живых организмов и среды их обитания называют *биосферой*.

Клетка является структурной и функциональной основой живых существ. Клеточная теория сформулирована Маттиасом Шлейденом и Теодором Шванном в 1838 г. Современная клеточная теория исходит из того, что клеточная структура является главнейшей формой существования жизни, присущей как растениям, так и животным. Совершенствование клеточной структуры явилось главным направлением эволюционного развития растений и животных, и клеточное строение прочно удержалось у большинства современных организмов.

Современная клеточная теория включает следующие основные положения.

1. Клетка — основная единица строения и развития всех живых организмов, наименьшая единица живого.

2. В сложных многоклеточных организмах клетки различаются (дифференцированы) по выполняемой ими функции и образуют ткани;

из тканей состоят органы, которые тесно связаны между собой и подчинены нервным и гуморальным системам регуляции.

3. Клетки всех одноклеточных и многоклеточных организмов гомологичны по своему строению, химическому составу, основным проявлениям жизнедеятельности и обмену веществ.

4. Размножение клеток происходит путем их деления. Положение о генетической непрерывности относится не только к клетке в целом, но и к некоторым из ее более мелких компонентов — генам и хромосомам, а также к генетическому механизму, обеспечивающему передачу вещества наследственности следующему поколению.

5. Многоклеточный организм представляет собой новую систему, сложный ансамбль из множества клеток, объединенных в системе тканей и органов, связанных друг с другом с помощью химических, гуморальных и нервных факторов (молекулярная регуляция).

6. Клетки многоклеточных *тотипотентны*, т.е. обладают генетическими потенциями всех клеток данного организма, равнозначны по генетической информации, но разной экспрессией (работой) генов, что приводит к их морфологическому и функциональному разнообразию (дифференцировке).

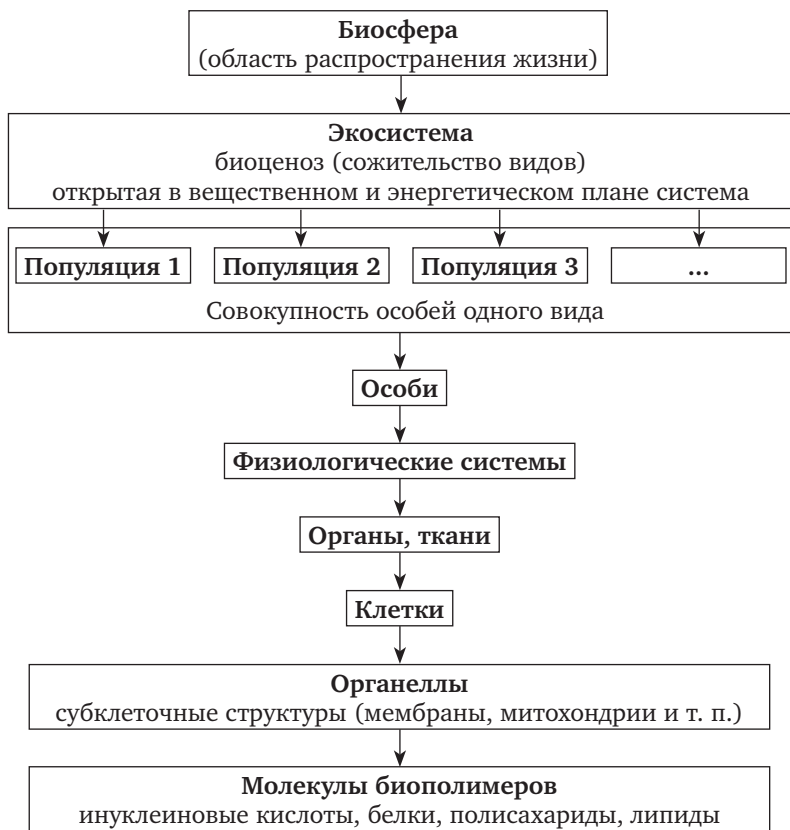


Рис. 1.3. Иерархическая организация живой природы

Иными словами, практически все биохимические реакции (на 95 %) протекают в клетке; состав клеток определяет состав организма, а превращения, происходящие в клетке, — его жизнедеятельность.

Значение клеточной теории состоит в том, что она доказывает единство происхождения всех живых организмов на Земле.

В общем смысле *структура* — это совокупность элементов, связанных между собой. Например, совокупность клеток определяет структуру организма. Биоэнергетический процесс в организме осуществляется через совокупность клеток. *Клеточная структура* — это совокупность элементов (органелл), входящих в состав клетки.

Клетки подразделяют на два больших класса (рис. 1.4): *прокариотические* (ПК) и *эукариотические* (ЭК).



Рис. 1.4. Схематическое изображение строения прокариотических (а) и эукариотических (б) клеток

Термины «прокариот» и «эукариот» возникли от древнегреческого «карион» — орех, ядро и обозначают *прокариот* — до ядра и *эукариот* — с ядром.

Клетки прокариотического типа морфологически не структурированы (цитоплазма и ядро не разделены мембранами). По такому типу построены клетки бактерий и сине-зеленых водорослей (цианобактерий).

Клетки эукариотического типа подразделяют на растительные и животные. Эукариотические клетки структурированы — все компоненты отделены мембранами.

Между прокариотическими и эукариотическими клетками существует множество и иных различий. У большинства прокариотических клеток нет внутренних мембранных органелл, а у большинства эукариотических есть митохондрии и хлоропласты. Эти полуавтономные органеллы — потомки бактериальных клеток. Таким образом, эукариотическая клетка — система более высокого уровня организации, она не может считаться целиком гомологичной клетке бактерии (клетка бактерии гомологична одной митохондрии клетки человека). Итак, гомология всех клеток свелась к наличию у них замкнутой наружной мембраны из двойного слоя фосфолипидов (у архебактерий она имеет иной химический состав, чем у остальных групп организмов), рибосом и хромосом — наследственного материала в виде молекул ДНК, образующих комплекс с белками.

Общее происхождение всех клеток подтверждается единством их химического состава. В табл. 1.1 представлены строение и функции основных компонентов клеток (органелл).

Таблица 1.1

Строение эукариотической клетки

Органеллы	Строение	Функции
Клеточная мембрана	Клеточная мембрана представляет собой двойной слой молекул класса липидов, которые имеют гидрофильную («головка») и гидрофобную («хвост») часть	Мембрана отделяет содержимое клетки от внешней среды или разделяет клетку на специализированные замкнутые отсеки — компартменты, или органеллы, в которых поддерживаются определенные условия внутриклеточной среды. У растений располагается внутри клеточной стенки
Ядро	Клетки эукариот обычно имеют одно ядро, отделенное от цитоплазмы двуслойной ядерной оболочкой. Ядерная оболочка — производное эндоплазматического ретикулула, состоит из двух слоев — внешнего и внутреннего. Внутри ядерной оболочки располагаются компоненты ядра: хроматин, кариоплазма и оптически плотные ядрышки	Ядро — органелла эукариотической клетки, содержащая генетическую информацию в форме ДНК
Эндоплазматический ретикулум (ЭПР)	Эндоплазматический ретикулум — разветвленная сеть трубочек и карманов, окруженных мембраной. Выделяют два вида ЭПР: гранулярный и агранулярный (гладкий). На поверхности гранулярного эндоплазматического ретикулула находится большое количество рибосом	При участии эндоплазматического ретикулула происходит транспорт белков, синтез и транспорт липидов и стероидов. Для ЭПР характерно также накопление продуктов синтеза

Продолжение табл. 1.1

Органеллы	Строение	Функции
Аппарат Гольджи (АГ)	АГ — мембранная структура эукариотической клетки, в основном предназначенная для выведения веществ, синтезированных в ЭПР	В цистернах аппарата Гольджи созревают белки, предназначенные для секреции наружу, трансмембранные белки плазматической мембраны, белки лизосом и т.д.
Лизосомы	Лизосома — клеточный органоид, содержащий ряд ферментов — гидролаз, способных расщеплять белки, липиды и нуклеиновые кислоты, катепсины (тканевые протеазы), рибонуклеазы, кислую рибонуклеазу, кислую фосфатазу, фосфолипазу	Органелла служит для переваривания захваченных клеткой частиц и ненужных клетке структур, например, во время замены старых органоидов новыми
Митохондрии	Микроскопические органеллы, имеющие двухмембранное строение. В матриксе митохондрии (полужидком веществе) находятся ферменты, рибосомы, ДНК, РНК	Универсальная органелла является дыхательным и энергетическим центром
Лейкопласты (пластиды)	Микроскопические органеллы, имеющие двухмембранное строение. Форма округлая, бесцветны	Характерны для растительных клеток, служат местом отложения запасных питательных веществ, главным образом крахмальных зерен
Хлоропласты (пластиды)	Микроскопические органеллы, имеющие двухмембранное строение. В белково-липидном матриксе находятся собственные рибосомы, ДНК, РНК	Характерные для растительных клеток органеллы фотосинтеза
Хромопласты	Микроскопические органеллы, имеющие двухмембранное строение. Окраска красная, оранжевая, желтая	Характерны для растительных клеток. Придают лепесткам цветков окраску, привлекательную для насекомых-опылителей
Клеточный центр	Ультрамикроскопическая органелла немембранного строения. Состоит из двух центриолей	Принимает участие в делении клеток животных и низших растений

Окончание табл. 1.1

Органеллы	Строение	Функции
Органоиды движения	Реснички — многочисленные цитоплазматические выросты на поверхности мембраны	Удаление частичек пыли (реснитчатые эпителии верхних дыхательных путей), передвижение (одноклеточные организмы)
	Жгутики — единичные цитоплазматические выросты на поверхности клетки	Передвижение (сперматозоиды, зооспоры, одноклеточные организмы)
	Ложные ножки (псевдоподии) — амёбовидные выступы цитоплазмы	Образуются у животных в разных местах цитоплазмы для захвата пищи, передвижения
	Миофибриллы — тонкие нити длиной до 1 см и более	Служат для сокращения мышечных волокон, вдоль которых они расположены
	Цитоплазма, осуществляющая струйчатое и круговое движение	Перемещение органелл клетки по отношению к источнику света (при фотосинтезе), тепла, химического раздражителя
Клеточные включения	К клеточным включениям относят углеводы, жиры и белки, накапливающиеся в цитоплазме в виде капель, зерен и кристаллов	Клеточные включения синтезируются или накапливаются в клетках и используются в ходе обмена веществ

Общие признаки растительной и животной клетки:

- 1) единство структурных систем — цитоплазмы и ядра;
- 2) сходство процессов обмена веществ и энергии;
- 3) единство принципа наследственного кодирования;
- 4) универсальное мембранное строение;
- 5) единство химического состава;
- 6) сходство процесса деления клеток.

Отличительные признаки растительной и животной клетки приведены в табл. 1.2.

Разные виды клеток в разной мере нуждаются в тех или иных органеллах. Например, мышечные клетки богаты митохондриями, так как им необходимо большое количество АТФ, а зрелые эритроциты вообще лишены органелл.

Отличительные признаки растительной и животной клетки

Признаки	Растительная клетка	Животная клетка
Способ питания	Автотрофный (фототрофный, хемотротрофный)	Гетеротрофный (сапротрофный, хемотротрофный)
Синтез АТФ	В хлоропластах, митохондриях	В митохондриях
Расщепление АТФ	В хлоропластах и всех частях клетки, где необходимы затраты энергии	В хлоропластах и всех частях клетки, где необходимы затраты энергии
Пластиды	Хлоропласты, хромопласты, лейкопласты	Отсутствуют
Клеточный центр	У низших растений	Во всех клетках
Вакуоли	Крупные полости, заполненные клеточным соком — водным раствором различных веществ, являющихся запасными или конечными продуктами; осмотические резервуары клетки	Сократительные, пищеварительные, выделительные; обычно мелкие
Включения	Запасные питательные вещества в виде зерен крахмала, белка, капель масла; в вакуоли с клеточным соком; кристаллы солей	Запасные питательные вещества в виде зерен и капель (белки, жиры, углевод гликоген); конечные продукты обмена, кристаллы солей; пигменты
Целлюлозная клеточная стенка	Расположена снаружи от клеточной мембраны	Отсутствует

Реакции в живых клетках протекают в объемах, строго ограниченных размерами клетки или ее органеллы, стенки которых имеют толщину порядка нескольких молекул. Объемы этих «реакционных сосудов» чрезвычайно малы. Так, объем клетки *Escherichia coli* (*E. coli*) составляет $\sim 2 \cdot 10^{-12}$ мл (геометрическая форма — вытянутый цилиндр длиной около 2 мкм, толщина ее стенки — 10 нм). Размеры большинства клеток животных организмов (в том числе и человека) на порядок больше. Самыми мелкими из всех известных клеток являются сферические клетки с диаметром около 0,33 мкм — микоплазмы (один из видов микоплазм *Mycoplasma pneumoniae* может вызывать первичную — атипичную — пневмонию). Малые размеры позволяют микоплазмам легко проходить через фильтры, задерживающие более крупные бактерии. Ниже представлены примерные размеры некоторых биологических объектов (нм):

Молекула глюкозы.....	0,7
Белковая молекула малых размеров (например, миоглобин).....	3,5
Белковая молекула средних размеров (например, гемоглобин).....	6,8
Рибосома <i>Escherichia coli</i>	18
Вирус полиомиелита.....	30
Вирус табачной мозаики.....	300
Клетка <i>Escherichia coli</i>	2000
Клетка печени.....	20 000

Оптимальное соотношение между площадью поверхности клетки и ее объемом позволяет обеспечивать поступление необходимого количества питательных веществ внутрь клетки для протекания метаболических процессов. Например, клетки, основная функция которых состоит в поглощении питательных веществ из окружающей среды (клетки, выстилающие просвет тонкого кишечника или клетки корневых волосков растений), для оптимального выполнения своей роли увеличивают площадь своей поверхности, соприкасающейся с питательными веществами, за счет микроворсинок.

1.4. Состав живой материи

Биогенные, макро-, микро- и примесные элементы

Органические макромолекулы, синтезируемые живым организмом, называются *биомолекулами*. В качестве «сырья» для синтеза биомолекул используются либо «готовые» органические вещества, либо синтезируемые организмом. В состав биомолекул входят атомы тех же элементов, что и в состав неживой природы, но их содержание иное.

Поступление элементов в живой организм из окружающей среды обусловлено следующими факторами:

- 1) нахождением элемента в природе в доступной форме (обычно в виде водорастворимых солей);
- 2) способностью организма усваивать элемент;
- 3) способностью его накапливать.

В химии принято считать, что отбор элементов при формировании живых организмов сводится к отбору тех из них, которые способны к образованию прочных, но в то же время лабильных связей. Эти связи должны легко подвергаться гомолитическому или гетеролитическому разрыву, а также циклизации.

Состав живого организма можно разделить на вещественный (химические вещества) и элементарный (химические элементы) (рис. 1.5).

Вещественный (химический) состав определяется набором химических веществ, из которых состоит организм (табл. 1.3).

В среднем химический состав определяется элементным составом, который можно вычислить по формуле $W_i = m_i/m$ — массовая доля, где m_i — масса i -го элемента, m — суммарная масса элементов.

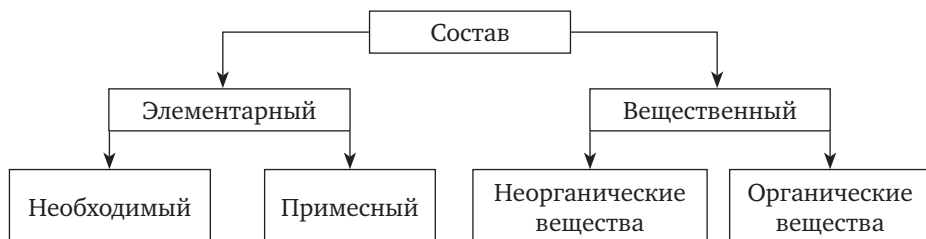


Рис. 1.5. Состав живого организма

В живых организмах обнаружено около 80 химических элементов, но достоверно известно о выполняемых в организмах функциях лишь 27 из них. Установление необходимости (эссенциальность) того или иного элемента для организма начинается с проведения элементного анализа, для чего обычно используются различные абсорбционные спектрометры.

Таблица 1.3

Вещественный (химический) состав живых организмов

Химическое вещество	Состав, %	
Вода	70	—
Органические вещества	20	Низкомолекулярные: липиды, углеводы (сахара) и т.п. Высокомолекулярные: белки, полисахариды, нуклеиновые кислоты
Неорганические вещества	10	Микроэлементы, макроэлементы, примесные элементы

По количественному содержанию в живом веществе элементы подразделяются на следующие группы:

- *органогенные (биофильные, биогенные)* элементы, жизненно необходимые организму, концентрация каждого из которых превышает 1 %. Это С, Н, N, О. На их долю приходится 98 % элементарного состава всех живых организмов;
- *макроэлементы {необходимые элементы}*, без которых не может осуществляться нормальная жизнедеятельность организма (концентрация более 0,001 %) — Na, K, Ca, Cl, P, S, Fe, Mg;
- *микроэлементы* (диапазон концентраций 10^{-3} — 10^{-5} %) — Cu, Zn, Co, Mn, I, F, Mo и др. (по Вернадскому — Cu, Zn, Co, Mn, I);
- *примесные элементы*, поступающие из окружающей среды и постепенно в нем откладывающиеся (B, Al, V, Mo, Si).

Иными словами, если массовая доля элемента в организме $\omega_i \geq 0,001$ %, то данный элемент относится к макроэлементам (органогенам), если $\omega_i < 0,001$ % — к микроэлементам.

В составе клеток человека содержатся: *органогены*: O_2 — 65—75 %; C — 15—18 %; H — 8—10 %; N — 1,5—3 %; *макроэлементы*: Mg, Na, Ca, Fe, K, S, P, Cl (суммарно \approx 4—5 %); *микроэлементы*. Zn, Cu, Co, I, F, Mn (суммарно \approx 0,1 %).

Сходный элементарный состав имеют клетки большинства животных; отличается состав клеток лишь у растений и микроорганизмов.

Даже те элементы, которые в клетках содержатся в ничтожно малых количествах, ничем не могут быть заменены и совершенно необходимы для жизнедеятельности. Так, содержание йода в клетках не превышает 0,01 %, однако при его недостатке, в частности, при употреблении бедных йодом пищевых продуктов, задерживается рост и развитие детей.

Мерой неорганических компонентов служит *масса золы*, образующейся от сжигания образца ткани при температуре, необходимой для превращения всех органических веществ в летучие компоненты.

Вещественный состав организма человека (%):

вода	60
жиры (липиды)	19
белки	15
углеводы (сахара)	0,4

Основные компоненты организма:

<i>макрокомпоненты</i>	<i>микрокомпоненты</i>
водные растворы	витамины
белки	гормоны
жиры (липиды)	микроэлементы
углеводы (сахара)	протеиновые кислоты и основания

Биохимические свойства органических соединений определяются химическими свойствами функциональных групп молекул, входящих в данное соединение.

Биохимические функции органических соединений

I. <i>Нуклеиновые кислоты</i>	Хранение и передача генетической информации
II. <i>Белки</i>	Продукты, а также «реализаторы» действия генов, ферменты (обладают каталитической активностью), структурные элементы организма
III. <i>Полисахариды</i>	Служат формой хранения «горючего» для жизнедеятельности, образуют внутриклеточные структурные компоненты
IV. <i>Липиды</i>	Главные структурные компоненты мембран, а также запасная форма «горючего»

Функциональные группы биомолекул и основные реакции с их участием

Все живые организмы состоят из одних и тех же белковых макромолекул, используемых организмом как «строительный материал», что говорит об общем источнике происхождения. Идентичность организ-

мов каждого определенного вида сохраняется благодаря свойственному только ему набору нуклеиновых кислот и белков.

Основные реакции, протекающие в организме:

- гидролиз — реакция расщепления вещества водой;
- этерификация — реакция образования эфира;

• окислительно-восстановительные реакции (red/ox) — реакции с изменением степени окисления элемента в веществе, переносом электрона.

Этерификация связана с образованием более сложных молекул: $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH} + \text{HOCH}_3 \rightarrow \text{CH}_3\text{CH}_2\text{—O—CH}_3 + \text{H}_2\text{O}$. В результате протекания последовательности этих реакций происходит синтез — образование сначала олигомера и далее полимера.

При записи химических формул веществ выделяют *функциональные группы*, которые участвуют в рассматриваемой реакции. Такая запись подчеркивает важное правило: *функциональные группы проявляют свои типичные (функциональные) свойства независимо от того, в какой молекуле они находятся.*

В таблице 1.4 приведены наиболее важные функциональные группы биоорганических веществ и соответствующие семейства веществ.

Таблица 1.4

Функциональные группы биоорганических веществ

Функциональная группа	Строение	Семейство
Гидроксильная	$\text{R}_1\text{—O—H}$	Спирты
Альдегидная	$\text{R}_1\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}\text{—H}$	Альдегиды
Карбонильная	$\text{R}_1\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}\text{—R}_2$	Кетоны
Карбоксильная	$\text{R}_1\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}\text{—H}$	Кислоты
Сложноэфирная	$\text{R}_1\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}\text{—O—R}_2$	Сложные эфиры
Эфирная	$\text{R}_1\text{—O—R}_2$	Простые эфиры
Аминогруппа	$\text{R}_1\text{—N}\begin{matrix} \text{H} \\ \diagup \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$	Амины
Амидогруппа	$\text{R}_1\text{—}\overset{\text{O}}{\underset{\parallel}{\text{C}}}\text{—N}\begin{matrix} \text{H} \\ \diagup \\ \diagdown \\ \text{H} \end{matrix}$	Амиды
Сульфгидрильная	$\text{R}_1\text{—S—H}$	Тиолы

Глава 2

ВОДА И ЕЕ РОЛЬ В ПРОЦЕССЕ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ

Как известно, жизнь зародилась в воде и по-прежнему остается с ней тесно связанной. Поэтому физико-химические свойства воды имеют фундаментальное значение для процессов жизнедеятельности.

2.1. Коллигативные свойства воды.

Осмотическое давление плазмы крови. Гомеостаз

Организм человека в среднем на 60 % состоит из воды. Вода заполняет все составные части клетки и внеклеточного пространства и представляет собой среду, в которой осуществляются транспорт веществ, метаболические реакции и перенос химической энергии. Вода является основой циркулирующей жидкости, а также принимает участие в обменных процессах. Она выступает в роли среды, в которой растворены или диспергированы различные вещества, входящие в состав организма, в ней содержатся основные макрокомпоненты организма — белки, углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты, а также микроэлементы.

Растворенные в воде вещества меняют ее физико-химические свойства. Известны такие свойства воды, изменение которых связано в основном с числом (количеством) растворенных частиц и не зависит от химического строения растворенного вещества. Эти свойства называют *коллигативными*. К ним относятся четыре термодинамических свойства воды, когда с увеличением концентрации растворенного вещества наблюдается: 1) понижение давления пара над раствором; 2) повышение температуры кипения воды и 3) понижение температуры ее замерзания; 4) повышение осмотического давления раствора.

1. Изменение давления пара над раствором в зависимости от количества растворенного вещества определяется первым законом Рауля — давление пара раствора, содержащего нелетучее растворенное вещество, прямо пропорционально молярной доле растворителя:

$$p = K_p x(X_w),$$

где p — давление пара над раствором, Па; K_p — константа Рауля, Па; $x(X_w)$ — молярная доля растворителя X_w , численно равная отношению

количества растворителя $n(X_w)$, моль, к сумме количества растворителя и количества растворенного вещества $n(X_i)$, моль:

$$x(X_w) = \frac{n(X_w)}{n(X_w) + n(X_i)}.$$

Закон Рауля точно соблюдается только для идеальных растворов.

2—3. Повышение температуры кипения и понижение температуры замерзания являются прямыми следствиями понижения давления (упругости) пара растворителя над раствором и описываются *вторым законом Рауля*:

$$\Delta T = KC_m.$$

Так, чистая вода при атмосферном давлении замерзает при 273,16 К и кипит при 373,16 К. При растворении в воде какого-либо вещества давление ее пара понизится, и для того, чтобы раствор закипел, необходимо нагреть его до более высокой температуры, при которой давление пара станет равным атмосферному. Известно, что жидкость замерзает при той температуре, при которой давление пара вещества в твердом состоянии становится равным давлению пара этого вещества в жидком состоянии. Так, при 273,16 К давление пара льда (0,613 кПа) равно давлению пара воды (лед и вода могут сосуществовать при одной температуре) — это *температура замерзания*. Поскольку температура замерзания и температура кипения характеризуют фазовые переходы вещества, соотношение между этими величинами можно продемонстрировать фазовой диаграммой (рис. 2.1). На рис. 2.1 приведены фазовые диаграммы паров льда, воды и водных растворов. Видно, что при снижении давления насыщенного пара над раствором (кривые BD и $B'K$) растет температура кипения воды (сравните положения точек D и K с точкой C) и понижается температура замерзания (сравните положения точек B и B' с точкой A).

Раствор 1 моля (1 М) идеального нелетучего вещества в 1000 г воды называют моляльным. В таком растворе влияние растворенного вещества проявляется в том, что при давлении 760 мм рт. ст. температура замерзания воды равна $-1,86^\circ\text{C}$, температура кипения $+100,543^\circ\text{C}$, осмотическое давление 22,4 атм. (Ср.: в этих условиях температура замерзания чистой воды ($T_{0\text{ зам}}$) равна 0°C и температура кипения ($T_{0\text{ кип}}$) чистой воды — 100°C .)

Поскольку 1 моль понятие количественное и соответствует содержанию определенного числа молекул, а именно $6,02 \cdot 10^{23}$, то изменения температуры замерзания и температуры кипения растворов, содержащих одинаковые количества растворенного вещества независимо от их химического строения, будут одинаковыми. Например, 1 М раствор глицерина и 1 М раствор глюкозы имеют температуру замерзания $-1,86^\circ\text{C}$, а температура замерзания 0,1 М этих же растворов составит $-0,186^\circ\text{C}$; 0,1 М раствор NaCl в результате полной диссоциации вещества в воде

будет содержать в 2 раза большее число частиц по сравнению с 0,1 М раствором глицерина, и температура замерзания 0,1 М раствора NaCl будет в 2 раза выше температуры замерзания раствора глицерина той же концентрации, а именно $-0,372\text{ }^{\circ}\text{C}$.

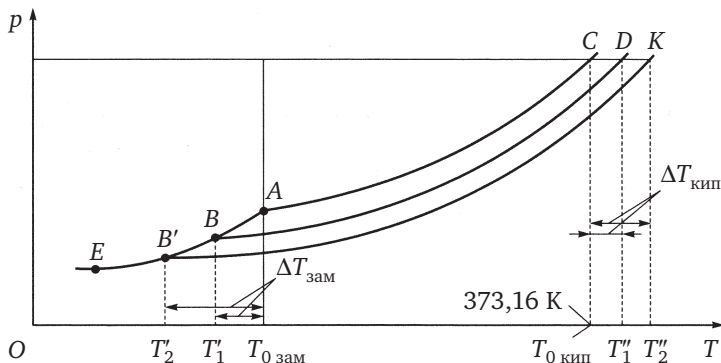


Рис. 2.1. Фазовые диаграммы паров льда, воды и водных растворов различных концентраций:

AC — линия температурной зависимости давления насыщенного пара над водой (или кривая испарения); BD и B'K — линии температурных зависимостей давления насыщенного пара над растворами различных концентраций (кривые испарения); EA — линия температурной зависимости давления насыщенного пара над льдом (кривая возгонки)

Понижение температуры замерзания и повышение температуры кипения идеального одномолярного раствора называют *криоскопической* (K) и *эбулиоскопической* (E) константами соответственно.

4. Повышение осмотического давления раствора.

От количества воды в организме зависит концентрация веществ в клетке и *интрацеллюлярных* (внутриклеточных) жидкостях. Все процессы в организме сбалансированы так, что эти концентрации остаются постоянными. Регуляция концентраций веществ в клетках и в интрацеллюлярных жидкостях связана с осмосом.

Осмоз — это явление направленной диффузии через полупроницаемую мембрану растворителя (воды) из зоны с пониженной концентрацией веществ в зону их повышенной концентрации, при которой концентрации по обеим сторонам мембраны выравниваются. В результате происходит разбавление раствора в зоне повышенной концентрации. Осмотическое давление определяется силой, которую необходимо приложить для предотвращения этого направленного движения растворителя. Схематически явление осмоса представлено на рис. 2.2.

Основной фактор, поддерживающий равновесие (водный баланс) между интра- (внутриклеточными) и экстрацеллюлярными (межклеточными) объемами жидкости, — *осмотическое давление* (π) плазмы крови, которое в организме человека при $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ колеблется в пределах 7,7—8,1 атм.

$$\pi = iCRT,$$

где i — осмотический коэффициент; C — концентрация растворенных веществ; R — универсальная газовая постоянная; T — температура.

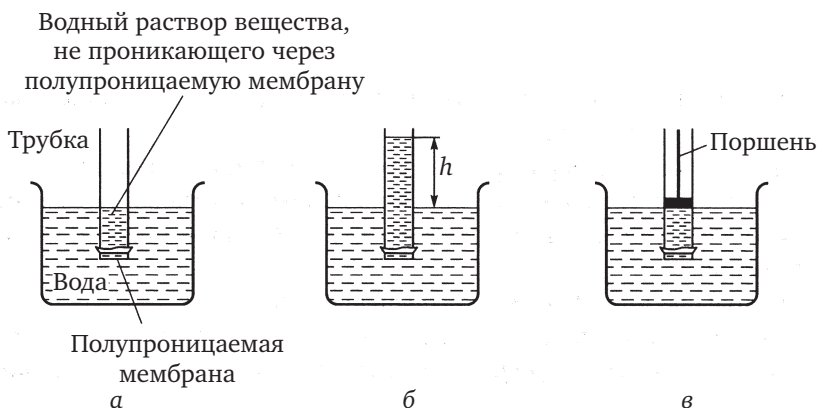


Рис. 2.2. Осмос и осмотическое давление:

а — исходное состояние; б — конечное состояние: в результате направленной диффузии происходит увеличение объема жидкости в зоне повышенной концентрации раствора и столб жидкости высотой h создает давление, препятствующее диффузии; в — сила, приложенная к поршню, численно равная гидростатическому давлению столба жидкости высотой h , и является осмотическим давлением

Уровень осмотического давления крови определяется концентрацией в ней солей Na, которые задерживают воду и тем самым создают осмотическое давление. В плазме крови и в межклеточном пространстве концентрация солей, выраженная в весовых единицах W , равна 0,9 %, что составляет 0,15 моль/л.

Растворы, имеющие осмотическое давление, равное осмотическому давлению плазмы крови, носят название *изотонических*. Растворы с более низким осмотическим давлением называются *гипотоническими*, а с более высоким — *гипертоническими*. Изотоническим плазме крови будет 0,9 %-ный раствор NaCl — такой раствор принято называть *физиологическим*.

Если клетка находится в контакте с гипертоническим раствором, то вода начинает выходить из нее путем осмоса через плазматическую мембрану. Этот процесс называют *плазмолизом*.

Помещение крови в гипертонический раствор приводит к тому, что эритроциты уменьшаются в объеме, сморщиваются в результате выхода из них воды и разрушаются. При разведении же крови водой эритроциты набухают и разрываются. В результате гемоглобин, заключенный в эритроцитах, переходит в раствор, образуется так называемая *лаковая кровь*. Процесс разрушения эритроцитов и переход гемоглобина в плазму носит название *гемолиз*.

Способность воды изменять свои свойства под влиянием растворенных в ней веществ имеет важное биологическое значение. Напри-

мер, благодаря наличию в крови растворенных веществ, в частности белков, не способных проходить сквозь капиллярные мембраны, в ней создается более высокое осмотическое давление, чем в межклеточной жидкости. В результате вода диффундирует из межклеточной жидкости в капилляры, что приводит к заполнению сосудистой системы и предохраняет ее от коллапса.

Водный обмен тесно связан с солевым, а поддержание водно-солевого баланса — *гомеостаза* (постоянства соотношений солей) жизненно необходимо для осмотической регуляции. За осморегуляцию и поддержание концентрации ионов Na^+ и K^+ отвечает специальная группа гормонов, главными из которых у позвоночных являются антидиуретический гормон, гипоталамо-гипофизарный комплекс, а также вазопрессин и альдостерон. Вазопрессин у млекопитающих тормозит диурез почками, способствует задержанию воды в организме, регулирует осмотическое давление крови. Альдостерон регулирует осмоспроцессы, избирательно влияет на обмен ионов Na^+ , K^+ и H^+ , поддерживает их нормальную концентрацию в меж- и внутриклеточном пространстве.

2.2. Кислотно-основной статус человека

Биологические жидкости и ткани содержат много различных электролитов: NaCl , KCl , HCl , CaCl , NaH_2PO_4 , NaHCO_3 и др. Устойчивость биологических высокомолекулярных соединений и скорость многих биохимических реакций в значительной мере зависят от природы и концентрации присутствующих в жидкостях и тканях ионов.

Одним из важнейших условий жизнедеятельности организма является постоянство концентрации водородных ионов во внеклеточном пространстве и в клетках: кислотно-основное состояние (КОС) или кислотно-основное равновесие (КОР). Иными словами, КОР — относительное постоянство кислотной реакции внутренней среды организма, количественно характеризующееся концентрацией водородных ионов (протонов).

Вода является *слабым* электролитом, степень ее диссоциации незначительна, концентрации водородных $[\text{H}^+]$ и гидроксильных $[\text{OH}^-]$ ионов в химически чистой воде одинаковы и при 298 К составляют 10^{-7} моль/л.

Для выражения этих концентраций было введено понятие p (от англ. *power*), которое соответствует отрицательному десятичному логарифму ($-\lg$); $p\text{H}$ (*power hydrogene*) — «сила водорода», характеризует концентрацию водородных ионов, $p\text{OH}$ — концентрацию ионов гидроксида.

В чистой воде $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = 1 \cdot 10^{-7}$ моль/л, следовательно, $p\text{H} = p\text{OH}$ и составляет 7,0; кислые растворы имеют $p\text{H}$ меньше 7,0, щелочные — больше 7,0.

Одним из удивительных свойств живых организмов является *кислотно-основной гомеостаз* — постоянство $p\text{H}$ биологических жидко-

стей в тканях и органах. Ниже представлены значения рН различных биожидкостей и тканей организма человека в норме.

Сыворотка крови	7,4 + 0,05
Слюна	6,35—6,85
Чистый желудочный сок	0,9—1,1
Моча	4,8—7,5
Спинно-мозговая жидкость	7,4 + 0,05
Сок поджелудочной железы	7,5—8,0
Содержимое тонкого кишечника	7,0—8,0
Желчь в протоках	7,4—8,5
Желчь в пузыре	5,4—6,9
Грудное молоко	6,6—6,9
Водянистая влага глаза (слезная жидкость)	7,4 + 0,1
Кожа (внутриклеточная жидкость, различные слои)	6,2—7,5
Печень (внутриклеточная жидкость):	
купферовские клетки	6,4—6,5
клетки по периферии долек	7,1—7,4
клетки в центре долек	6,7—6,9

Из приведенных данных очевидно, что рН различных жидкостей в организме человека изменяется в довольно широких пределах в зависимости от места их нахождения. Так, например, у сыворотки крови $\text{pH} = 7,4$, тогда как у желудочного сока величина рН составляет около 1. Значения рН крови, спинно-мозговой жидкости, слезной жидкости, желудочного сока практически постоянны. Постоянство рН внутренней среды организма обеспечивается совместным действием *буферных систем* (их свойства будут рассмотрены ниже) крови и тканей и ряда физиологических механизмов (деятельность легких и выделительная функция почек). Постоянство рН соблюдается несмотря на то, что в метаболических процессах происходит образование веществ, обладающих кислой реакцией, например молочной и ацетоуксусной кислот, а в крови превращение CO_2 в H_2CO_3 . Это постоянство необходимо для обеспечения нормальной деятельности ферментов, регулирования осмотического давления и других показателей.

2.3. Теория кислот и оснований

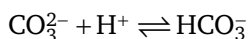
Для характеристики многих электролитов в водных растворах можно использовать понятия кислоты и основания, базирующиеся на первой теории электролитической диссоциации, созданной С. Аррениусом (1887): *кислота* — электролит, диссоциирующий в растворах с образованием водород-ионов (H^+); *основание* — электролит, диссоциирующий в растворах с образованием гидроксид-ионов (OH^-); *амфолит* — электролит, диссоциирующий в растворе с образованием как водород-ионов [H^+], так и гидроксид-ионов [OH^-]. К амфолитам относятся аминокислоты, белки, нуклеиновые кислоты.

Условно все электролиты можно разделить на *сильные* и *слабые*. Сильные электролиты практически полностью диссоциируют и присутствуют в воде в виде ионов. Слабые электролиты характеризуются установлением равновесия между диссоциированной и недиссоциированной формами.

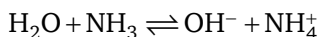
Согласно теории Аррениуса свойства кислот обусловлены наличием в их химической структуре водорода, способного существовать в виде иона $[H^+]$, а оснований — наличием иона $[OH^-]$. В дальнейшем исследовании особенностей протекания реакций в неводных растворах привели к созданию более общих теорий кислот и оснований.

Согласно *протонной теории кислот и оснований* Бренстеда и Лоури (1923) кислотами следует считать вещества, способные отдавать ионы водорода (протоны), т.е. являющиеся *донорами* ионов водорода, а основаниями — соединения, принимающие протоны, т.е. представляющие собой *акцепторы* водорода.

Такое определение кислот и оснований позволяет включать в их число не только молекулы, но и ионы. Например, согласно протонной теории, карбонат-ион является основанием, так как в водном растворе он присоединяет протон, образуя гидрокарбонат-ион:



Процесс ионизации (диссоциации) вещества происходит в контакте с растворителем. При этом растворитель выполняет функцию либо кислоты, либо основания. Например, при растворении аммиака вода выступает в роли кислоты (отдает протон):



Согласно протонной теории, отдавая протон, кислота превращается в основание, называемое сопряженным этой кислоте (сопряженное основание), а основание, присоединяя протон, превращается в сопряженную кислоту.

В приведенном уравнении химической реакции H_2O — это кислота, а OH^- — сопряженное основание, в свою очередь, NH_3 — основание, а NH_4^+ — сопряженная кислота.

В общем виде для каждой из этих пар (кислота — сопряженное основание, основание — сопряженная кислота) можно записать следующие уравнения:



Поскольку протон в растворах не существует в свободном состоянии, кислота может отдать протон только основанию, которое, приняв протон, становится кислотой. Поэтому, согласно протонной теории,

имеет место *кисотно-основное равновесие*, в котором обязательно присутствуют две кислотно-основные пары.

Электронная теория кислот и оснований (теория Льюиса). Несмотря на свои достоинства, теория Бренстеда, как и теория Аррениуса, не применима к веществам, проявляющим свойства кислот, но не содержащим водорода. Поэтому более общей является электронная теория кислот и оснований Льюиса, согласно которой *кислотой* называют вещество, принимающее электронные пары, — *акцептор электронов*, а вещество, поставляющее электроны для образования химической связи, — *донор электронов* — называют *основанием*.

Представленные теории диссоциации (ионизации) кислот и оснований не противоречат, а дополняют друг друга и имеют глубокую внутреннюю связь. Так, по Бренстеду, кислоты можно отнести к частному случаю льюисовских кислот, поскольку протон, характеризующийся большим сродством к электронной паре, может по Льюису рассматриваться как кислота.

Определение константы кисотно-основного равновесия

В общем виде реакцию кислотно-основного равновесия, состоящую из доноров (AH , BH^+) и акцепторов (B , A^-) водородных ионов (протонов), можно записать как



где AH/A^- и B/BH^+ являются сопряженными кислотно-основными парами.

Количественно равновесие обратимых реакций характеризуется константой равновесия $K_{\text{равн}}$, выражение для которой можно получить исходя из *закона действующих масс*.

Константу кислотно-основного равновесия K_a (кислотности, индекс a от лат. *acid* — кислота), представляющую собой отношение равновесных молярных концентраций катионов и анионов, можно представить следующим образом:

$$K_{a1} = \frac{[\text{A}^-][\text{H}^+]}{[\text{AH}]} \quad \text{или} \quad K_{a2} = \frac{[\text{B}][\text{H}^+]}{[\text{BH}^+]}.$$

Константа K_a характеризует степень диссоциации кислоты; чем она больше, тем в большей степени кислота диссоциирует, т.е. является более сильной. Чаще используется понятие $\text{p}K_a$ (аналогично pH): $\text{p}K_a = -\lg K_a$.

К слабым электролитам относятся органические кислоты (муравьиная, уксусная, молочная и т.п.), фосфорная кислота, угольная кислота, аммиак. В табл. 2.1 приведены числовые значения константы кислотно-основного равновесия и $\text{p}K_a$ для некоторых слабых кислот.

**Характеристика кислотно-основного равновесия
некоторых слабых кислот**

Кислота (донор протона)	K_a	pK_a
HCOOH (муравьиная кислота)	$1,78 \cdot 10^{-4}$	3,75
CH ₃ COOH (уксусная кислота)	$1,74 \cdot 10^{-5}$	4,76
CH ₃ CH ₂ COOH (пропионовая кислота)	$1,35 \cdot 10^{-5}$	4,87
CH ₃ CHОНCOOH (молочная кислота)	$1,38 \cdot 10^{-4}$	3,86
H ₃ PO ₄ (фосфорная кислота)	$7,25 \cdot 10^{-3}$	2,14
H ₂ PO ₄ ⁻ (дигидрофосфат-ион)	$1,38 \cdot 10^{-7}$	6,86
HPO ₄ ²⁻ (моногидрофосфат-ион)	$3,98 \cdot 10^{-13}$	12,4
H ₂ CO ₃ ⁻ (угольная кислота)	$1,70 \cdot 10^{-4}$	3,77
HCO ₃ ⁻ (гидрокарбонат-ион)	$6,31 \cdot 10^{-11}$	10,2
NH ₄ ⁺ (аммоний-ион)	$5,62 \cdot 10^{-10}$	9,25

Из приведенных данных очевидно, что способность отдавать протон у этих кислот различна. Наиболее сильными из них являются муравьиная, молочная, фосфорная и угольная, а наиболее слабые кислотные свойства проявляют моногидрофосфат-, гидрокарбонат-ионы и ион аммония.

2.4. Буферные свойства растворов

Смеси, состоящие из слабой кислоты и ее соли с сильным основанием или слабого основания с солью сильной кислоты, обладают способностью противодействовать изменениям pH раствора при внесении в него некоторого количества кислот или оснований. Такое свойство смесей называется *буферным*, а растворы таких смесей называют *буферными растворами*. Соответствующие кислотно-основные пары называют *буферными системами*.

В общем виде буферная система в организме представляет собой сопряженную кислотно-основную пару, состоящую из доноров (АН, ВН⁺) и акцепторов (В, А⁻) водородных ионов (протонов) — уравнение (2.3).

Для вычисления pH раствора, содержащего смесь сопряженной пары кислота = основание, используется уравнение Гендерсона — Гассельбаха:

$$pH = pK_a + \lg \frac{[\text{акцептор протонов}]}{[\text{донор протонов}]}, \quad (2.4)$$

которое обычно записывают в виде:

$$pH = pK_a + \lg \frac{[\text{соль}]}{[\text{кислота}]}$$

Уравнение (2.4) позволяет:

а) вычислить значение pK_a любой кислоты при данном pH (если известно отношение молярных концентраций донора и акцептора протонов);

б) определить значение pH сопряженной кислотно-основной пары при данном молярном соотношении донора и акцептора протонов (если известна величина pK_a);

в) рассчитать соотношение между молярными концентрациями донора и акцептора протонов при любом значении pH (если известна величина pK_a слабой кислоты).

Способность буферных растворов сохранять постоянство pH ограничена. Прибавлять кислоту и щелочь, существенно не меняя pH буферного раствора, можно лишь в ограниченных количествах. Величину, характеризующую способность буферного раствора противодействовать смещению реакции среды при добавлении кислот и щелочей, называют *буферной емкостью раствора* (B). Последняя измеряется количеством кислоты или щелочи (в молях или миллимолях эквивалента), добавление которого к 1 л буферного раствора изменяет величину pH на единицу. Математически это можно выразить следующим образом:

буферная емкость по кислоте (моль/л)

$$B_k = \frac{n_{(1/2HA)}}{(|pH - pH_0|)}; V_{б.р} = \frac{C_{(1/2HA)} V_{HA}}{(|pH - pH_0|) V_{б.р}};$$

буферная емкость по щелочи (моль/л)

$$B_{щ} = \frac{n_{(1/2B)}}{(|pH - pH_0|)}; V_{б.р} = \frac{C_{(1/2B)} V_B}{(|pH - pH_0|) V_{б.р}},$$

где V_{HA} , V_B — объемы добавленных кислоты (HA) или щелочи (B) соответственно, л; $n_{(1/2HA)}$, $n_{(1/2B)}$ — количество эквивалента кислоты или щелочи, моль; $C_{(1/2HA)}$, $C_{(1/2B)}$ — молярные концентрации эквивалента кислоты или щелочи; $V_{б.р}$ — объем буферного раствора, л; pH_0 , pH — значения pH буферного раствора до и после добавления кислоты или щелочи; $|pH - pH_0|$ — разность pH.

Рабочий участок буферной системы, т.е. способность противодействовать изменению pH при добавлении кислот и щелочей, имеет протяженность приблизительно в одну единицу pH. Интервал $pH = pK_a \pm 1$ называется *зоной буферного действия*.

Как следует из определения, буферная емкость раствора зависит от ряда факторов: а) чем больше количество компонентов кислотно-

основной пары, определяющих буферную систему, тем буферная емкость раствора выше; б) чем соотношение концентраций компонентов буферного раствора ближе к единице, тем больше его буферная емкость.

На рис. 2.3 представлен типичный график зависимости буферной емкости от pH ацетатного раствора. Видно, что максимальная буферная емкость раствора соответствует $\text{pH} = \text{p}K_a = 4,76$. Как следует из уравнения Гендерсона — Гассельбаха (2.4), $\text{pH} = \text{p}K_a$ при $C_{\text{соль}}/C_{\text{кислота}} = 1$. Таким образом, максимальная буферная емкость достигается при равных концентрациях компонентов буферной пары.

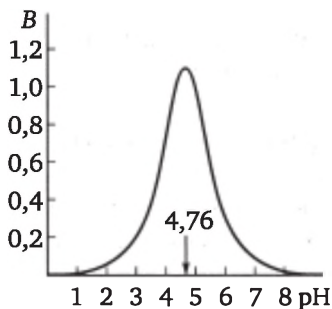


Рис. 2.3. Зависимость буферной емкости раствора (B) от pH для ацетатного буфера с суммарной концентрацией компонентов 2 моль/л

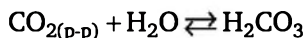
Буферные системы крови

Поскольку кровь представляет собой взвесь клеток в жидкой среде, то ее кислотно-основная реакция поддерживается совместным участием буферных систем плазмы и клеток крови. Доля буферных систем в общей буферной емкости крови различна. Основными из них являются плазматическая и эритроцитная гидрокарбонатная (водокарбонатная) и гемоглобин-оксигемоглобиновая. Ниже приведены (в долях %) количественные соотношения буферных систем в крови.

Плазматические гидрокарбонаты.....	35
Эритроцитные гидрокарбонаты	18
Гемоглобин-оксигемоглобиновая.....	39
Плазматические протеины.....	7
Органические фосфаты	4
Неорганические фосфаты	2

Плазматическая гидрокарбонатная буферная система. В плазме крови содержатся угольная кислота и гидрокарбонаты натрия (NaHCO_3) или калия (KHCO_3). Содержание гидрокарбонатов примерно в 20 раз выше содержания угольной кислоты. Эти два соединения создают водокарбонатный буфер.

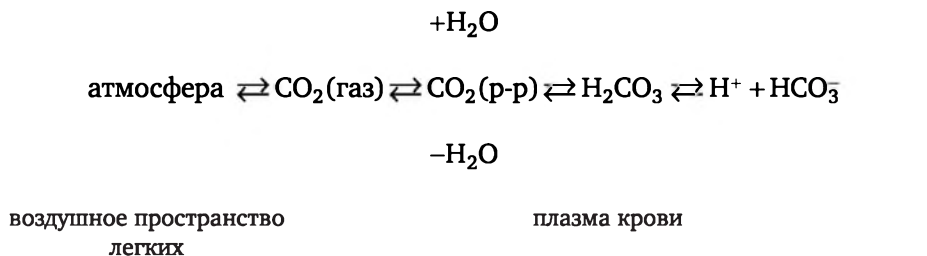
Угольная кислота (H_2CO_3) образуется при взаимодействии растворенного в плазме CO_2 с водой:



Константа равновесия этой реакции:

$$K_a = \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_{2(\text{p-p})}]}$$

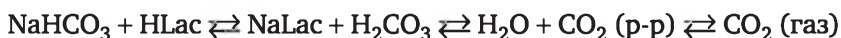
Между газообразным CO_2 , находящимся в альвеолах, и водокarbonатным буфером в плазме крови, протекающей через капилляры легких, устанавливается следующая цепочка равновесий:



При поступлении в кровь кислот (доноров H^+) равновесие в цепочке смещается влево в результате того, что ионы HCO_3^- связывают ионы H^+ в молекулы H_2CO_3 . При этом концентрация H_2CO_3 повышается, а концентрация ионов HCO_3^- соответственно понижается. Повышение концентрации H_2CO_3 , в свою очередь, вызывает распад H_2CO_3 и увеличение концентрации CO_2 , растворенного в плазме. В результате повышается давление CO_2 в легких, и избыток CO_2 выводится из организма.

При поступлении в кровь оснований (акцепторов H^+) сдвиг равновесий в цепочке происходит в обратной последовательности. В результате описанных процессов гидрокарбонатная система крови быстро приходит в равновесие с CO_2 в альвеолах и эффективно обеспечивает поддержание постоянства pH плазмы крови.

Гидрокарбонатная буферная система особенно эффективно компенсирует действие веществ, увеличивающих кислотность крови. К числу таких веществ прежде всего относят молочную кислоту (HЛac). Избыток последней, образующийся в результате интенсивной физической нагрузки, нейтрализуется в следующей цепочке реакций:



На примере гидрокарбонатного буфера легко проследить регулируемую роль нервной системы в сохранении постоянства pH крови. Ничтожно малые сдвиги концентрации ионов водорода в крови вызывают раздражение дыхательного центра головного мозга, что усиливает частоту дыхания, а значит, и скорость удаления через легкие избытка углекислого газа.

Гидрокарбонатная буферная система наиболее «быстро» отзывается на изменение pH крови. При нормальных (20:1) соотношениях

между мольными концентрациями гидрокарбоната и углекислого газа нормальный $pH = 7,4$. Буферная емкость по кислоте (B_K) составляет 40 ммоль/л плазмы крови, а буферная емкость по щелочи ($B_{щ}$) значительно меньше и равна 1—2 ммоль/л плазмы крови.

Эритроцитная гидрокарбонатная буферная система. Щелочной компонент эритроцитной гидрокарбонатной буферной системы представлен не натриевой, а калиевой солью угольной кислоты ($KHCO_3$). Во внутренней среде эритроцитов в норме поддерживается постоянное значение pH , равное 7,25. Так как pH внутри эритроцитов меньше, чем в плазме крови, то и соотношение концентраций соли (HCO_3^-) и кислоты (H_2CO_3) здесь несколько меньше.

Белковая система гемоглобин-оксигемоглобин играет наиболее важную роль в эритроцитах, которая проявляется в процессе дыхания (транспортная функция по переносу кислорода к тканям и органам и удалению из них метаболического CO_2) и в поддержании постоянства pH внутри эритроцитов (а в результате и в крови в целом). Эритроцитная буферная система тесно связана с гидрокарбонатной системой.

Гемоглобин-оксигемоглобиновая буферная система. Среди белковых буферных систем наибольшим буферным действием обладает гемоглобин-оксигемоглобиновая буферная система, которую можно представить в виде равновесия $HbO_2 \rightleftharpoons Hb$. Кислотные свойства гемоглобина (Hb) выражены меньше, чем у оксигемоглобина (HbO_2). Диссоциация HbO_2 в тканевых капиллярах с образованием Hb создает благоприятные условия для связывания угольной кислоты (H_2CO_3), а образование в легких HbO_2 способствует высвобождению угольной кислоты и удалению ее из организма при дыхании (в виде CO_2). Роль системы $HbO_2 \rightleftharpoons Hb$ как буфера заключается в том, что она усиливает действие других буферов крови.

В эритроцитах есть механизм сбережения оснований (анионов HCO_3^-) в организме, известный как *эффект Амбурже*. Он состоит в том, что образующийся в тканях углекислый газ превращается в эритроцитах в угольную кислоту (H_2CO_3). В свою очередь H_2CO_3 диссоциирует на ион H^+ и анион HCO_3^- под влиянием фермента *карбоангидразы* (угольной ангидразы) эритроцитов. Ион водорода при этом захватывается буферными системами внутри клетки (гемоглобин, фосфаты), а анион гидрокарбоната возвращается в плазму крови, обмениваясь на содержащийся в ней анион хлора, поступающий в эритроцит. В эритроцитах анион хлора связывается с катионом калия. В легких образующийся оксигемоглобин связывает значительную часть калия, в результате чего анион хлора вытесняется за пределы эритроцита и связывается с катионом натрия, освобожденным при удалении углекислоты. В итоге происходит активное образование и задержка в организме анионов HCO_3^- (оснований) и удаление угольной кислоты.

Степень связывания кислорода с гемоглобином существенно зависит от сдвигов pH плазмы крови: при сдвиге pH в кислую сторону (*ацидоз*,

pH снижается) сродство гемоглобина к кислороду снижается и соответственно уменьшается насыщение гемоглобина кислородом. При сдвиге pH в щелочную сторону (*алкалоз*, pH повышается) имеет место обратная зависимость: сродство гемоглобина к кислороду и насыщение его кислородом возрастают. Эта закономерность носит название *эффекта Бора*.

Если снижение щелочного резерва плазмы крови не влечет за собой изменения pH крови, то такой ацидоз носит название *компенсированного ацидоза*. При *некомпенсированном* ацидозе щелочной резерв истощается, что наблюдается при особо тяжелых заболеваниях, например при диабете (диабетическая кома).

При избыточном поступлении в организм с пищей щелочных веществ или при избыточной гипервентиляции легких щелочной резерв плазмы крови повышается и проявляется алкалоз. В желудке человека $\text{pH} \approx 5$, и повышение кислотности приводит к несварению желудка.

Плазматическая протеиновая буферная система. Белки плазмы крови, являясь амфотерными электролитами, способны связывать как кислоты, так и основания. Иными словами, они обладают буферными свойствами. Отщепляемый от карбоксильной группы протон может присоединиться к аминогруппе, в результате чего молекула аминокислоты принимает дипольную форму (форму цвиттериона), заряжаясь с одной стороны отрицательно, с другой положительно, но в целом оставаясь нейтральной:



Именно в этой форме аминокислота и проявляет свои буферные свойства. При повышении концентрации протонов в среде (снижение pH) они фиксируются карбоксильной группой, а молекула оказывается положительно заряженной, и наоборот, при падении концентрации протонов в растворе с положительно заряженной стороны молекулы отдается протон, а вся молекула заряжается отрицательно.

Буферные свойства белков проявляются в связывании не только протонов, но и других более крупных ионов. Буферная емкость, определяемая белками плазмы, зависит от концентрации белков, их пространственной структуры и числа свободных протонакцепторных групп. Эта система может нейтрализовывать как кислые, так и основные продукты. Белковая буферная система плазмы крови эффективна в области pH 7,2—7,4.

Фосфатная буферная система. Эта буферная система представлена взаимодействием щелочной (двузамещенная натриевая соль фосфорной кислоты) и кислой (однозамещенная) компонент, содержащихся в соотношении $\frac{[\text{Na}_2\text{HPO}_4]}{[\text{NaH}_2\text{PO}_4]} = \frac{4}{1}$.

Значение pH данного буфера определяется из уравнения Гендерсона — Гассельбаха:

$$\text{pH} = 6,8 + \lg \frac{[\text{Na}_2\text{HPO}_4]}{[\text{NaH}_2\text{PO}_4]}.$$

Концентрация фосфатов в плазме крови невелика, вследствие чего буферная система имеет небольшую буферную емкость. При поступлении в кровь кислоты часть Na_2HPO_4 используется для ее нейтрализации с образованием эквивалентного количества NaH_2PO_4 . Избыточное количество NaH_2PO_4 концентрируется в почках и удаляется с мочой. В результате этого отношение $[\text{Na}_2\text{HPO}_4]$ к $[\text{NaH}_2\text{PO}_4]$ в крови не изменяется. Величина pH мочи зависит от содержания фосфатного буфера и составляет в норме 5,5—6,2, что указывает на большее выделение первичного фосфата (NaH_2PO_4) по сравнению с вторичным (Na_2HPO_4).

2.5. Экспериментальное определение кисотно-основных свойств органических соединений методом титриметрии

Титрование — это постепенное добавление измеряемого количества титранта (раствора вещества с известной концентрацией) к анализируемому (титруемому) раствору. При кислотно-основном титровании титрант вступает во взаимодействие с титруемым веществом, при этом изменяется pH.

Определение концентрации ионов водорода, характеризующей pH растворов, возможно методом *потенциометрического титрования*.

С этой целью используют гальванический элемент, состоящий из двух электродов: индикаторного X, реагирующего на изменение концентрации ионов H^+ , и электрода сравнения, по отношению к которому измеряют потенциал индикаторного электрода. Схема потенциометрического определения pH растворов представлена на рис. 2.4.

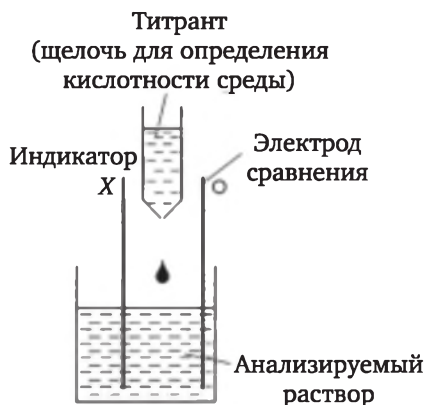


Рис. 2.4. Принципиальная схема потенциометрического определения pH растворов

На основании полученных данных строится кривая титрования — график зависимости рН раствора от количества добавленного титранта (рис. 2.5).

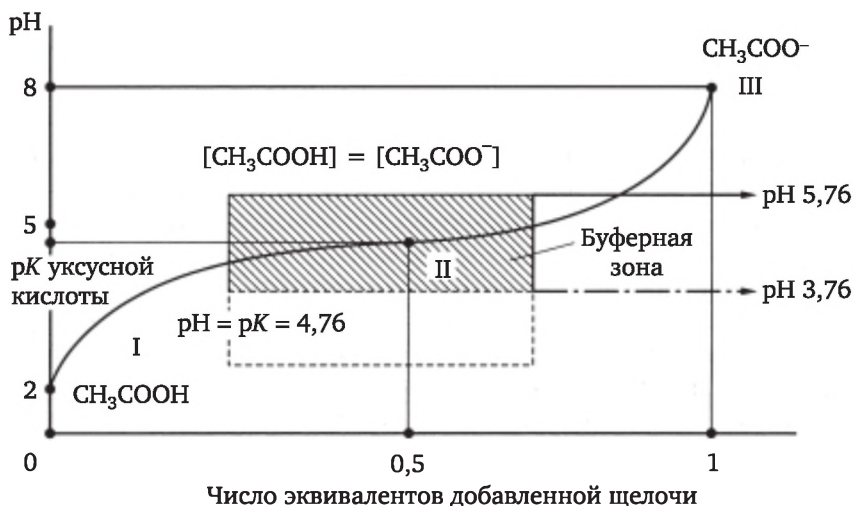
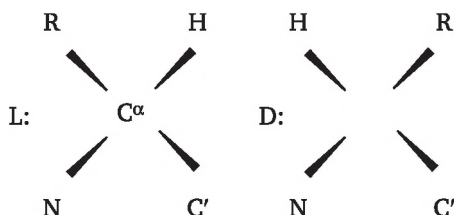


Рис. 2.5. График зависимости рН раствора от количества добавленного титранта (числа молей добавленной щелочи) — кривая потенциметрического титрования щелочью раствора слабой (уксусной) кислоты

Глава 3

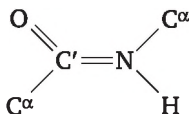
АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ

Белки представляют собой полипептидные цепи, состоящие из большого числа соединенных между собой аминокислот. Аминокислоты, из которых сложена полипептидная цепь, могут находиться в двух зеркально-симметричных стерических формах — L и D. В них массивный боковой радикал (R) и атом водорода, стоящие при α -углероде (C α) аминокислоты, меняются местами:



Белковые цепи сложены только из остатков L-аминокислот. D-аминокислотные остатки, встречающиеся в пептидах, не кодируются при матричном синтезе белка, а синтезируются специальными ферментами. *Рацемизация* ($L \rightleftharpoons D$ переход) в белках спонтанно практически не происходит.

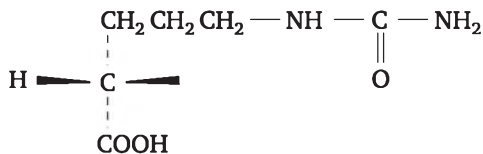
Аминокислоты в белковой цепи связаны между собой пептидными связями атомов C' и N. Важную роль в структуре белка играет как жесткость этих связей, так и плоская форма всей пептидной группировки:



И то и другое обеспечивается так называемой sp^2 -гибридизацией электронов атомов N и C', преобразующей одну сферическую s - и две вытянутые p -орбитали электронов атома в три sp^2 -орбитали и формирующей три ковалентные связи, лежащие в одной плоскости ($\sim 120^\circ$)

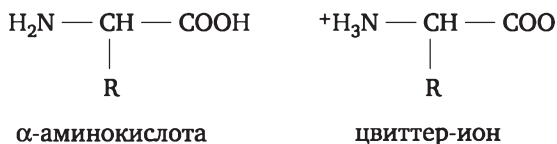
В природе для биосинтеза необходимых белков все известные организмы используют одни и те же 20 аминокислот. Только эти аминокислоты шифруются генетическим кодом. Кроме того, в разных организмах можно обнаружить аминокислоты, находящиеся в свободном виде и не входящие в состав белков (так называемые небелковые аминокислоты), например, аминокислота *цитруллин* (*Citrullus vulgaris*), которая

впервые была выделена из арбуза. Позднее было обнаружено, что она присутствует и в большинстве животных тканей, но не входит в состав белков. Цитруллин является предшественником аргинина, а также мочевины — экскретируемого конечного продукта метаболизма аминокрупп. Структурная формула цитруллина выглядит следующим образом:

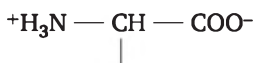


3.1. Общие структурные свойства аминокислот

Все упомянутые выше аминокислоты относятся к α -аминокислотам, т.е. содержащим аминогруппу $-\text{NH}_2$, присоединенную к α -углероду (счет углеродных атомов ведется от карбоксильной группы $-\text{COOH}$), и в нейтральном состоянии представляют собой диполи (цвиттер-ионы):



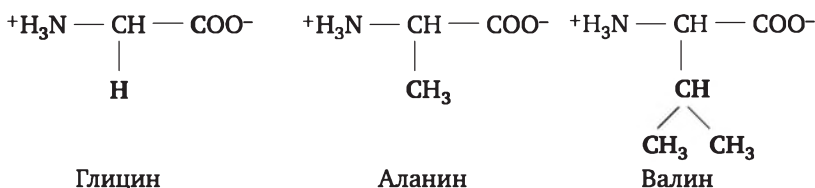
Каждая из аминокислот (за исключением пролина и гидроксипролина) содержит общий фрагмент:



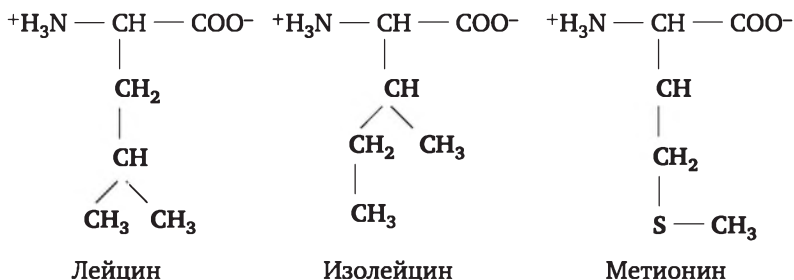
Различаются аминокислоты только боковыми группами — радикалами (R), присоединенными к α -углеродному атому.

По строению боковых функциональных групп аминокислоты можно подразделить на следующие группы.

Алифатические гидрофобные аминокислоты:

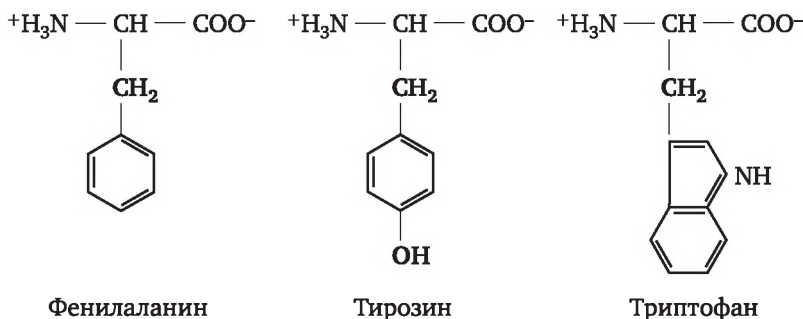


В глицине роль боковой группы играет атом водорода. Это самая маленькая аминокислота — ее остаток в белке не имеет ярко выраженных гидрофобных или гидрофильных свойств.



Среди гидрофобных алифатических аминокислот особняком стоит метионин, потому что его концевая метальная группа, связанная с серой, играет важную роль в метаболизме.

Ароматические гидрофобные аминокислоты

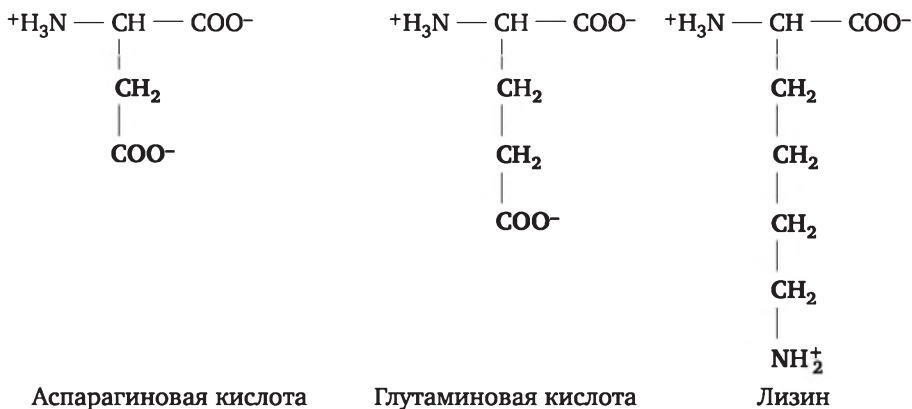


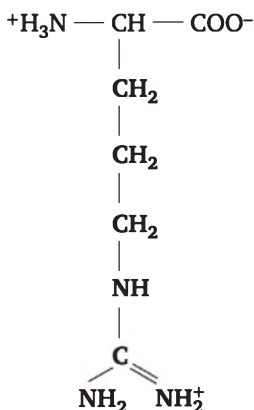
Тирозин нельзя однозначно классифицировать как гидрофобную аминокислоту, так как гидроксильная группа ($-\text{OH}$) может участвовать в образовании водородных связей.

Гидрофильные аминокислоты

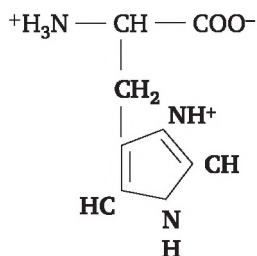
К гидрофильным относятся аминокислоты, содержащие в боковой цепи карбоксильную или аминогруппу. Обе эти группы при физиологических значениях pH ионизированы.

Аспарагиновая и глутаминовая кислоты — кислые аминокислоты, лизин и аргинин — сильно основные, а гистидин — слабо основная аминокислота. Кольцевая структура в молекуле гистидина называется имидазольным кольцом.



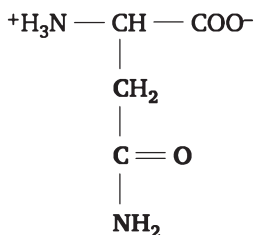


Аргинин

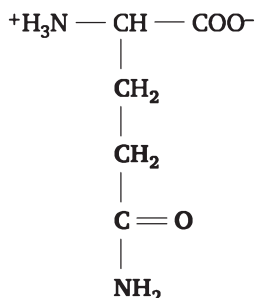


Гистидин

Аспарагиновая и глутаминовая аминокислоты в белках представлены также и своими амидами — аспарагином и глутамином.

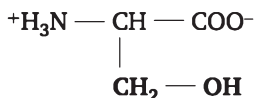


Аспарагин

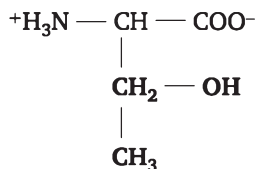


Глутамин

К гидрофильным относятся также гидроксилсодержащие аминокислоты:

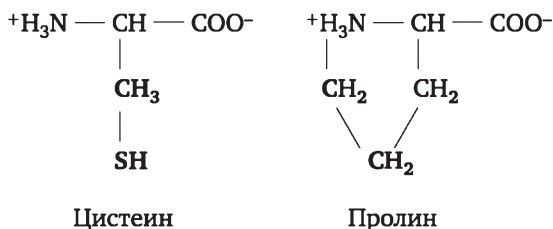


Серин



Треонин

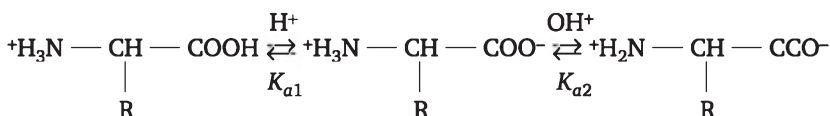
Цистеин, как и серин, содержит тиольную группу $-\text{SH}$ вместо гидроксильной $-\text{OH}$. Его специфическая роль в белках двояка: благодаря цистеину в активные центры белков могут быть введены тиольные группы, а два остатка цистеина в белках могут соединяться ковалентной связью $-\text{S}-\text{S}-$.



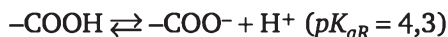
Пролин примечателен тем, что его остаток вызывает излом пептидной цепи. В отличие от других аминокислот свободный пролин содержит не амино-, а иминогруппу.

Определение электрического заряда аминокислоты по кривой титрования

Аминокислоты — амфотерные электролиты (амфолиты), обладают свойствами как кислот, так и оснований. На основании положений физической химии, аминокислоты принадлежат к слабым электролитам и в водных растворах в зависимости от pH среды несут на себе различный заряд в соответствии с уравнением равновесия (константы равновесия K_{a1} , K_{a2} и K_{aR}):



И, как очевидно из табл. 3.1, боковые функциональные группы ряда аминокислот также обладают кислотно-основными свойствами: pK_{aR} — это константа кислотности для боковой цепи аминокислоты, имеющей функциональные группы с кислотно-основными свойствами. Например, в боковой цепи глутаминовой кислоты имеется функциональная группа $-\text{COOH}$, для которой при определенных условиях характерно кислотно-основное равновесие



Электрический заряд на функциональной группе определяется соотношением между значениями pK_a этой группы и pH раствора, описываемым уравнением Гендерсона — Гассельбаха (2.4). Каждая способная к ионизации группа аминокислоты может находиться в одном из двух состояний — заряженном или нейтральном. Анион COO^- обладает основными свойствами (принимает ион H^+), а катион NH_3^+ — свойствами кислоты (отдает ион H^+).

Значение pH, при котором аминокислота находится в растворе только в виде цвиттер-иона (суммарно электрически нейтральна), называют *изоэлектрической точкой* (ИЭТ) аминокислоты. В ИЭТ растворимость аминокислот минимальна, и в электрическом поле постоянного тока аминокислоты остаются неподвижными. В изоэлектрическом состоя-

нии аминокислоты обладают повышенной плотностью, высокой точкой плавления (свыше 200 °С). Растворы аминокислот обладают более высокой диэлектрической постоянной, чем вода, причем максимум значения достигается в ИЭТ. Значение рН в изоэлектрической точке (рI) для моноаминокарбоновых кислот (кислоты, у которых боковые цепи не имеют функциональных групп, способных к ионизации, иными словами, не содержат амино- и карбоксильных групп) можно определить следующим образом: $pI = (K_{a1} + K_{a2})/2$.

Таблица 3.1

Характеристика аминокислот¹

Наименование	Сокращения, принятые в литературе		Краткая характеристика химических свойств боковых цепей	рK _a боковых цепей	Примечание
Глицин*	Gly	G	Выступает в роли простейшего связующего звена в цепи белка		Участвует в синтезе креатина, пиррола, в обезвреживании ряда ядовитых веществ
<i>Аминокислоты с углеводородными боковыми цепями</i>					
Аланин*	Ala	A	Служат для гидрофобной стабилизации белка и для формирования центров связывания в ферментах		
Валин**	Val	V			
Лейцин**	Leu	L			
Изолейцин**	Ile	I	Имеется еще один хиральный центр		
<i>Ароматические аминокислоты</i>					
Фенилаланин**	Phe	F	Способен образовывать гидрофобные связи и эффективно связываться с другими плоскими молекулами		
Тирозин* (из фенилаланина)	Tyr	O	То же	~ 10,1	Концентрируется в тканях щитовидной железы

¹ Если неизвестно, какая аминокислота стоит в боковой цепи белка — аспаргин или аспарагиновая кислота, используют обозначение Asx или B. В случае глутамина или глутаминовой кислоты применяется Glx или Z.

Продолжение табл. 3.1

Наименование	Сокращения, принятые в литературе		Краткая характеристика химических свойств боковых цепей	pK _a боковых цепей	Примечание
Триптофан**	Trp	W	Способен образовывать гидрофобные связи и эффективно связываться с другими плоскими молекулами		
Аминокислоты — спирты					
Серин*	Ser	S	–ОН группа имеет очень слабые кислотные свойства	~ 13,6	
Треонин**	Thr	T			
Аминокислоты с кислыми свойствами боковых цепей					
Аспарагиновая кислота*	Asp	D	При нейтральных рН карбоксильные группы диссоциированы	~ 3,9	Играет важную роль в процессах обмена
Глутаминовая кислота*	Glu	E		4,3—4,7	
Аминокислоты с основными свойствами боковых цепей					
Лизин**	Lys	K	Гибкая боковая цепь с реакционноспособной аминогруппой на конце	~ 10,5	
Аргинин**	Arg	R	Гуанидиниевая группа протонирована	~ 12,5	Arg богаты ядра клеток, а также белки растущих тканей (эмбриональная ткань, опухоли)
Гистидин**	His	H	Основная группа несет положительный заряд и может служить акцептором протона	~ 6,1	
Амиды аспарагиновой и глутаминовой кислот					
Аспарагин*	Asn	N	Амидная группа не обладает кислотными свойствами, но полярна и может участвовать в образовании водородных связей		Встречается во всех тканях организма в свободном состоянии
Глутамин*	Gln	Q			

Окончание табл. 3.1

Наименование	Сокращения, принятые в литературе	Краткая характеристика химических свойств боковых цепей	pK_a боковых цепей	Примечание
<i>Серосодержащие аминокислоты</i>				
Метионин**	Met	M	$-\text{CH}_3$ в организме участвует в метилировании различных соединений	
Цистеин* (из метионина)	Cys	C	Самопроизвольно окисляется в присутствии O_2 с образованием «двойной аминокислоты» — цистина	$\sim 10,3$ Кератин волос богат этой аминокислотой
<i>Кислота, содержащая имино- вместо аминокгруппы</i>				
Пролин*	Pro	P	Боковая цепь замыкается на аминокгруппу	

* — аминокислоты, синтезируемые организмом.

** — аминокислоты, поступающие в организм только с пищей.

Зоны буферного действия у аминокислот очень малы. Значения pK_{a1} , pK_{a2} , pI для аминокислот определяют, как правило, методом потенциометрического титрования. На рис. 3.1 представлена типичная кривая титрования аминокислоты.

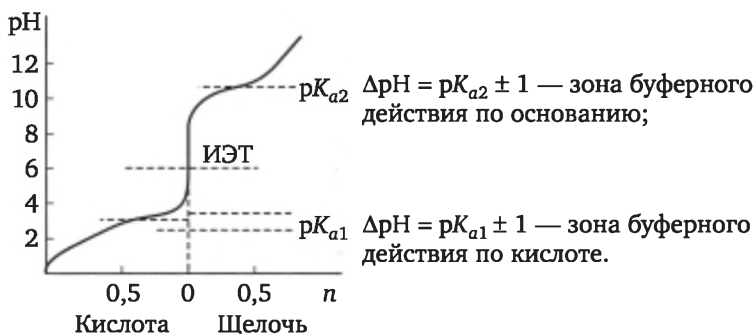


Рис. 3.1. Кривая титрования аминокислоты:

Значения pK_{a1} , pK_{a2} , pK_{aR} , pI для каждой аминокислоты индивидуальны. В табл. 3.2 представлены значения этих параметров для некоторых аминокислот.

Таблица 3.2

Значения pK_{a1} , pK_{a2} , pK_{aR} , pI для некоторых аминокислот

Аминокислота	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{aR}	pI
Аспарагиновая кислота	1,99	9,90	3,90	3,0
Глутаминовая кислота	2,10	9,47	4,07	3,2
Цистеин	1,92	10,70	8,37	5,1
Тирозин	2,20	9,21	10,46	5,7
Гистидин	1,80	9,33	6,04	7,6
Лизин	2,16	9,06	10,54	9,7
Аргинин	1,82	8,99	12,48	10,8
Аланин	2,35	9,87		6,02
Глутамин	2,17	9,13		
Глицин	2,35	9,78		
Серин	2,19	9,21		
Лейцин	2,33	9,74		
Треонин	2,09	9,10		
Аспарагин	2,14	8,12		
Валин	2,29	9,74		
Пролин	1,95	10,64		

Из данных, приведенных в табл. 3.2, очевидно, что буферными свойствами при значениях pH , близких к pH крови и межклеточной жидкости, обладает практически только одна аминокислота — гистидин, так как для нее величина $pK_{aR} = 6,04$. Это свойство гистидина в организме используется следующим образом: гемоглобин характеризуется высоким содержанием гистидина, что очень важно для создания высокой буферной емкости при pH , близкой к 7, для переноса кислорода и углекислого газа. Зоны буферного действия аминокислот очень малы.

Аминокислоты при значениях pH , отличающихся от значения их pH в ИЭТ (pI), несут суммарный электрический заряд, который в зависимости от pH может быть как положительным, так и отрицательным. При любом значении pH , превышающем значение pI , суммарный заряд молекулы отрицательный, и в электрическом поле она движется в сторону положительного электрода (*анода*). Соответственно при pH ниже значения pI молекула аминокислоты несет положительный заряд и в электрическом поле движется к *катоде*. Чем больше значения pH отличаются от значения pI , тем больший суммарный заряд несет молекула и тем выше скорость ее движения к электроду. Данные свойства молекул аминокислот широко используются для их разделения и анализа в смесях, например, методами *электрофореза* и *ионнообменной хроматографии*.

Для разделения применяют препаративные методики получения относительно больших количеств чистого материала, который может быть в дальнейшем использован для различных целей.

Для анализа применяют аналитические методики, направленные на контроль качества, определение состава смеси компонентов, определение их заряда и т.п.

Электрофорез. Определение электрического заряда аминокислот методом электрофореза на бумаге

Суть метода заключается в том, что если частица с зарядом q находится в непроводящей среде в электрическом поле E , она будет двигаться с постоянной скоростью v , определяемой соотношением между электрической силой Eq и силой сопротивления вязкой среды fv , где f — коэффициент трения. Отсюда

$$Eq = fv.$$

Подвижность u определяется как скорость на единицу напряженности электрического поля, или

$$u = v/E = q/f.$$

Подвижность зависит от коэффициента трения f , который является функцией некоторых физических параметров молекул. Поэтому значение u дает информацию о величине и форме молекулы. Однако данные электрофореза не могут являться детальной информацией о макромолекулярной структуре исследуемых частиц, так как на движение частиц под действием электрического поля большое влияние оказывает среда, в которой осуществляется движение.

Существуют следующие основные типы электрофореза: с подвижной границей, зональный и непрерывный.

Электрофорез с подвижной границей — сравнительно редко используемый метод, является аналитическим и пригодным в основном для анализа белков.

Зональный электрофорез используют в качестве аналитической и препаративной методики. Аналитическая методика заключается в определении состава или степени чистоты образца (смесь аминокислот, белков или других несущих заряд частиц). Препаративная заключается в разделении различных аминокислот.

Непрерывный электрофорез — препаративная методика, используемая для разделения не только аминокислот, но и других биогенных молекул (белков, ДНК, РНК и других амфолитов).

Электрофорез на бумаге относится к зональному электрофорезу, так как исследуемый образец наносится в виде небольшой зоны. Данный метод является наиболее простым методом разделения аминокислот и заключается в том, что очень небольшое количество раствора (капля), содержащего смесь аминокислот, наносят на центральную часть полоски фильтровальной бумаги, заранее пропитанной буфером с определенным рН, и прикладывают к концам полоски напряжение, создающее электрическое поле. Аминокислоты в зависимости от знака заряда под дей-

ствием напряжения перемещаются по полоске в ту или другую сторону. При этом скорость движения аминокислоты будет зависеть от величины ее суммарного заряда. Через определенное время напряжение снимают, полоску высушивают и для проявления расположения аминокислот спрыскивают «проявителем», например *нингидрином* (2,2-дигидрокси-1,3-индантрон), который взаимодействует с аминокислотами при слабом нагревании с образованием окрашенных соединений (лиловое и синее окрашивание) (химическую реакцию см. ниже в разделе «Характерные химические реакции аминокислот», рис. 3.5). Схема электрофореза на бумаге приведена на рис. 3.2. Полоска фильтровальной бумаги с разделенными аминокислотами называется электрофореграммой.

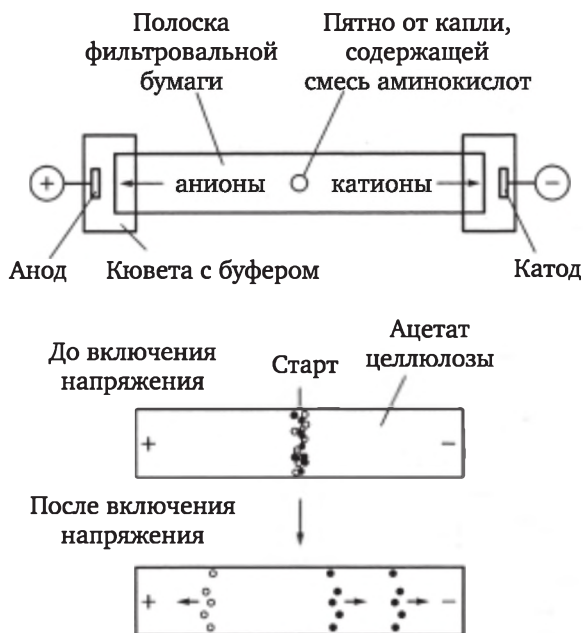


Рис. 3.2. Схема электрофореза на бумаге

Если требуется количественное определение, вещество из исследуемого образца можно элюировать (вымывать) и определять спектрофотометрически.

Многие биомолекулы адсорбируются на бумаге (ацетате целлюлозы), что препятствует движению и тем самым получению четких результатов анализа. Явление адсорбции на бумаге характерно для крупных молекул, таких как белки, поэтому для электрофореза макромолекул применяют другие носители, например мембраны из ацетата целлюлозы или гели из крахмала, агарозы и т.п.

Хроматографическое разделение аминокислот

Хроматография — метод разделения и идентификации химических веществ, при котором вещества помещают в систему, содержащую два

физически различных компонента: подвижную и неподвижную фазы, где разделение по типам молекул происходит за счет различий в распределении между двумя этими фазами.

Хроматография подразделяется на ряд видов: адсорбционную, распределительную, ионообменную, на молекулярных ситах, в которых реализуются различные методические подходы: колоночная, на бумаге, тонкослойная, газовая. Цели и задачи хроматографии могут быть аналитические и препаративные.

Наиболее применимым для разделения аминокислот является метод адсорбционной ионообменной хроматографии.

Анализ смеси аминокислот в лабораторной практике часто начинают с разделения этой смеси на компоненты на хроматографической колонке, представляющей собой длинную трубку, заполненную гранулами ионообменной смолы, выполняющей роль сорбента аминокислот. Ионообменные смолы в зависимости от связанных с ними ионных групп подразделяются на катионообменные — те, что имеют связанные анионы, например, остатки сульфоновой кислоты (рис. 3.3) — и анионообменные — со связанными катионами (например, ионы Na^+).

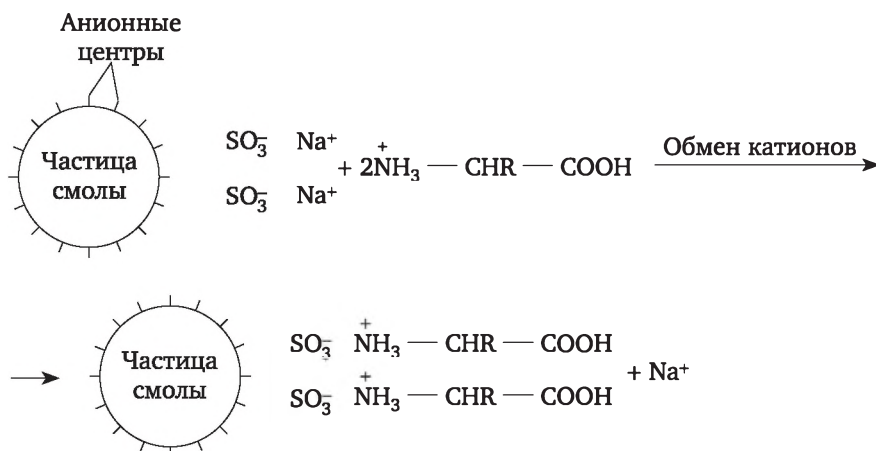


Рис. 3.3. Схема обмена ионами на смолах

При проведении анализа небольшое количество смеси вносят в верхнюю часть колонки. Затем через колонку пропускают буферный раствор (для катионообменных смол буфер кислый с pH около 3). Аминокислоты проходят через колонку с разными скоростями, поскольку их движение тормозят два фактора: электростатическое притяжение между отрицательно заряженными остатками сульфоновой кислоты и положительно заряженными функциональными группами аминокислот и гидрофобное взаимодействие между боковыми цепями аминокислот и сильно гидрофобным составом смолы. В результате различные аминокислоты элюируются (вымываются) из колонки и детектируются на анализаторе (как правило, спектрофотометрически) в различные моменты времени. Результатом анализа является хроматограмма (рис. 3.4).

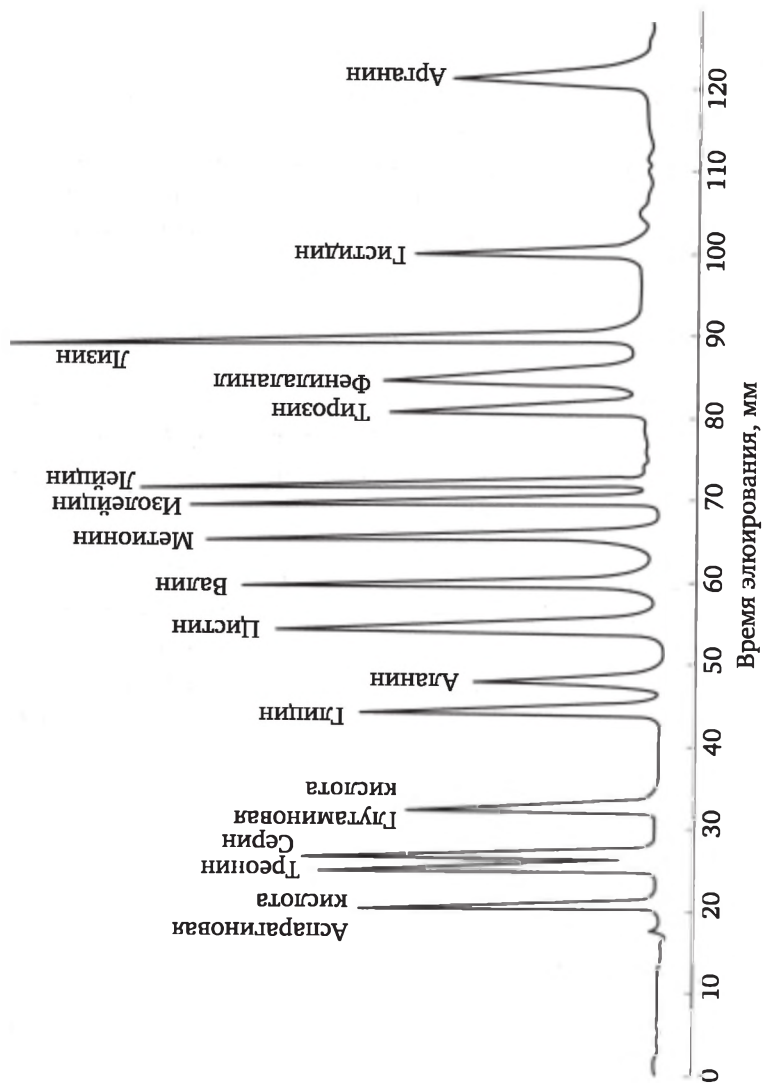


Рис. 3.4. Хроматограмма смеси аминокислот на катионообменной хроматографической колонке

Характерные химические реакции аминокислот

Для выявления следовых (очень малых) количеств пептидов используют особые реагенты — индикаторы, которые при взаимодействии со специфическими соединениями окрашиваются определенным образом. Одним из таких индикаторов является *нингидрин* (2,2-дигидрокси-1,3-индандион) (рис. 3.5), образующий с α -аминокислотами реакционноспособные Шиффовы основания (кетимины). Декарбоксилирование кетиминов с последующим гидролизом образующихся альдиминов приводит к промежуточному амину, который может прореагировать со второй молекулой нингидрина, давая характерное пурпурное окрашивание.

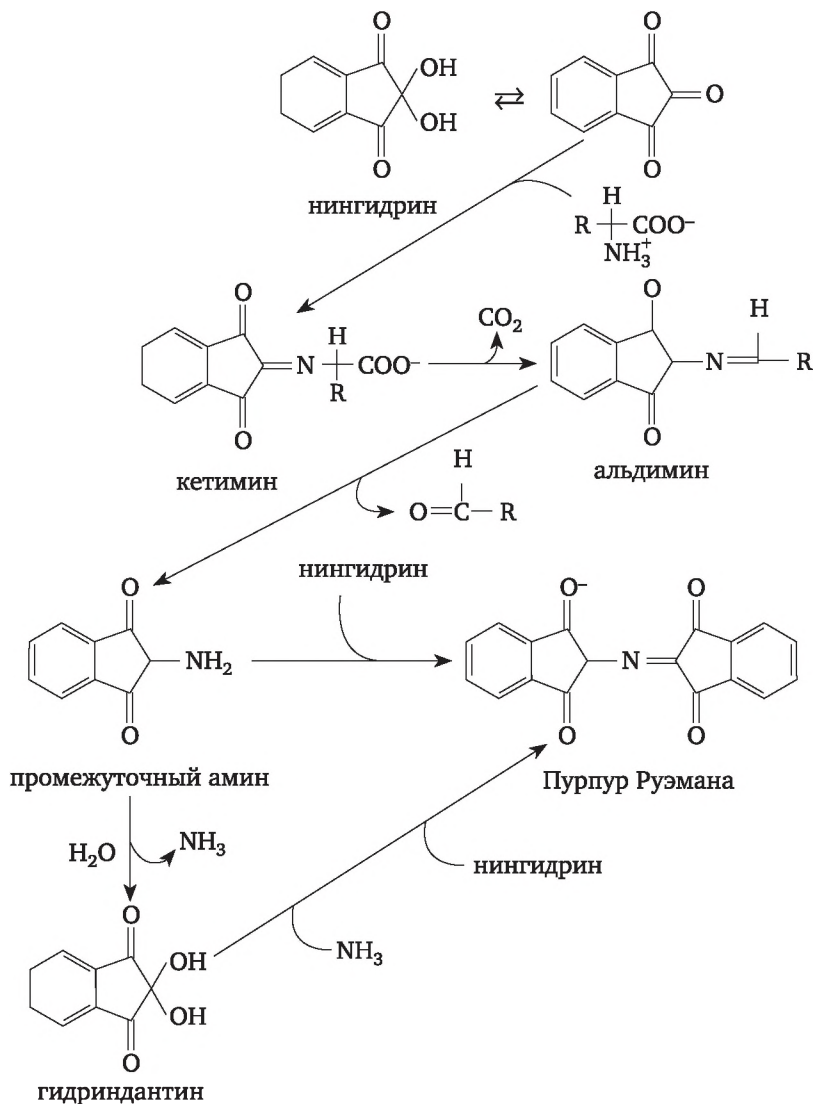
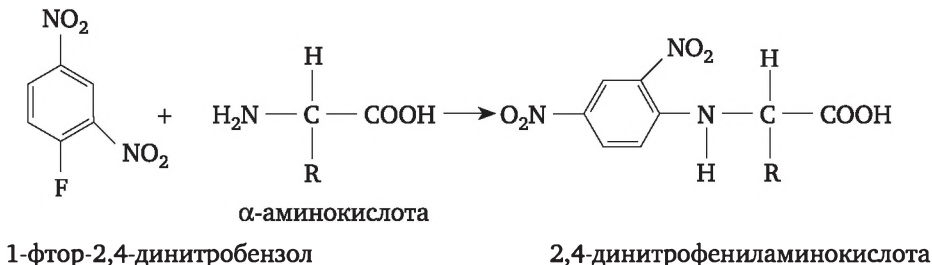


Рис. 3.5. Последовательность химических превращений при определении присутствия аминокислот с использованием нингидрина

Вторая важная реакция, используемая при изучении аминокислотной последовательности пептидов, это реакция взаимодействия в щелочной среде α -аминокислот с 1-фтор-2,4-динитробензолом (ФДНБ) с образованием 2,4-динитрофенилпроизводных:



3.2. Белки и их главные биологические функции

Белки — это сложные органические соединения, состоящие из полипептидных цепей. С точки зрения химического анализа между полипептидами и белками нет разницы. Другое название белков — *протеины*, от латинского слова *protos* — первый, что говорит о важнейшей роли белков в жизнедеятельности организма. Общее обозначение белка, встречающееся в литературе, — Pr.

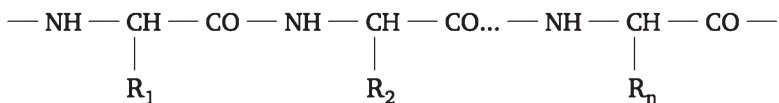
Большое разнообразие белков позволяет им выполнять в живом организме множество различных функций как структурных, так и метаболических. Одна из основных функций белков в организме — каталитическая: белки являются биокатализаторами (ферментами), т.е. веществами, ускоряющими химические реакции.

Потенциально разнообразие белков безгранично. В организме имеется несколько тысяч видов белков, основная масса которых находится в мышечных тканях. Каждая клетка включает около 1000 различных белков.

Полипептиды (polypeptides) — соединения, состоящие из аминокислот или аминокислотных остатков, связанных пептидными связями. Понятие полипептид обычно применяют, когда цепь состоит из 80 или более аминокислот.

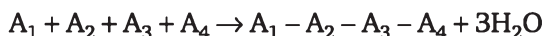
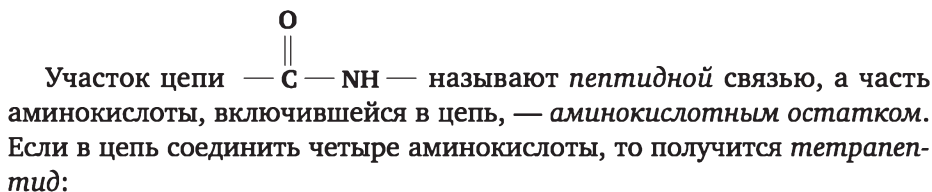
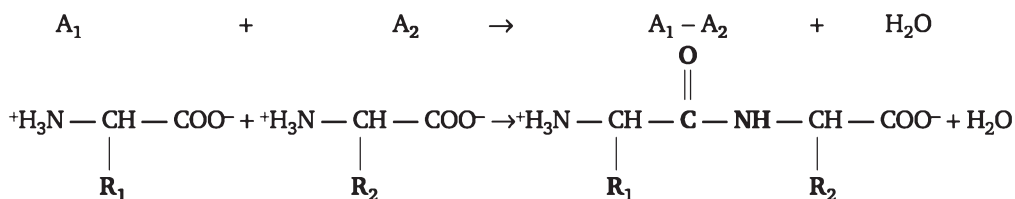
Белки — класс биогенных полипептидов

Полипептид имеет химически регулярный остов («главную цепь»), от которого отходят разнообразные боковые группы аминокислот — радикалы R_1, R_2, \dots, R_n :



Химическую суть образования цепи (синтеза белка) можно проиллюстрировать взаимодействием двух аминокислот (A_1 и A_2), которые

могут прореагировать между собой с отщеплением воды (реакция конденсации) и образованием дипептида:



Соединенные таким образом несколько десятков остатков аминокислот называют *пептидами* или *олигопептидами*. Участок цепи, на котором находится концевая группа — NH_3^+ , называют N-концевым, а противоположный ему — С-концевым. Собственно цепь без аминокислотных радикалов именуют *полипептидным скелетом*, а радикалы — *боковыми цепями*.

Белки могут состоять из нескольких полипептидных цепей. Пептидные цепи в таком мультимерном белке могут быть связаны как исключительно слабыми связями, так и посредством прочных ковалентных непептидных связей.

Белки различаются между собой:

- по качественному составу (состоят из разных аминокислот);
- количественному составу (различное число аминокислот в молекуле);
- порядку соединения аминокислот в цепи.

По своему качественному составу белки разделяются на два основных класса: *простые* и *сложные*. Простые белки состоят только из аминокислот, сложные белки содержат в цепи дополнительно к аминокислотным остаткам другие как органические, так и неорганические функциональные группы. Эта часть белка, не состоящая из аминокислот, называется простетической группой.

Различия по качественному и количественному составу аминокислот можно продемонстрировать следующими примерами: белок протомин, входящий в состав молока, и белок лососевых рыб — сальмин содержат 82,5 % Arg, 9 % Ser и около 9 % остальных аминокислот; фиброин шелка тутового шелкопряда содержит 28 % Ala, 43,5 % Gln, 12,5 % Tyr, 16 % Ser. В табл. 3.3 представлены данные по содержанию аминокислот в таких важных белках, как миоглобин, гемоглобин и яичный белок.

Порядок расположения аминокислот в полипептиде называют *аминокислотной последовательностью*, процедура установления которой носит название *секвенирование*. Последнее играет важную роль в изучении химии белка.

Таблица 3.3

Количественное содержание (г/100 г) некоторых аминокислот в ряде белков

Аминокислота	Миоглобин	Гемоглобин	Яичный белок
Аланин	5,7	9,0	6,7
Глицин	6,3	4,2	3,1
Валин	5,3	10,3	7,1
Лейцин	12,2	14,0	9,2
Изолейцин	5,0	0	7,0
Пролин	4,6	4,8	3,6
Фенилаланин	6,2	7,3	7,7
Тирозин	2,4	2,9	3,7
Треонин	3,6	1,9	4,0
Серин	4,6	4,4	8,2
Триптофан	2,9	5,2	3,7
Цистеин	1,0	1,0	1,9
Метионин	2,5	1,2	5,2
Аргинин	2,7	3,3	5,7
Гистидин	8,2	8,8	2,4
Лизин	16,1	9,6	6,3
Аспарагин	9,2	9,6	9,3
Глутамин	17,3	6,0	16,5

Методы выделения и анализа белков

Изучение химической структуры белков начинается с их *гидролиза*. Выделенные из органов и тканей белки гидролизуются в 6—12 N H₂SO₄ или HCl в течение 6—20 ч при 100—110 °С. В этих условиях белки распадаются с образованием аминокислот. Однако при кислотном гидролизе разрушаются триптофан, частично серин и треонин. Для предохранения этих аминокислот от разрушения прибегают к гидролизу белков в 2 N щелочи при 100—110 °С. В свою очередь, щелочной гидролиз разрушает и ряд других аминокислот (аргинин, цистин, серин и треонин), а также приводит к рацемизации (потере оптической активности) аминокислот.

Более надежный метод, позаимствованный у живой природы, — гидролиз с помощью протеолитических ферментов. В организме рас-

щепление белка катализируется ферментами — протеазами. Ферментативные методы гидролиза особенно ценны благодаря присущей им во многих случаях специфичности. Например, фермент *трипсин* расщепляет только те пептидные связи, у которых карбонильная группа принадлежит одной из основных аминокислот (лизину, аргинину) (табл. 3.4).

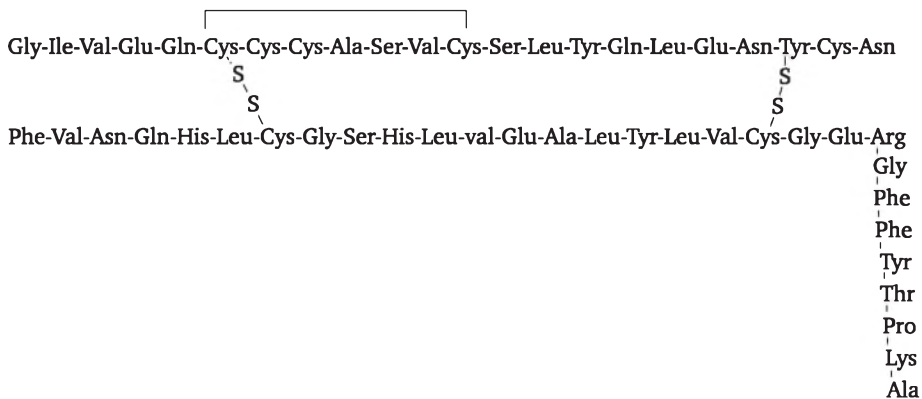
Таблица 3.4

Сведения о свойствах наиболее важных протеолитических ферментов

Протеаза	Место синтеза	Оптимум pH	Специфичность (атакуемые связи)
Пепсин	Желудок	1,5—2,5	... R — Phe ... R — Tyr ... Leu — Gln ... Leu — Val
Трипсин	Поджелудочная железа	7,5—8,5	... Arg — R ... Lys — R
Химотрипсин	То же	7,5—8,5	... Tyr — R ... Phe — R

Комбинируя методы кислотного, щелочного и ферментативного гидролиза, с помощью различных методов анализа аминокислот можно установить аминокислотную последовательность белка.

Аминокислотную последовательность белка принято обозначать цепью из трех- или однобуквенных символов соответствующих аминокислот. Первым природным полипептидом, аминокислотная последовательность которого была установлена, стал инсулин:



Наличие ионизированных групп в боковых цепях полипептида обуславливает *электролитную* природу белков. Доля ионизированных концевых групп полипептидной цепи чрезвычайно мала. Степень ионизации боковых групп зависит от pH среды. Значение pH, при котором белковая молекула имеет одинаковое число положительных и отрицательных ионизированных групп, носит название *изоэлектри-*

ческой точки белка (ИЭТ). В ИЭТ растворимость белка минимальна; белок остается неподвижным в электрическом поле постоянного тока. Каждый индивидуальный белок характеризуется своим значением ИЭТ.

При добавлении водородных ионов снижается рН среды, и белок вследствие подавления диссоциации карбоксильных групп находится в форме катиона. При добавлении щелочи повышается рН, заряд белковой молекулы меняется на отрицательный и молекула белка становится анионом. Таким образом, белки относятся к *полиамфолитам*.

Титрование. Метод титрования, описанный в гл. 2 как способ определения pK_a слабых кислот, оснований и аминокислот, используется также как метод идентификации и определения изоэлектрических точек белков.

Графическая зависимость величины рН среды от количества добавленных кислоты или щелочи (ионов H^+ или OH^-) называется *кривой титрования* белка. Для каждого белка кривая титрования индивидуальна и зависит от набора и количества в составе белка аминокислотных радикалов и значений их pK_a . Буферная емкость белков зависит от количества имеющихся одинаково ионизирующих функциональных групп аминокислотных радикалов. На базе кривых титрования разработаны аминокислотные анализаторы рН, с помощью которых проводится анализ биологических жидкостей на содержание различных аминокислот.

Для того чтобы провести анализ биологической жидкости на содержание различных аминокислот, необходимо знать значение их pK_a .

Электрофорез белков. Как уже упоминалось в гл. 2, электрофорезом называется движение частиц в растворителе под влиянием электрического поля. Скорость перемещения макромолекул в электрическом поле зависит от их молекулярной массы, суммарного заряда и формы. Применительно к белкам данный метод основан на кислотно-основных свойствах аминокислот, входящих в состав белков.

Типы электрофореза, в том числе и наиболее часто применяемые для разделения белков в растворах, были рассмотрены выше.

Связь аминокислотной последовательности со свойствами белка (в частности, с его электрофоретической подвижностью) можно проиллюстрировать на примере гемоглобина. Было обнаружено, что тяжелое заболевание, получившее название *серповидно-клеточная анемия* (эритроциты вытянутые, серповидные), связано с наличием в организме человека гемоглобина S (HbS). Различие в аминокислотной последовательности между гемоглобином A (HbA) — гемоглобин здорового человека — и гемоглобином S состоит лишь в одной замене остатка глутаминовой кислоты в 6-м положении β -цепи гемоглобина A на валин в гемоглобине S. Изоэлектрические точки у этих типов белков отличаются на 0,3 ед. Значение рН ИЭТ HbA равно 6,8, HbS — 7,1 и электрофоретическая подвижность последнего в физиологических условиях резко возрастает.

Гель-проникающая хроматография (гель-фильтрация). Гель-проникающая хроматография (ее иногда называют молекулярно-ситовой хроматографией) является методом распределительной хроматографии, так как основана на разделении молекул за счет различия их размеров. Этот метод позволяет разделить белки как по форме, так и по величине. Разделение проводят на хроматографических колонках (рис. 3.6), заполненных сферическими гранулами набухшего геля полимера (размеры гранул геля могут изменяться от 10 до 500 мкм). Гранулы геля имеют внутренние каналы (поры), характеризующиеся определенным средним размером, от которого зависит их проницаемость. Смесь белков при пропускании ее через колонку в зависимости от размеров отдельных белковых молекул пространственно разделяется. Крупные белковые молекулы, не способные проникать в гранулы геля, перемещаются по колонке с высокой скоростью. Средние и мелкие белковые молекулы удерживаются в порах геля в зависимости от размера. В верхней части колонки удерживаются самые мелкие молекулы из-за их высокой способности проникать внутрь частиц геля. При элюировании буферным раствором первыми выходят наиболее крупные молекулы белков. Элюат собирают отдельными фракциями. Чем выше объем элюата, затраченного на выход из колонки определенной фракции белка, тем ниже молекулярная масса белка в данной фракции.

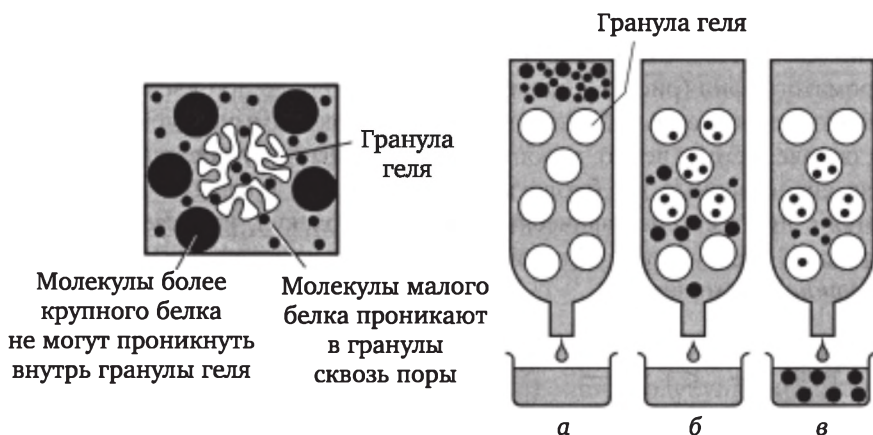


Рис. 3.6. Схема гель-фильтрации:

а — на колонку, заполненную декстрановыми гранулами, наносится смесь больших и маленьких белков; б — по мере прохождения вниз по колонке молекулы малого белка проникают в гранулы и задерживаются; в — молекулы более крупного белка первыми выходят из колонки.

Аффинная хроматография. Данный метод является высокоспецифичным и эффективным для выделения белков. Многие традиционные методы выделения и очистки, используемые в органической химии, такие как возгонка и экстрагирование различными растворителями, не пригодны для большинства белков из-за того, что их молекулы легко разру-

шаются. Поэтому для выделения и очистки белков разработаны специальные методы, которыми удастся выделить какой-нибудь один из белков, присутствующих в смеси, содержащей несколько тысяч других биомолекул, в концентрации 10^{-5} — 10^{-6} М. Один из таких методов, метод аффинной хроматографии (рис. 3.7), сыграл решающую роль при выделении и очистке рецепторных белков, ряда ферментов и иммуноглобулинов. В основе метода лежит хорошо известный факт, что белки, выполняя свои собственные им биологические функции, обратимо связываются с другими специфическими видами молекул, называемых *лигандами*. В результате образуются прочные *нековалентные* белково-лигандные комплексы.



Рис. 3.7. Принципиальная схема выделения белков методом аффинной хроматографии

По этому методу лиганд, специфически связывающийся с белком, который необходимо выделить, ковалентно присоединяется к нерастворимым полимерным гранулам диаметром 10—50 мкм. Для выделения этого белка из клеточного экстракта последний вносят в колонку, заполненную полимерными гранулами с присоединенным к ним лигандом, после чего колонку несколько раз промывают буферным раствором. При этом на колонке удерживаются лишь те белки, которые имеют высокое сродство к закрепленному на полимере лиганду; остальные же просто вымываются буфером. Поскольку сродство и специфичность белка к лиганду очень высоки, зачастую в один прием можно выделить и очистить чрезвычайно малые количества белка из клеточного экстракта, содержащего сотни других белков.

Осмометрический метод определения молекулярной массы белка. На основании различных экспериментальных исследований, включающих титрование, электрофорез и другие методы, устанавливаются значения очень важных параметров для белков — ИЭТ и молекулярной массы. Величина молекулярной массы белков колеблется от 6000 до нескольких миллионов. В табл. 3.5 приведены значения этих параметров для некоторых белков.

На явлении осмоса, рассмотренного в гл. 2 (см. рис. 2.2), основан осмометрический метод определения молекулярной массы белка, заключающийся в измерении осмотического давления на осмометре (рис. 3.8). Зависимость между осмотическим давлением и молекулярной массой имеет вид

$$M_{\text{Рт}} = cRT/\pi \big|_{c \rightarrow 0},$$

где M — молекулярная масса, г/моль; c — концентрация, моль/л; R — универсальная газовая постоянная; T — температура эксперимента, К; π — осмотическое давление, Па.

Таблица 3.5

Значения рН в изоэлектрических точках и молекулярная масса для некоторых белков

Название белка	Молекулярная масса белка, г/моль	ИЭТ
Миоглобин кашалота	17 600	7,0
Пепсин	35 000	1,1
Альбумин яйца	40 000	4,6
Гемоглобин лошади	68 000	6,6
Уреаза	483 000	4,9

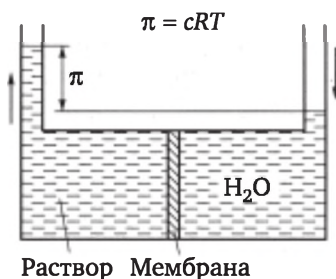


Рис. 3.8. Схема работы осмометра

Этим методом можно определить степень полимеризации (СП) — число молекулярных звеньев в полимерной молекуле. $СП = M_{Pr}/M_{cp(AK)} = 10^2—10^4$, где M_{Pr} — молекулярная масса полипептида; $M_{cp(AK)}$ — средняя молекулярная масса аминокислоты (АК), как правило, равная ≈ 110 г/моль.

Диализ. Для отделения низкомолекулярных примесей или замены среды используют диализ. Метод основан на том, что большой размер молекул белка не позволяет им проходить через полупроницаемые мембраны, а низкомолекулярные вещества легко диффундируют и равномерно распределяются между объемом, ограниченным мембраной, и окружающим раствором (рис. 3.9). После многократной замены внешнего раствора состав среды в диализном мешочке, выполненном из полупроницаемой мембраны (рН, концентрации солей и т.п.), будет соответствовать составу окружающего раствора.

Высаливание. Растворимость белков сильно зависит от ионной силы раствора (концентрации солей). В дистиллированной воде белки плохо растворимы, а при добавлении солей в раствор (по мере увеличения его ионной силы) их растворимость возрастает. Это явление обусловлено тем, что при повышении ионной силы гидратированные неорганические ионы связываются с поверхностью белка и тем самым

снижают степень агрегации белковых молекул между собой. Такое явление носит название *высаливание*. При высокой ионной силе молекулы белка лишаются гидратирующих оболочек, молекулы слипаются (происходит агрегация) и, как следствие, белок выпадает в осадок (высаливание). Используя различие зависимостей растворимости белков от ионной силы раствора, можно фракционировать смесь белков. Таким образом, высаливание является методом выделения белков.

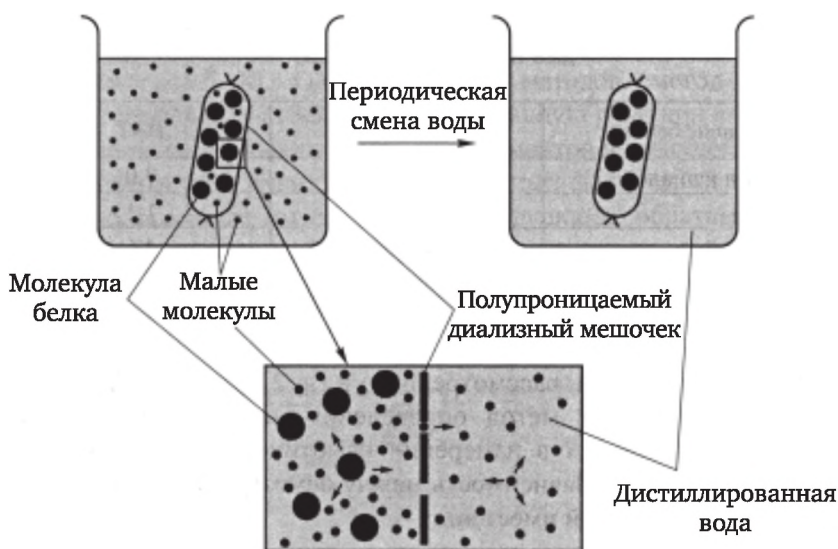


Рис. 3.9. Схема диализа

Спектроскопические методы. Спектроскопическими называют методы аналитического контроля и обнаружения различных веществ, в основе которых лежат их молекулярно-физические свойства. Схема электромагнитного спектра, используемая для исследований в области биохимии, приведена ниже.

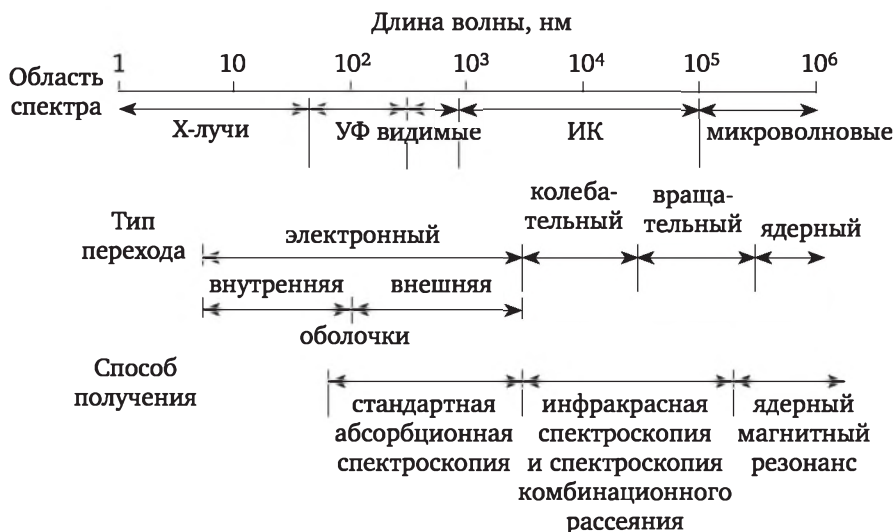
Спектрофотометрия (стандартная абсорбционная спектроскопия) основана на способности веществ поглощать свет в видимой и ультрафиолетовой части спектра электромагнитного излучения. Вещества, поглощающие свет, называют *хромофорами*. Способность вещества поглощать свет той или иной длины волны зависит от его химической структуры и окружения. Поэтому спектры поглощения веществ индивидуальны. При пропускании монохроматического света интенсивности I_0 через слой раствора вещества свет частично поглощается и интенсивность выходящего света I падает. Отрицательный логарифм отношения I/I_0 называют поглощением D или *оптической плотностью*.

Поглощение света (абсорбция) подчиняется закону Бугера — Ламберта — Бера: поглощение (D) света веществом данной длины волны пропорционально концентрации вещества в растворе (c) и толщине слоя раствора (l):

$$I = I_0 \cdot 10^{-\epsilon c l};$$

$$\lg(I/I_0) = -\epsilon c l;$$

$$D = -\epsilon c l.$$



Коэффициент пропорциональности ϵ называется *коэффициентом экстинкции*, который численно равен поглощению на данной длине волны раствора данного вещества с концентрацией 1 моль/л при $l = 1$.

Измерение поглощения осуществляют с помощью спектрофотометра. Все спектрофотометры (рис. 3.10), независимо от типа, состоят из источника света, монохроматора (для выделения определенной длины волны), измерительной камеры (куда помещается образец или кювета с исследуемым образцом для жидких и газообразных веществ), детектора света (фотоэлемента) и прибора для регистрации спектра. Для получения *спектра поглощения* исследуемого образца регистрируют поглощение на различных длинах волн.

На рис. 3.11 и 3.12 приведены примеры спектров поглощения различных биологических объектов, которые можно использовать для идентификации вещества.

Спектр поглощения хромофора определяется в основном химической структурой молекулы, однако максимумы поглощения могут смещаться в зависимости от условий среды.

Из приведенных спектров очевидна взаимосвязь между химической структурой молекулы и ее спектрами поглощения: при диссоциации ОН-группы коэффициент экстинкции (ϵ) и длина волны максимума поглощения (λ_{\max}) фенольного остатка возрастают: при pH 6 $\lambda_{\max} = 274$ нм, а при pH 13 $\lambda_{\max} = 295$ нм.

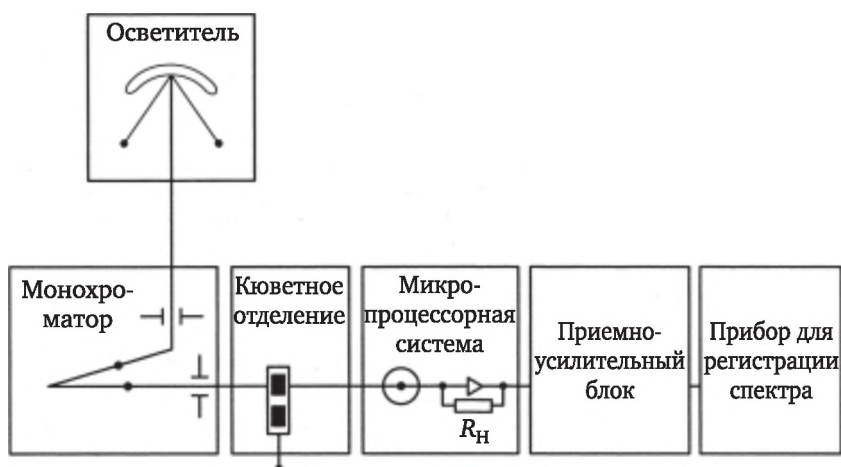


Рис. 3.10. Принципиальная схема спектрофотометра

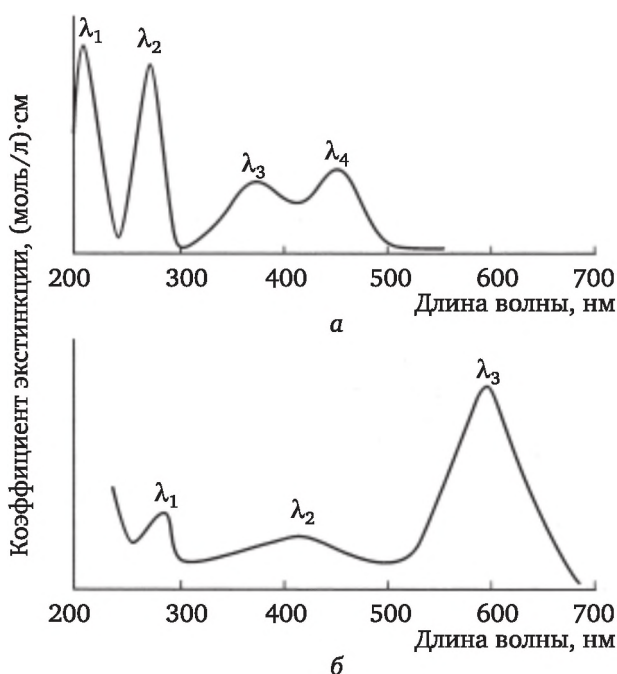


Рис. 3.11. Спектры поглощения различных биообъектов:

а — флавиномононуклеотида; б — фикоцианина; $\lambda_1, \dots, \lambda_4$ — длины волн максимумов поглощения

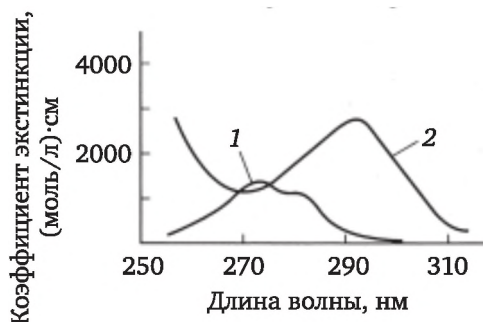


Рис. 3.12. Спектры поглощения тирозина при pH 6 (1) и pH 13 (2)

3.3. Структура белков

Пространственное строение первых белков было расшифровано в конце 1950-х гг. английскими биохимиками Перутц и Кендрию. Исследователи, используя метод рентгеноструктурного анализа, расшифровали строение миоглобина и показали высокую сложность и уникальность строения белков. Впервые же тот факт, что в строении белковых молекул есть строгая определенность, был обнаружен немецким биохимиком Хоппе-Зейлером в 1860-х гг., который выделил кристаллы гемоглобина. Доказательство того, что структура белка в кристалле и в растворе одинакова, было получено спустя многие годы методом ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

При описании трехмерной структуры белка рассматривают обычно четыре разных уровня организации: *первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры*. На рис. 3.13 приведено графическое отображение структур белков. Представление о трехмерном строении белковых молекул необходимо для понимания механизмов химических процессов, протекающих с их участием.

Первичная структура (рис. 3.13, а) — это число и последовательность соединения аминокислот в макромолекулу (аминокислотная последовательность), которая воспроизводится в процессе биосинтеза. Каждый индивидуальный белок обладает строгим постоянством состава. Изменения в первичной структуре белка ведут к нарушению его функций в процессе обмена веществ. Первичная структура белка определяет его вторичную структуру за счет гидрофобных и гидрофильных взаимодействий между радикалами (боковыми цепями аминокислотных остатков).

Вторичная структура — конформационная структура (вид отдельных участков пептидной связи). Известны три типа вторичной структуры: α -спирали (рис. 3.13, б), β -слои (складки) и беспорядочный клубок (coil-участки).

Гидрофобные радикалы боковой цепи определяют наличие внутри белка α -спирали. Термин « α -спираль» введен Лайнусом Полингом, открывшим укладку белков в виде правосторонней (вращение против

часовой стрелки) спирали (линия, соединяющая α -атомы углерода, описывает α -спираль). На один виток спирали приходится 3,6 аминокислотных остатка. Спиралевидная форма обеспечивается водородными связями между $>C=O$ и $>NH$ -группами пептидной цепи. Аминокислотные остатки смотрят наружу спирали.

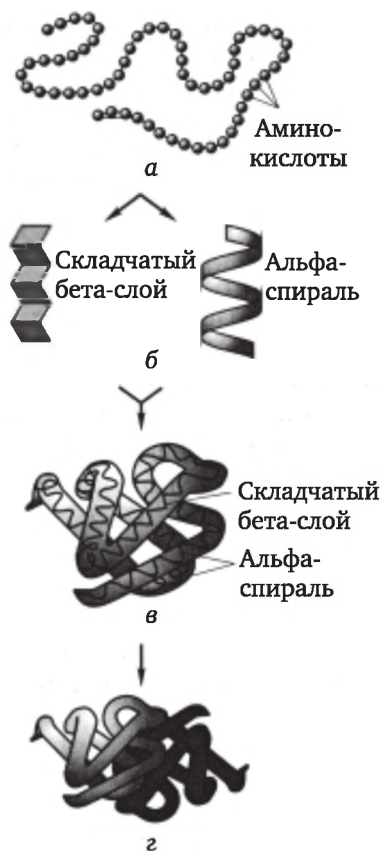


Рис. 3.13. Структуры белков:

а — первичная структура (цепочка аминокислот); *б* — вторичная структура (складчатый бета-слой и альфа-спираль); *в* — третичная структура (глобула-клубок белка); *г* — четвертичная структура

Бета-слои — линейная, складчатая структура, в которой пептидная связь находится в развернутом состоянии (линейка). Полипептидные цепи удерживаются рядом друг с другом при помощи водородных связей, образующихся между $>C=O$ и $>NH$ -группами, но уже с другим соседним участком цепи.

В клубке имеются беспорядочные участки цепи, которые не относятся ни к α -спирали, ни к β -слою. Правильнее называть их *соединительными петлями*. Такая структура находится, как правило, на поверхности глобулы, где $>C=O$ и $>NH$ -группы не связаны водородными связями.

У большинства белков во вторичной структуре наблюдается чередование линейных и спиральных участков, таким образом образуются белковые домены.

Третичную структуру белка (фибрилярную или глобулярную) (рис. 3.13, в) образуют упорядоченно расположенные α -спирали и β -слои. Под третичной структурой белка подразумевают расположение в пространстве всех атомов одиночной полипептидной цепи. В крупных белках при свертывании полипептидной цепи часто образуются две или более пространственно разделенные области, называемые доменами. Все домены можно подразделить на четыре класса: α/α , β/β , α/β и $\alpha + \beta$ в зависимости от взаимного расположения в цепи α -спиральных и β -структурных участков. Домены α/α состоят в основном из α -спиралей, β -участки в них практически отсутствуют. В β/β -доменах имеется несколько β -слоев и нет (или почти нет) α -спиралей. В α/β -доменах α - и β -участки чередуются вдоль цепи. Часто β -участки образуют параллельный β -слой, окруженный α -спиралями. В $(\alpha + \beta)$ -доменах α - и β -участки обычно расположены в разных сегментах полипептидной цепи.

Четвертичная структура (рис. 3.13, г) — мультимерная структура, отражающая пространственное расположение (совместная упаковка и укладка) взаимодействующих между собой субъединиц. Некоторые белки состоят из нескольких полипептидных цепей. Каждая цепь — это субъединица, или мономер. Димеры содержат две полипептидные цепи, тримеры — три, а тетрамеры — четыре. Четвертичная структура белка (надмолекулярная) образуется в результате взаимодействия белковых доменов за счет гидрофобных взаимодействий, а также водородных и ионных связей.

Эти комплексы из белковых молекул имеют постоянный состав и количество субъединиц. Гемоглобин представляет собой типичный тетрамер, в котором имеются две идентичные α -цепи и две идентичные β -цепи (рис. 3.14).

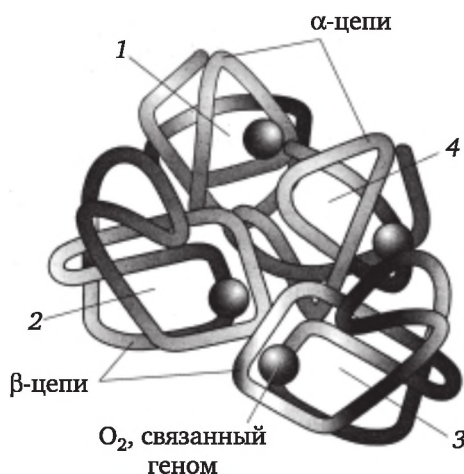
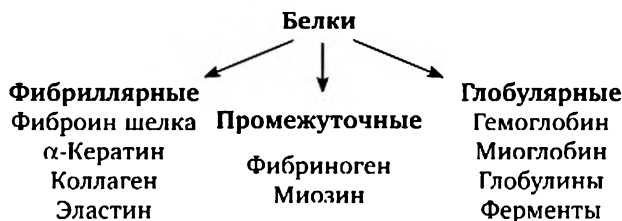


Рис. 3.14. Четвертичная структура гемоглобина:
1—4 — субъединицы

3.4. Классификация белков. Биологические функции белков

Сложность строения белковых молекул и чрезвычайное разнообразие их функций крайне затрудняют создание единой четкой их классификации на какой-либо одной основе. Белки можно классифицировать по их составу (простые, сложные), структуре (фибриллярные, глобулярные, промежуточные), функциям. Рассмотрим подробнее структурную классификацию.



Фибриллярные белки сильно вытянуты (наиболее важна вторичная структура) и выполняют структурные функции.

Глобулярные белки, которые в грубом приближении могут быть представлены в виде сфер (наиболее важной является третичная структура), принимают участие в таких специфических процессах, как катализ, транспорт, регуляция.

Кроме перечисленных выше типов белков, в организме имеются небольшие или бедные углеводородными группами полипептиды, которые могут сами по себе не иметь фиксированной структуры, но приобретать ее при взаимодействии с другими макромолекулами. Следует отметить, что данная классификация не может претендовать на полноту, так как существуют белки, которые не относятся ни к одному из этих классов. Например, миозин, который по своей структуре содержит признаки и фибриллярного и глобулярного белка.

Белок с исходной, природной укладкой цепи, т.е. имеющий трехмерную конфигурацию, называется *нативным*, белок с развернутой, беспорядочной укладкой цепи — *денатурированным*. Превращение нативного белка в денатурированный, т.е. утрата белком его трехмерной конфигурации, называется *денатурацией* (рис. 3.15). Вызывать денатурацию могут разнообразные факторы. В частности, плотная укладка цепи белка обычно нарушается при нагревании. Тепловая денатурация — общее свойство белков. После денатурации биологически активный белок может самопроизвольно свернуться в исходную конформацию с восстановлением своей активности. Процесс сворачивания денатурированного белка называется *ренатурацией*.

При длительном воздействии денатурирующего агента (температуры, химического вещества, среды с различным pH) денатурация становится необратимой (на рис. 3.15 этот процесс обозначен стрелкой между состояниями белковой молекулы б и в). Большинство белков денатурирует при нагревании их растворов выше 50—60 °С.

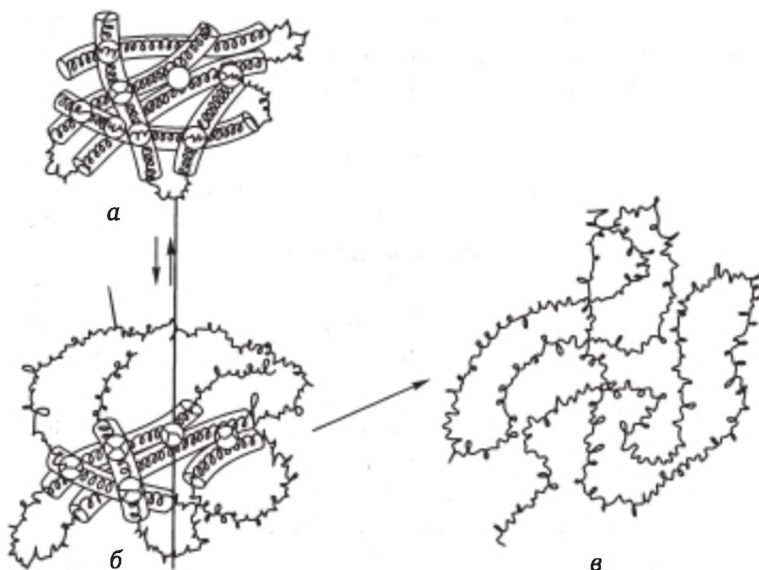


Рис. 3.15. Денатурация белковой молекулы:

а — исходное состояние; *б* — начинающееся обратимое нарушение молекулярной структуры; *в* — необратимое разворачивание полипептидной цепи

Денатурированный белок теряет способность растворяться в воде. Наиболее характерным признаком денатурации является резкое снижение или полная потеря белком его биологической активности (каталитической, антигенной или гормональной). Тот факт, что денатурированный белок полностью теряет свои биологические свойства, подтверждает тесную связь между структурой белковой молекулы и функцией, которую она выполняет в организме.

Способность белковой молекулы спонтанно ренатурироваться при снятии внешнего агрессивного воздействия говорит о том, что аминокислотная последовательность сама определяет пространственную структуру белка без участия какого-либо внешнего регулирующего центра.

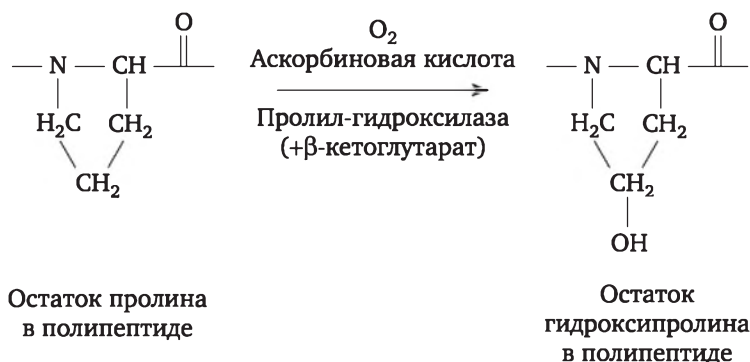
В настоящее время денатурация и ренатурация глобулярных белков *in vitro* интенсивно исследуются, так как эти процессы связаны с проблемой самоорганизации белка, т.е. с вопросом о том, как белковая цепь «находит» свою уникальную структуру среди гигантского числа возможных альтернатив.

Фибриллярные белки составляют основу не растворимых в воде и прочных материалов, таких как рога, копыта, ногти, шерсть, волосы, перья, кожа, сухожилия, межклеточное вещество костной ткани. Волос — длинное достаточно прочное волокно, основой которого является белок — α -кератин. В основе сухожилий другой белок — коллаген. Эластичность и упругость стенкам артерий или легочных альвеол придает эластин. Общей особенностью этих белков является участие в формировании их пространственной структуры ковалентных непептидных связей.

Кератины волос и шерсти образуют промежуточные филаменты, состоящие из длинных полипептидных цепей с крупными доменами, образованными α -спиралями и содержащими повторяющиеся последовательности из семи аминокислотных остатков (гептапептиды). Две направленные одинаково цепи кератина образуют суперспираль, в которой остатки неполярных аминокислот обращены внутрь и тем самым защищены от воздействия воды. Такая структура дополнительно стабилизируется многочисленными дисульфидными связями, образованными остатками цистеина соседних цепей. Суперспиральные димеры, в свою очередь, объединяются с образованием тетрамеров, подобных четырехжильному канату.

Коллаген образуется вне клеток из секретируемого ими белка — проколлагена, который превращается в коллаген в результате взаимодействия соответствующих ферментов. Молекула проколлагена представляет собой тройную суперспираль, образованную тремя скрученными вместе специализированными полипептидами. Далее при отщеплении концевых полипептидов образуется тропоколлаген, который упаковывается в коллагеновые волокна. Каждый из трех полипептидов в тропоколлагене находится в виде левосторонней спирали (в отличие от обычных правосторонних α -спиралей у белков). Примерно треть аминокислотных остатков в тропоколлагене представлена пролином, а каждый третий остаток — глицином.

В ходе образования коллагена многие остатки пролина и лизина в присутствии аскорбиновой кислоты гидроксилируются, превращаясь соответственно в гидроксипролин и гидроксилизин:



Эти остатки оказываются включенными в белок не в ходе его матричного синтеза, а в результате химического *посттрансляционного превращения* входящих в его состав аминокислот. Гидроксилирование пролина требует в качестве кофактора (небелкового компонента, необходимого для эффективной работы) аскорбиновую кислоту (витамин С), которая нужна для поддержания в восстановленном состоянии иона Fe^{2+} в активном центре фермента пролил-гидроксилазы. При недостатке витамина С нарушается образование соединительных тканей, что вызывает тяжелое заболевание — цингу.

Три спирально навитые друг на друга молекулы тропоколлагена ковалентно связаны между собой, образуя прочную структуру. Такая ассоциация невозможна в обычной белковой спирали, так как этому препятствуют объемные боковые цепи. В коллагене спирали более вытянуты (на один виток приходится 3 остатка вместо 3,6), так как каждый третий аминокислотный остаток — глицин, поэтому спирали в этих точках максимально приближены друг к другу. Дополнительная стабилизация структуры осуществляется водородными связями гидроксированных остатков лизина и пролина.

Молекулы тропоколлагена содержат около 1000 аминокислотных остатков. Они собираются в коллагеновые фибриллы, стыкуясь «голова к хвосту». Пустоты в этой структуре при необходимости могут служить местом первоначального отложения кристаллов гидроксиапатита $\text{Ca}_5(\text{OH})(\text{PO}_4)_3$, играющего важную роль в минерализации костей.

Коллаген сухожилий подвергается ферментативной модификации — в концевых частях тропоколлагеновых цепей ковалентно сшиваются остатки лизина. Таким образом, сухожилия представляют собой пучки параллельно ориентированных фибрилл. В отличие от сухожилий в коже коллагеновые фибриллы образуют подобие неупорядоченной двумерной сетки.

Эластин по своему строению отличается от коллагена и α -кератина. Он содержит обычные α -спирали, образующие поперечно-сшитую сеть, которая своей необычайно высокой эластичностью обязана уникальному способу связывания боковых цепей лизина: четыре сближенных

лизиновых остатка $-(\text{CH}_2)_2-\text{CH} \begin{matrix} \text{NH} \\ \text{CO} \end{matrix}$ формируют так называемую

десмозиновую структуру, объединяющую в один узел четыре участка пептидных цепей (рис. 3.16).

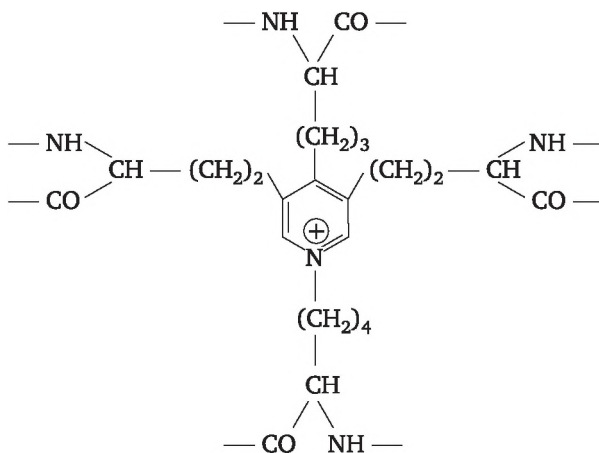


Рис. 3.16. Химическая структура десмозина

Глобулярные белки. Большинство белковых молекул в организме имеет глобулярное строение. Пептидная связь в глобулярных белках

в естественном состоянии свернута в компактные структуры — глобулы, которые в первом грубом приближении могут быть представлены в виде шара или не слишком вытянутого эллипсоида, в отличие от фибриллярных белков, где длинные полипептидные цепи вытянуты вдоль одной оси.

Глобулы устойчивы в водных системах вследствие того, что полярные группы основной и боковых цепей сосредоточены на поверхности, находясь в контакте с водой, а неполярные обращены в глубь молекулы и защищены от этого контакта. На поверхности белковой глобулы иногда образуются ионные связи — *солевые мостики*.

Оказавшиеся внутри глобулы $>N-H$ и $>C=O$ -группы основной цепи с образовавшимися водородными связями формируют в результате α -спирали и β -слои. Дестабилизирующим фактором пространственной упаковки является наличие в глубине глобулы каких-то групп, потенциально способных образовывать ионные и водородные связи, но реально лишенных партнеров.

При физиологических условиях состояние белка, имеющего нативную трехмерную структуру, термодинамически стабильно, т.е. соответствует минимуму свободной энергии. Информация, необходимая для сворачивания белка в нативную конформацию, заложена в его аминокислотной последовательности. Поэтому в принципе теоретически можно предсказать трехмерную структуру любого белка исходя из его аминокислотной последовательности. Однако предсказание третичной структуры остается нерешенной проблемой молекулярной биологии. Сворачивание молекулы белка из развернутого состояния должно осуществляться единственным путем. Если предположить, что белковая молекула состоит из 50 остатков, каждый из которых может принимать 10 разных конформаций, то общее число возможных конформаций составит 10^{50} , и если характерное время молекулярных перестроек составляет 10^{-13} с, то для того, чтобы перепробовать все конформации, потребуется 10^{37} с ($\sim 10^{30}$ лет). Следовательно, существует направленный путь сворачивания белка.

Стабильность свернутой молекулы белка в водном окружении крайне низка. Основной движущей силой сворачивания является энтропийный гидрофобный эффект, вследствие которого неполярные группы стремятся выйти из водного окружения и оказаться внутри глобулы. Существует и обратный эффект, препятствующий сворачиванию и обусловленный тем, что для свернутой молекулы белка число разрешенных конформаций основной и боковых цепей меньше, чем у развернутой.

Гемоглобин (Hb) — белок, переносящий кислород от легких к тканям. Hb локализован в красных кровяных клетках — эритроцитах. Как уже отмечалось (см. рис. 3.14), гемоглобин состоит из четырех полипептидных цепей, каждая из которых содержит гем (рис. 3.17). Функциональная взаимосвязь этих цепей такова, что присоединение O_2 к одному из атомов железа повышает сродство к кислороду у трех других.

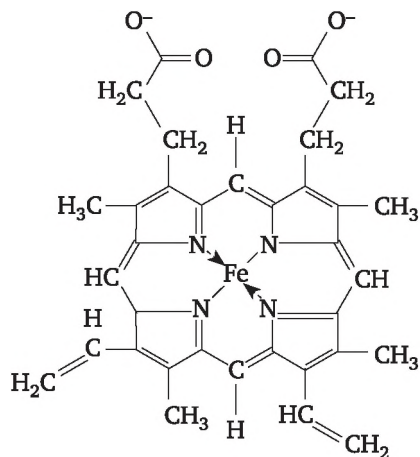


Рис. 3.17. Химическая структура гема

Гемоглобины — это целый класс белков, представители которого различаются одним-двумя аминокислотными остатками или их последовательностью. У взрослого человека присутствует гемоглобин типа HbA. Кроме HbA, существует эмбриональный гемоглобин HbF, исчезающий после рождения. Молекулярная масса обоих гемоглобинов приблизительно одинакова (64 500), они отличаются только последовательностью аминокислотных остатков. Наряду с обычно имеющимися гемоглобинами в организме человека встречаются аномальные HbS, HbG, HbC, HbH и т.д. Общность всех гемоглобинов — в способе укладки их полипептидных цепей вокруг большого плоского кольца *гема*, идентичного для всех, в центре которого находится атом железа (порфириновое кольцо).

Гем состоит из атомов углерода, азота и водорода, образующих плоское кольцо, называемое порфирином (рис. 3.17). В центре кольца находится атом Fe, связанный с атомами кольца четырьмя координационными связями (из шести возможных). К гему примыкают два остатка гистидина (His). Имидазольная группа гистидина (F-8) связана координационной связью с атомом Fe через пятую координационную связь. Шестая связь служит для соединения с молекулой O₂.

Миоглобин — мышечный белок, переносящий кислород в мышечных клетках. Он состоит из одной полипептидной цепи, содержит только α-спирали, соединенные петлями, и имеет один гем. Аминокислотная последовательность миоглобина отличается от последовательностей α-цепей гемоглобина. Однако третичная структура α-цепей гемоглобина и миоглобина идентична. Общий способ сворачивания α-спиралей глобулярных белков называется *глобиновым типом сворачивания*.

Глава 4

ФЕРМЕНТЫ — БИОКАТАЛИЗАТОРЫ

Ферменты — это белки, синтезируемые живыми клетками. Они являются катализаторами биологического происхождения, ускоряющими биохимические реакции. Термин «фермент» (от лат. *fermentum* — закваска) был предложен в начале XVII в. голландским ученым Ван Гельмонтом для веществ, влияющих на спиртовое брожение. Второе название ферментов — энзимы, что в переводе с греческого означает «в закваске», также связано с дрожжевыми клетками.

4.1. Каталитическая активность ферментов

В 1897 г. Эдварду Бухнеру впервые удалось выделить (в виде водного экстракта) из клетки набор ферментов, катализирующих расщепление сахара в процессе брожения. Тем самым было доказано, что выделенные из клетки ферменты сохраняют способность функционировать. Белковая природа ферментов была окончательно признана лишь в 1930-е гг. после работ Джона Нортропа с сотрудниками, выделившими в чистом виде *пепсин* и *трипсин* и установившими их белковую природу. Однако даже в настоящее время многие вопросы, касающиеся ферментов, еще не получили полного ответа. Например, почему молекулы ферментов намного крупнее субстратов, на которые они действуют? Молекулярные массы ферментов лежат в пределах от 12 000 до 1 000 000, что намного превышает размеры их субстратов. Или каким образом аминокислоты, сами по себе не способные ускорять химические реакции, после соединения в специфические последовательности создают мощные каталитические системы?

Каталитическая активность ферментов зависит от степени сохранности нативной структуры белка и исчезает при нагревании белка или после воздействия на него денатурирующими агентами или растворами с экстремальными значениями pH. Таким образом, для сохранения каталитической активности ферментов важно сохранение их первичной, вторичной и третичной структур.

Для каталитической активности многих ферментов еще необходим дополнительный химический (небелковый) компонент — *кофактор*, представляющий собой молекулу, соединенную с ферментом и активирующую его работу. Роль кофакторов играют неорганические веще-

ства, например ионы Fe^{3+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} или сложные органические вещества, которые в этом случае носят названия *коферментов*. Кофермент и ионы металлов связываются с белком фермента в ряде случаев временно и непрочно, в других — прочно и постоянно. В последнем случае небелковую часть фермента называют *простетической группой*. Комплекс фермента с кофактором носит название *голофермент*, а ферментная часть этого комплекса без кофактора называется *апоферментом*.

Коферменты можно разделить на три группы:

1) соединения с высоким потенциалом переноса химических групп, такие как АТР, GTP, которые участвуют в трансформации энергии в клетках. Поскольку освобождение АТР из комплекса с ферментом происходит только после расщепления, АТР чаще считают субстратом, а не коферментом. Однако АТР можно рассматривать и как фосфорилированную форму АМР или АDР, являющуюся переносчиком «высокоэнергетических» фосфатных групп;

2) соединения, часто являющиеся производными витаминов, которые, находясь в активном центре фермента, взаимодействуют с субстратом и так изменяют его структуру, что его реакционная способность повышается. Большинство коферментов, в том числе и кофермент А (CoA), пиридоксальфосфат, тиаминдифосфат и коферментные формы витамина B_{12} , относятся к этой группе;

3) окислительные коферменты, в состав которых входят особые структуры со строго определенным окислительно-восстановительным потенциалом; коферменты этой группы выступают в роли переносчиков водорода или электронов, как например NAD^+ , NADP, FAD и липоевая кислота.

В табл. 4.1 приведен список некоторых ферментов, для которых необходимы ионы или атомы металлов в качестве кофакторов.

Таблица 4.1

Металлы, содержащиеся в ферментах

Металл	Фермент
Fe^{2+} или Fe^{3+}	Цитохромоксидаза, каталаза, пероксидаза
Cu^{2+}	Цитохромоксидаза
Zn^{2+}	ДНК-полимераза, карбоангидраза, алкогольдегидрогеназа
Mg^{2+}	Гексокиназа, глюкозо-6-фосфатаза
Mn^{2+}	Аргиназа
K^+	Пируваткиназа (совместно с Mg^{2+})
Ni^{2+}	Уреаза
Mo	Нитратредуктаза
Se	Глутатионпероксидаза

4.2. Реакционная и субстратная специфичность

Действие большинства ферментов высокоспецифично. Понятие специфичности относится не только к типам каталитических реакций (реакционная специфичность), но и к природе соединений — субстратов (субстратная специфичность).

В качестве примера на рис. 4.1 приведены ферменты, расщепляющие химическую связь. Высокоспецифичные ферменты (тип А) катализируют расщепление только одного типа связи в субстратах определенной структуры, ферменты типа В обладают ограниченной реакционной специфичностью, но широкой субстратной специфичностью. Ферменты типа С (с низкой реакционной и субстратной специфичностью) встречаются редко.

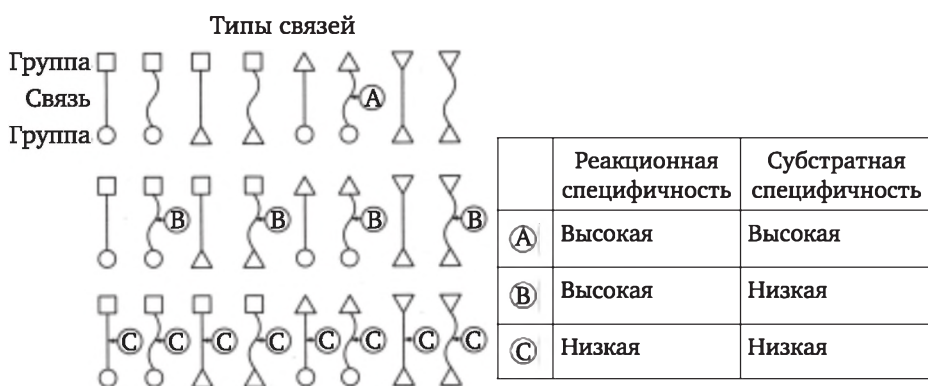
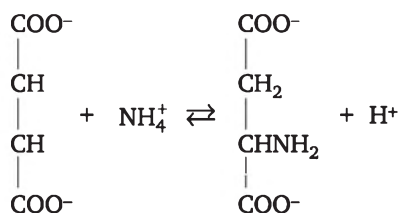


Рис. 4.1. Схемы воздействия ферментов на разные типы связей

Строгой стереоспецифичностью обладают очень многие ферменты. Так, *лактатдегидрогеназа* специфична к L-лактату, *глутаматдегидрогеназа* — к L-глутамату, а *оксидаза D-аминокислот* — к D-аминокислотам.

Различают абсолютную, относительную (групповую) и стереохимическую специфичность. Большинство ферментов обладает *абсолютной* специфичностью, т.е. ускоряют какую-либо одну реакцию. Среди ферментов, отличающихся абсолютной специфичностью, можно назвать *аспартазу*, катализирующую обратимое присоединение аминогруппы по двойной связи fumarата, ведущее к образованию L-аспартата:



Действие аспартазы строго стереоспецифично: аспартаза не присоединяет аминогруппу ни к метилфумаровой кислоте, ни к эфирам или амидам фумаровой кислоты, ни к монокарбоновым α -, β -ненасыщенным жирным кислотам. Точно так же она не дезаминирует аминомалоновую кислоту, глутамат и различного рода монокарбоновые α -аминокислоты, не дезаминирует D-аспартат и не присоединяет аминогруппу к малеату, представляющему собой цис-изомер фумарата.

Примерами абсолютной специфичности могут также служить фермент *сахараза* (инвертаза), расщепляющая только дисахарид сахарозу, *мальтаза*, действующая лишь на мальтозу, а *лактаза* — только на лактозу. Указанные выше дисахариды — мальтоза, лактоза и сахароза, хотя и имеют одинаковую эмпирическую формулу $C_{12}H_{22}O_{11}$, расщепляются только под влиянием трех различных ферментов, так как различаются по структуре и составу входящих в них моносахаридов.

Примером *относительной (групповой)* специфичности может служить действие фермента *пепсина*. Этот фермент расщепляет самые различные белковые вещества пищи: белки мяса, молока, растений. Попадая в желудок, белковые вещества расщепляются пепсином независимо от качества и количества входящих в них аминокислот благодаря тому, что аминокислоты соединены пептидной связью, которую и расщепляет пепсин. Поэтому действие пепсина относительно специфично.

Примером *стереохимической* специфичности служат ферменты, расщепляющие какой-либо изомер α или β ; к ним относятся α - и β -гликозидазы.

Термолабильность ферментов и влияние на их действие pH среды

Под термолабильностью ферментов понимают их *неустойчивость* при высокой температуре. Инактивирование исследуемого раствора при нагревании до 100 °C является одним из доказательств того, что вещество, содержащееся в растворе, является ферментом. Термолабильность фермента обусловлена наличием в его молекуле белковой части (апофермента, апоэнзима).

Активность ферментов зависит от кислотности (pH) среды: одни ферменты способны ускорять химическую реакцию, если среда кислая, другие — если щелочная, третьи — если среда нейтральная. Каждый фермент имеет оптимум pH, при котором он наиболее активен. Так, оптимум pH пепсина — 1,5—2,0, трипсина — 7,0—8,0, амилазы — 6,8—7,2, липазы — 7,0—7,5, тканевой протеазы — 4,7—5,0.

Благодаря тому, что каждый фермент проявляет свое действие при определенном pH, в клетках и тканях организма возможно сохранение строгой последовательности химических превращений различных веществ.

4.3. Классификация ферментов на основе реакционной и субстратной специфичности

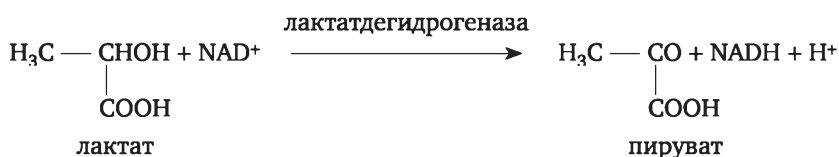
Число различных известных реакций, катализируемых ферментами, более двух тысяч, и оно непрерывно растет. В 1961 г. специальной комиссией Международного биохимического союза (International Union of Biochemistry, IUB) была создана и рекомендована к повсеместному использованию систематическая номенклатура ферментов, позволяющая ориентироваться в этом множестве биохимических превращений.

Все ферменты включены в Каталог ферментов под своим *классификационным номером* (КФ), состоящим из четырех цифр. В рамках этой классификации все ферменты подразделены на шесть главных *классов*.

Ферменты классифицируются не как индивидуальные вещества, а как катализаторы определенных химических превращений или групп химических превращений. Ферменты, выделенные из разных биологических источников и катализирующие идентичные реакции, могут довольно существенно отличаться по своей первичной структуре, тем не менее все они в перечне классифицированных ферментов фигурируют под одним шифром.

Первая цифра указывает на принадлежность к одному из шести главных классов. Следующие две определяют подкласс и подподкласс, а последняя — номер фермента в данном подподклассе. Например, *лактатдегидрогеназа* имеет номер КФ 1.1.1.27 (класс 1, оксидоредуктазы; подкласс 1.1, донором электрона является группа — CH—OH; подподкласс 1.1.1, акцептор — NADP⁺).

В настоящее время принято два типа названий ферментов: рабочее, или тривиальное, и систематическое. Это связано с тем, что многие из систематических названий оказались очень длинными и сложными. Рабочее название складывается из названия субстрата, типа катализируемой реакции и окончания *-аза*. Например:



Лактат + дегидрогенизация (процесс) + аза — лактатдегидрогеназа

Оставлены прежние рабочие (тривиальные) названия для ряда давно известных ферментов: *пепсина*, *трипсина*, *химотрипсина* и т.д.

Систематическое название фермента образуется сложнее. Оно складывается из названий субстратов химической реакции, на которую действует фермент, названия типа катализируемого химического превращения и окончания *-аза*. Например, систематическое название фермента *лактатдегидрогеназы* пишется так:

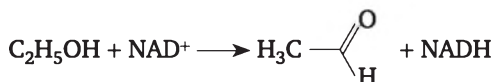
L-Лактат : NAD⁺-оксидоредуктаза
субстрат I субстрат II тип химического превращения

Систематические названия даются только изученным ферментам. В каждом из шести главных классов объединены ферменты, обладающие одинаковой реакционной специфичностью.

Оксидоредуктазы. К классу *оксидоредуктаз* относятся практически все ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные превращения.

Оксидоредуктазы подразделяются на 17 подклассов. Субстрат, подвергающийся окислению оксидоредуктазами, рассматривается как донор водорода. Поэтому ферменты этого класса называют дегидрогеназами или реже редуктазами. Их систематическое название складывается из названия восстановителя (донора электронов), окислителя (акцептора электронов) и названия класса.

Например, фермент, катализирующий окисление этанола до ацетальдегида с использованием NAD⁺ в качестве окислителя, по систематической номенклатуре называют *алкоголь: NAD⁺ - оксидоредуктаза* (*шифр* — 1.1.1.1):



Подклассы оксидоредуктаз по большей части определяются, например, типами соединений, выступающими в качестве доноров электронов, например:

- подкласс 1 — окисление гидроксигрупп до карбонильных;
- подкласс 2 — окисление карбонильных групп до карбоксильных;
- подкласс 3 — окисление групп CH–CH до C–C;
- подкласс 4 — окисление групп CH–NH₂, приводящее обычно к образованию карбонильных групп и иона NH₄⁺;
- подкласс 5 — окисление групп CH–NH;
- подкласс 8 — действие на содержащие серу группы доноров;
- подкласс 10 — на дифенолы и родственные группы доноров.

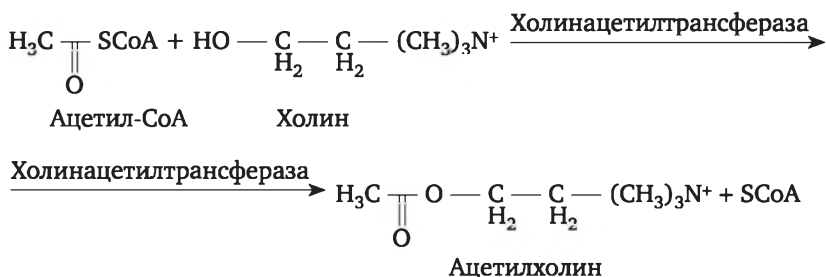
В отдельные подклассы выделены ферменты (оксигеназы), катализирующие реакции, осуществляющие введение в окисляемое вещество одного атома кислорода — подкласс 14 (монооксигеназы) или двух атомов кислорода — подкласс 13 (диоксигеназы) из молекулы O₂.

Трансферазы. К этому классу относят ферменты, катализирующие негидролитические реакции переноса различных групп от одного субстрата (донора) к другому (акцептору). Трансферазы подразделяются на восемь подклассов в зависимости от строения переносимых ими групп. Ферменты, катализирующие перенос метальных групп, называют метилтрансферазами, аминных — аминотрансферазами и т.д. В принципе к трансферазам можно отнести и оксидоредуктазы, если считать главным не процесс окисления-восстановления, а перенос группы от донора

к акцептору, сопровождающийся окислением-восстановлением. Эти ферменты можно назвать протонтрансферазами, электронтрансферазами:

- подкласс 1 — ферменты, катализирующие реакции переноса одноуглеродных остатков;
- подкласс 2 — перенос гликозильных остатков;
- подкласс 3 — перенос ацильных групп;
- подкласс 6 — перенос нуклеотидных остатков;
- подкласс 7 — перенос остатков фосфорной кислоты, ее ангидридов и эфиров.

Часто донором в реакциях, катализируемых трансферазами, является кофактор (–CoA), содержащий группу, подлежащую переносу, например:



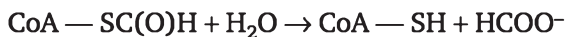
Гидролазы. Ферменты третьего класса — *гидролазы* — катализируют различные реакции гидролиза. Гидролазы подразделяются на 11 подклассов. Тривиальное название гидролаз образуется путем присоединения к названию субстрата окончания *-аза*. Систематическое название обязательно содержит термин «гидролаза». В принципе их также можно отнести к трансферазам, поскольку гидролиз можно рассматривать как перенос специфической группы субстрата, являющегося донором, на молекулу воды, служащую акцептором. Однако роль воды как акцептора считается главной в действии этих ферментов, поэтому данные ферменты выделены в отдельный класс. Например:



Подклассы подразделяют в соответствии с типом гидролизуемых связей:

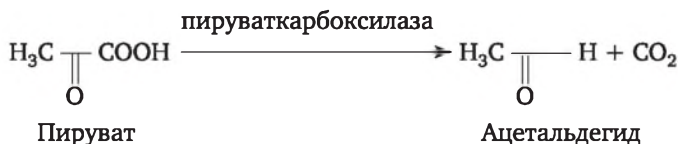
- подкласс 1 — гидролиз эфиров карбоновых кислот;
- подкласс 2 — гидролиз гликозидных связей;

- подкласс 3 — гидролиз простых эфиров и тиоэфиров;
- подкласс 4 — гидролиз пептидных связей;
- подкласс 5 — гидролиз связей C—N, отличных от пептидных связей;
- подкласс 6 — гидролиз ангидридных связей, например, катализатор формил-CoA-гидролаза (3.1.2):

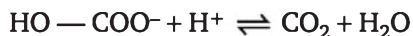


Функцией большого числа гидролаз является гидролиз биополимеров — белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов. В основном это пищеварительные ферменты. Например, пепсин — протеаза, расщепляющая белки на большие фрагменты.

Лиазы (синтазы). Ферменты четвертого класса — *лиазы* — катализируют в одном направлении негидролитическое расщепление субстрата с образованием кратной связи или, реже, цикла, а в другом направлении присоединение кратной связи. Например:



При разрыве связи C—O возникает вторая кратная связь и образуется молекула CO₂. Это происходит с помощью фермента карбоангидразы (4.2.1):



Лиазы подразделяются на четыре подкласса и классифицируются по типу разрываемой связи:

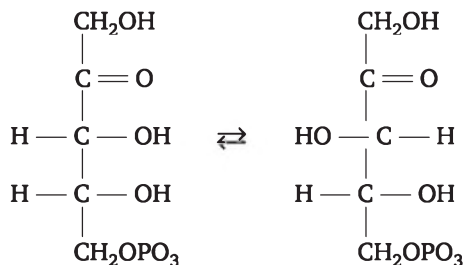
- подкласс 1 образуют C—C-лиазы;
- подкласс 2 — C—O-лиазы;
- подкласс 3 — C—N-лиазы.

Систематическое название составляется по принципу субстрат-группа-лиаза. В тривиальных названиях лиаз указывается особенность участия групп в реакциях — карбоксилаза (присоединение карбоксильной группы), дегидратаза (отнятие молекулы воды от субстрата) и т.д.

Если необходимо подчеркнуть образование субстрата из двух субстратов более простого строения, то в названии лиаз употребляется термин синтаза, например *цитратсинтаза*.

Изомеразы. К этому классу относятся ферменты, катализирующие превращения в пределах одной молекулы, иными словами катализирующие различные процессы изомеризации. Изомеразы подразделяются на пять подклассов. Названия ферментов складываются в зависимости от типа реакции изомеризации: мутазы, таутомеразы, рацемазы, эпимеразы, изомеразы и т.д.:

- подкласс 1 составляют различные ферменты, с помощью которых осуществляется обращение конфигурации при хиральном атоме C:

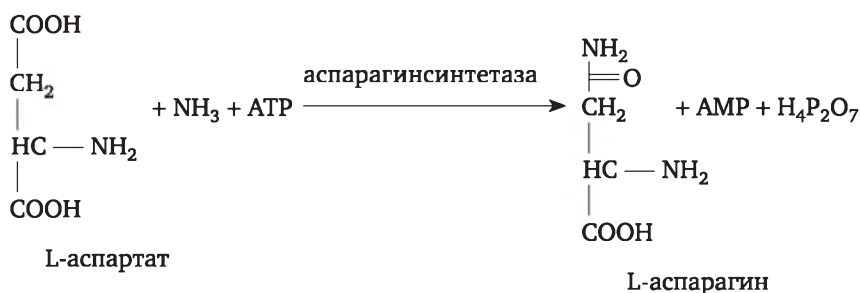


(катализатором является *D*-рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза (5.1.3));

- подкласс 2 — катализирует *цис-транс*-изомеризацию;
- подкласс 3 — катализирует внутримолекулярные процессы окисления-восстановления (взаимопревращение альдегидов и кетоз);
- подкласс 4 — катализирует внутримолекулярный перенос различных фрагментов.

Лигазы (синтетазы). Шестой класс составляют ферменты, катализирующие реакции конденсации или присоединения, сопряженные с гидролизом, с использованием энергии фосфатной связи.

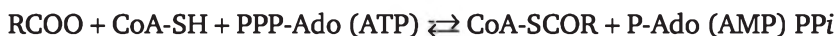
Источником энергии в реакциях, катализируемых синтетазами, являются АТФ или другие нуклеозидтрифосфаты. Например:



Разделение на подклассы связано с типом образуемой связи:

- подкласс 1 — катализирующие образование связей C—O;
- подкласс 2 — образование связей C \rightleftharpoons S;
- подкласс 3 — связей C \rightleftharpoons N;
- подкласс 4 — связей C \rightleftharpoons C;
- подкласс 5 — связей P \rightleftharpoons O.

Например, реакция



катализируется ацилкофермент-А-синтетазой.

4.4. Активные центры ферментов

Ферменты действуют только при прямом контакте с превращающимся субстратом, поэтому необходимой стадией процесса, катализируемого ферментом (ферментативного превращения), является образо-

вание комплекса фермента с субстратом или субстратами. В комплексе белок-фермент различают *активный центр* (А), т.е. место в пространственной структуре фермента, с которым связывается субстрат (S) (рис. 4.2). Селективность действия ферментов определяется высокой избирательной способностью субстрата узнавать его активный центр. Часть активного центра, ответственного за селекционное связывание, иногда называют *адсорбционным центром* фермента. Ту часть активного центра, которая принимает непосредственное участие в каталитическом процессе, называют *каталитическим центром*. Эти два центра могут перекрываться.

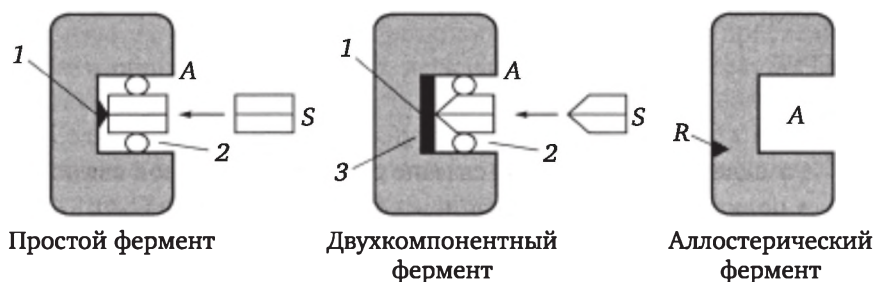


Рис. 4.2. Схематическое изображение ферментных структур:

А — активный центр; S — субстрат; R — регуляторный или аллостерический центр; 1 — каталитический участок; 2 — контактные участки; 3 — кофактор (кофермент)

Кроме активного центра, у ферментов имеется *регуляторный (аллостерический) центр*, который в молекуле фермента пространственно разделен с активным центром. Вещества, связывающиеся с аллостерическим центром, называют *аллостерическими эффекторами*. Они через аллостерический центр влияют на функцию активного центра. Аллостерические эффекторы называются либо положительными (активаторы), либо отрицательными (ингибиторы).

Обычно активный центр фермента образуется из 12—16 аминокислотных остатков полипептидной цепи. Аминокислоты, формирующие активный центр, находятся в разных местах полипептидной цепи, нередко на противоположных концах. При пространственной укладке они сближаются и образуют активный центр.

Примерно треть аминокислот ферментного белка прямо или косвенно участвует в работе активного центра. У простых ферментов роль функциональных групп контактного и каталитического участков активного центра выполняют только боковые радикалы аминокислот. У сложных ферментов главную роль в этих процессах выполняют кофакторы.

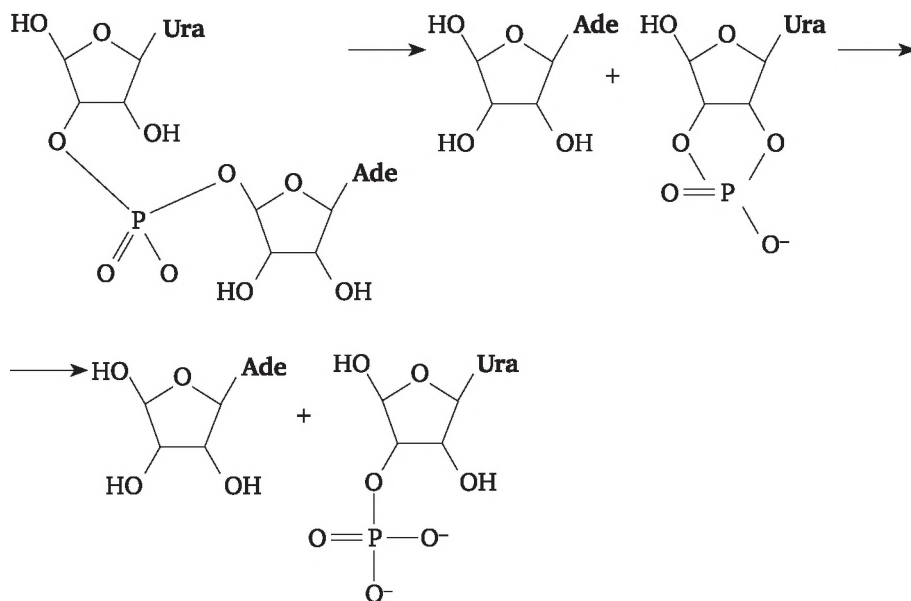
В катализе принимают участие следующие функциональные группы ферментов:

- COOH-группы дикарбоновых аминокислот и концевые COOH-группы полипептидной цепи;

- NH_2 -группы лизина и концевые NH_2 -группы полипептидной цепи;
- гуанидиновые группы аргинина;
- индольные триптофана;
- имидазольные гистидина;
- OH -группы серина и треонина;
- SH -группы цистеина и дисульфидные цистина;
- тиоэфирные группы метионина;
- фенольные группы тирозина;
- гидрофобные цепи алифатических аминокислот и ароматическое кольцо фенилаланина.

Например, фермент панкреатическая рибонуклеаза катализирует двустадийный гидролиз фосфодиэфирных связей в РНК, сходный в общих чертах со щелочным гидролизом этих связей. На первой стадии происходит внутримолекулярная атака атома Р на 2'-ОН-группу примыкающей со стороны 3'-кислородного атома остатка рибозы с образованием циклического 2',3'-фосфата и разрывом межуклеотидной связи. На второй стадии происходит гидролиз пятичленного фосфодиэфирного цикла.

Процесс, изображенный ниже, представляет пример гидролиза одного из простейших субстратов рибонуклеазы — уридилил-(3'→5')-аденозина.



Белок, который в данном случае сам по себе является ферментом и не требует участия дополнительных кофакторов, выполняет две главные функции: узнает специфичный субстрат, ориентируя его в составе комплекса нужным образом относительно имидазольных колец двух остатков гистидина, и осуществляет с помощью этих двух остатков, формирующих каталитический центр фермента, общий кислотный

и основной катализ на обеих стадиях гидролиза. Эти функции — наиболее общие для всех белков, являющихся ферментами или входящими в их состав.

Помимо кислотно-основного катализа белки в отдельных случаях могут осуществлять нуклеофильный катализ.

Используя математическую символику, общее строение ферментов можно представить следующим образом:



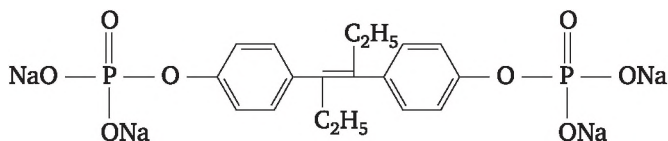
4.5. Активаторы и ингибиторы ферментов

Вещества, ускоряющие ферментативные реакции, получили название *активаторы*, а замедляющие — *ингибиторы*. Так, например, активатором пепсиногена (предшественника пепсина) в желудочном соке является соляная кислота, та же соляная кислота является ингибитором для амилазы слюны.

На активность ферментов влияет присутствие в системе различных веществ. Так, например, некоторые катионы способны повышать, а другие снижать активность ферментов. Большинство тяжелых металлов — Fe, Hg, Cd — относится к ингибиторам ферментов. Активаторами являются ионы металлов Mg, Mn, K, Zn, Mo.

Некоторые ферменты секретируются в неактивном состоянии в виде *проферментов*. Например, пепсин желудочного сока выделяется клетками в виде пепсиногена и активируется соляной кислотой в желудке. Трипсин поджелудочной железы выделяется в неактивном состоянии в виде трипсиногена и активируется в кишечнике под влиянием фермента энтерокиназы кишечного сока. В том и в другом случае активация заключается в отщеплении от пепсиногена и трипсиногена полипептидов, после чего ферменты становятся активными.

Большинство лекарственных препаратов являются ингибиторами ферментных систем. Эти свойства медикаментов и используются для лечения различных заболеваний. Например, фосфэстрол, являющийся тетранатриевой солью дифосфорного эфира транс-3,4-дипараоксифенилгексена-3 применяют при лечении рака предстательной железы. Его можно рассматривать как соединение, обладающее «транспортной» функцией, т.е. доставляющее активное вещество в опухолевую ткань.



В организме реализуются два типа ингибирования (торможения) активности ферментов — *субстратное*, или конкурентное, и *аллостерическое*.

При субстратном ингибировании молекула субстрата и ее аналог присоединяются к одному и тому же активному центру и между ними возникает «конкуренция», обусловленная тем, что и субстрат, и аналог могут присоединяться к активному центру, так как их структуры очень близки, а различия весьма незначительны. «Конкурент» субстрата взаимодействует с активным центром фермента, и субстрат не может вступить в контакт с ферментом. Чтобы вытеснить «конкурента», необходимо увеличить концентрацию субстрата.

Ферменты могут ассоциироваться друг с другом в мультиферментные системы и функционировать совместно в форме ферментных комплексов. Такие мультиферментные системы обладают способностью автоматически поддерживать требуемую скорость суммарной реакции. В большинстве таких систем конечный продукт последовательных реакций оказывает ингибирующее действие на первый фермент. Такой фермент называют *аллостерическим* или *регуляторным*. Скорость же всего процесса в целом определяется стационарной концентрацией конечного продукта. Такой тип ингибирования конечным продуктом называется ингибированием по типу обратной связи или *ретроингибированием*.

В некоторых случаях аллостерические ферменты снижают скорость ферментативной реакции, уменьшая v_{\max} . Однако чаще всего их действие проявляется в уменьшении сродства фермента к субстрату.

Глава 5

КИНЕТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Наука, изучающая зависимость скорости химических процессов от условий их протекания, называется химической кинетикой.

Кинетика биологических процессов — это раздел физической химии, в котором изучается скорость протекания биохимических процессов, определяемая в первую очередь свойствами катализатора. Вследствие этого она значительно сложнее, чем кинетика некаталитических реакций.

Изучение кинетики связано с экспериментальным измерением концентрации реагентов в ходе реакции. Методы химической кинетики подразделяют на химические, физические и биохимические в зависимости от способа измерения количества вещества или его концентрации через определенные промежутки времени. К химическим относятся методы, основанные на традиционных способах количественного химического анализа (например, титрометрический). Из физических наиболее широко применяются спектральные методы, основанные, как правило, на измерении спектров поглощения реагентов или продуктов в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях. Широко используют также спектры электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

5.1. Кинетические уравнения. Порядок реакции. Период полупревращения

Задача сводится к определению концентрации реагентов C_i как функции от времени по скорости реакции:

$$v_i = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} v_i = \pm \frac{dC_i}{dt}, \quad (5.1)$$

где $C_i = C_i(t)$ — концентрация i -го реагента в момент времени t .

Для того чтобы измерить скорость химической реакции, необходимо измерить концентрации реагентов через определенные промежутки времени. Уравнение, описывающее зависимость скорости реакции от концентрации ее участников — реагентов, называется *кинетическим уравнением реакции*. На основании полученных данных строится

временная зависимость (зависимость от времени) концентрации реагента (субстрата) [S] или продукта [P], которая называется кинетической кривой (рис. 5.1).

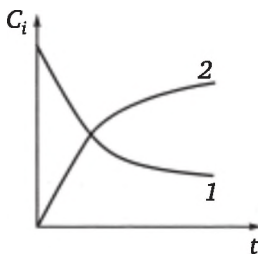


Рис. 5.1. Типичные кинетические кривые расходования субстрата (1) и накопления продукта (2)

В общем виде для реакции $n_a A + n_b B + \dots = P_i + P_j + \dots$ скорость химического процесса определяется как

$$v = -dC_i / dt = k C_A^\alpha C_B^\beta \dots, \quad (5.2)$$

где C_A, C_B — текущие концентрации соответствующих веществ; α, β — соответственно постоянные, не зависящие от концентрации показатели порядка реакции по реагентам А и В; $v_A = -(dC_A/dt) = k_A C_A^\alpha$ — выражение для скорости по реагенту А и $v_B = -(dC_B/dt) = k_B C_B^\beta$ — выражение для скорости по реагенту В; $(\alpha + \beta + \dots)$ — суммарный (общий) порядок реакции — алгебраическая сумма показателей степеней при концентрациях всех реагентов, входящих в кинетическое уравнение; k — константа скорости реакции, равная скорости реакции при единичной концентрации веществ, вступающих в эту реакцию. Зависимость (5.2) выражает закон действующих масс для скорости.

Изучение различных реакций показывает, что скорость превращения может в ходе реакции меняться, т.е. скорость является функцией времени:

$$v = v(t).$$

Аналитическое решение уравнения (5.1) приводит к установлению этой функции. Рассмотрим наиболее простые случаи решения уравнения (5.1), когда порядок протекания химических процессов дается целым числом.

1. В реакциях нулевого порядка скорость реакции не зависит от концентрации, так как показатель порядка реакции равен нулю:

$$v = -(dC/dt) = k C_0 = k. \quad (5.3)$$

Проинтегрировав уравнение (5.3) $(-dC/dt) = k C_0$ в пределах $\{t = 0, t\}$, получим интегральное уравнение для реакции нулевого порядка:

$$C_0 - C = k_0 t,$$

где C_0 — концентрация исходного вещества в начальный момент времени (при $t = 0$); C — концентрация исходного вещества в момент времени t ; k_0 — константа скорости реакции нулевого порядка. Размерность k_0 — [моль·л⁻¹ · (единица времени)⁻¹] (обычно (единица времени)⁻¹ — это с⁻¹, мин⁻¹).

Нулевой порядок, как правило, реализуется в случаях, когда убыль вещества в процессе протекания реакции восполняется поставкой его из другой фазы или если скорость реакции лимитируется подачей энергии, необходимой для активации реагирующих веществ (например, в фотохимических процессах, когда определяющим фактором может служить количество поглощенного света, а не концентрация реагирующих веществ).

2. Если показатель порядка реакции равен единице, то реакция называется реакцией *первого* порядка:

$$v = -\frac{dC}{dt} = k_1 C.$$

Проинтегрировав это уравнение в пределах $\{t = 0, t\}$, получим интегральное уравнение для реакции *первого* порядка:

$$\ln\left(\frac{C_0}{C}\right) = k_1 t,$$

где C_0 — концентрация исходного вещества в начальный момент времени (при $t = 0$); C — концентрация исходного вещества в момент времени t ; k_1 — константа скорости реакции первого порядка. Размерность k_1 — (единица времени)⁻¹, например с⁻¹, мин⁻¹.

Уравнением первого порядка часто описываются мономолекулярные реакции, такие как изомеризация или термическое разложение. Или более сложные реакции, как, например, реакция гидролиза сахарозы. Эта реакция бимолекулярная, однако из-за того, что она протекает в большом избытке воды, скорость процесса зависит только от концентрации сахарозы.

3. Реакции *второго* порядка:

$$v = -\frac{dC}{dt} = k_2 C_1 C_2,$$

где C_1, C_2 — концентрации реагирующих веществ в момент времени t .

Проинтегрировав уравнение при $C_1 = C_2 = C$ в пределах $\{t = 0, t\}$, получим

$$\frac{1}{C} - \frac{1}{C_0} = k_2 t,$$

где C_0 — концентрация исходного вещества в начальный момент времени (при $t = 0$); C — концентрация исходного вещества в момент времени t ; k_2 — константа скорости реакции второго порядка.

Размерность k_2 — л·моль⁻¹·(единица времени)⁻¹, например л/моль · с⁻¹.

По аналогичной схеме находят уравнение кинетики реакции произвольного характера.

Важной количественной характеристикой протекания реакций во времени является *период полупревращения* ($\tau_{1/2}$) — время, за которое расходуется половина вступившего в реакцию вещества.

Для реакции нулевого порядка:

$$\tau_{1/2} = C_0/2k_0;$$

для реакции первого порядка:

$$\tau_{1/2} = \ln 2/k_1;$$

для реакции второго порядка:

$$\tau_{1/2} = 1/(k_2 C_0).$$

Итак, если показатели порядка равны единице и концентрации участников реакции равны между собой, то вышесказанное можно свести к данным, представленным в табл. 5.1.

В общем случае, когда концентрации реагентов и показатели порядка реакции неодинаковы, для установления порядка изучаемой реакции удобно перейти от концентрации к количествам веществ, прореагировавших в единице объема.

В реальных экспериментальных исследованиях порядок реакции может быть различным, в том числе нецелочисленным, и изменяться в зависимости от условий протекания процесса.

Для решения задач химической кинетики все реакции подразделяют на гомогенные и гетерогенные, так как характер протекания процесса в значительной мере зависит от этого признака. Реакция является *гомогенной*, если реагирующие вещества находятся в одной фазе, и *гетерогенной*, если в разных фазах.

При рассмотрении биохимических превращений, протекающих в живом организме, не всегда просто решить, к какому типу относится та или иная реакция.

Например, жизненно необходимая реакция образования оксигемоглобина



обеспечивает снабжение тканей организма кислородом, поступающим в легкие в газообразном состоянии. Эта реакция гомогенная, так как и гемоглобин, и кислород находятся в одной и той же клеточной жидкости эритроцитов в растворенном состоянии. Большое число био-

Примеры решения кинетических уравнений для некоторых реакций, имеющих целочисленные порядки

Порядок реакции	Кинетическое уравнение реакции	Решение кинетического уравнения (интегральное уравнение)	Размерность константы скорости	Функция концентрации, линейно зависящая от времени	Период полупревращения
0	$-(dC/dt) = k_0 C_0$	$C_0 - C = k_0 t$	моль/л · с	с	$C_0/2k_0$
1	$-(dC/dt) = k_1 C^1$	$\ln(C_0/C) = k_1 t$	с ⁻¹	$\ln C$	$(\ln 2)/k_1$
2	$-(dC/dt) = k_2 C^2$	$1/C - 1/C_0 = k_2 t$	л/моль · с	$1/C$	$1/k_2 C_0$
3	$-(dC/dt) = k_3 C^3$	$1/C^2 - 1/C_0^2 = 2k_3 t$	л ² /моль ² · с	$1/C^2$	$3/2k_3 C_0^2$
n	$-(dC/dt) = k_n C^n$	$1/C^{(n-1)} - 1/C_0^{(n-1)} = (n-1)k_n t$	$(\text{л}/\text{моль})^{(n-1)} 1/\text{с}$	$1/C^{n-1}$	$(2^{(n-1)} - 1)/(n-1)k_n C_0^{(n-1)}$

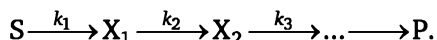
химических превращений протекает внутри биологических мембран или на их поверхности. В частности, отдельные стадии биоокисления глюкозы связаны с мембранами клеточных органелл — митохондрий. Здесь решение вопроса о *гомогенности* или *гетерогенности* реакций зависит от того, в каком фазовом состоянии находятся мембраны.

Характер протекания химического превращения во времени при различных условиях существенно зависит от механизма, с помощью которого оно осуществляется. По механизму все реакции подразделяются на простые и сложные.

Реакция называется простой, если продукт образуется в результате непосредственного взаимодействия молекул (частиц) реагентов. Однако большинство химических превращений веществ является сложными многостадийными процессами. Все биохимические реакции — сложные.

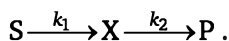
Сложной реакцией называют совокупность одновременно протекающих элементарных реакций, в результате которых происходит превращение термодинамически неравновесной системы в равновесную (реагентов в продукты). Сложные реакции называются также многостадийными. Типичной сложной реакцией является окисление глюкозы кислородом в процессе клеточного дыхания, где диоксид углерода и вода образуются из глюкозы в результате более двух десятков простых реакций с таким же числом промежуточных продуктов. Большинство биохимических превращений происходит последовательно.

Последовательными называются сложные реакции, в которых продукт первой стадии вступает во взаимодействие во второй стадии, продукт второй стадии в третьей и т.д., пока не образуется конечный продукт Р. Схематично последовательные реакции можно записать:



Здесь S — вступающий в реакцию реагент (*субстрат* — термин, используемый в литературе по биохимии); $X_1, X_2 \dots$ — промежуточные продукты (*интермедианты* — термин, принятый в литературе по биохимии; как правило, в биохимических процессах это ферментативно-субстратный комплекс); Р — конечный продукт.

Наиболее простая последовательность реакций состоит из двух мономолекулярных стадий:



Кинетика этой реакции описывается системой трех дифференциальных уравнений:

$$dC_S/dt = -k_1 C_S; \quad (5.1)$$

$$dC_X/dt = k_1 C_S - k_2 C_X; \quad (5.2)$$

$$dC_p/dt = k_2 C_X, \quad (5.3)$$

где C_S , C_X , C_P — концентрации веществ S, X, P.

Решение уравнения (5.1) имеет вид

$$C_S = C_0 \cdot e^{-k_1 t}; \quad (5.4)$$

из (5.4) следует:

$$C_0 - C_S = C_0(1 - e^{-k_1 t}). \quad (5.5)$$

Так как для замкнутой системы $C_0 = C_S + C_X + C_P$, то уравнение (5.3) можно записать в виде

$$dC_p/dt = k_2(C_0 - C_S - C_P) \quad (5.6)$$

или с учетом (5.5):

$$dC_p / dt - k_2 C_P = k_2 C_0(1 - e^{-k_1 t}). \quad (5.7)$$

Решением (5.7) является выражение

$$C_P = C_0 \left(1 - \frac{k_2}{k_2 - k_1} e^{-k_1 t} + \frac{k_1}{k_2 - k_1} e^{-k_2 t} \right). \quad (5.8)$$

Для C_X с учетом (5.2), (5.4), (5.8) получим

$$C_X = \frac{k_1 C_0}{k_2 - k_1} (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t}). \quad (5.9)$$

Графические решения уравнений (5.4), (5.8) и (5.9) представлены на рис. 5.2.

Концентрация исходного вещества S (его расход) падает во времени, концентрация промежуточного вещества X проходит через максимум, величина которого зависит только от соотношения скоростей обеих реакций.

При $k_1 \gg k_2$ максимум кривой лежит ближе к ординате, с увеличением соотношения k_1/k_2 скорость суммарной реакции практически определяется скоростью dC_X/dt . При $k_2 \gg k_1$ скорость $dC_P/dt = dC_S/dt$.

В общем случае общая скорость последовательных реакций определяется скоростью наиболее медленной стадии, называемой *лимитирующей*.

В случае когда k_1 и k_2 сопоставимы, следует учитывать все уравнения, т.е. (5.4), (5.8) и (5.9). При этом для промежуточного продукта X характерно *стационарное состояние*, т.е. такой режим протекания процессов, когда разность скоростей образования и расходования промежуточных частиц становится малой по сравнению с этими скоростями. Концентрации промежуточных частиц, отвечающие этому режиму (состоянию), называются *стационарными*.

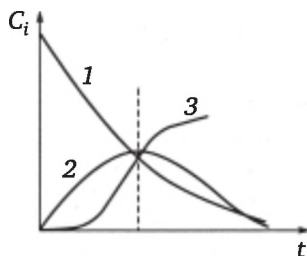


Рис. 5.2. Кинетические кривые: зависимость изменения концентрации реагентов (C_i) от времени (t) протекания процесса:

1 — расходование исходного вещества (субстрата S); 2 — изменение концентрации промежуточного продукта (интермедианта X); 3 — накопление продукта реакции P

По смыслу стационарный режим напоминает ситуацию, которая устанавливается в емкости с водой, если в нее с постоянной скоростью поступает вода и с той же скоростью из нее вытекает. При протекании реакции в стационарном режиме концентрации всех промежуточных продуктов в данной точке пространства остаются постоянными, а следовательно, в течение всего времени протекания процесса в стационарном режиме скорости образования и расходования всех промежуточных продуктов одинаковы:

$$C_i = \text{const}, \text{ а } dC_i/dt = 0, \quad (5.10)$$

где C_i — концентрация i -го промежуточного продукта в момент времени t .

Для быстрого установления и последующего сохранения стационарного режима протекания реакции частицы промежуточных продуктов должны быть достаточно активными (продолжительность их жизни должна быть небольшой по сравнению со временем протекания реакции) и их концентрация должна быть достаточно мала. Метод расчета с использованием условия (5.10) при постоянстве концентрации реагентов называется *методом стационарных концентраций Боденштейна*.

Хорошо известно, что быстрота химического превращения может существенно изменяться при понижении или повышении температуры. Наиболее часто встречающимся фактом является возрастание скорости реакции с увеличением температуры. Такой тип температурной зависимости скорости называется *нормальным* (рис. 5.3). Однако известны химические превращения, скорость которых падает с увеличением температуры. Такой тип зависимости скорости называется *аномальным*.

Особый интерес для биохимиков представляет температурная зависимость скорости ферментативной реакции. Практически все реакции, протекающие в организме в интервале температур 273—320 К, имеют нормальную температурную зависимость скорости, при температурах выше 320 К наблюдается аномальный ход температурной зависимости.

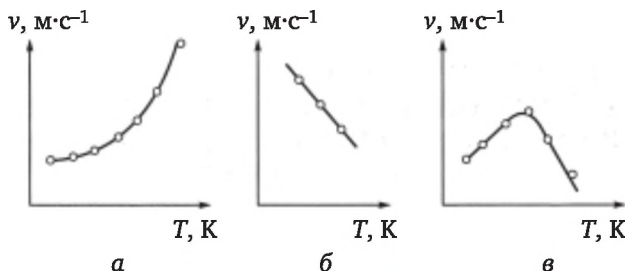


Рис. 5.3. Типы температурной зависимости скорости химических реакций:
а — нормальная; б — аномальная; в — ферментативная

Нормальная температурная зависимость скорости реакции от температуры и энергии активации описывается эмпирическим уравнением, называемым *законом Аррениуса*:

$$k = Ae^{\frac{E}{RT}}, \quad (5.11)$$

где k — константа скорости реакции; A и E — постоянные, не зависящие от температуры величины; R — универсальная газовая постоянная; T — абсолютная температура.

Величина A называется *предэкспоненциальным множителем*, размерность которого совпадает с размерностью константы скорости. Величина E называется *энергией активации* (энергетическим барьером). Энергия активации — избыток энергии (в расчете на 1 моль) над среднетепловой энергией исходных молекул, необходимый для того, чтобы произошла химическая реакция. Энергия активации измеряется в Дж/моль.

На рис. 5.4 представлено снижение энергии активации в ферментативных процессах по сравнению с неферментативными. В соответствии с уравнением (5.11) данное снижение увеличит скорость реакции, но не изменит ее направление (знак энергии Гиббса ΔG не изменится).



Рис. 5.4. Энергетический барьер в ферментативных (1) и неферментативных (2) реакциях:

$E_{\text{акт}}$ — энергия активации для реакции, протекающей без катализатора (фермента); $E_{\text{акт}}^*$ — энергия активации для реакции, протекающей в присутствии катализатора (фермента) с образованием промежуточного продукта (интермедиата); $\Delta H < 0$ — изменение энтальпии в ходе реакции

5.2. Зависимость скорости ферментативных реакций от концентрации субстрата, среды и температуры. Уравнение Михаэлиса — Ментен и его параметры

Общие принципы кинетики химических реакций применимы и к ферментативным реакциям. На основании большого числа экспериментальных исследований было установлено, что зависимость скорости ферментативного процесса от концентрации субстрата в общем виде можно представить кривой, изображенной на рис. 5.5.

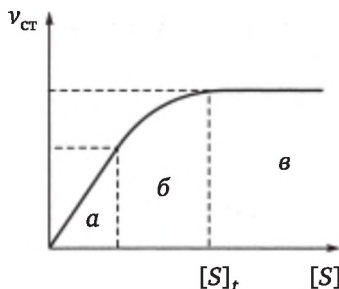


Рис. 5.5. Общий вид зависимости стационарной скорости протекания ферментативной реакции ($v_{ст}$) от концентрации субстрата ($[S]$) при постоянной концентрации фермента:

а — реакция первого порядка (при $[S] < K$ скорость реакции пропорциональна концентрации субстрата); *б* — реакция смешанного порядка; *в* — реакция нулевого порядка, когда $v_{ст} = v_{max}$ и скорость реакции не зависит от концентрации субстрата.

При низкой концентрации субстрата зависимость стационарной скорости реакции от концентрации субстрата (см. рис. 5.5, участок *а*) близка к линейной и подчиняется кинетике реакций первого порядка, т.е. скорость реакции $S \rightarrow P$ прямо пропорциональна концентрации субстрата S и в любой момент времени t определяется следующим кинетическим уравнением:

$$v_{ст} = -(d[S]/dt) = k'[S],$$

где $[S]$ — молярная концентрация субстрата S ; $-d[S]/dt$ — скорость убыли субстрата; k' — константа скорости реакции, которая в данном случае имеет размерность, обратную единице времени. При высокой концентрации субстрата (участок *в*) скорость реакции максимальна, постоянна и не зависит от концентрации субстрата $[S]$. В этих условиях реакция подчиняется кинетике реакций нулевого порядка $v = k'$ и целиком определяется концентрацией фермента.

В данном случае проявляется важная особенность ферментативных реакций — явление насыщения фермента субстратом. На участке *б* скорость реакции пропорциональна произведению концентраций двух

реагирующих веществ (субстрата и фермента), т.е. реакция протекает по законам реакции второго порядка. Из приведенной на рис. 5.5 зависимости очевидно, что изменение концентрации субстрата в области низких значений существенно влияет на скорость процесса, а при высоких концентрациях субстрата это влияние очень мало или практически отсутствует. При низких концентрациях субстрата скорость реакции контролируется двумя факторами: собственно скоростью катализируемой ферментом реакции и частотой столкновения фермента с субстратом. По мере увеличения концентрации субстрата частота столкновений перестает быть фактором, определяющим скорость реакции.

Уравнения кинетики последовательных реакций (5.5), (5.8), (5.9) справедливы и для кинетики ферментативных реакций, тщательное изучение которых показало, что общий вид кинетических кривых расходования субстрата S имеет S-образный вид, типичный для реакций последовательного превращения (рис. 5.6).

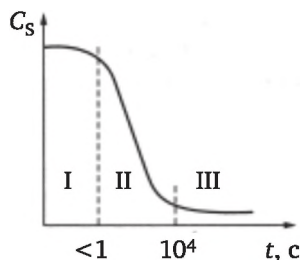
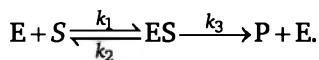


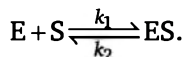
Рис. 5.6. Общий вид кинетической кривой расходования субстрата S :

I — начальный участок (период индукции), который длится менее долей секунды и занимает незначительную часть общего времени протекания реакции. Здесь скорость меняется от нулевой до $v_{ст}$; II — стационарный участок. На этом участке скорость остается примерно постоянной в течение нескольких минут; III — основной участок, на который приходится большая часть времени протекания реакции; здесь скорость монотонно падает

Такой вид кривой расходования субстрата по модели, предложенной Михаэлисом и Ментен, объясняется образованием промежуточного комплекса в ферментативном процессе: в ходе ферментативной реакции субстрат S образует с молекулой фермента E соединение — фермент-субстратный комплекс ES , распадающийся по двум направлениям. При распаде по первому пути вновь образуется исходная молекула субстрата S и фермента E . При распаде по другому пути образуется молекула продукта P и регенерируется молекула фермента. Таким образом, механизм ферментативного процесса (ферментативного катализа) описывается как последовательная реакция фермент + субстрат \rightleftharpoons фермент-субстратный комплекс \rightarrow продукт + фермент, в которой фермент E связывается с субстратом S в обратимой реакции (константы скоростей k_1 , k_2) с образованием фермент-субстратного комплекса ES . Последний распадается в реакции с константой скорости k_3 , на фермент E и продукт P :



Экспериментальные доказательства рассмотренного механизма действия ферментов впервые получили Л. Михаэлис и М. Ментен (1913), принявшие, что промежуточный фермент-субстратный комплекс ES обратимо образуется согласно закону действия масс:



Они полагали, что скорость распада ES с образованием продукта P мала по сравнению со скоростью установления равновесия, определяемого k_1 и k_2 . На основании данных предположений было выведено уравнение, названное в честь авторов уравнением Михаэлиса — Ментен, выражающее количественное соотношение между концентрацией субстрата и стационарной скоростью ферментативной реакции:

$$v_{\text{ст}} = v_{\text{max}} \frac{[S]}{[S] + K_M}, \quad (5.12)$$

где v_{max} — максимальная скорость реакции при больших концентрациях субстрата (см. рис. 5.6), а K_M — *константа Михаэлиса*, представляющая собой константу диссоциации фермент-субстратного комплекса на фермент и исходный субстрат. $K_M = (k_2 + k_3)/k_1$. В модели предполагается, что продукт не может обратно превращаться в субстрат (что справедливо для ранних стадий реакции, когда концентрация продукта низкая). Поскольку на начальной стадии реакции концентрация P мала, то и вероятность обратной реакции продукта с ферментом бесконечно мала, и тогда k_3 определяет скорость всего процесса. В этом случае скорость ферментативной реакции $v_{\text{ст}}$ определяется как $v_{\text{ст}} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k_3[ES]$, что и подтверждает наличие пря-

молинейного начального участка на рис. 5.6.

В дальнейшем данная модель была развита с учетом того, что концентрация фермент-субстратного комплекса ES может уменьшаться с заметной скоростью.

В уравнении Михаэлиса — Ментен (5.12) величины v_{max} , K_M постоянны для данного фермента, хотя могут меняться независимо друг от друга при различных условиях.

Если $[S] \ll K_M$:

$$v_{\text{ст}} = \frac{v_{\text{max}}}{K_M} [S]$$

то и реакция подчиняется уравнению первого порядка.

При $[S] \ll K_M$

$$v_{\text{ст}} = v_{\text{max}}.$$

Это означает, что реакция не зависит от концентрации субстрата и протекает по уравнению нулевого порядка.

При $K_M = [S]$, $v_{\text{ст}} = v_{\text{max}}/2$, т.е. K_M численно равна концентрации субстрата $[S]$, при которой скорость реакции составляет половину максимальной величины. Это равенство может использоваться для определения константы Михаэлиса — Ментен.

Уравнение Михаэлиса — Ментен (5.12) можно преобразовать аналогично преобразованиям Гендерсона — Гассельбаха для диссоциации слабых электролитов:

$$[S] = K_M \frac{v}{v_{\text{max}} - v},$$

или

$$\lg[S] = \lg K_M - \lg \frac{v_{\text{max}} - v}{v}.$$

Когда $v = v_{\text{max}}/2$, $\lg \frac{v_{\text{max}} - v}{v} = 0$ и $[S] = K_M$.

На рис. 5.7 показана кинетическая кривая ферментативной реакции, построенная по уравнению Михаэлиса — Ментен, представляющая собой гиперболическую зависимость стационарных скоростей катализируемой ферментом реакции от концентрации субстрата.

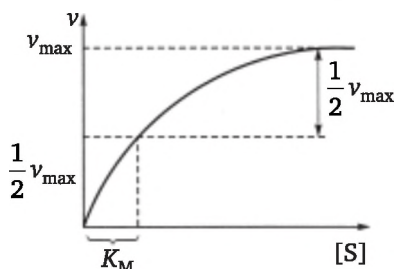


Рис. 5.7. Кинетическая кривая ферментативной реакции

Для графического определения K_M уравнение (5.12) может быть преобразовано следующим образом:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{\text{max}}} \left(\frac{1}{[S]} \right) + \frac{1}{v_{\text{max}}},$$

из которого следует линейная зависимость $1/v$ от $1/[S]$.

Подобное преобразование первыми предложили Г. Лайнуивер и Д. Бэрк, поэтому уравнение (5.13) и график (рис. 5.8) носят их имена.

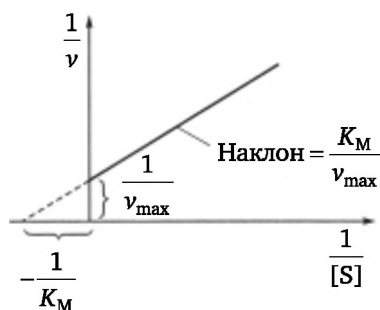


Рис. 5.8. График Лайнуивера — Бэрка

Тангенс угла наклона прямой на рис. 5.8 равен соотношению K_M/v_{\max} , величина, отсекаемая на оси $1/v$, соответствует значению $1/v_{\max}$.

Если на графике (см. рис. 5.8) провести линию до пересечения с осью $1/[S]$, то в точке $1/v = 0$ $1/[S] = -1/K_M$.

Таким образом, при экспериментальном определении скорости процесса минимум при двух различных концентрациях субстрата можно получить константу K_M .

5.3. Фармакокинетика

Фармакокинетика — это учение о кинетических закономерностях распределения инородных веществ (в частности, лекарственных) во внутренней среде организма.

Основная задача фармакокинетики — количественное описание с помощью уравнений кинетики закономерностей протекания во времени всасывания, распределения, метаболизма и экскреции веществ. На этой основе устанавливается связь между концентрацией инородного вещества в области его действия и величиной эффекта.

Зависимость «биологический ответ клетки — количество добавленного вещества» аналогична зависимости «скорость ферментативного процесса — концентрация субстрата» (см. рис. 5.5).

Распределение лекарственного препарата во времени в организме можно представить схемой, приведенной на рис. 5.9.

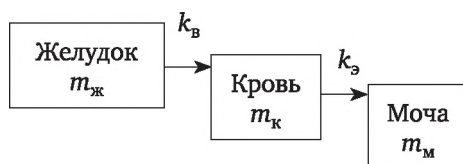
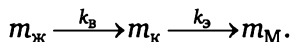


Рис. 5.9. Фармакокинетическая модель прохождения лекарственного вещества через организм

Данная фармакокинетическая модель математически может быть описана аналогично схеме последовательных химических реакций $S \xrightarrow{k_1} X \xrightarrow{k_2} P$ и представлена помещенной ниже последовательно-стью:



Здесь $k_{\text{в}}$ — константа скорости всасывания; $k_{\text{э}}$ — константа скорости экскреции лекарственного препарата.

Тогда кинетику изменения массы лекарственного вещества в желудке $m_{\text{ж}}$, крови $m_{\text{к}}$, моче $m_{\text{м}}$ (фармакокинетику) можно представить системой трех дифференциальных уравнений (5.1—5.3), описывающих схему последовательных реакций (см. выше), если сделать замену $S \rightarrow m_{\text{ж}}$; $X \rightarrow m_{\text{к}}$; $P \rightarrow m_{\text{м}}$, а $k_1 \rightarrow k_{\text{в}}$, $k_2 \rightarrow k_{\text{э}}$. Соответственно уравнения кинетики и кинетические кривые этих, по существу, разных процессов будут качественно сходны, что отражено на графиках, представленных на рис. 5.2 и 5.10.

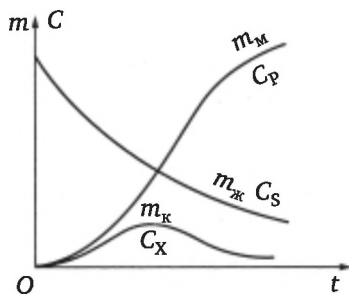


Рис. 5.10. Кинетические изменения массы лекарственного вещества:
в желудке субстрат $m_{\text{ж}}(C_{\text{ж}})$, в крови интермедиат $m_{\text{к}}(C_{\text{к}})$ и в моче продукт $m_{\text{м}}(C_{\text{п}})$, моделируемые последовательной реакцией $S \rightarrow X \rightarrow P$

Содержание лекарства в крови в зависимости от времени описывается кривой с максимумом. Максимальное содержание лекарства в крови должно быть больше некоторого минимального (действующего) значения, но не выше некоторого максимального (токсичного) значения. По виду кинетической кривой $m_{\text{к}}(t)$ можно прогнозировать вводимую дозу лекарственного вещества и время приема очередной дозы.

Глава 6

УГЛЕВОДЫ

Углеводы (сахара) — группа природных полигидроксиальдегидов и полигидроксикетонов с общей формулой $(\text{CH}_2\text{O})_n$. Углеводы являются важными компонентами питания.

По числу мономерных единиц углеводы подразделяются на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

К моносахаридам (монозам) относят полиоксиальдегиды (альдозы) и полиоксикетоны (кетозы). По числу p углеродных атомов в молекуле моносахариды делят на триозы ($p = 3$), тетрозы ($p = 4$), пентозы ($p = 5$), гексозы ($p = 6$), гептозы ($p = 7$), октозы ($p = 8$), нанозы ($p = 9$). Наиболее важными являются пентозы и гексозы. Для моносахаридов характерна стереоизомерия. По взаимному расположению водорода и гидроксильной группы ($-\text{OH}$) у последнего асимметрического углеродного атома все моносахариды относят к D- или L-ряду. Распространенные в природе свободные моносахариды и моносахариды, входящие в состав многочисленных соединений, относятся главным образом к D-ряду. В твердом состоянии моносахариды находятся в виде циклических полуацеталей — пятичленных (фураноз) и шестичленных (пираноз). В растворе моносахаридов, кроме их циклических форм, присутствуют наиболее реакционноспособные ациклические формы.

6.1. Моносахариды

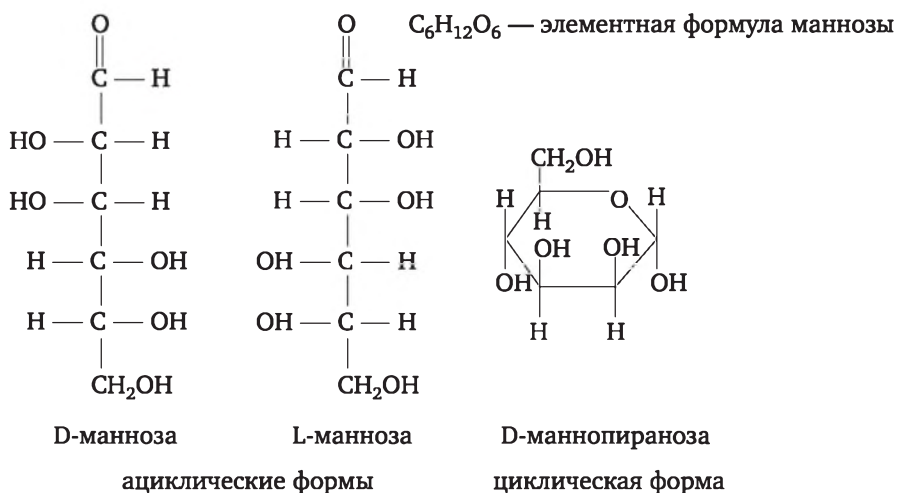
Глюкоза (виноградный сахар) — наиболее распространенный в природе моносахарид. Она содержится в свободном виде в сладких фруктах, является обязательным компонентом крови человека и других млекопитающих, входит в качестве основного звена в состав многих природных олиго- и полисахаридов. Содержание глюкозы в крови человека считается в норме от 80 до 120 мг в 100 мл крови. Из остатков глюкозы построены важнейшие полисахариды — гексозаны.

Глюкоза — наиболее легко утилизируемый источник энергии для человека. Она особенно необходима для нормального функционирования центральной нервной системы. Кроме этого глюкоза играет исключительно важную роль в выработке инсулина — основного анаболического и антикатаболического гормона организма человека. Как и гормон роста (соматотропин), инсулин увеличивает скорость проникновения аминокислот в клетки мышц.

Глюкоза служит непосредственным предшественником гликогена (в основном мышечного) — запасного углевода организма. Она также легко превращается в триглицериды, причем этот процесс особенно усиливается при избыточном поступлении глюкозы с пищей. В природе распространены также гексозы манноза и галактоза.



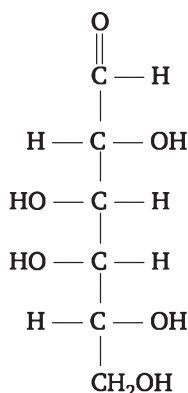
Манноза может встречаться в свободном виде, содержится в ячмене, корке апельсина, но чаще вместе с другими моносахаридами она образует длинные полисахаридные цепи или входит в состав гликопротеидов.



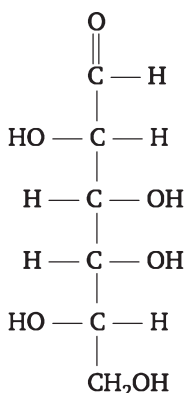
Галактоза не встречается в свободном виде. Она вместе с глюкозой входит в состав лактозы (молочного сахара), а также является компонентом многих полисахаридов и гликопротеидов. Нарушение обмена галактозы, утрата организмом способности ее перерабатывать приводят к тяжелому наследственному заболеванию — галактоземии. Питаясь молоком матери, ребенок получает большое количество галактозы (составной части лактозы); нарушение ее утилизации выражается в постепенной потере веса, отставании в физическом и умственном

развитии, увеличении печени (в ряде случаев ее циррозе) и появлении катаракты (помутнение хрусталика). Болезнь может привести к смертельному исходу в грудном возрасте. Большинство патологических изменений, сопровождающих галактоземию, объясняется накоплением в тканях и органах большого количества продуктов обмена галактозы, токсичных для организма. При своевременной постановке диагноза и полном исключении лактозы и галактозы из пищи рост и развитие ребенка проходят нормально.

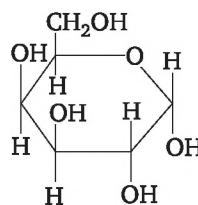
$C_6H_{12}O_6$ — элементная формула галактозы



D-галактоза



L-галактоза



D-галактопираноза

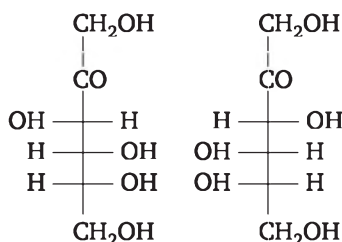
ациклические формы

циклическая форма

Фруктоза содержится в свободном виде в меде и некоторых фруктах (39—40 %) и образует вместе с глюкозой наиболее существенный для питания углевод — сахарозу (тростниковый сахар).

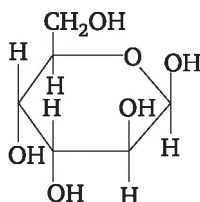
Как и глюкоза, фруктоза служит быстро утилизируемым источником энергии. Ферменты, участвующие в превращениях фруктозы, не требуют инсулина для проявления своей активности. Этим обстоятельством, а также значительно более медленным всасыванием фруктозы (по сравнению с глюкозой) объясняется лучшая переносимость фруктозы больными сахарным диабетом. Фруктоза примерно в 2 раза слаще пищевого сахара и в 3 раза слаще глюкозы.

$C_6H_{12}O_6$ — элементная формула фруктозы

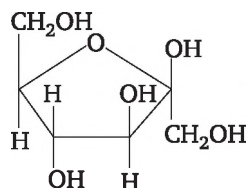


D-фруктоза

L-фруктоза



D-фруктопираноза



D-фруктофураноза

ациклические формы

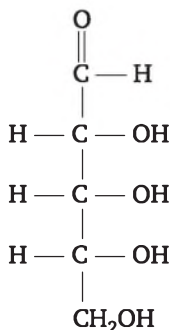
циклические формы

Фруктоза усиливает биологическую активность аминокислот, необходимых для синтеза белка мышц. Кроме того, фруктоза увеличивает всасываемость глюкозы и других питательных веществ.

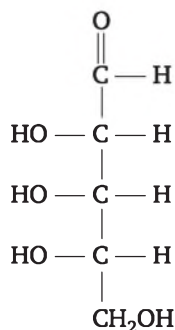
Она наиболее предпочтительна при занятиях умственным трудом, а также в зрелом и пожилом возрасте, является лучшим видом сахара для больных атеросклерозом, при нарушениях жирового и холестеринового обмена.

Самыми важными пентозами являются рибоза и дезоксирибоза, которые входят в состав рибонуклеиновой и дезоксирибонуклеиновой кислот.

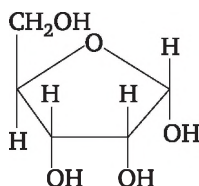
$C_5H_{10}O_5$ — элементная формула рибозы



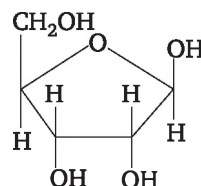
D-рибоза



L-рибоза



α -D-рибоза

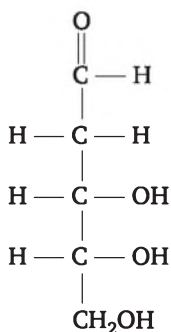


β -D-рибоза

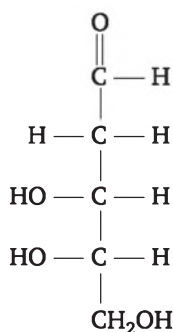
ациклические формы

циклические формы

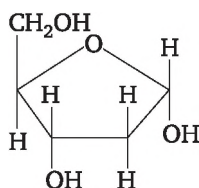
$C_5H_{10}O_4$ — элементная формула дезоксирибозы



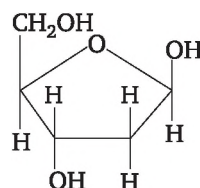
D-дезоксирибоза



L-дезоксирибоза



α -D-дезоксирибоза



β -D-дезоксирибоза

ациклические формы

циклические формы

Сведения о физиологически важных моносахаридах приведены в табл. 6.1.

6.2. Олиго- и полисахариды

К олигосахаридам относят соединения, молекулы которых построены из остатков циклических форм моносахаридов. Они соединяются

кислород-гликозидными связями между полуацетальными или между полуацетальной и спиртовой гидроксильными группами в ходе реакции с отщеплением воды. Число остатков моносахаридов в молекулах олигосахаридов не превышает 10. По числу остатков моносахаридов олигосахариды подразделяются на ди-, три-, тетрасахариды и т.д. Если молекула олигосахарида построена из остатков одного и того же моносахарида, то такой олигосахарид называют *гомоолигосахаридом*, если же такая молекула построена из остатков разных моносахаридов — *гетероолигосахаридом*. Олигосахариды бывают линейными, циклическими, разветвленными, редуцирующими и нередуцирующими в зависимости от того, свободна или занята карбонильная группа в каком-либо остатке моносахарида. Моносахариды и олигосахариды объединяют под общим названием «сахара».

Мальтоза — дисахарид, состоящий из двух остатков глюкозы, образуется при частичном гидролитическом расщеплении крахмала и гликогена — основных резервных (запасных) углеводов растений и животных. При помощи специального фермента мальтоза в желудочно-кишечном тракте расщепляется до двух остатков глюкозы. Некоторые люди страдают врожденной непереносимостью мальтозы и родственной ей изомальтозы из-за отсутствия в их организме ферментов, расщепляющих эти дисахариды.

Таблица 6.1

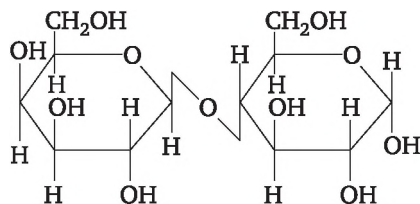
Физиологические важные моносахариды

Моносахарид	Локализация	Биологическое значение
D-рибоза	Нуклеиновые кислоты	Структурный элемент нуклеиновых кислот и коферментов (ATP, NAD, NADF). Является промежуточным соединением пентозо-фосфатного пути
D-рибулоза	Образуется в процессе метаболизма	Промежуточное соединение пентозо-фосфатного пути
D-аробиноза	Гуммиларабик, сливовая и вишневая мякоть	Компонент гликопротеинов
D-ксилоза	Древесная смола, протеогликаны, гликозаминогликаны	Компонент гликопротеинов
D-ликсоза	Сердечная мышца	Компонент миксофлавина, выделяемого сердечной мышцей человека
L-ксилулоза	Промежуточный продукт метаболизма уроновой кислоты	Обнаруживается в моче при пентозурии
D-глюкоза	Фруктовые соки, гидролиз крахмала, тростникового сахара, мальтозы, лактозы	Сахар организма, переносится кровью, эффективно используется тканями. Появляется в моче у больных сахарным диабетом из-за повышенного содержания глюкозы в крови

Моносахарид	Локализация	Биологическое значение
D-фруктоза	Фруктовые соки, мед, гидролиз тростникового сахара, инсулина	Может превращаться в глюкозу в печени и кишечнике с последующим использованием в этой форме. Наследственная нетолерантность к фруктозе приводит к накоплению фруктозы и гипогликемии
D-галактоза	Гидролактозы	Может превращаться в глюкозу в печени и затем использоваться в процессах метаболизма, синтезируется в молочных железах, входит в состав лактозы молока, компонент гликолипидов и гликопротеинов. Нарушение метаболических превращений галактозы приводит к развитию галактогении и образованию катаракты
D-манноза	Гидролиз растительных маннанов и камедей	Компонент многих гликопротеинов

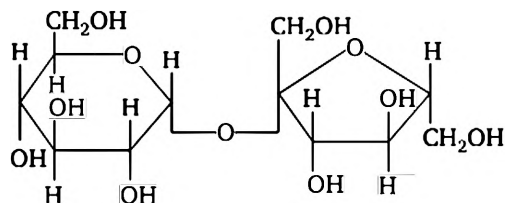
Лактоза — дисахарид содержится в молоке, менее сладкая, чем обычный сахар, и состоит из остатка галактозы и остатка глюкозы.

В большом количестве она содержится в молоке млекопитающих, в частности в женском молоке — около 5,5—8,4 %. Являясь основным углеводом женского молока, лактоза служит важным компонентом пищи грудного ребенка.



При врожденном отсутствии в кишечном соке фермента *лактазы*, расщепляющей лактозу в кишечнике, развивается заболевание, которое проявляется очень рано и сопровождается рвотой, поносом, вздутием живота, обезвоживанием, постепенным исхуданием. С мочой выводятся значительные количества лактозы, а также многие аминокислоты. В период беременности лактоза также может выводиться с мочой. Лечение состоит в исключении из питания лактозы и замене ее сахарозой, глюкозой и другими сахарами.

Сахароза — дисахарид — состоит из остатков глюкозы и фруктозы, чрезвычайно широко распространена в растительном мире и является основным пищевым углеводом. В пищу употребляется сахароза, получаемая из сахарной свеклы или сахарного тростника.



Сахароза гидролитически распадается на глюкозу и фруктозу и легко превращается в триглицериды (жирные кислоты), что при нарушении пищевого рациона способствует образованию значительных жировых отложений.

Существует заболевание, заключающееся в наследственной непереносимости сахарозы из-за отсутствия в организме фермента *сахаразы* (β -фруктофуранозидаза). Оно проявляется у детей при переходе на смешанное вскармливание. Развивается понос, ребенок теряет в весе. Сахароза не усваивается организмом, а выводится через кишечник, в моче также появляются значительные количества сахарозы. Лечение заключается в исключении из рациона сахара из тростника и свеклы или введении с пищей препаратов недостающих ферментов.

Мальтоза, лактоза и сахароза являются физиологически важными дисахаридами.

Полисахариды (полиозы, гликаны). Представляют собой высокомолекулярные продукты поликонденсации моносахаридов, содержащие иногда десятки и сотни тысяч остатков моносахаридов, соединенных гликозидными связями. Полисахариды делят на *гомо-* и *гетерополисахариды* в зависимости от того, построены их молекулы из остатков моносахаридов одного вида или из остатков различных моносахаридов, а также на *линейные* и *разветвленные*; полисахариды различают также по типу связи между моносахаридными остатками.

К гетерополисахаридам, имеющим важное значение для формирования и нормального функционирования соединительной ткани, можно отнести гиалуроновую кислоту (полимерная цепь с чередующимися остатками D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина).

Число встречающихся в природе полисахаридов чрезвычайно велико, но самые важные из них — целлюлоза, крахмал и гликоген.

Целлюлоза (клетчатка) является основным структурным компонентом растительных тканей и содержится главным образом в стенках растительных клеток. Хлопок и лен на 90—99 % состоят из целлюлозы, древесина — на 45 %. Молекула целлюлозы состоит только из остатков глюкозы, соединенных друг с другом в длинные прямые цепи. Практически не перевариваясь, целлюлоза стимулирует перистальтику кишечника человека, нормализуя его работу.

Крахмал — полисахарид, основное запасное питательное вещество растений. Этот важнейший пищевой полисахарид в больших количествах содержится в клубнях картофеля, в зернах многих злаков, во фруктах и т.п. Подобно целлюлозе он также состоит из остатков глю-

козы, которые образуют сложную, разветвленную молекулу. Гидролитически в кислой среде крахмал распадается на моносахарид — глюкозу.

Гликоген — основная форма депонирования глюкозы в клетках животных (у растений эту же функцию выполняет крахмал). В структурном отношении гликоген, как и крахмал, представляет собой разветвленный полимер из глюкозы. Гликоген часто называют «животным крахмалом». Однако молекула гликогена более разветвлена и компактна. При распаде гликогена ветвление обеспечивает быстрое освобождение большого количества концевых мономеров. Молекула гликогена построена из сравнительно коротких цепочек (12—18 глюкозных остатков), связанных между собой кислородными мостиками. В сухом виде гликоген представляет собой белый аморфный порошок.

Необходимость превращения глюкозы в гликоген связана с тем, что накопление значительного количества глюкозы в клетке привело бы к повышению осмотического давления, так как глюкоза хорошо растворимое вещество, а гликоген содержится в клетке в виде гранул и мало растворим. Содержание гликогена в отдельных органах и тканях неодинаково. В печени — органе, наиболее богатом углеводами, содержание гликогена обычно не превышает 5 %, но иногда может достигать до 10 % от сырого веса; в мышцах гликогена содержится значительно меньше (0,3—0,9 %, иногда до 2 %).

Подобно крахмалу гликоген дает коллоидные растворы и высаливается из растворов гигроскопическими средствами. Его молекулярный вес близок к молекулярному весу амилопектина (1 000 000 для мышечного гликогена, 5 000 000 для гликогена печени, что соответствует наличию в молекуле гликогена до 30 000 остатков глюкозы).

Углеводсодержащие смешанные биополимеры (*гликоконъюгаты*) выполняют очень важные биологические функции. Среди гликоконъюгатов различают *гликопротеины* (содержат пептидные и полисахаридные или олигосахаридные цепи), *гликолипиды* (построены из полисахаридных или олигосахаридных цепей и липидного компонента), *гликолипопротеины* (содержат углеводные, липидные и белковые компоненты), *тейхоевые кислоты* (в их молекулах к цепи из остатков спиртовых производных полиоз — полиспиртов присоединены аминокислоты и моносахариды), *нуклеиновые кислоты*. Соотношение различных компонентов в молекулах отдельных смешанных углеводсодержащих биополимеров может колебаться в широких пределах.

Глава 7

ЛИПИДЫ И БИОМЕМБРАНЫ

Липиды (от греч. *lipos* — жир) — общее название для всех известных жиров и жироподобных веществ с различной структурой, но общим свойством — гидрофобностью — и общими биологическими функциями. Липиды образуют множество семейств, которые объединяют общие отличительные свойства, обусловленные тем, что в их основе лежат углеводородные структуры.

В различных курсах биохимии при рассмотрении строения важнейших биомолекул липиды и биомембраны рассматриваются в одном разделе, так как все биомембраны построены одинаково и состоят из двух слоев липидных молекул толщиной около 6 нм, в которые встроены белки. Некоторые мембраны, кроме этого, содержат углеводные компоненты (гликозидные группы), связанные с липидами и белками.

7.1. Биологические функции липидов

Липиды — наиболее важный из всех *питательных веществ* источник энергии. В количественном отношении липиды — основной энергетический резерв организма. «Депо» жира — это подкожная клетчатка, околопочечная капсула, сальник и др.

Липиды принимают участие в процессах терморегуляции, предохраняют кожу от высыхания, защищают органы от сотрясений (образуя своего рода жировую «подушку» вокруг почек, глаз и т.д.), обеспечивая всасывание из кишечника жирорастворимых витаминов, являясь потенциальным резервом эндогенной воды в организме (при окислении 100 г жира образуется 10 мл воды), а также источником ненасыщенных жирных кислот. Оптимальная норма обеспечения организма жирами составляет 80—100 г в сутки, из них 20—25 г должны быть растительными жирами.

В организме человека содержится 10—12 % липидов, которые могут быть разделены на два вида: *протоплазматические* и *резервные*.

Протоплазматические (конструктивные) входят в состав всех структур клеток органов и тканей, их уровень остается практически постоянным в течение всей жизни (примерно 25 % от общего количества).

Резервные липиды запасаются в организме, и их количество меняется в зависимости от возраста, пола, условий питания, характера деятельности человека и прочих причин.

По своим биологическим функциям липиды подразделяются на три основные группы:

1) *пластическая функция*: структурные и рецепторные компоненты мембран и клеточных поверхностей. Основные компоненты — *жирные кислоты*;

2) *энергетическая функция* — депо энергии (обеспечивают 25—30 % всей энергии для жизнедеятельности организма), при их полном распаде выделяется примерно в 2 раза больше энергии, чем при распаде углеводов и белков. Основные компоненты — *жирные кислоты*;

3) «*передатчики*» биологических сигналов. В эту группу входят *стероидные гормоны и витамины*.

7.2. Жирные кислоты

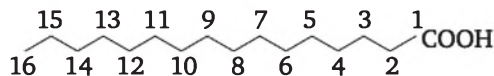
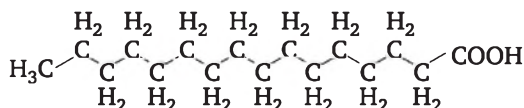
Жирные кислоты — это длинные (не менее четырех атомов углерода) углеводородные цепи, несущие на одном из концов карбоксильную группу ($-\text{COOH}$). Углеводородные цепи могут быть насыщенными и частично ненасыщенными (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Наиболее распространенные жирные кислоты

Число атомов углерода	Структура	Тривиальное название
<i>Насыщенные кислоты</i>		
12	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Лауриновая
14	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Миристиновая
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Пальмитиновая
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Стеариновая
16	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Пальмитоолеиновая
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Олеиновая
18	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Линолевая
<i>Ненасыщенные кислоты</i>		
18	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Линоленовая
20	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3(\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH})_4(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Арахидоновая

Для простоты углеводородную цепь жирных кислот схематически изображают зигзагообразной линией, не всегда заботясь о том, чтобы число зигзагов отвечало числу углеродных атомов:



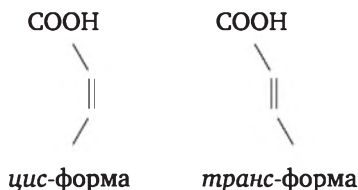
пальмитиновая кислота



пальмитолеиновая кислота

Для сокращения записи жирных кислот используют две системы нумерации: либо начиная с COOH-группы (Δ-система), либо CH₃-конца (n-система). Для насыщенных кислот сокращенная запись идентична в обеих системах нумерации. Например: тривиальное название — пальмитиновая кислота. Δ-название: 16:0, что указывает на число углеродных атомов и число ненасыщенных двойных связей; n-название: 16:0.

Ненасыщенные кислоты обладают изомерией:



7.3 Триацилглицериды — запасаемая форма липидов

В состав пищи человека жирные кислоты входят в основном в виде *нейтральных жиров* — производных трехатомного спирта (глицерина), который этерифицирован жирными кислотами по всем трем гидроксильным группам (рис. 7.1). Такие сложные эфиры называют *триацилглицеридами* (или *триацилглицеролами*). Жирные кислоты запасаются в организме, как правило, в форме триацилглицеролов, так как свободные жирные кислоты при высоких концентрациях токсичны, поэтому триацилглицериды составляют основную массу липидов в организме. Нейтральные жиры не имеют так называемой полярной головки, поэтому не выполняют в организме структурных функций, а являются только «энергетическими депо».

Большинство жирных кислот может быть получено с пищей, но они не являются незаменимыми: клетки могут сами их синтезировать. Но есть два исключения: основными незаменимыми жирными кислотами являются линолевая и линоленовая. При их отсутствии в пище у человека может развиваться заболевание, характеризующееся шелушением кожи, выпадением волос и замедлением роста.

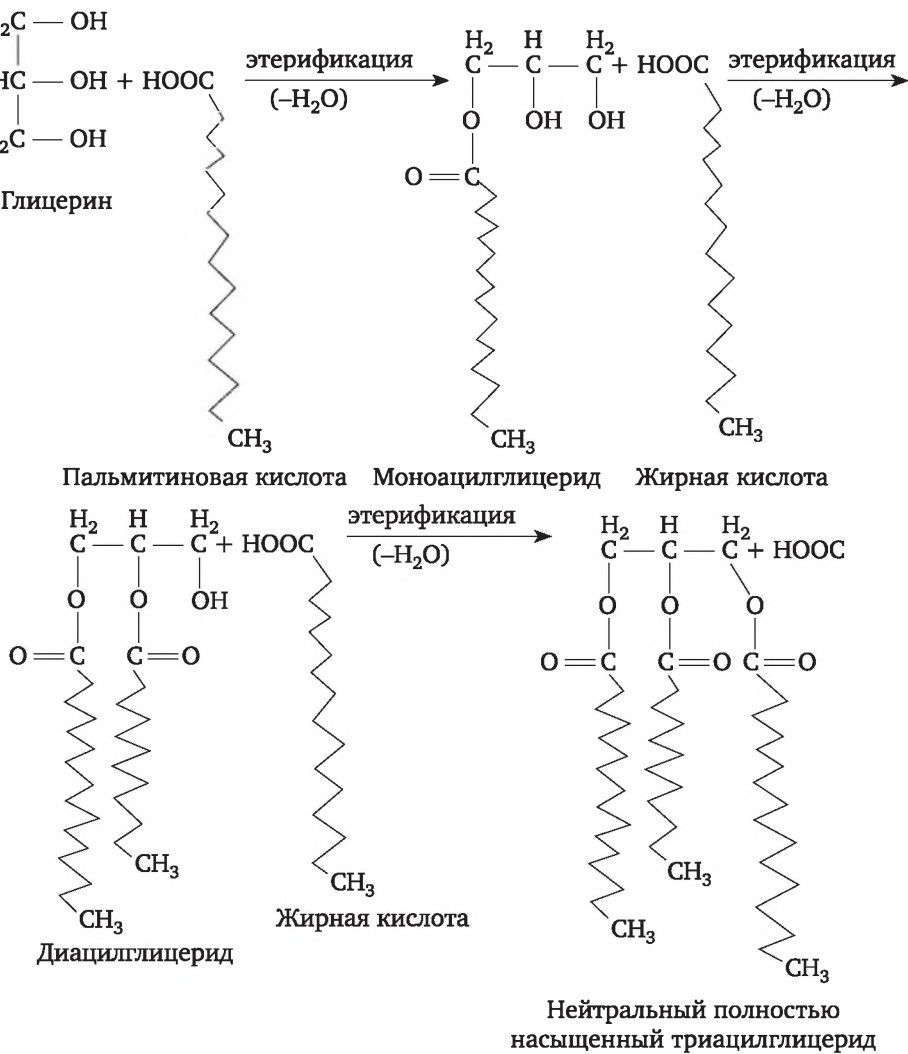
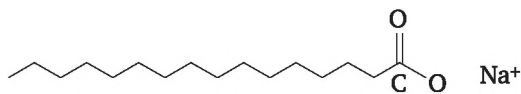


Рис. 7.1. Синтез триацилглицерида

Если нейтральные жиры кипятить в водном растворе щелочи, то сложноэфирные связи гидролизуются и образуются глицерин и мыла — соли жирных кислот. Данный процесс получил название «омыление»:



7.4. Краткая характеристика клеточных мембран

Как для липопротеиновых структур (липиды + белок), некоторые из которых содержат присоединенные к липидным и белковым молекулам на их внешние поверхности углеводные компоненты (гликозидные

группы), так и для мембран характерно соотношение липиды : белки : углеводы, зависящее от их типа. Обычно на долю углевода в мембране приходится от 2 до 10 %.

Гликозидные группы участвуют в механизме распознавания антигенов. Как правило, мембраны различаются по составу и по свойствам.

Разные типы мембран различаются и по толщине, которая колеблется от 5 до 10 нм. Толщина плазматической мембраны порядка 7,5 нм.

Липиды самопроизвольно образуют бислой, который и является биомембраной, так как обладает дифильностью — свойством мицеллообразующих поверхностно-активных веществ (МПАВ), имеющих полярные головки и гидрофобные хвосты. В мембранах содержатся липиды трех классов: фосфолипиды, холестерин и гликолипиды.

Мембранные липиды и белки могут перемещаться в латеральном направлении (в плоскости мембраны), если они не закреплены или не ограничены в своем передвижении.

Мембраны и их составляющие представляют собой не только поверхности раздела, но и включают активные биохимические системы, отвечающие за такие процессы, как избирательный транспорт веществ внутрь и наружу клетки, связывание гормонов и других регуляторных молекул, протекание ферментативных реакций, передача импульсов нервной системы.

Мембраны служат барьером для ионов и молекул, в особенности для крупных и полярных молекул, таких как глюкоза или аминокислоты, поскольку неполярные липиды мембраны отталкивают эти вещества.

Транспорт через мембраны обеспечивает поддержание в клетках pH и ионной концентрации, необходимой для эффективной работы клеточных ферментов. Существует четыре основных механизма для поступления веществ в клетку или их выхода из нее: диффузия, осмос, активный транспорт, экзо/эндоцитоз.

Диффузия (через клеточную мембрану диффундируют в основном газы O_2 и CO_2) и *осмос*, осуществляющий водообмен клетки, протекают самопроизвольно.

Активный транспорт сопряжен с потреблением энергии при переносе молекул или ионов через мембрану против градиента концентрации (вещества движутся по электрохимическим градиентам).

Эндо- и экзоцитоз — это процессы, при которых плазматическая мембрана образует вакуоли (пузырьки), которые включают в себя транспортируемые вещества и, отрываясь от мембраны, перемещают их во внутри- или внеклеточное пространство. Такие процессы также требуют затрат энергии.

7.5. Фосфо- и сфинголипиды — структурные компоненты биомембран

Помимо жирных кислот к спиртовому компоненту могут присоединяться и другие группы, такие как аминогруппы кислоты и угле-

воды. Благодаря этому образуется множество различных липидов с разнообразными свойствами. Когда к одному из трех углеродных атомов глицерина присоединена полярная структура, то такой липид называют *амфипатическим* (рис. 7.2).

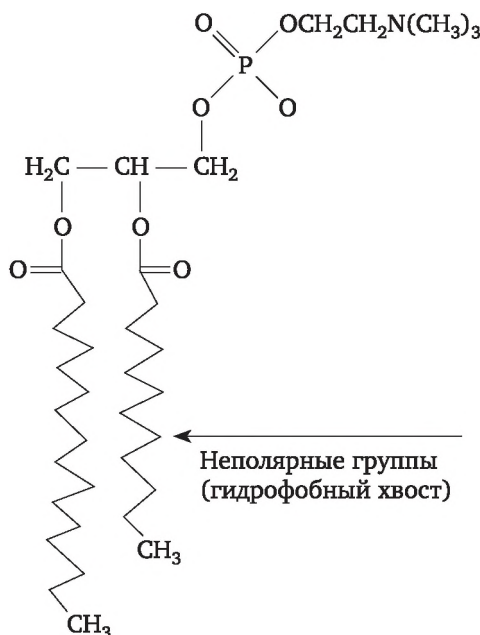
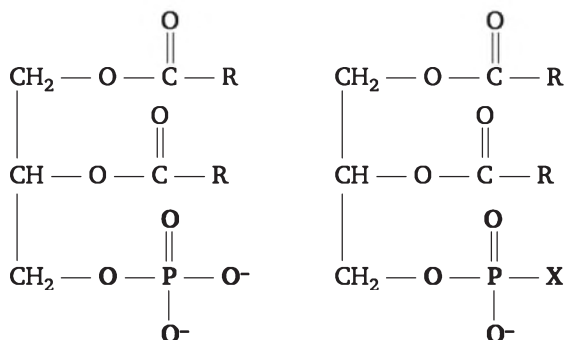


Рис. 7.2. Схематично-структурная организация амфипатических молекул

Для амфипатических липидов характерно наличие длинного гидрофобного хвоста и полярной головки, которая может нести заряд или быть незаряженной. Специфическая способность этих соединений вступать как в гидрофильные, так и в гидрофобные взаимодействия делает их идеальными компонентами биологических мембран.

Наиболее распространенными мембранными липидами являются производные глицерин-3-фосфата, называемые *глицерофосфолипидами* или *фосфоглицеридами*. Простейшим представителем фосфоглицеридов являются *фосфатидные кислоты*, представляющие собой фосфомоноэфиры диацилглицерина:



В мембранах часто встречаются производные фосфатидной кислоты,



личные полярные радикалы (X). Чем более полярен радикал X, тем полярнее будет «головка» фосфолипидной молекулы. Примеры полярных радикалов приведены ниже.

Лецитин (фосфатидилхолин) $\text{P(O}_2\text{)OCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ фосфорилхолин
 Кефалин (фосфатидилэтаноламин) ... $\text{P(O}_2\text{)OCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_3^+$ фосфорилэтаноламин
 Фосфатидилсерин $\text{P(O}_2\text{)OCH}_2\text{CH(NH}_3^+)(\text{COO}^-)$ фосфорилсерин

К полярным радикалам, не несущим заряд, относятся остатки шестиатомного спирта — *инозита*, образующего *фосфатидилинозит* (рис. 7.3).

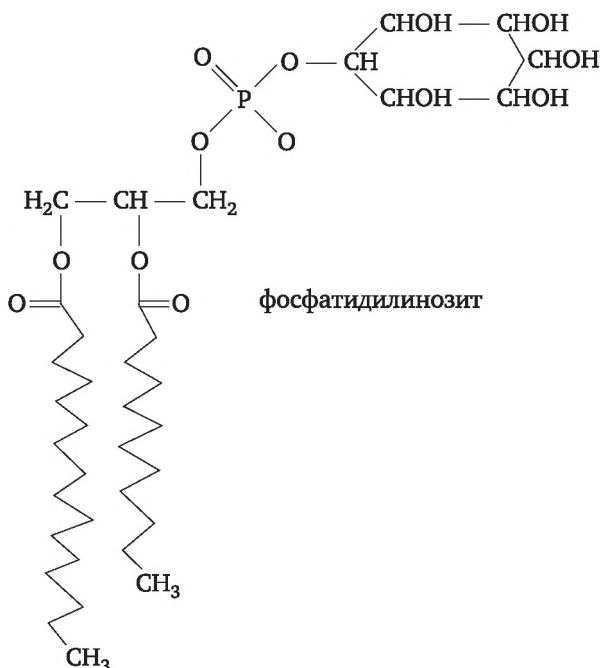


Рис. 7.3

Во внутренних мембранах митохондрий и в мембранах бактериальных клеток встречается дилипид, образованный из двух остатков фосфатидной кислоты, соединенных глицерином, — *кардиолипин* (или *дифосфатидилглицерин*) (рис. 7.4).

Благодаря своим амфипатическим свойствам фосфолипиды являются не только основой всех клеточных мембран, но и выполняют другие функции: образуют поверхностный гидрофильный слой липопротеинов крови,

выстилают поверхность альвеол, предотвращая слипание стенок во время выдоха. Некоторые фосфолипиды участвуют в передаче сигнала в клетки.

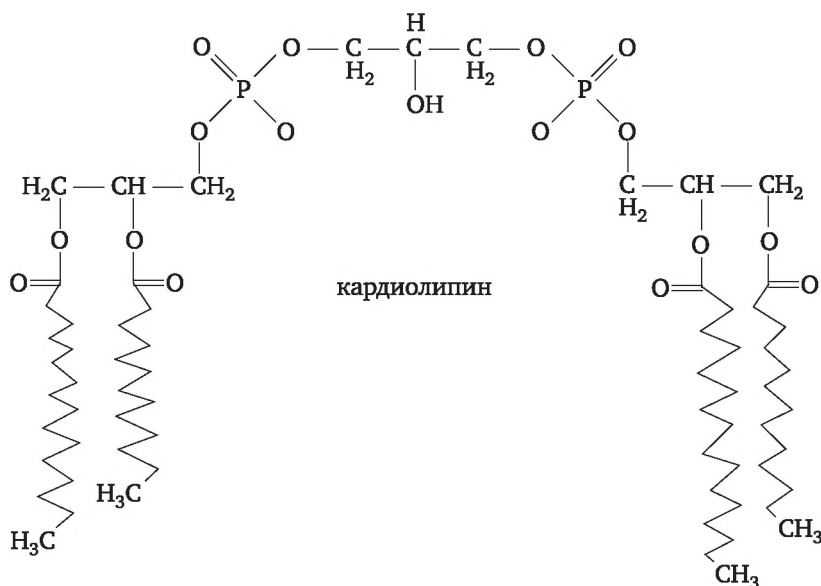


Рис. 7.4

Кроме фосфолипидов, во многих типах мембран имеются липиды, образованные присоединением жирной кислоты и полярного радикала к аминспирту с длинной углеводородной цепью — *сфингозину*. Особенно богаты ими нервные ткани, в частности мозг. Главные его особенности — это наличие негидролизуемой ненасыщенной углеводородной цепи (как правило, из 15 звеньев), связанной с одним из трех атомов углерода, и аминогруппы при центральном углеродном атоме.

При взаимодействии олеиновой кислоты с сфингозином образуется *церамид* — первичный сфинголипид, а из него — три класса неглицеридных липидов: *цереброзиды*, *фосфосфинголипиды* и *ганглиозиды*.

Производные церамида, лишенные фосфорильных групп и содержащие углеводные компоненты, называются *гликолипидами* или *гликосфинголипидами*.

Цереброзиды — это церамиды, к которым присоединен моносахарид, например галактоза. При этом образуется гликозидная связь между атомом углерода C — 1, кислородом сахара и атомом углерода CH₂ОН-группы сфингозина. Цереброзиды входят в большую группу веществ, названных *гликолипидами*.

Фосфосфинголипиды — это церамиды, у которых оставшаяся спиртовая гидроксильная группа этерифицирована фосфатной производной, например фосфорилхолином. Наиболее типичным среди них является *сфингомиелин*, который входит в состав большинства мембран.

Ганглиозиды — это церамиды, у которых спиртовая группа β-типа связана с коротким, как правило, разветвленным олигосахаридом

(рис. 7.5). Кислотность этого класса гликолипидов обусловлена тем, что в них всегда присутствует в качестве ветвей основной сахаридной цепи моносахарид нейраминовая кислота. В тканях человека амино-группа всегда ацелирована ($\text{CH}_3\text{CO}-$), при этом сахар превращается в N-ацетилнейраминовую (сиаловую) кислоту (NANA), представляющую особый интерес тем, что она участвует в инфицировании клеток вирусом гриппа (рис. 7.6).

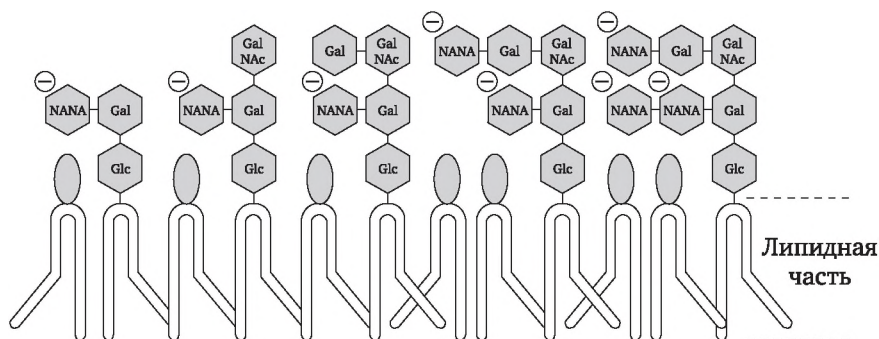


Рис. 7.5. Схематические изображения ганглиозидов:

цепочки из шестиугольников — разветвленные олигосахариды, состоящие из галактозы (Gal), глюкозы (Glc), N-ацетилгалактозамина (GalNAc) и сиаловой кислоты (NANA); эллипсы — полярные группы липидов

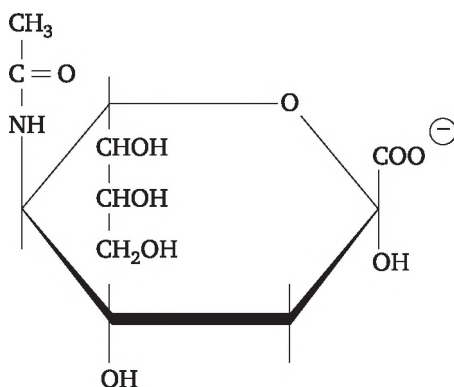


Рис. 7.6. Структура сиаловой кислоты

Углеводные части ганглиозидов обладают антигенными свойствами и различаются концевыми остатками в олигосахаридных цепях.

Как правило, линейная часть сахаридной цепи содержит связанные последовательно N-ацетилгалактозамин (GalNAc), галактозу (Gal) и глюкозу (Glc).

Обобщая, можно сказать, что к фосфолипидам относят все фосфор-содержащие липиды. При этом если в основе структур лежит глицерин, их называют *фосфороглицеридами*, а производные сфингозина — *сфингомиелинами*.

7.6. Стероидные липиды.

Липопотеины

Липиды, не содержащие жирных кислот, — это «простые» липиды, которые иногда называют «неомыляемыми», так как при щелочном гидролизе они не образуют мыла. К этой группе относятся жирорастворимые витамины, стероидные гормоны и некоторые другие жирорастворимые вещества. В основе всех простых липидов лежат *стероиды* и *терпены*.

Стероиды являются производными насыщенного полициклического углеводорода. Наиболее распространенный стероид у животных — *холестерол* (в медицинской литературе используют также термин *холестерин*, рис. 7.7).

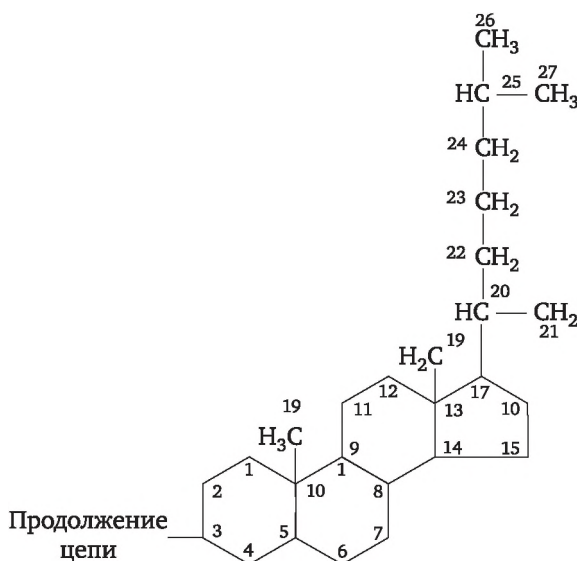


Рис. 7.7. Структурная формула холестерина

Холестерол — предшественник всех стероидных гормонов (например, мужского — тестостерона или женского — эстрогена). Он также является основным компонентом желчных кислот (они синтезируются из холестерина). Холестерол — слабо амфипатический липид, являющийся компонентом клеточных мембран (например, он составляет от 40 до 60 % всех липидов эритроцитов). Холестерол увеличивает жесткость структуры бислоя в мембранах. Нарушение обмена холестерина приводит к развитию *атеросклероза*.

Выявлено несколько факторов риска возникновения этого заболевания: наследственная предрасположенность, возраст, наличие сахарного диабета, гипертонии, повышенного уровня холестерина (холестерола). Холестерин и липиды переносятся в крови в виде частиц, известных как *липопротеины*.

Последние классифицируются в соответствии с увеличением плотности как хиломикроны, липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП), липопротеины промежуточной плотности (ЛППП), липопротеины низкой плотности (ЛПНП), липопротеины высокой плотности (ЛПВП) и липопротеин Лп(а). В табл. 7.2 приведены характеристики наиболее важных липопротеиновых частиц в крови в норме. Пациенты с сердечно-сосудистыми заболеваниями атеросклеротической природы обычно имеют от одного до четырех нарушений в составе липопротеинов: 1) увеличение ЛПНП. 2) снижение ЛПВП, обычно сочетающееся с повышенным уровнем ЛПОНП. 3) повышенный уровень ЛППП и 4) высокий уровень Лп(а). ЛПВП оказывают защитный эффект за счет удаления холестерина из периферических тканей и предупреждения накопления липидов в артериальной стенке.

Таблица 7.2

Характеристика липопротеинов крови

Тип	Плотность, г/мл	Белок, %	Триацилглицеролы, %	Фосфолипиды, %	Холестерол, %
Хиломикроны	0,92—0,96	1,7	96	0,8	1,7
Липопротеины очень низкой плотности (ЛПОНП)	0,95—1,00	10	60	18	15
Липопротеины низкой плотности (ЛПНП)	1,00—1,06	25	10	22	45
Липопротеины высокой плотности (ЛПВП)	1,06—1,21	50	3	30	18

Терпены — это простые стероиды, в основе структуры которых лежит пятиуглеродный углеводород — *изопрен*. Душистые масла растений — это, как правило, терпены.

7.7. Мицеллярные растворы липидов. Образование мембран

Наличие у амфипатических липидов полярной и неполярной групп приводит к специфическому растворению их в воде: при определенной концентрации они образуют мицеллярные растворы. Последние представляют собой свободно-дисперсные системы, в которых дисперсионная среда — жидкость (вода), а дисперсная фаза (мицеллы) — поверхностно-активные вещества (ПАВ) (в нашем случае — амфипатические липиды). Процесс образования мицелл в растворах липидов термодинамически выгоден. Контакты между одинаковыми неполярными группами липидов приводят к уменьшению энергии Гиббса приблизительно

на 2 кДж/моль по сравнению с контактами полярных молекул среды и неполярных групп липидов. Ядро образовавшихся мицелл (гидрофобную фазу) составляют углеводородные хвосты липидов, а гидрофильные головки молекул липидов располагаются на внешней поверхности мицеллы. Минимальная концентрация ПАВ (амфипатического липида), при которой образуется мицелла, называется критической концентрацией мицеллообразования (ККМ или C_k). При концентрациях липида ($C_{\text{липид}}$), превышающих критическую (но близких к C_k), мицеллы имеют сферическую форму (рис. 7.8). Кружочки и волнистые линии на рис. 7.8 изображают полярные головки и гидрофобные хвосты ПАВ (фосфолипида).

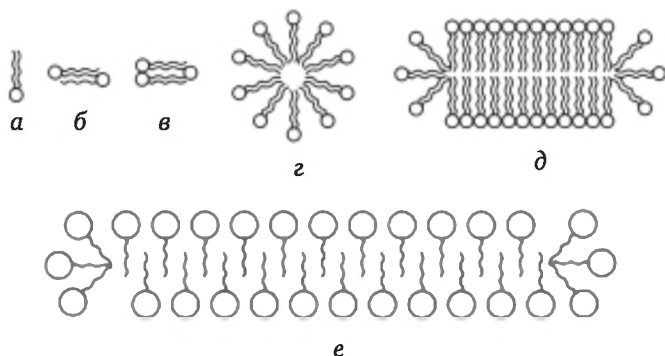


Рис. 7.8. Схема изменения организации молекул ПАВ (а), его димера (б), тримера (в) и мицелл — глобулярной (г), дискоидной (бицеллы, д) и цилиндрической (е).

С увеличением концентрации форма и размер мицелл изменяются. Изображенная на рис. 7.8 бицелла — аналог липидного бислоя (липидной мембраны). В организме мембраны играют роль стенок, отделяющих клетки от окружающей среды (плазматические мембраны). При $C_{\text{липид}} \gg C_k$ бицеллы могут образовывать друг с другом стопки, а с глобулами — агрегаты, схематическое изображение которых представлено на рис. 7.9.

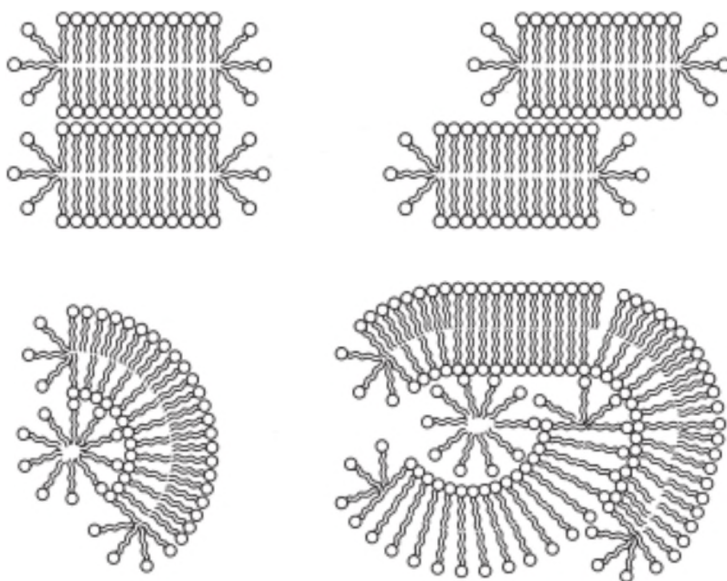


Рис. 7.9. Схемы простейших агрегатов, которые могут образовывать мицеллы друг с другом и с глобулярными мицеллами

Глава 8

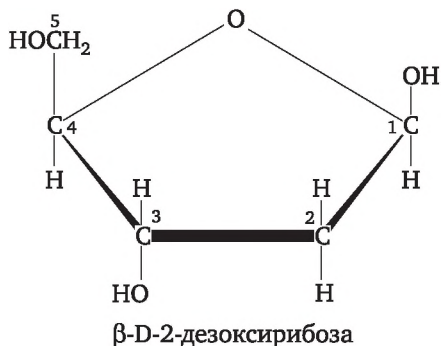
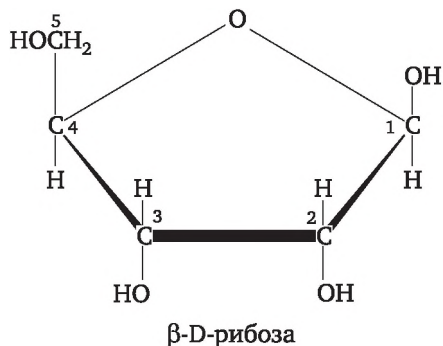
ДНК и РНК — ХРАНЕНИЕ И РЕАЛИЗАЦИЯ НАСЛЕДСТВЕННОЙ ИНФОРМАЦИИ

Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК) — полинуклеотиды, представляющие собой последовательность (цепь) мономерных звеньев — нуклеотидов, состоящих из азотистого основания, углеводного компонента (сахара) — пентозы и остатка фосфорной кислоты. Строение нуклеотида можно представить как фосфат — сахар — основание. ДНК и РНК присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению, передаче и реализации наследственной информации.

8.1. Строение и функции ДНК и РНК

В нуклеотидах существует только два типа углеводных компонентов (сахаров) — рибоза и дезоксирибоза, поэтому имеется лишь два вида нуклеиновых кислот — дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК).

Обе пентозы представлены в нуклеотидах в β -фуранозной форме. Химические структуры пентоз, входящих в состав ДНК и РНК, выглядят следующим образом:



ДНК была открыта швейцарским биологом Иоганном Фридрихом Мишером в вытяжке из ядер лейкоцитов (гное) в 1869 г. Вначале новое вещество называли «нуклеин» (от лат. *nucleus* — ядро), а позже, когда Мишер определил, что это вещество обладает кислотными свойствами,

оно получило название «нуклеиновая кислота». Кислотные свойства ДНК и РНК обусловлены наличием в их составе остатка ортофосфорной кислоты.

В 1953 г. Джеймсом Уотсоном и Френсисом Криком была постулирована гипотеза двойной спирали ДНК, которая объяснила структуру молекулы ДНК и показала, каким образом молекула может реплицироваться. Данная гипотеза привела к определению трех главных этапов в обработке генетической информации:

- *репликации* — т.е. копированию родительской ДНК с образованием дочерних молекул ДНК, нуклеотидная последовательность которых комплементарна нуклеотидной последовательности родительской ДНК и однозначно определяется ею;

- *транскрипции* — процессу, в ходе которого часть генетической информации переписывается в форме рибонуклеиновой кислоты (РНК);

- *трансляции* — процессу, в котором генетическая информация, записанная с помощью четырехбуквенного кода в РНК, переводится в рибосомах на 12-буквенный код белковой структуры.

Функции ДНК: входит в состав хромосом, отвечает за хранение, передачу, трансформацию и реализацию наследственной информации. Ген — это участок ДНК, кодирующий информацию о конкретном белке. Прямое доказательство того, что ДНК — носитель генетической информации, было получено в 1943 г. учеными Рокфеллеровского института О. Т. Эвери, К. Мак-Леодом и М. Мак-Карти.

Функции РНК: считывание информации с ДНК (транскрипция), матрица для биосинтеза белка (такая РНК называется *матричной* — мРНК), транспорт аминокислот из цитоплазмы к месту биосинтеза белка (транспортная РНК — тРНК). *Рибосомальная РНК* (рРНК) входит в состав рибосом и имеет больший переменный состав, чем матричная или транспортная, контролирует биосинтез белка.

Благодаря совместным усилиям трех наук: генетики, молекулярной физики и биохимии была выдвинута концепция кодирования генетической информации.

ДНК — хранитель наследственной информации о структуре белков организма, которая зашифрована в последовательности нуклеотидов. Любые изменения этой последовательности ведут к нарушению структуры белка в процессе его биосинтеза (первичной структуры), что нарушает ферментативные функции белка и оказывает влияние на жизнедеятельность организма в целом.

Содержащаяся в ДНК генетическая информация закодирована линейной последовательностью ключевых слов, называемых *кодонами*, каждый из которых представляет собой специфическую последовательность трех нуклеотидов (три пары нуклеотидов в двухцепочечной ДНК), что соответствует одному аминокислотному остатку в белке.

Количество информации, заложенной в ДНК, можно проиллюстрировать таким образом: нуклеотидная последовательность ДНК маленького вируса фХ174 содержит 5386 пар оснований; нуклеотидная после-

довательность единственной хромосомы *E. coli* содержит уже 4 млн пар оснований, а нуклеотидная последовательность ДНК 46 хромосом человека почти в миллион раз превышает число пар оснований, содержащихся в ДНК вируса фХ174. Простое знание нуклеотидной последовательности в молекулах ДНК бесполезно без знания принципов кодирования и программирования, лежащих в основе процессов транскрипции, трансляции и регуляции экспрессии генов.

Самым важным ключом к разгадке структуры ДНК стало открытие, сделанное в конце 1940-х гг., когда было установлено, что молекулы ДНК различных видов организмов содержат только четыре вида азотистых оснований и что между основаниями существует некая количественная связь.

Методом рентгеноструктурного анализа физиками была установлена молекулярная структура ДНК, биохимиками определен химический состав ДНК и найден принцип спаривания комплементарных оснований.

В результате исследований структуры ДНК были сформулированы следующие выводы:

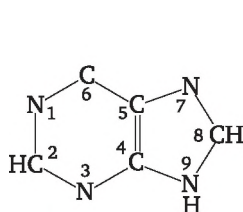
- 1) препараты ДНК, выделенные из разных тканей одного и того же организма, имеют одинаковый нуклеотидный состав;
- 2) нуклеотидный состав ДНК разных видов различен;
- 3) нуклеотидный состав ДНК у данного вида не меняется с возрастом организма, не зависит от его питания и изменений окружающей среды;
- 4) число адениновых остатков в любой ДНК независимо от вида организма равно числу тиминовых остатков, а число гуаниновых остатков равно числу цитозиновых. Таким образом, число пуриновых остатков равно числу пиримидиновых.

8.2. Азотистые основания и нуклеотиды

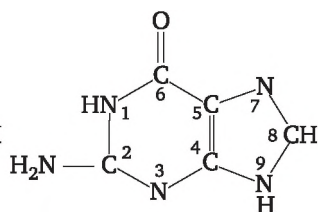
Азотистые основания — это ароматические гетероциклические соединения, производные пиримидина и пурина. Основными структурными компонентами нуклеиновых кислот являются пять соединений этого класса.

В состав ДНК входят два пуриновых (аденин и гуанин) и два пиримидиновых (тимин и цитозин) азотистых основания, для обозначения которых принято однобуквенное сокращение: аденин — А, гуанин — Г, тимин — Т, цитозин — Ц (лат. А, G, Т, С соответственно). Ниже представлены химические структуры пиримидиновых и пуриновых оснований.

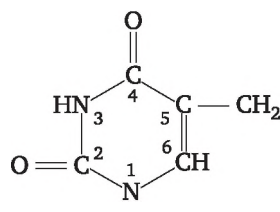
Важным отличием РНК от ДНК является то, что вместо тимина в состав РНК входит урацил (У или U). Соединения азотистых оснований с рибозой или 2-дезоксирибозой называются *нуклеозидами* (соответственно рибо- и дезоксирибонуклеозиды).



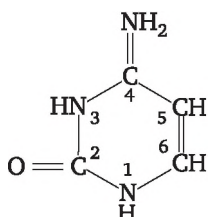
Аденин



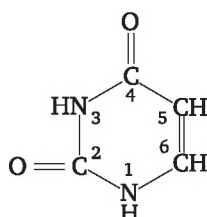
Гуанин



Тимин

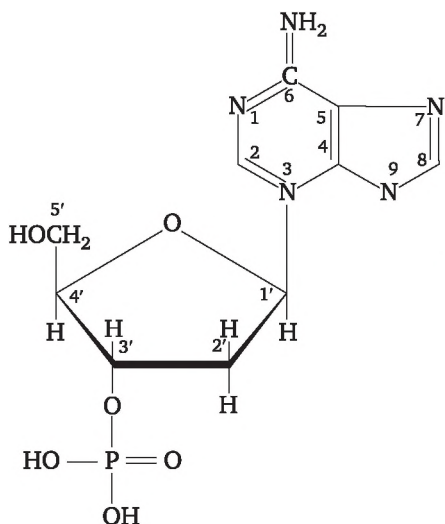


Цитозин

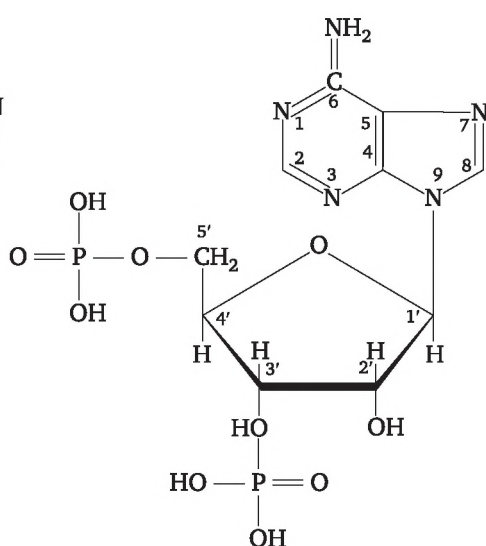


Урацил

Поскольку в нуклеозидах имеется две или более свободные гидроксильные группы, существует более чем одно положение, по которому фосфатная группа может присоединяться к кольцу сахара. В биологических системах встречаются как 3'-, так и 5'-дезоксирибонуклеозиды, а в случае рибонуклеозидов фосфатная группа может находиться в 2'-, 3'-, 5'-положениях:

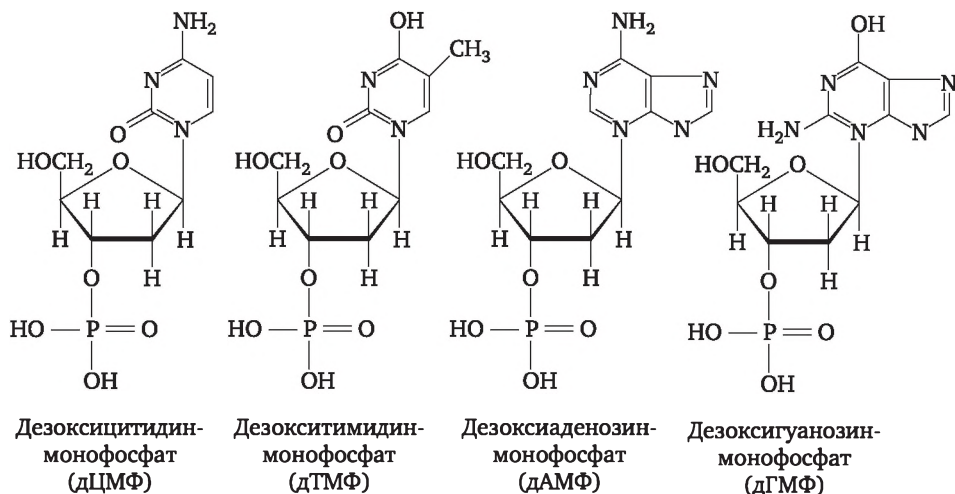


Аденозин-3'-фосфат



Аденозин-5'-фосфат

Все нуклеозидфосфаты объединяют под общим названием *нуклеотиды*. На рис. 8.1 показаны химические структуры нуклеотидов в ДНК и РНК.



Рибонуклеотиды

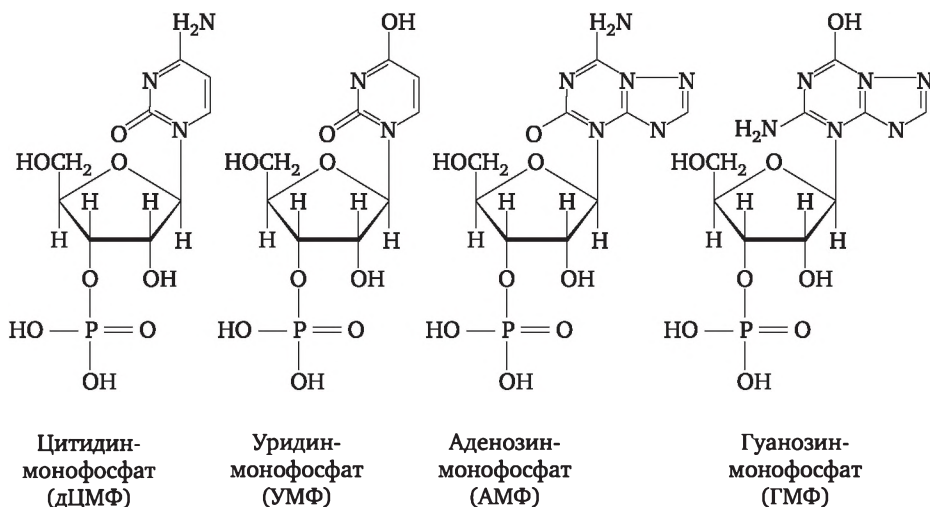


Рис. 8.1. Химические структуры нуклеотидов в ДНК и РНК

Свободные нуклеотиды содержатся в значительных количествах во всех клетках. Они образуются либо в результате синтеза, либо в результате частичного гидролиза нуклеиновых кислот.

Нуклеотиды представляют собой сильные кислоты — значения pK_a для двух способных к диссоциации ОН-групп остатка фосфорной кислоты соответствуют приблизительно 1,0 и 6,2. Поэтому при pH 7,0 свободные нуклеотиды находятся главным образом в форме $R-O-PO_3^{2-}$, где R — остаток нуклеотида.

Все нуклеотиды интенсивно поглощают свет в области 260 нм (молярные коэффициенты экстинкции при этой длине волны порядка 10^4 моль·см⁻¹).

8.3. Нуклеотиды и их функции

Биосинтез нуклеотидов протекает в несколько стадий (рис. 8.2). Затем происходит полимеризация нуклеотидов — сборка нуклеиновых кислот.

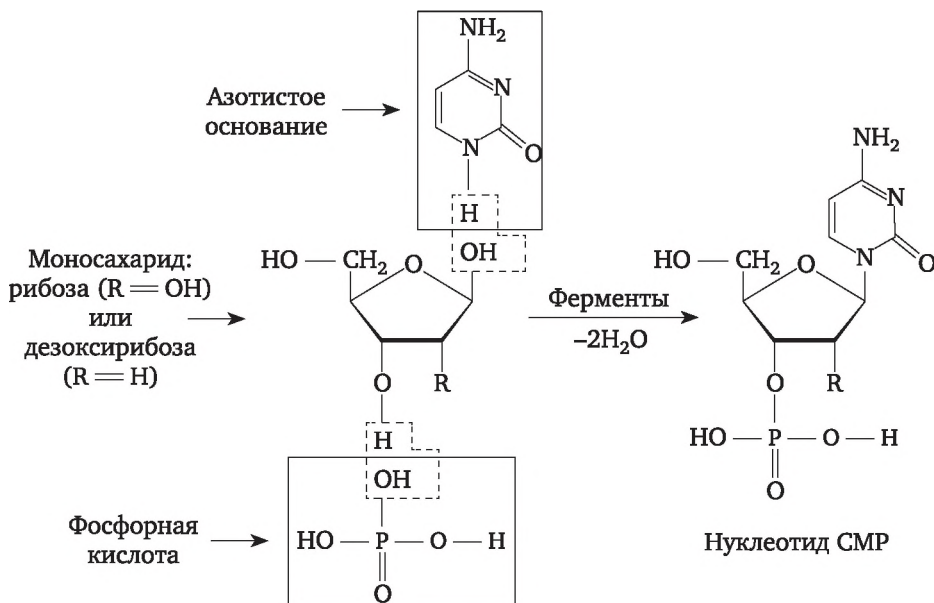


Рис. 8.2. Схема биосинтеза нуклеотида — цитозилмонофосфата (CMP)

Схему последовательности сборки цепи нуклеиновых кислот из нуклеотидов, где основания обозначены символами А, Т, G, С, каждая дезоксирибоза изображена вертикальной чертой, а фосфатные группы — символом Р, можно представить следующим образом (рис. 8.3).

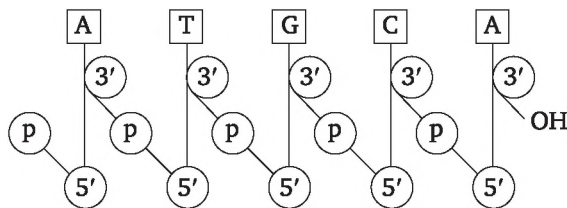


Рис. 8.3

Цифрами в кружках указаны места в дезоксирибозе, к которым присоединены фосфатные группы.

Приведенную выше последовательность можно записать буквенным кодом: rArTrGrCrA или, еще короче, rATGCA .

Нуклеозиддифосфаты и нуклеозидтрифосфаты выполняют множество важных функций.

Мононуклеотид АТР является носителем химической энергии в организме. Он служит для переноса высокоэнергетических фосфатных групп и является связующим звеном между процессами, сопровождающимися выделением энергии, и процессами, протекающими с потреблением энергии.

Для переноса или распределения энергии фосфатной связи в реакциях биосинтеза используются и другие нуклеотиды. Например, никотинсодержащие: NAD (никотинамидадениндинуклеотид) с присоединением (отщеплением) водорода обратимо переходят в восстановительную форму — NADH (рис. 8.4).

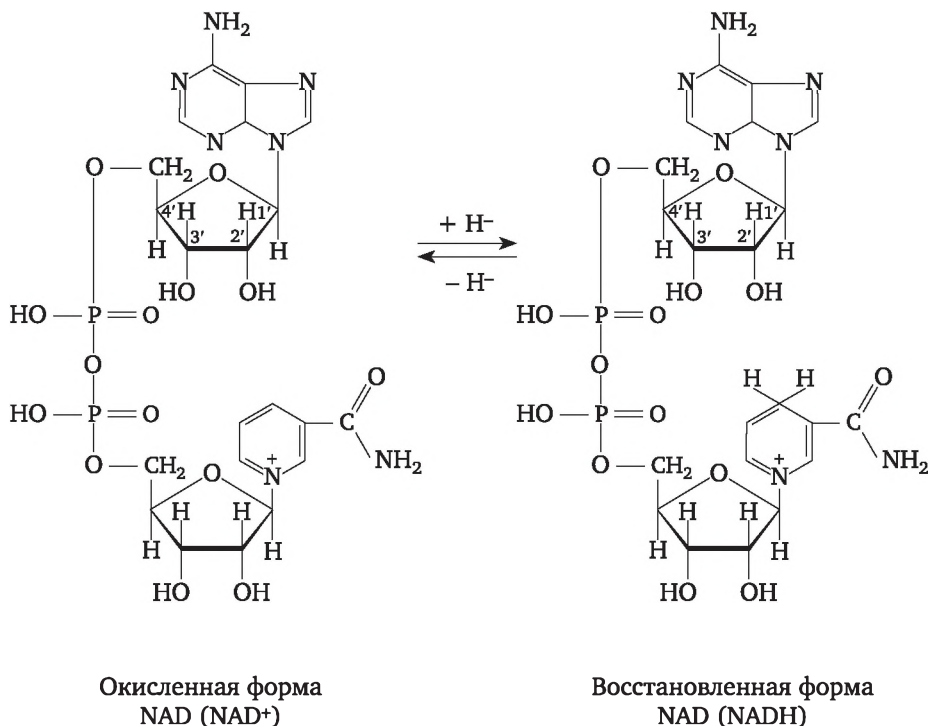


Рис. 8.4

Аналогично реагирует и NADP (никотинамидадениндинуклеотид-фосфат), который переходит в NADPH и FAD (флавинадениндинуклеотид), в свою очередь переходящий в FAD(H).

Динуклеотиды и тринуклеотиды выполняют и другую функцию — они подобно коферментам являются переносчиками некоторых строительных блоков. Так, уридиндифосфат (UDP) — это специфический переносчик остатков сахара при синтезе полисахаридов. В форме уридиндифосфатглюкозы он выступает как донор остатка глюкозы при биосинтезе гликогена. Аналогичным путем цитидиндифосфатхолин служит донором холина при биосинтезе холинсодержащих фосфолипидов.

Тринуклеотиды также являются высокоэнергетическими предшественниками мононуклеотидных единиц при ферментативном синтезе ДНК и РНК. В ходе этих реакций молекулы тринуклеотидов утрачивают свою концевую пирофосфатную группу, превращаясь в нуклеозидмонофосфаты.

8.4. Первичная, вторичная, третичная и четвертичная структуры ДНК

Как было сказано ранее, ДНК — биологическая макромолекула, носитель генетической информации во всех эукариотических и прокариотических клетках и во многих вирусах. ДНК состоит из многих тысяч соединенных друг с другом мономерных единиц — дезоксирибонуклеотидов четырех разных типов, образующих характерные для каждого организма специфические последовательности (рис. 8.5).

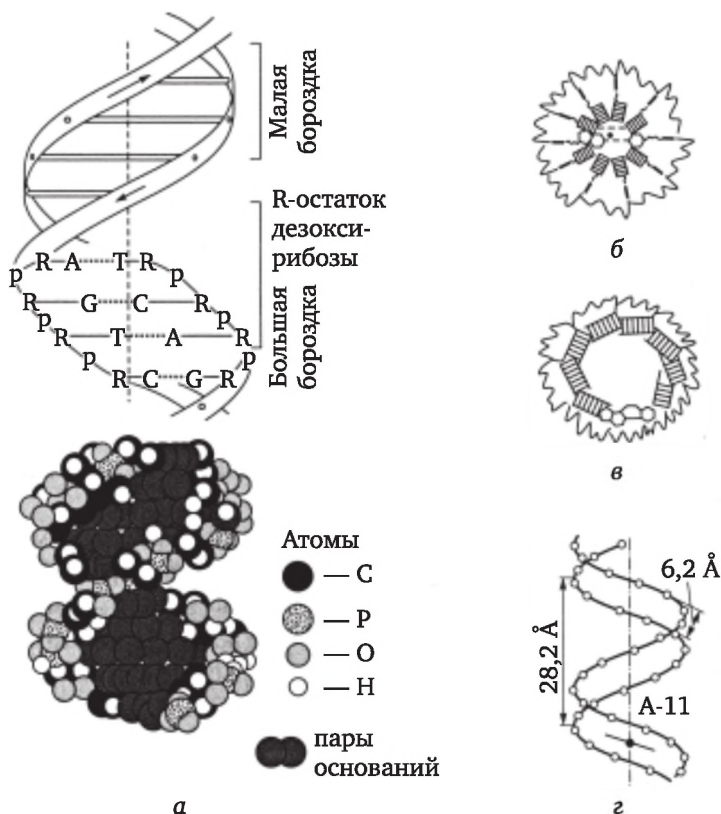


Рис. 8.5. Структура двойной спирали ДНК:

а — общий вид; *б* — радиальная пространственная и *в* — последовательная схемы расположения азотистых оснований и водородных связей между ними; *г* — геометрические параметры двойной спирали

Первичной структурой ДНК являются последовательно соединенные мономерные единицы — дезоксирибонуклеотиды.

Вторичная структура — это двойная спираль. Согласно трехмерной модели молекула ДНК состоит из двух полинуклеотидных цепей, которые образуют правую спираль относительно одной и той же оси, отсюда и название — *двойная спираль*.

Направление цепей взаимно противоположное, сахарофосфатный остов располагается по периферии двойной спирали, а азотистые основания находятся внутри, и их плоскости перпендикулярны оси спирали. Между основаниями образуются специфические водородные связи, в результате чего осуществляется комплементарное спаривание оснований. Аденин образует водородные связи с тиминном, а гуанин с цитозином. Более объемные пурины всегда спариваются с пиримидинами — молекулами меньшего размера. Это приводит к тому, что расстояния между C_1 -атомами дезоксирибозы в двух цепях оказываются одинаковыми для АТ- и ГС-пар и равными 1,085 нм. Каждое основание в одной цепи связано с комплементарным ему основанием другой цепи ДНК. Геометрия двойной спирали такова, что соседние пары находятся друг от друга на расстоянии 0,34 нм и повернуты на 36° вокруг оси спирали. Таким образом, на один виток спирали приходится 10 пар оснований и шаг спирали равен 3,4 нм. Диаметр двойной спирали составляет около 2,0 нм. На двойной спирали имеются два желобка — большой и малый, так как сахарофосфатный остов расположен дальше от оси спирали, чем основания.

Стабильность двойной спирали обусловлена разными взаимодействиями. Отчасти за нее ответственны водородные связи между основаниями. Однако важную роль играет и межплоскостное взаимодействие оснований — *стэкинг*. При этом обеспечиваются не только выгодные вандерваальсовы контакты между атомами, но и возникает дополнительная стабилизация благодаря перекрыванию π -орбиталей атомов контактирующих оснований. Стабилизация осуществляется также за счет благоприятного гидрофобного эффекта, проявляющегося в том, что неполярные основания защищены от непосредственного контакта с растворителем, а сахарофосфатный остов с его полярными группами и заряженными атомами сольватирован молекулами растворителя.

Полиморфизм ДНК проявляется в способности двойной спирали принимать различные конформации.

Третичная и четвертичная структуры — это способы упаковки ДНК в клетках, что позволяет компактно поместить эту полимерную молекулу в ядре клетки. Третичная структура — конденсация двухцепочечной ДНК, в результате которой линейные размеры молекул уменьшаются в 10 000 раз. Существуют два способа — *сфероидальная намотка* (имеет место только в вирусах) и образование *сверхспиральной ДНК* в результате закручивания в спираль оси двойной спирали (образование сверхвитков).

Следующий уровень упаковки ДНК в клетках — это ассоциация сверхспиральной ДНК с различными специфическими белковыми молекулами (*гистонами*), обладающими основными свойствами и состоящими в основном из аргинина и лизина. Таким образом, в неактивном состоянии для ДНК характерны четыре степени спирализации: двойная спираль нуклеотидной последовательности, скручивание двойной спирали, наматывание двойной спирали на гистоновые белки, скручивание белково-нуклеотидной структуры. Расспирализация происходит во время репликации ДНК (удвоения) в момент деления клетки или в момент транскрипции.

Аминокислотная последовательность гистонов консервативна, обладает высоким постоянством структуры и практически не отличается у различных видов организмов. У всех эукариотических клеток имеется пять основных классов гистонов: гистон H1 — белок, богатый лизином (29 %); гистоны H2A и H2B содержат много и лизина, и аргинина; гистоны H3 и H4 являются белками, богатыми аргинином. В табл. 8.1 приведены основные характеристики гистонов.

Таблица 8.1

Молекулярная масса и основной аминокислотный состав гистонов

Тип гистона	Молекулярная масса	Основной аминокислотный состав	
		лизин, %	аргинин, %
H1	21 000	29	1,5
H2A	14 500	11	9,5
H2B	13 700	16	6,5
H3	15 300	10	13,5
H4	11 300	11	14

Гистоны H2A, H2B, H3, H4 образуют октамерный белковый комплекс, называемый *нуклеосомной сердцевиной*, вокруг которого молекула ДНК обвивается 2 раза (около 146 пар оснований). Такой комплекс октамера гистоновых белков с ДНК образует структурную единицу — *нуклеосому*. Гистоновые белки, входящие в структуру ДНК, характеризуются щелочной реакцией.

Есть несколько уровней нуклеосомной организации ДНК: 1) закручивание вокруг нуклеосом; 2) упаковка нуклеосом в нить толщиной 30 нм; 3) образование петли длиной в тысячи нуклеосом, прикрепленной к центральному поддерживающему белку; 4) формирование из петли спирали (или складки). В результате такой конденсации длина ДНК уменьшается еще в 100 раз. Получившийся в конечном счете комплекс называется *хромосомой*.

Следует отметить, что хромосома прокариотических клеток представляет собой одну длинную двухцепочечную молекулу ДНК — полинуклеотид. Эукариотические клетки содержат большое количество

молекул ДНК, каждая из которых, как правило, длиннее ДНК прокариот.

Во время наблюдения в микроскоп за ядром делящихся эукариотических клеток обнаружено, что их генетический материал распределен по хромосомам, число которых зависит от вида организма. В соматической клетке человека в норме находится 46 хромосом.

8.5. Генетический код. Репликация ДНК

Генетический код связывает последовательность оснований данного гена или его РНК-транскрипта с аминокислотной последовательностью соответствующего белка (см. рис. 8.6). Генетический код универсален, т.е. все живые организмы используют один и тот же код, и триплетен, т.е. одна аминокислота задается специфической последовательностью из трех нуклеотидов (табл. 8.2).

Таблица 8.2

Таблица генетического кода

Основание 5'-конца	Среднее основание				Основание 3'-конца
	U	C	A	G	
U	UUU-Phe	UCU-Ser	UAU-Tyr	UGU-Cys	U
	UUC-Phe	UCC-Ser	UAC-Tyr	UGC-Cys	C
	UUA-Leu	UCA-Ser	UAA-стоп	UGA-стоп	A
	UUG-Leu	UCG-Ser	UAG-стоп	UGG-Trh	G
C	CUU-Phe	CCU-Pro	CAU-His	CGU-Arg	U
	CUC-Phe	CCC-Pro	CAC-His	CGC-Arg	C
	CUA-Leu	CCA-Pro	CAA-Gln	CGA-Arg	A
	CUG-Leu	CCG-Pro	CAG-Gln	CGG-Arg	G
A	AUU-Ile	ACU-Thr	AAU-Asn	AGU-Ser	U
	AUC-Ile	ACC-Thr	AAC-Asn	AGC-Ser	C
	AUA-Ile	ACA-Thr	AAA-Lys	AGA-Arg	A
	*AUG-Met	ACG-Thr	AAG-Lys	AGG-Arg	G
A	GUU-Val	GCU-Ala	GAU-Asp	GGU-Gly	U
	GUC-Val	GCC-Ala	GAC-Asp	GGC-Gly	C
	GUA-Val	GCA-Ala	GAA-Glu	GGA-Gly	A
	*GUG-Val	GCG-Ala	GAG-Glu	GGG-Gly	G

Иными словами можно сказать, что содержащаяся в ДНК генетическая информация закодирована линейной последовательностью ключевых слов — кодонов.

Каждый кодон соответствует одному аминокислотному остатку в белке.

Синтез ДНК — сложный процесс, называемый *репликацией*. Основным механизмом репликации ДНК является ее копирование путем комплементарного спаривания азотистых оснований с целью сохранения и воспроизведения генетического кода. Основную роль в репликации ДНК так же, как и в синтезе РНК с матричной ДНК, играет *ДНК-полимераза*, субстратом для которой служит дезоксирибонуклеозидфосфат, а также *РНК-полимераза*, для которой субстратом служит рибонуклеозидфосфат.

На первом этапе *ДНК-полимераза* раскручивает молекулу ДНК, и образуется репликационная вилка (рис. 8.6).

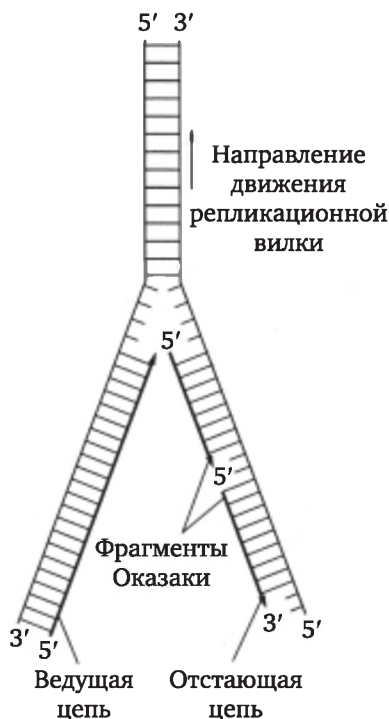


Рис. 8.6. Строение репликационной вилки ДНК

Простейшая схема репликации — перемещение вилки (нуклеотид за нуклеотидом) от одного конца молекулы к другому.

Поскольку одновременно идет синтез двух цепей, осуществляющийся от 5'- к 3'-концу по спирали 3'5', т.е. по направлению 3'→5', идет непрерывное воспроизведение ДНК, и дочерняя спираль ДНК синтезируется целиком. В обратном направлении 5'→3' идет фрагментарное воспроизведение. Таким образом, репликационная вилка асимметрична, а отстающей цепью является та, где по логике вещей синтез

должен идти по направлению 3'→5', но этого не происходит. Отстающая цепь реплицируется фрагментарно (фрагменты Оказаки).

Синтез ДНК в эукариотических клетках приурочен к определенному периоду, называемому *S-фазой*.

Репликация ДНК начинается сразу в нескольких тысячах молекул в затравочных участках — ДНК-праймерах, синтезируемых специальными ферментами (рис. 8.7). Сама затравка синтезируется из рибонуклеозитфосфатов, соответственно ДНК заканчивает синтез новой цепи, натыкаясь на РНК-затравку, следствием чего является образование фрагментов Оказаки. Чтобы обеспечить направленный синтез цепи ДНК, в действие вступает особая система репараций, удаляющая РНК-затравку путем гидролиза и восстанавливающая правильную структуру ДНК. Фрагмент завершает ДНК-лигаза, которая соединяет 3'-конец нового фрагмента с 5'-концом предыдущего.

Расплетение второй спирали ДНК перед репликацией вилкой обеспечивается *ДНК-лигазой*, которая является АТФ зависящим ферментом.

Точность копирования велика: в среднем на каждые 10^9 комплементарных пар в процессе воспроизведения генома происходит одна ошибка.

Выявление и удаление ошибок репликации называется репарацией. В нормальной ДНК на короткое время возникают редкие таутомерные формы, которые могут образовывать неправильные пары, в результате чего возникает мутация. Высокая точность репликации определяется наличием максимальной репарации, устраняющей подобные ошибки.

В частности, *ДНК-полимераза*, продвигаясь от 3'5'-конца, выступает в роли самоконтролируемого фермента и устраняет ошибки таутомерных форм.

8.6. Денатурация и ренатурация ДНК

Химические и физические свойства ДНК определяются ее структурой. Растворы ДНК при pH 7,0 и комнатной температуре (около 20—25 °C) обладают высокой вязкостью. Если раствор нагреть до 80 °C или сильно изменить pH, то вязкость раствора резко упадет. Этот факт указывает на изменение физического состояния ДНК. Высокая температура и экстремальное значение pH вызывают *денатурацию* ДНК, подобную денатурации белков. Денатурация ДНК приводит к расплетанию двухцепочечной структуры, разрушая водородные связи между спаренными основаниями и гидрофобные взаимодействия, удерживавшие структуру двойной спирали. В результате образуются одноцепочечные хаотические клубки. В литературе денатурацию также называют *плавлением* (рис. 8.8).

Если расхождение цепей полностью завершено, то обратный процесс сборки в двойную цепь (*ренатурация или отжиг*) будет осуществляться в два этапа: сначала в результате случайных столкновений образуются короткие комплементарные участки двойной спирали, а затем наступает быстрый этап «охлопывания» двойной спирали.

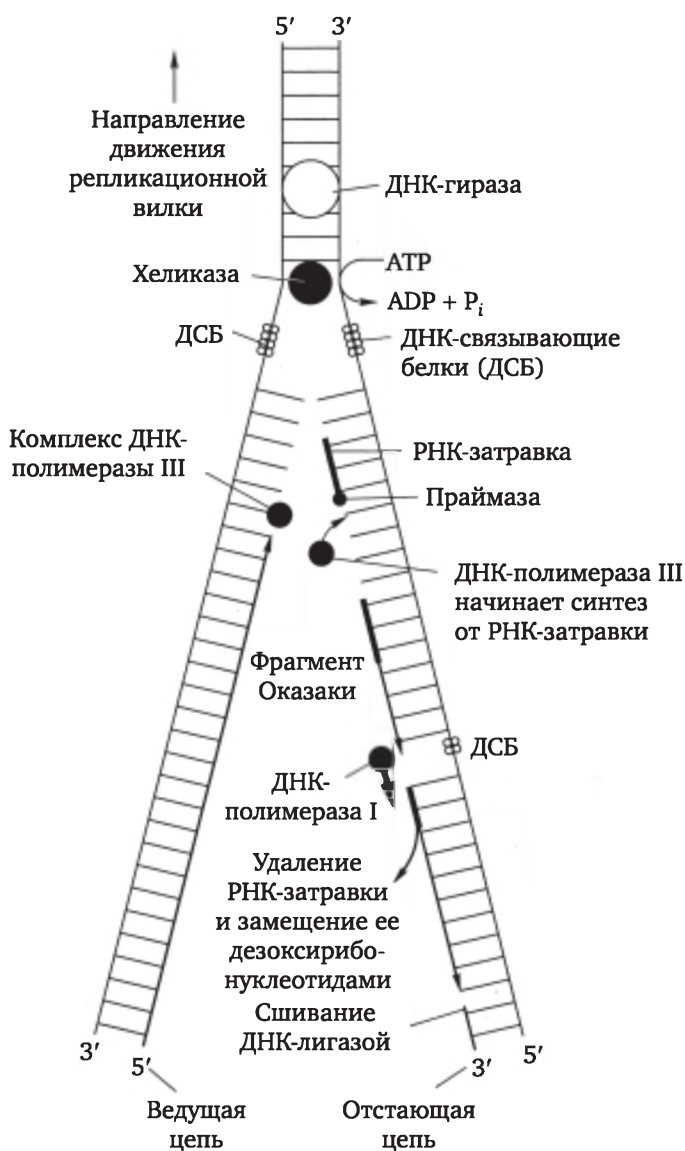


Рис. 8.7. Схема репликации ДНК

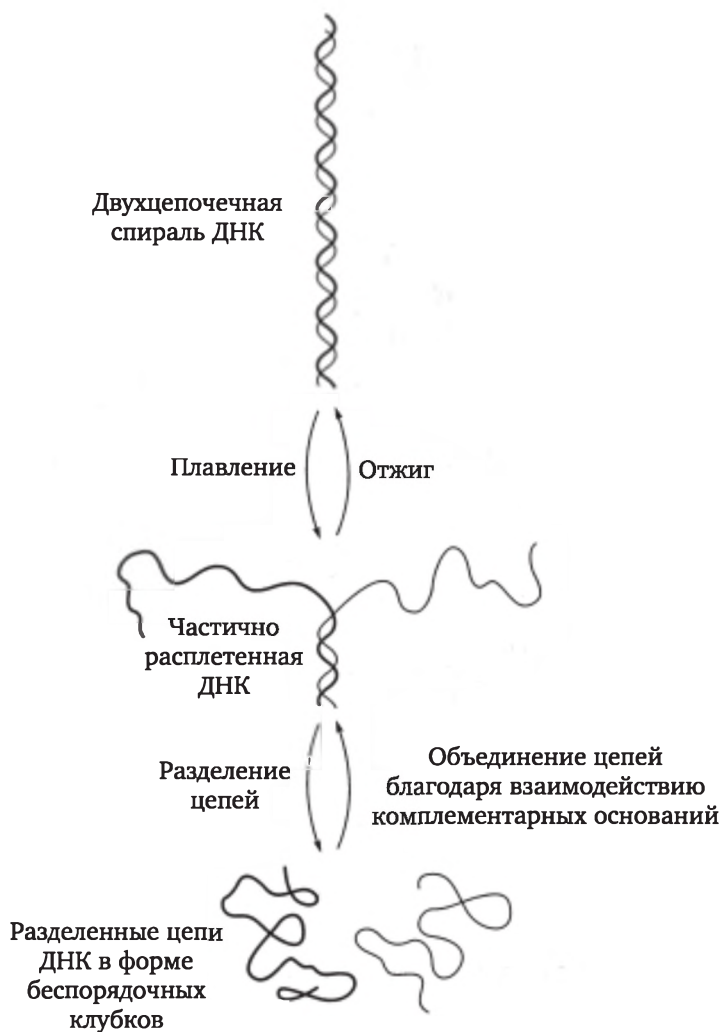


Рис. 8.8. Схематическое отображение процессов денатурации и ренатурации

Глава 9

ВИТАМИНЫ — НЕЗАМЕНИМЫЕ КОМПОНЕНТЫ ПИЩИ

Витамины представляют собой группу органических веществ, имеющих, как правило, сложное и разнообразное химическое строение и обладающих высокой физиологической активностью. Витамины входят в состав тканей животных обычно в малых количествах. Они необходимы для нормального роста и развития организма. Витамины регулируют окисление углеводов, органических кислот, аминокислот, некоторые из которых входят в состав NAD^+ , NADP .

Биосинтез витаминов свойственен преимущественно зеленым растениям. В животных организмах самостоятельно синтезируются только витамины D и E.

9.1. Номенклатура и классификация витаминов

Витамины делятся на две группы: водорастворимые (C, B_1 , B_2 , фолиевая кислота, B_5 , B_{12} , B_6 , PP, B_3 , H) и жирорастворимые (A, D, E, K). Данные, относящиеся к важнейшим витаминам, приведены в табл. 9.1.

Таблица 9.1

Номенклатура витаминов и суточная потребность в них

Номенклатура			Суточная потребность человека, мг
буквен- ная	химическая (официальная международная)	физиологическая (по отношению к человеку)	
Водорастворимые			
B ₁	Тиамин	Антиневритный	1,4
B ₂	Рибофлавин	Витамин роста	1,7
B ₃	Пантотеновая кислота	Антидерматитный фактор	10,0
PP (B ₅)	Никотиновая кислота и нико- тинамид	Антипеллагрический	20,0
B ₆	Пиридоксин	Антидерматитный	2,0

Окончание табл. 9.1

Номенклатура			Суточная потребность человека, мг
буквен- ная	химическая (официальная международная)	физиологическая (по отношению к человеку)	
B ₁₂	Цианкобаламин	Антианемический	0,005
B ₁₅	Глюконодиметиламиноацетат	Антианоксический	2,0
B _c	Птероилглутаминовая (фолие- вая) кислота	Антианемический	0,4
B _т	Карнитин		
H	Биотин	Антисеборейный	0,25
C	Аскорбиновая кислота	Антискорбатный	60,0
P	Рутин, биофлавоноид	Капилляроукрепляю- щий витамин	50
U	S-метилметионин	Противоязвенный	
<i>Жирорастворимые</i>			
A	Ретинол	Антиксерофтальми- ческий	1,5—2,0
D	Кальциферол	Антирахитический	0,02
E	Токоферол (токотриенол)	Антистерильный	20,0
K	Филлохинон	Антигеморрагиче- ский	1,0
Q	Убихинон		
F	Комплекс насыщенных жирных кислот (линолевая, линоленовая и арахионовая кислоты)		1000

Жирорастворимым и некоторым водорастворимым витаминам свойственна *витамерия*, заключающаяся в том, что физиологическим действием, характерным для того или иного витамина, обладает не одно, а несколько сходных по химическому строению соединений, называемых *витамерами*.

По физиологическому действию на человека витамины принято делить на следующие группы (табл. 9.2).

Аналогичное влияние оказывают витамины на процессы жизнедеятельности и у животных. Отсутствие или недостаток витаминов в корме приводит к нарушению нормального развития, замедлению роста, снижению продуктивности и другим нежелательным последствиям.

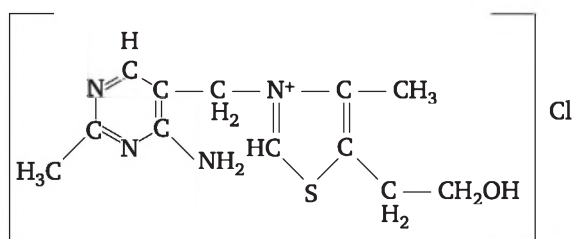
Групповая характеристика некоторых витаминов

Группа витаминов (по лечебно-профилактическому эффекту)	Краткая клинико-физиологическая характеристика	Основные витамины
Повышающие общую реактивность организма	Регулируют функциональное состояние центральной нервной системы, обмен веществ и трофику тканей	B ₁ , B ₂ , PP, A, C
Антигеморрагические	Обеспечивают нормальную проницаемость сосудов и устойчивость к изменению давления	C, P, K
Антианемические	Нормализуют и стимулируют кроветворение	B ₁₂ , B ₉ , C
Антиинфекционные	Повышают устойчивость организма к инфекции: стимулируют выработку антител, усиливают защитные свойства эпителия	C, A
Регулирующие зрение	Усиливают остроту зрения, расширяют поле цветного зрения	A, B ₂ , C

9.2. Характеристика и физиологическое значение витаминов

Водорастворимые витамины

Витамин B₁ — тиамин — имеет следующее строение:



Пиримидиновый цикл Тиазоловый цикл

Так как витамин B₁ наряду с аминогруппой содержит в молекуле атом S, он был назван тиамин (от греч. *тион* — сера).

В виде соли четырехзамещенного аммонийного основания (тиаминхлорида) витамин B₁ существует в кислой среде. Для нейтральной и щелочной среды характерна иная структура: с разомкнутым тиазоловым кольцом; при этом в молекуле тиамина появляются свободные альдегидная и сульфгидрильная группы.

Тиамин представляет собой мелкие бесцветные кристаллы с горьким вкусом, хорошо растворимые в воде. Растворы B_1 в кислой среде устойчивы и выдерживают нагревание до высоких температур. В нейтральной и особенно в щелочной среде тиамин быстро разрушается. При окислении он переходит в тиохром — соединение, обладающее ярко-синей флуоресценцией в ультрафиолетовом свете, благодаря чему его легко определить количественно.

При недостатке витамина В, развивается заболевание, получившее название полиневрита (болезнь «бери-бери»). Оно проявляется в прогрессирующей дегенерации нервных окончаний и проводящих пучков, вследствие чего наблюдаются потеря кожной чувствительности, нарушение нормальной моторики желудочно-кишечного тракта, сердечные боли; при неблагоприятном развитии болезни наступает паралич и смерть.

Механизм действия витамина B_1 состоит в следующем: при посредстве тиаминпирофосфокиназы, переносящей остаток пирофосфата с АТФ на тиамин, он превращается в тиаминпирофосфат, являющийся коферментом декарбоксилаз кетокислот, который, вступая во взаимодействие с пировиноградной кислотой, образует оксиэтилтиаминпирофосфат. Последний в свою очередь распадается с высвобождением тиаминпирофосфата и продукта деструкции пировиноградной кислоты либо в виде ацетальдегида, который далее превращается в этиловый спирт, либо в виде ацетил-КоА.

Особенно важно, что при этом устраняется сама пировиноградная кислота, возникающая в больших количествах при распаде углеводов (и частично аминокислот) и являющаяся *сильным ядом для нервной системы*, действие которого приводит к тяжелым последствиям, отмеченным выше при рассмотрении B_1 -авитаминоза.

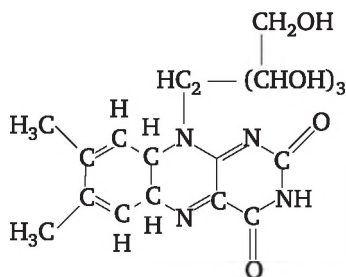
Тиаминпирофосфат катализирует также реакции переноса двухуглеродных фрагментов будучи коферментом соответствующих ферментов. Нарушение этих процессов при недостатке витамина B_1 сказывается на состоянии организма и тоже проявляется как B_1 -авитаминоз.

Источником витамина В, для человека являются главным образом хлеб и крупы в тех случаях, когда зерно в процессе технологической обработки не теряет зародышей и оболочек, которые в основном и содержат тиамин (ржаная мука, неполированный рис и т.д.). Очень много витамина B_1 содержится в пекарских и пивных дрожжах.

Витамин B_2 — рибофлавин. Растворы этого витамина имеют ярко-желтую окраску и характеризуются желто-зеленой флуоресценцией. Его химическое название — рибофлавин — отражает наличие в молекуле остатка рибита и желтый цвет окисленной форма препарата. По строению витамин B_2 — это 6,7-диметил-9-рибителизоаллоксазин:

Рибофлавин химически неустойчив, легко разрушается при кипячении и на свету. Под действием света он распадается на рибит и 6,7-диметилизоаллоксазин, или люмихром. Способность рибофлавина легко окисляться и восстанавливаться лежит в основе его биоло-

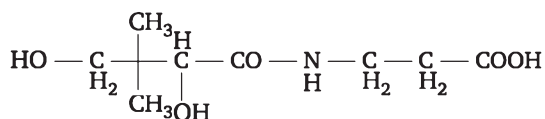
гического действия. Наибольшей способностью присоединять атомы водорода обладают атомы азота, находящиеся в 1-м и 10-м положениях изоаллоксазина.



Недостаток витамина B_2 у человека выражается в остановке роста, выпадении волос, поражении слизистых оболочек (особенно в уголках рта), быстрой утомляемости глаз, понижении работоспособности, нарушении нормального синтеза гемоглобина; патологические изменения возникают и в нервной системе.

Источником витамина B_2 для человека являются молоко и зеленые овощи; много витамина B_2 содержится в печени и почках животных, в пивных и пекарских дрожжах.

Витамин B_3 — пантотеновая кислота — представляет собой $D_{(+)}-\alpha, \gamma$ -диокси- β, β -диметилбутирил- β -аланин:



Пантотеновая кислота (от греч. *пантотен* — повсюду) содержится во многих животных, растительных и микробных объектах. Это вязкая светло-желтая маслянистая жидкость, смешивающаяся с водой и уксусной кислотой. Биологической активностью обладает только правовращающий (+) оптический изомер. Пантотеновая кислота малоустойчива, легко окисляется и гидролизуется в присутствии кислот и щелочей по месту пептидной ($-\text{CO}-\text{NH}-$)-связи.

При недостатке пантотеновой кислоты в организме человека и животных развиваются разнообразные патологические явления: поражение кожных покровов и слизистых оболочек внутренних органов, дегенеративные изменения ряда органов и тканей (особенно страдают железы внутренней секреции), потеря волосяного покрова, депигментация волос. Наиболее ярким симптомом B_3 -авитаминоза у человека является онемение пальцев ног, сопровождающееся покалыванием; затем возникает жгучая боль в пальцах и подошвах, распространяющаяся до голени («жжение ног»). Все это объясняется тем, что пантотеновая кислота входит в состав исключительно важного органического соединения — коэнзима А — Co-A (рис. 9.1).

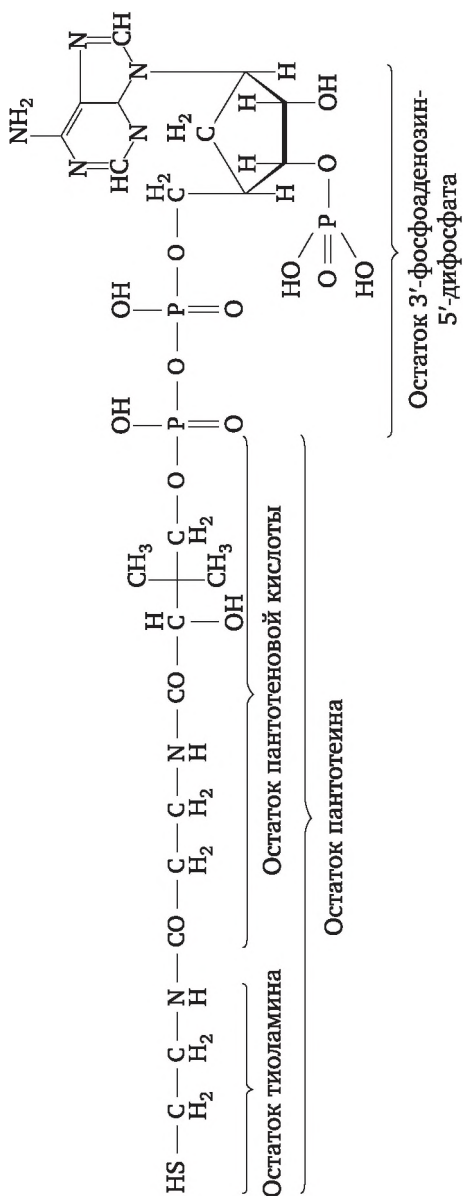


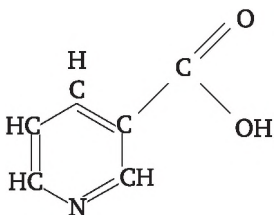
Рис. 9.1

Коэнзим-А занимает ключевые позиции в синтезе и расщеплении жирных кислот и обеспечивает осуществление реакций, необходимых для взаимопревращения углеводов и жиров (см. гл. 14).

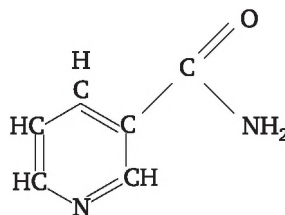
Богатым источником пантотеновой кислоты являются дрожжи, печень, яичный желток, зеленые части растений; в небольших же количествах она содержится во всех пищевых продуктах. Кроме того, пантотеновая кислота синтезируется микрофлорой кишечника.

Витамин РР (В₅) — **никотиновая кислота и никотинамид** (ниацин) — предохраняют от заболевания пеллагрой (*pellagra* (итал.) означает жесткая или шершавая кожа) и излечивают уже возникшее заболевание. Начальные стадии заболевания пеллагрой выражаются в воспалении слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, а последующие — в воспалении кожи (дерматитах) на участках тела, подверженных освещению солнцем. Поэтому он и назван витамином РР по начальным буквам слов *preventive pellagra* (итал.), что означает «предотвращающий пеллагру».

Никотиновая кислота — белое кристаллическое вещество с $t_{пл} = 131—132\text{ }^{\circ}\text{C}$ — является провитамином:



Никотиновая кислота
(β-пиридинкарбоновая)



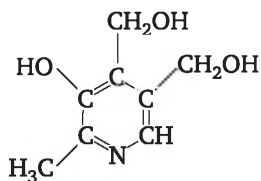
Амид никотиновой кислоты
(никотинамид)

Собственно антипелларгическим действием обладает только амид никотиновой кислоты, который входит в состав важнейшего кофермента дегидрогеназ — никотинамидадениндинуклеотида и его производного — никотинамидадениндинуклеотидфосфата.

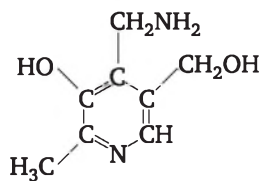
Некоторое количество никотиновой кислоты синтезируется в организме животных и человека из аминокислоты — триптофана. Этот синтез протекает при участии витамина В₆. Таким образом, РР-авитаминоз развивается при неполноценном белковом питании (мало триптофана) и недостатке витамина В₆. Поэтому пеллагру в настоящее время расценивают не как чисто РР-авитаминоз, а как полиавитаминоз, т.е. заболевание, вызванное отсутствием ряда витаминов и зависящее от количества триптофана в пище.

Источником витамина РР для человека служит пшеничный хлеб, печень и почки животных, картофель и многие другие продукты.

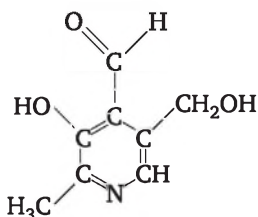
Витамин В₆ — пиридоксин — сейчас рассматривают как сочетание трех индивидуальных веществ: пиридоксина, пиридоксаля и пиридоксамина:



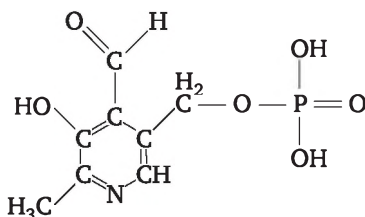
Пиридоксин



Пиридоксамин



Пиридоксаль



Пиридоксальфосфат

Каждое из них обладает свойствами витамина, ибо в организме способно перейти в пиридоксальфосфат, который собственно и участвует в химических реакциях, связанных с деятельностью данного витамина (рис. 9.2).

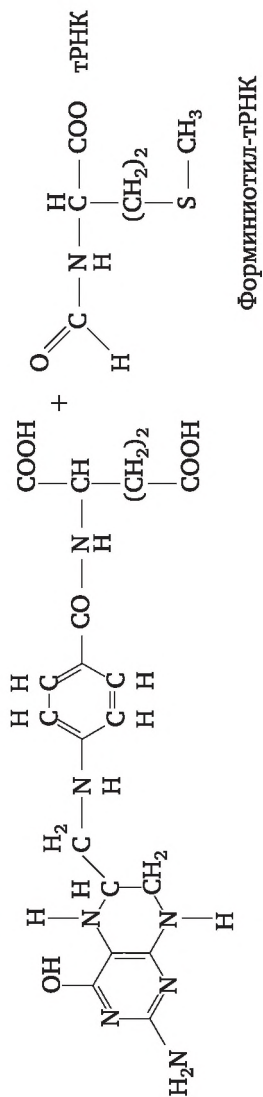
Пиридоксальфосфат является коферментом в реакциях декарбоксилирования ряда аминокислот, а также в реакциях переаминирования аминокислот с кетокислотами.

Отсутствие в пище пиридоксина сопровождается резким нарушением обмена белков, так как реакции переаминирования аминокислот с кетокислотами обеспечивают фонд свободных аминокислот, необходимых для биосинтеза белковых тел. Основным симптомом B_6 -авитаминоза является нарушение кроветворения и развитие различного рода дерматитов, которые не поддаются лечению никотиновой кислотой. У молодых наступает остановка роста. В последнее время обнаружено, что B_6 -авитаминоз сопровождается нарушением обмена липидов, что ведет к развитию атеросклероза.

Источником витамина B_6 для человека являются говядина, рыба, горох, яичный желток и зеленые части растений. Так как витамин B_6 очень широко распространен в продуктах питания, то в обычных условиях B_6 -авитаминоз у человека не наблюдается.

Витамин B_{12} — цианкобаламин — отличается большой сложностью химической структуры. Растительные объекты не содержат витамина B_{12} . Основным его источником для человека служат мясо, молоко, яйца, но синтезируется он только микроорганизмами. Депо витамина B_{12} у человека находится в печени, где он накапливается в количестве нескольких миллиграммов. В переносе витамина B_{12} через кишечную стенку принимает участие соединение белковой природы, специфически связывающее витамин, — так называемый внутренний фактор. Поэтому нарушение синтеза этого фактора приводит к B_{12} -авитаминозу даже при наличии достаточного количества последнего в пище. Часть

N-формил - 5, 6, 7, 8 - тетрагидрофолиевая
кислота (N-формил-ТТФК)



Puc. 9.2

витамина В₁₂ поступает в организм человека и животного в результате деятельности микробов-симбионтов кишечного тракта.

Витамин В_с — птероилглутаминовая кислота — более известен под названием *фолиевой кислоты*, так как он содержится в значительных количествах в листьях (от лат. *folium* — лист). Выделено несколько фолиевых кислот, и сейчас каждому представителю этой группы витаминов дают точное название в соответствии с его химической структурой. Ниже представлена структура одной из фолиевых кислот — птероилмоноглутаминовой (рис. 9.3).

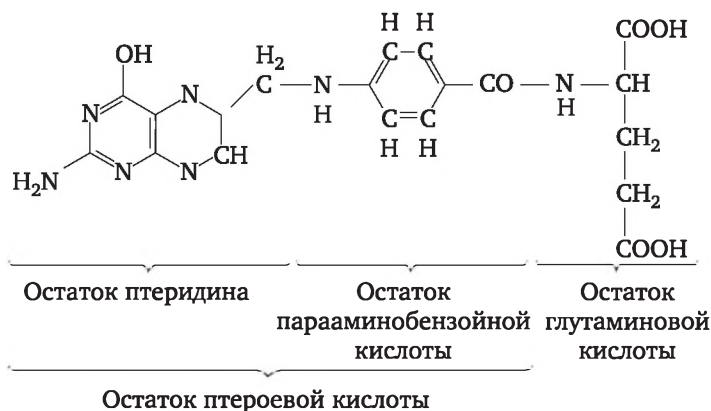


Рис. 9.3

Остальные фолиевые кислоты отличаются от птероилмоноглутаминовой кислоты наличием большего или меньшего (от 3 до 6) числа остатков глутаминовой кислоты, присоединенных к концевому остатку глутаминовой кислоты в виде γ -глутамилпептида.

Фолиевая кислота представляет собой игольчатые кристаллы желтого цвета, содержащие два моля кристаллизационной воды на один моль кислоты. Они стабильны на воздухе, разлагаются при 250 °С. Ограниченно растворимы в воде (25 мг/л), ледяной уксусной кислоте и спиртах, не растворимы в эфире, ацетоне, хлороформе. Вещество фотолabile.

Если в пище животных (например, цыплят) недостает фолиевой кислоты, у них задерживается рост и нарушается кроветворение. Очень чувствительны к недостатку витамина В_с молочнокислые бактерии, для которых он является незаменимым ростовым фактором. Человек мало страдает от недостатка витамина В_с, так как фолиевая кислота синтезируется микрофлорой желудочно-кишечного тракта и всегда поступает в организм в достаточном количестве, но в случае развития этого авитаминоза у человека он может быть охарактеризован как анемия. В случае недостатка витамина В_с развиваются множественные нарушения деятельности органов пищеварения.

Названная кислота, будучи коферментом ряда ферментов, переносит одноуглеродные фрагменты при биосинтезе многих соединений: металльную группу при биосинтезе метионина и тимина, которые

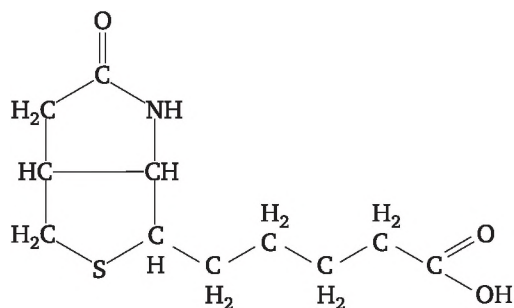
играют ведущую роль в обмене белков и нуклеиновых кислот (недостаток метионина лимитирует синтез белковых тел, отсутствие тимина и соответствующего ему нуклеотида — биосинтез ДНК, дефицит пуриновых оснований — новообразование ДНК и всех видов РНК).

Рассматриваемая кислота переносит перечисленные выше фрагменты, находясь в восстановленном состоянии в виде 5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты. Присоединение фрагментов идет по атому N, находящемуся в 5-м положении, при участии трифункционального фермента — формилметионилметилентетрагидрофолатсинтетазы (молекулярная масса фермента из разных источников — 150 000—225 000). Примером может служить перенос формильной группировки при биосинтезе формилметионил-тРНК, с присоединения которой к рибосоме начинается биосинтез белка.

При переносе метального радикала тетрагидрофосфатный комплекс взаимодействует с витамином В₁₂.

Источниками фолиевых кислот для человека являются многие продукты, в том числе шпинат, цветная капуста, печень животных, хлеб. Особенно высоко содержание фолиевой кислоты в пивных и пекарских дрожжах.

Витамин Н — биотин — по своей химической природе является монокарбоновой кислотой гетероциклического строения.



Гетероциклическая часть молекулы состоит из имидазольного и тиофенового циклов, а боковая цепь представлена остатком валериановой кислоты. Бесцветные игольчатые кристаллы биотина ($t_{пл} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$) хорошо растворяются в воде, ограниченно — в спиртах и трудно — в серном эфире. Биотин устойчив к действию молекулярного кислорода и H_2SO_4 , но разрушается под влиянием H_2O_2 , бромной воды, HCl , HNO_3 и щелочей.

Необходимость биотина для нормальной жизнедеятельности отражена в самом его названии (от греч. *биос* — жизнь). При недостатке этого витамина в организме человека наступает ряд патологических изменений: воспаление кожных покровов, выпадение волос, усиленное выделение жира сальными железами кожи.

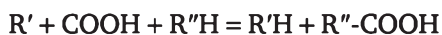
Главная роль биотина состоит в том, что в виде кофермента он входит в состав фермента, ускоряющего реакции карбоксилирования,

например, пировиноградной кислоты (пирувата), связывающей взаимопревращение в организме углеводов и белков.

В процессе действия этого фермента возникает специфический комплекс биотина с CO_2 , где оксид углерода (IV) переходит в активное состояние, в котором он способен внедриться в металльную группу пировиноградной кислоты. Соединение биотина с белком осуществляется через $\varepsilon\text{-NH}_2$ -группу радикала лизина белковой молекулы и COOH -группу боковой цепи молекулы биотина. CO_2 присоединяется по атому N имидазольного цикла (рис. 9.4).

При такой структуре биотин-протеинового комплекса циклическая часть молекулы биотина, несущая активированную COOH -группу, обладает высокой степенью подвижности и передает карбоксил в точку присоединения субстрата на поверхности фермента.

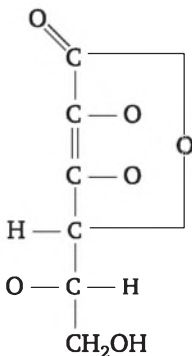
Биотин участвует не только в фиксации CO_2 , но и осуществляет реакцию транскарбоксилирования, т.е. передачу карбоксильной группы от одного соединения к другому:



Участие биотина в реакции карбоксилирования и транскарбоксилирования важно и для синтеза жирных кислот. Биотин также причастен к синтезу белка, пуриновых оснований, РНК и ряда других важных соединений.

Источником витамина Н для человека являются печень и почки крупного рогатого скота, куриные яйца, молоко, томаты, соя, морковь, картофель, горох.

Витамин С — аскорбиновая кислота имеет следующее строение:



Кислотные свойства аскорбиновой кислоты, не имеющей, как видно из формулы, свободной карбоксильной группы, зависят от диссоциации водорода гидроксильной, расположенной у 3-го углеродного атома.

Витамин С представляет собой бесцветные кристаллы ($t_{\text{пл}} = 192^\circ\text{C}$), кислые на вкус, хорошо растворимые в воде и спирте, но не растворимые в бензоле, хлороформе, эфире и других растворителях жиров.

В бескислородной среде кристаллы аскорбиновой кислоты можно хранить годами, но в присутствии кислорода или в растворе, особенно

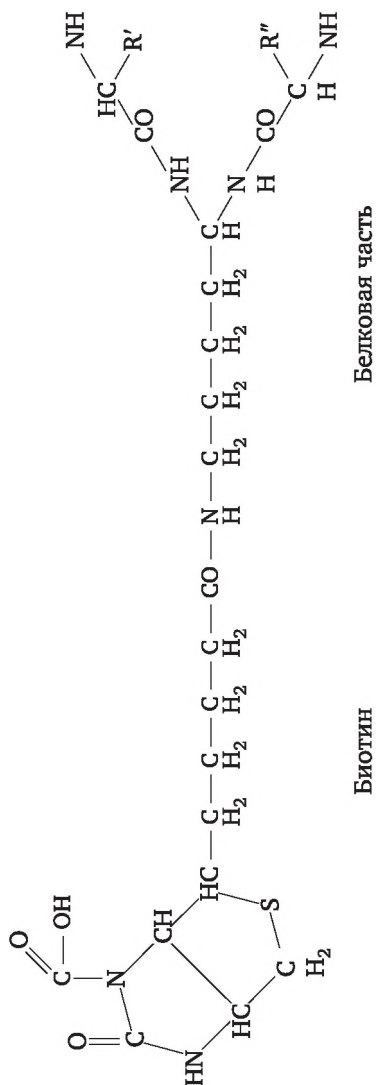


Рис. 9.4

щелочном, витамин С быстро разрушается. Процессу разрушения способствуют ионы железа и меди.

Аскорбиновая кислота легко отдает и принимает два атома водорода, переходя соответственно в дегидроаскорбиновую кислоту, и наоборот. Это важнейшее свойство лежит в основе механизма действия аскорбиновой кислоты в организме: она является участником окислительно-восстановительных систем и, следовательно, обеспечивает нормальное протекание жизненно важных процессов в тканях.

Окисление аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую кислоту сопровождается потерей двух протонов и двух электронов (рис. 9.5).

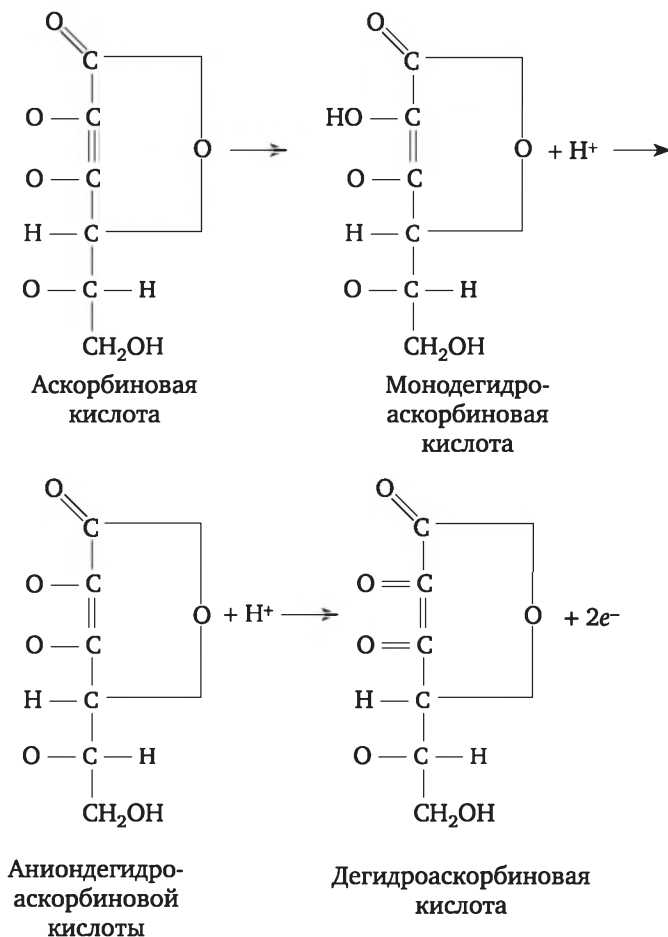


Рис. 9.5

Промежуточные продукты, особенно радикал монодегидроаскорбиновой кислоты, исключительно реакционноспособны и взаимодействуют со многими другими коферментами оксидоредуктаз: глутатионом, NAD, FAD, цитохромами. Непосредственно процесс окисления аскорбиновой кислоты ускоряется аскорбатоксидазой.

Аскорбиновая кислота широко распространена в природе, присутствуя буквально во всех тканях и органах животных, растений, а также в микроорганизмах. Чаще всего она находится в окисленной форме или в виде связанной аскорбиновой кислоты, так называемого *аскорбигена*. Последний отличается несколько более слабым физиологическим действием, но более устойчив к тем или иным физико-химическим воздействиям.

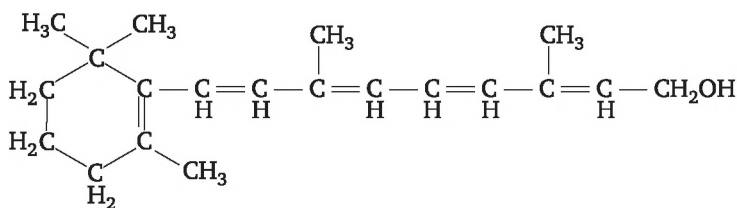
Биосинтез аскорбиновой кислоты в организме человека не происходит. При недостаточном поступлении витамина С с пищей у человека возникают аномалии, выражающиеся в повышении проницаемости и хрупкости кровеносных сосудов, вследствие чего возникают спонтанные кровоизлияния и характерные изменения костей и зубов: зубы быстро разрушаются, расшатываются и выпадают. В основе этих явлений лежат нарушения синтеза межклеточного белка — *коллагена* — вследствие ослабления его посттрансляционной модификации, выражающейся в торможении окисления радикалов пролина и лизина в радикалы оксипролина и оксилизина соответственно. В результате синтезируется нефибриллярный коллаген.

При оценке механизма действия аскорбиновой кислоты в настоящее время большое значение придают ее возможному участию в предохранении от окисления активных HS-групп белков, в том числе белков, обладающих биокаталитической активностью. Эту функцию выполняет восстановленная форма аскорбиновой кислоты. Аскорбиновая кислота выполняет также роль парного донора в некоторых монооксигеназных реакциях.

Источником витамина С для человека служат самые разнообразные продукты растительного происхождения. Особенно много его содержат плоды шиповника, черная смородина, облепиха, рябина, красный перец, лимоны, капуста.

Жирорастворимые витамины

Витамин А — ретинол — имеет несколько модификаций, из которых наиболее распространенным считают витамин А₁ содержащийся в печени морских рыб:



Витамин А₂ отличается от А₁ добавочной двойной связью между 3-м и 4-м углеродными атомами шестичленного цикла (содержится в печени пресноводных рыб).

Обе формы (А₁ и А₂) существуют в виде ряда геометрических изомеров, но лишь некоторые из них физиологически активны. Таким обра-

зом, витамин А состоит из смеси циклических ненасыщенных спиртов характерного химического строения с большим числом сопряженных двойных связей. Это кристаллические тела лимонно-желтого цвета с температурой плавления от 59 до 64 °С (в зависимости от вида геометрического изомера), хорошо растворимые в жирах и жироподобных растворителях: бензине, серном эфире, хлороформе, ацетоне.

Витамины группы А легко окисляются как в лабораторных условиях (посредством MnO_2), так и в организме. Окисляясь в организме при участии биокатализатора, ретинол (спирт) превращается в ретиаль (альдегид), тоже обладающий активностью витамина А.

Однако при отсутствии O_2 ретинол устойчив даже при 100 °С. В тканях животных организмов, например в печени, витамин А часто находится в форме сложных эфиров с пальмитиновой кислотой. В таком виде он более устойчив и, следовательно, может запасаться впрок, высвобождаясь по мере надобности.

При отсутствии в пище витамина А в организме животного и человека развивается ряд специфических патологических изменений: ослабление зрения (сумеречная, или «куриная» слепота), поражение эпителиальных тканей (сухость, слущивание эпителия), в том числе роговицы глаза (ее сухость и воспаление называется *ксерофтальмией*, отсюда и название витамина А — *антиксерофтальмический*). Кроме того, при А-авитаминозе наблюдается торможение роста, снижение веса и общее истощение организма.

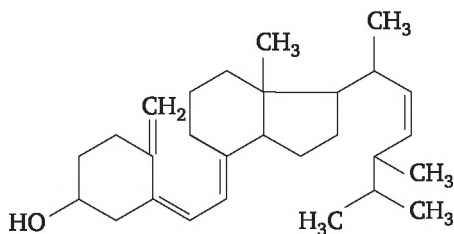
Сухость кожи и слизистых оболочек, способствующая проникновению в организм болезнетворных микробов, ведет к возникновению дерматитов, бронхитов и катаров дыхательных путей. Витамин А, предохраняющий от этих инфекционных заболеваний, относят поэтому к группе антиинфекционных витаминов.

У растений только при достаточном содержании предшественников витамина А (каротиноидов) происходят нормальное прорастание пыльцы и оплодотворение.

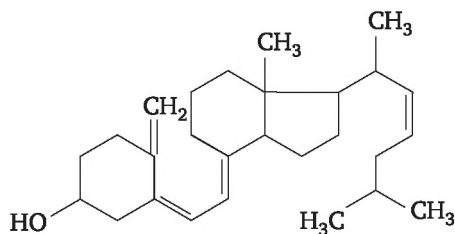
Роль витамина А в поддержании остроты зрения заключается в том, что окисленная форма витамина А (ретиаль) в виде *цис*-изомера является протетической группой белка — опсина и образует с последним хромопротеин родопсин, или зрительный пурпур — основное светочувствительное вещество сетчатки (ретины) глаза (отсюда и название ретинол).

Источниками витамина А для человека являются рыбий жир, печень рыб и домашних животных, желток яйца, сливочное масло, зеленые части растений и красномякотные овощи: морковь, перец, томаты. В двух последних витамин А содержится в виде провитамина, которым является β-каротин. Молекула β-каротина распадается в кишечнике человека и животных с образованием двух молекул витамина A_1 .

Витамин D — кальциферол, — как и витамин А, существует в виде нескольких витамеров. Наиболее распространены витамины D_2 и D_3 , которые можно рассматривать как производные стеролов.



Витамин D₂ (эргокальциферол)



Витамин D₃ (холекальциферол)

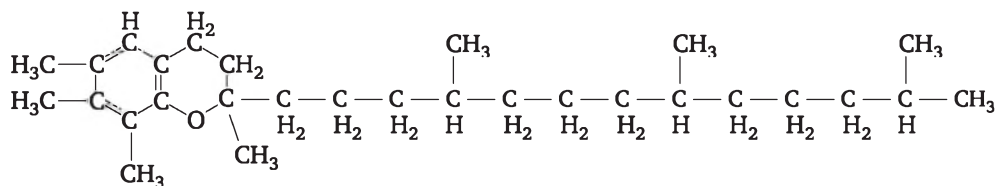
Провитаминами D₂ и D₃ являются соответственно эргостерол и холестерол, которые переходят в активную форму в результате размыкания С—С-связи в кольце под действием солнечных лучей (холестерол предварительно дегидрирует и переходит в 7-дегидрохолестерол, являющийся непосредственно провитамином). При наличии соответствующих провитаминов (например, 7-дегидрохолестерола у человека) витамин D₃ может синтезироваться в организме, и его поступление с пищей не обязательно.

Витамины D₂ и D₃ — бесцветные кристаллы, плавящиеся при температуре 115—116 °С, не растворимые в воде, но хорошо растворяющиеся в жирах и растворителях жиров (хлороформе, бензоле, серном и уксусно-этиловом эфире, ацетоне, спирте). Оба они малостабильны и быстро разрушаются под действием окислителей.

При отсутствии в рационе витамина D у детей развивается широко известное заболевание — рахит, причина которого состоит в расстройстве фосфорно-кальциевого обмена и нарушении нормального отложения фосфата кальция в костной ткани. Предполагают, что при D-авитаминозе нарушается всасывание Са и Р в желудочно-кишечном тракте и образование фосфорных эфиров ряда органических соединений; вероятно, оба эти процесса взаимосвязаны. Всасывание, перенос Са и кальцификация костей регулируются не непосредственно витамином D₃, а его гормонально-активным метаболитом, содержащим оксигруппы в 1-м и 25-м положениях. Именно он, связываясь с ядерными рецепторами, обеспечивает биосинтез информационной РНК для работы Са-связывающих белков и гормонов (кальцитонин и паратгормон), регулирующих обмен кальция.

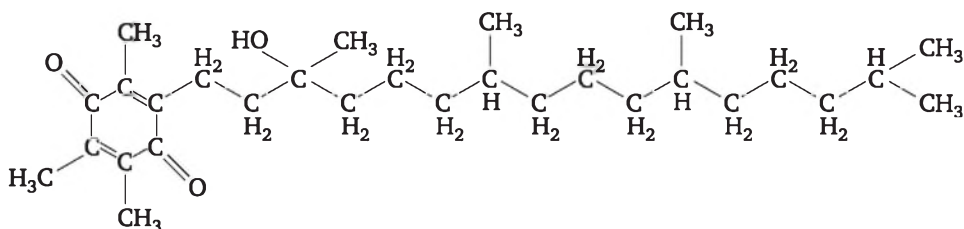
Источниками витамина D для человека являются рыбий жир, сливочное масло, желток яйца, печень животных, молоко. Особенно важен витамин D для кур-несушек и дойных коров. Подсчитано, что в скорлупу куриного яйца переходит 1/10 часть всего кальция, содержащегося в теле курицы.

Витамин Е — токоферол (от греч. *токос* — потомство, *феро* — несу) — регулирует процесс размножения. Впервые витамин Е: α-, β- и γ-токоферолы были выделены из масла пшеничных зародышей и хлопкового масла.



Токоферолы — бесцветные маслянистые жидкости, хорошо растворимые в растительных маслах, спирте, серном и петролейном эфире. Химически они весьма устойчивы; выдерживают нагревание до 100 °C с концентрированной HCl и 170 °C на воздухе; разрушаются под воздействием ультрафиолетовых лучей; оптически активны.

Витамин Е может окисляться до α -токоферилхинона, структура которого очень близка к структуре витаминов К и Q:



Близость химического строения витаминов Е, К и Q обуславливает сходство механизмов их действия в организме.

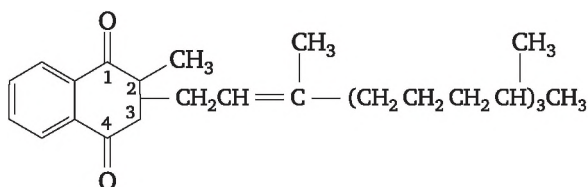
При отсутствии или недостатке витамина Е у человека и животных нарушается эмбриогенез (развитие плода в организме матери) и наблюдается дегенеративные изменения репродуктивных органов, что выражается в нарушении нормального функционирования и структуры многих тканей: развиваются мышечная дистрофия, дегенерация спинного мозга и паралич конечностей, происходит жировое перерождение тканей.

Механизм действия витамина Е в организме двоякий. С одной стороны, витамин Е — важнейший внутриклеточный агент, предохраняющий от окисления жиры и другие легкоокисляемые соединения, он один из самых сильных природных антиоксидантов, прежде всего, липидов. Реагируя с пероксидными радикалами липидов и сами при этом окисляясь, токоферолы обрывают цепи окисления. С другой стороны, витамин Е функционирует как структурный компонент биологических мембран, образуя своим углеводородным радикалом молекулярные комплексы с ненасыщенными высшими жирными кислотами фосфолипидов и стабилизируя (защищая от окисления) мембраны. При Е-авитаминозе наблюдаются множественные нарушения функций. Витамин Е, возможно, участвует в регуляции биосинтеза некоторых ферментов на уровне транскрипции в генетическом аппарате клетки их матричных РНК.

Источниками витамина Е для человека являются растительные масла (подсолнечное, кукурузное, хлопковое, соевое, конопляное

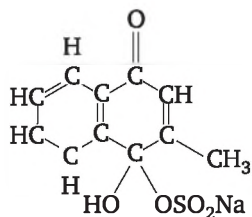
и др.), салат, капуста и зерновые продукты. Потребность в этом витамине ничтожна, так что Е-авитаминозы и гиповитаминозы — явление очень редкое, тем более что витамин Е откладывается в организме во многих тканях (главным образом в жировой). Запасы его обеспечивают восполнение убыли даже при полном отсутствии витамина в пище в течение нескольких месяцев.

Витамин К — филлохинон (2-метил-3-фитил-1,4-нафтохинон) — регулирует процесс свертывания крови. Его структурная формула выглядит следующим образом:

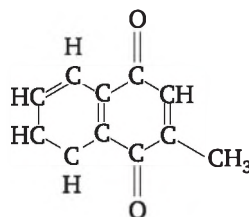


Два природных витамина K_1 и K_2 являются производными нафтохинона.

Витамин K_2 отличается строением боковой цепи, содержащей от 30 до 45 углеродных атомов и несущей соответственно от шести до девяти двойных связей. Он специфичен для бактерий и также получен синтетически ($K_{2(35)}$). Здесь (35) — число углеводородных звеньев. В качестве противогеморрагического средства применяют аналог витамина K_1 — викасол — бесцветный мелкокристаллический порошок:



Викасол



Витамин K_3

Кроме витаминов K_1 и K_2 , многие производные нафтохинона обладают аналогичными физиологическими действиями.

Витамин K_1 — светло-желтая маслянистая жидкость с температурой кипения 115—145 °С, флуоресцирует, в воде не растворяется. Синтезируется в зеленых частях растений и некоторыми микроорганизмами. У человека и млекопитающих образуется микрофлорой кишечника. Очень неустойчив при нагревании в щелочной среде и при облучении.

Витамин $K_{2(35)}$ — желтые кристаллы с температурой плавления 54 °С — еще более неустойчив, чем витамин K_1 . Витамин K_3 — желтый кристаллический порошок с температурой плавления 106 °С — не растворим в воде, но растворим в спирте и эфире.

Витамин К способствует синтезу компонентов, участвующих в свертывании крови, и положительно влияет на состояние эндотелиальной

оболочки кровеносных сосудов. При недостатке его в пище могут возникать самопроизвольные кровотечения (носовые кровотечения, кровавая рвота, внутренние кровоизлияния и т.п.). Полагают, что витамин К принимает участие в синтезе протромбина и ряда других белковых факторов, необходимых для свертывания. Протромбин переходит в тромбин, а последний вызывает превращение фибриногена в фибрин, т.е. непосредственно обеспечивает коагуляцию крови.

Источниками витамина К для человека являются томаты, капуста, тыква, зеленые части растений, печень животных. Кроме того, витамин К синтезируется микробами, нормально обитающими в кишечнике. Кишечная микрофлора — постоянный поставщик витамина К для человека и животных.

Глава 10

МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА И МИКРОЭЛЕМЕНТЫ

Жизненно необходимые элементы подразделяются на макроэлементы (суточная потребность более 100 мг) и микроэлементы (суточная потребность менее 100 мг). Обмен минеральных веществ контролируется гормонами. Количество минеральных веществ, абсорбированных из пищи, как правило, зависит от метаболических потребностей организма и в ряде случаев от состава пищевых продуктов. Их роль в жизнедеятельности организма чрезвычайно важна. В живых организмах микроэлементы входят в состав ферментов, гормонов, витаминов и других жизненно важных соединений. Обычно считают, что в таких соединениях участвует около 30 микроэлементов.

10.1. Роль минеральных веществ и микроэлементов в процессе жизнедеятельности

Строго говоря, активация ферментов возможна как микроэлементами, так и макроэлементами. Экспериментально доказано, что микроэлементы необходимы для многих важнейших биохимических процессов, недостаток элементов замедляет эти процессы и даже останавливает их. Для белкового, углеводного и жирового обмена веществ необходимы Mo, Fe, V, Co, W, B, Mn, Zn; в синтезе белков участвуют Mg, Mn, Fe, Co, Cu, Ni, Cr; в кроветворении — Co, Cu, Mn, Ni, Zn; в обеспечении организма кислородом — Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Co.

Суточная потребность организма человека в различных минеральных веществах, не считая микроэлементов, (в г): кальций — 0,7—0,8; фосфор — 1,5—2,0; калий — 2,0—3,0; натрий — 4,0—6,0; железо — 0,008—0,01; хлор — 6,0—9,0. В табл. 10.1 представлены биохимические функции микроэлементов.

Как правило, микроэлементы участвуют в жизнедеятельности совместно. Например, кроветворение у человека может осуществляться только при нормальном взаимодействии трех микроэлементов — кобальта, меди и железа.

Элементы и их биохимическая функция

Элемент	Роль в клетке	Роль в организме	
		растительном	животном
Железо (Fe)	Входит в состав цитохромов — ферментов — переносчиков электронов в фотосинтезе и в дыхательной цепи	Участвует в синтезе хлорофилла, входит в состав ферментов дыхательной цепи и цитохромов — переносчиков электронов в ходе фотосинтеза	Входит в состав гема гемоглобина и миоглобина, содержится в печени и селезенке в виде белка ферритина
Медь (Cu)	Входит в состав окислительных ферментов синтеза цитохромов	Входит в состав ферментов, участвующих в темновых реакциях фотосинтеза	Участвует в синтезе гемоглобина; у беспозвоночных входит в состав дыхательного пигмента — гемоцианина; у человека входит в состав фермента, участвующего в синтезе меланина
Марганец (Mn)	Входит в состав ферментов, участвующих в дыхании, окислении жирных кислот, повышает активность фермента карбоксилазы	Входит в состав ферментов, участвующих в темновых реакциях фотосинтеза и в восстановлении нитратов	Входит в состав фосфатаз — ферментов, необходимых для роста костей
Натрий (Na)	Участвует в создании и поддержании биоэлектрического потенциала на клеточной мембране	Ион Na^+ участвует в поддержании осмотического потенциала клеток, что обеспечивает поглощение воды из почвы	Ионы Na^+ влияют на работу почек, участвуют в поддержании сердечного ритма, входят в состав минеральных веществ крови, участвуют в регулировании кислотно-щелочного равновесия в организме
Калий (K)	Участвует в создании и поддержании мембранного потенциала, активизирует ферменты, участвующие в синтезе белка, входит в состав ферментов гликолиза	Участвует в регулировании водного режима, входит в состав ферментов фотосинтеза, компонент клеточного сока вакуолей (содержится в виде катионов K^+)	Участвует вместе с натрием и кальцием в поддержании сердечного ритма, участвует в проведении нервного импульса

Продолжение табл. 10.1

Элемент	Роль в клетке	Роль в организме	
		растительном	животном
Кальций (Ca)	Ионы Ca^{2+} участвуют в регуляции избирательной проницаемости клеточной мембраны, в процессах соединения ДНК с белками	Ионы Ca^{2+} , образуя соли пектиновых веществ, придают твердость межклеточному веществу, соединяющему растительные клетки	Нерастворимые соли кальция входят в состав костей позвоночных, раковин моллюсков, коралловых полипов; ионы Ca^{2+} участвуют в образовании желчи, в передаче нервного импульса через синапсы, являются одним из факторов свертывания крови, активируют ферменты при сокращении поперечно-полосатых мышечных волокон
Магний (Mg)	Кофактор многих ферментов	Входит в состав хлорофилла; образует соли с пектинами	Входит в состав ферментов, необходимых для функционирования мышечной, нервной и костной тканей
Хлор (Cl)	Анионы Cl^- участвуют в поддержании электро-нейтральности клетки	Анионы Cl^- участвуют в регуляции тургорного давления	Анионы Cl^- вместе с катионами Na^+ формируют осмотическое давление крови; участвуют в процессах возбуждения и торможения нейронов; входят в состав соляной кислоты желудочного сока
Йод (I)			У позвоночных входит в состав гормона щитовидной железы — тироксина
Фтор (F)			В виде нерастворимых кальциевых солей входит в состав костной ткани
Сера (S)	Входит в состав аминокислот и кофермента А; образует дисульфидные мостики белка; участвует в фотосинтезе у бактерий	Определяется ролью клетки	Входит в состав инсулина, витамина B_1 , биотина
Фосфор (P)	Входит в состав АТФ, нуклеотидов, ДНК, РНК, NAD^+ , NADP^+ , FAD^+ , фосфосахаров, фосфолипидов, клеточных мембран	Определяется ролью клетки	В виде фосфатов входит в состав костной ткани, зубной эмали, фосфатной буферной системы млекопитающих

Элемент	Роль в клетке	Роль в организме	
		растительном	животном
Цинк (Zn)	Входит в состав ферментов спиртового брожения	Входит в состав ферментов, участвующих в расщеплении угольной кислоты и в синтезе гормонов — ауксинов	Входит в состав фермента, участвующего в переносе CO_2 в крови; фермента, гидролизующего пептидные связи белков; ферментов, необходимых для роста
Бор (B)		Влияет на процессы роста	
Молибден (Mo)	Входит в состав ферментов, участвующих в фиксации азота у нитрифицирующих бактерий	Входит в состав ферментов, регулирующих работу устьичного аппарата, и ферментов, участвующих в синтезе аминокислот	Определяется ролью клетки
Кобальт (Co)			Входит в состав витамина B_{12} , принимает участие в синтезе гемоглобина. Недостаток приводит к анемии
Селен (Se)	Входит в состав ферментов, защищающих клетки от мутаций		

10.2. Использование макро- и микроэлементов в биомедицинской практике

Железо (Fe). Основной функцией железа в организме является перенос кислорода и участие в окислительных процессах (посредством десятков железосодержащих ферментов). Железо входит в состав гемоглобина, миоглобина, цитохромов. Гемовые простетические группы содержатся также в целом ряде важных ферментов. Большая часть железа в организме содержится в эритроцитах; много железа находится в клетках мозга.

Железо играет важную роль в процессах выделения энергии, в ферментативных реакциях, в обеспечении иммунных функций, в метаболизме холестерина. Насыщение клеток и тканей железом происходит с помощью белка трансферрина, который способен переносить

ионы трехвалентного железа. Лигандные комплексы железа стабилизируют геном, однако в ионизированном состоянии могут являться индукторами окисления липидов, вызывать повреждение ДНК и провоцировать гибель клетки. Дефицит железа, так же как и его избыток, отрицательно влияет на здоровье человека. Порог токсичности железа для человека составляет 200 мг/сут.

В организме взрослого человека содержится около 3—5 г железа; почти две трети этого количества входит в состав гемоглобина. Считается, что оптимальная скорость поступления железа составляет 10—20 мг/сут. Дефицит железа может развиваться, если скорость поступления этого элемента в организм будет менее 1 мг/сут.

В организм человека железо поступает с пищей. Пищевые продукты животного происхождения содержат его в наиболее легко усвояемой форме. Некоторые растительные продукты также богаты железом, однако его усвоение организмом происходит тяжелее. Считается, что организм усваивает до 35 % «животного» железа. В то же время другие источники сообщают, что этот показатель составляет менее 3 %. Большое количество железа содержится в говядине, в говяжьей печени, рыбе (тунец), тыкве, устрицах, овсяной крупе, какао, горохе, листовой зелени, пивных дрожжах, инжире и изюме.

В медицине препараты на основе различных солей двух- и трехвалентного железа, а также железосодержащие биологически активные добавки применяют для восполнения относительного или абсолютного дефицита железа в ситуациях, связанных с увеличенной потребностью организма в этом микроэлементе (беременность, лактация, кровопотери, периоды роста и развития). Основное назначение препаратов железа — профилактика и терапия железодефицитных состояний, главным образом, при лечении железодефицитных (гипохромных) и хронических постгеморрагических анемий. Разработаны многочисленные комплексные препараты для усиления всасывания этого микроэлемента из желудочно-кишечного тракта, улучшения синтеза железосодержащих метаболитов (в том числе гемоглобина).

Радиоактивные изотопы железа (^{59}Fe) применяют при исследованиях его обмена в организме. Препараты, меченные ^{59}Fe и другими изотопами железа, используются в радиоизотопной диагностике для изучения эритропоза, обмена и всасывания железа. Короткоживущий изотоп ^{52}Fe применяется при сканировании головного мозга.

Медь (Cu) является жизненно важным элементом, который входит в состав многих витаминов, гормонов, ферментов, дыхательных пигментов, участвует в процессах обмена веществ, в тканевом дыхании и т.д. Медь имеет большое значение для поддержания нормальной структуры костей, хрящей, сухожилий (коллаген), эластичности стенок кровеносных сосудов, легочных альвеол, кожи (эластин), входит в состав миелиновых оболочек нервов. Действие меди на углеводный обмен проявляется посредством ускорения процессов окисления глюкозы, торможения распада гликогена в печени. Медь входит в состав

многих важнейших ферментов, таких как цитохромоксидаза, тирозиназа, аскорбиназа и других, присутствует в системе антиоксидантной защиты организма, являясь кофактором фермента супероксиддисмутазы, участвующей в нейтрализации свободных радикалов кислорода. Этот микроэлемент повышает устойчивость организма к некоторым инфекциям, связывает микробные токсины и усиливает действие антибиотиков.

Медь обладает выраженным противовоспалительным свойством, смягчает проявления аутоиммунных заболеваний (ревматоидного артрита), способствует усвоению железа.

В организм медь поступает с пищей. В некоторых овощах и фруктах содержится от 30 до 230 мг % меди. Много меди содержится в морских продуктах, бобовых, капусте, картофеле, крапиве, кукурузе, моркови, шпинате, яблоках, какао-бобах.

Считается, что оптимальная скорость поступления меди в организм составляет 2—3 мг/сут. Дефицит меди в организме может развиваться при недостаточном поступлении этого элемента (1 мг/сут и менее), а порог токсичности для человека равен 200 мг/сут.

В желудочно-кишечном тракте абсорбируется до 95 % поступившей в организм меди, причем максимальное количество — в желудке, затем в двенадцатиперстной кишке, тонкой и подвздошной кишке. Лучше всего организмом усваивается двухвалентная медь. В крови медь связывается с сывороточным альбумином (12—17 %), аминокислотами — гистидином, треонином, глутамином (10—15 %), транспортным белком транскуприном (12—14 %) и церулоплазмином (до 60—65 %).

Медь способна проникать во все клетки, ткани и органы. Максимальная ее концентрация отмечена в печени, почках, мозге, крови, однако медь можно обнаружить и в других органах и тканях.

Ведущую роль в метаболизме меди играет печень, поскольку здесь синтезируется белок церулоплазмин, обладающий ферментативной активностью и участвующий в регуляции гомеостаза меди.

Токсическое действие меди обусловлено взаимодействием ее ионов с тиольными SH-группами (связывание) и аминогруппами —NH (блокирование) белков.

В медицине применяют сульфат меди как противомикробное и прижигающее средство. Препараты различных солей меди используют наружно для промываний, спринцеваний, в виде мазей при воспалительных процессах слизистых оболочек, в физиотерапии. Медь в сочетании с железом используется при лечении детей с гипохромной анемией.

Медьсодержащие препараты и биологически активные добавки используются также в лечении и профилактике заболеваний опорно-двигательного аппарата, гипотиреоза.

Кобальт (Co) входит в состав молекулы цианокобаламина, активно участвует в ферментативных процессах и образовании гормонов щито-

видной железы, угнетает обмен йода, способствует выделению воды почками, повышает усвоение железа и синтез гемоглобина.

В организм кобальт поступает с пищей. Особенно много его в печени, молоке, красной свекле, редисе, салате и чесноке. В среднем в желудочно-кишечном тракте всасывается около 20 % поступившего кобальта. Оптимальная интенсивность поступления кобальта в организм человека составляет 20—50 мкг/сут. Дефицит кобальта наблюдается при недостаточном поступлении этого элемента в организм (10 мкг/сут и менее), а порог токсичности составляет 500 мг/сут.

В медицине соли кобальта в составе витаминно-минеральных комплексов используются для лечения и профилактики различных заболеваний. Витамин В₁₂ (цианокобаламин), содержащий кобальт, — один из широко распространенных витаминов, применяемых в медицинских целях.

Хлорид кобальта в виде 20 %-ного раствора используется при лечении гипертонической болезни. Радиоактивные изотопы кобальта (⁶⁰Co) применяются в радиоизотопной диагностике и для лучевой терапии.

Йод (I) обладает высокой физиологической активностью и является обязательным структурным компонентом тиреотропного гормона и тиреоидных гормонов щитовидной железы.

Основные функции йода в организме: участие в регуляции скорости биохимических реакций; участие в регуляции обмена энергии, температуры тела; участие в регуляции белкового, жирового, водно-электролитного обмена; участие в регуляции обмена некоторых витаминов; участие в регуляции деления и дифференциации клеток, процессов роста и развития организма, в том числе нервно-психического; индукция повышения потребления кислорода тканями.

Йод является жизненно-важным элементом, не генотоксическим. Считается, что оптимальная скорость поступления йода в организм составляет 100—150 мкг/сут. Дефицит йода может развиваться при поступлении этого элемента в организм в количестве менее чем 10 мкг/сут, а порог токсичности равен 5 мг/сут.

В норме в организме человека содержится 15—25 мг йода, причем половина этого количества находится в щитовидной железе, где его концентрация составляет 1000—12000 мкг/г, тогда как в печени — 0,2 мкг/г, в яичниках, легких — 0,07 мкг/г, в почках — 0,04 мкг/г, в лимфоузлах — 0,03 мкг/г, в мозге, семенниках и мышцах — 0,02 мкг/г. Норма содержания йода в волосах человека составляет около 4 мкг/г. Вероятно, йод накапливается также в слизистой оболочке желудка, слюнных и молочных железах во время лактации.

Основными источниками йода для организма человека являются морепродукты, а также применяемые в пищевой промышленности йодофоры и йодированная соль. Содержание йода в пищевых продуктах и питьевой воде значительно различается. Количество йода в фруктах и овощах зависит от состава почвы и удобрений, а также от того, какую обработку прошли эти продукты. Наиболее богаты йодом такие

морепродукты, как треска, красные и бурые водоросли, пикша, палтус, сельдь, сардины, креветки. Всасывается йод преимущественно в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта. Прием натуральных продуктов не вызывает побочных эффектов даже при избыточном содержании в них йода. Из организма йод выводится преимущественно через почки.

В медицинских целях йод используется в лекарственных препаратах, применяемых, в частности, при заболеваниях щитовидной железы. Радиоактивный йод применяется для диагностики заболеваний щитовидной железы. Некоторые препараты йода служат в качестве рентгеноконтрастных веществ при исследовании сосудов и сердца («Иодамид»), матки и фаллопиевых труб («Иодолипол»), печени и желчного пузыря («Билигност»). Йод используют в гинекологической практике для профилактики и лечения инфекционных заболеваний как средство для местного применения.

Марганец (Mn) относится к важнейшим микроэлементам и является компонентом множества ферментов, выполняя в организме многочисленные функции: участвует в синтезе и обмене нейромедиаторов в нервной системе, препятствует свободно-радикальному окислению, обеспечивает стабильность структуры клеточных мембран; обеспечивает нормальное функционирование мышечной ткани; участвует в обмене гормонов щитовидной железы (тироксин); обеспечивает развитие соединительной ткани, хрящей и костей; усиливает гипогликемический эффект инсулина; повышает гликолитическую активность; повышает интенсивность утилизации жиров; снижает уровень липидов в организме; противодействует жировой дегенерации печени; участвует в регуляции обмена витаминов С, Е, группы В, холина, меди; участвует в обеспечении полноценной репродуктивной функции; необходим для нормального роста и развития организма.

В организме марганец образует металлокомплексы с белками, нуклеиновыми кислотами, АТР, АДФ, отдельными аминокислотами. Марганец входит в состав металлоферментов — аргиназы, холинэстеразы, фосфоглюкомутазы, пируваткарбоксилазы.

Среднесуточная потребность человека в марганце составляет 2—5 мг. Биодоступность его невысока: всего 3—5 %. Оптимальная скорость поступления марганца в организм — 3—5 мг/сут; уровень, приводящий к дефициту, и порог токсичности оцениваются в 1 и 40 мг/сут соответственно.

Марганец является жизненно необходимым элементом для человека и животных. Его соединения поступают в организм в основном с пищей. Много марганца содержится в ржаном хлебе, пшеничных и рисовых отрубях, сое, горохе, картофеле, свекле, помидорах, чернике и в некоторых лекарственных растениях (багульнике, вахте трехлистной, лапчатке, эвкалипте).

Всасывание марганца происходит в организме на всем протяжении тонкого кишечника. Марганец быстро покидает кровяное русло и в тканях присутствует главным образом в митохондриях клеток

(«энергетических станциях» клетки, в которых вырабатывается энергия). В повышенных количествах он присутствует в печени, трубчатых костях, поджелудочной железе, почках. Выводится марганец преимущественно с калом, потом и мочой.

В медицинской практике в качестве антисептического средства широко применяют перманганат калия — в виде водных растворов для полосканий, спринцеваний, смазывания язвенных и ожоговых поверхностей, промываний мочевого пузыря и мочевыводящих путей.

В последние годы органические соединения марганца используются в минерально-витаминных комплексах, биологически активных добавках, для лечения и профилактики различных заболеваний (например, в назальных спреях при лечении аллергического ринита). Радиоактивные изотопы марганца применяют в исследовательских целях.

Цинк (Zn) является кофактором большой группы ферментов, участвующих в белковом и других видах обмена, поэтому он необходим для нормального протекания многих биохимических процессов. Этот элемент необходим для синтеза белков, в том числе коллагена, и формирования костей; принимает участие в процессах деления и дифференциации клеток, формировании Т-клеточного иммунитета, функционировании десятков ферментов, инсулина поджелудочной железы, антиоксидантного фермента — супероксида дисмутаза, полового гормона дигидрокортикостерона; играет важнейшую роль в процессах секреции сальных желез, регенерации кожи, роста волос и ногтей, а также при заживлении ран, поскольку участвует в синтезе белков, способствует всасыванию витамина Е и поддержанию нормальной концентрации этого витамина в крови. Немаловажную роль он играет в метаболизме алкоголя. Недостаток цинка может повышать предрасположенность к алкоголизму (особенно у детей и подростков). Цинк участвует в кроветворении, укрепляет иммунную систему организма.

Оптимальная скорость поступления цинка в организм 10—15 мг/сут. Дефицит цинка может развиваться при недостаточном поступлении этого элемента в организм (1 мг/сут и менее), а порог токсичности составляет 600 мг/сут.

В организме взрослого человека содержится 1,5—3 г цинка, который можно обнаружить во всех органах и тканях, но наибольшее его количество содержится в предстательной железе, сперме, коже, волосах, мышечной ткани, клетках крови.

В организм цинк попадает с пищей. Особенно много цинка содержится в говядине, печени, морских продуктах (устрицах, моллюсках, сельди), пшеничных зародышах, рисовых отрубях, овсяной муке, моркови, горохе, луке, шпинате и орехах.

Для лучшего усвоения организмом цинка необходимы витамины А и В₆, а препятствуют его усвоению медь, марганец, железо и кальций (в больших дозах). Кадмий способен вытеснять цинк из организма.

В медицине цинк применяют в радиоизотопной диагностике, в том числе в качестве метки для цинксодержащих ферментов. Сульфат цинка

используют при определении свертываемости крови. В последние годы соединения цинка (глюконат, аспарагинат, пиколинат) стали широко применяться в дерматологии, эндокринологии, при лечении иммунодефицитных состояний.

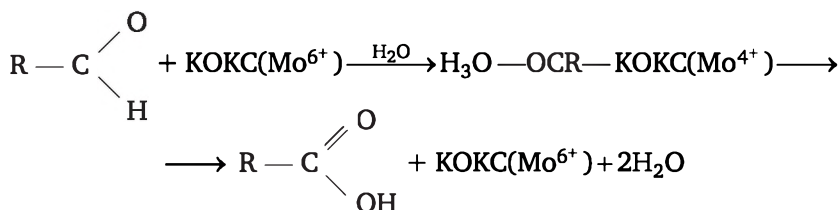
Хром (Cr) — жизненно важный микроэлемент, являющийся постоянной составной частью клеток всех органов и тканей. В организме хром участвует в регуляции синтеза жиров и обмена углеводов, способствует превращению избыточного количества углеводов в жиры; входит в состав низкомолекулярного органического комплекса — фактора толерантности к глюкозе, обеспечивающего поддержание нормального уровня глюкозы в крови; вместе с инсулином действует как регулятор уровня сахара в крови, обеспечивает нормальную активность инсулина; способствует структурной целостности молекул нуклеиновых кислот; участвует в регуляции работы сердечной мышцы и функционировании кровеносных сосудов; способствует выделению из организма токсинов, солей тяжелых металлов, радионуклидов.

Оптимальная скорость поступления хрома в организм 50—200 мкг/сут. Дефицит хрома может развиваться при недостаточном поступлении этого элемента (менее 20 мкг/сут). Потребность человеческого организма в хrome составляет 50—200 мкг/сут. Биодоступность его из неорганических соединений в желудочно-кишечном тракте невысока: всего 0,5—1 %, однако она возрастает до 20—25 % при поступлении хрома в виде комплексных соединений. Шестивалентный хром усваивается в 3—5 раз лучше, чем четырехвалентный. До 70 % поступившего в организм хрома оседает в легких.

Естественным источником хрома для человека являются растения. Он содержится во многих овощах, ягодах и фруктах, в рыбе, креветках, крабах, печени и черном перце, а также в некоторых лекарственных растениях.

В медицине отдельные изотопы хрома используются в радиоизотопной диагностике. Пиколинат и аспарагинат хрома применяют в качестве биологически активной добавки к пище, а также как компонент витаминно-минеральных комплексов.

Молибден (Mo). Физиологическое значение молибдена для организма определяется его влиянием на активность фермента ксантиноксидазы (КОКС), представляющего собой молибденсодержащий фермент млекопитающих. Он может катализировать окисление ксантина, других пуринов и альдегидов. В ходе ферментативной реакции Mo^{6+} переходит в Mo^{5+} , а потом в Mo^{4+} :



Недостаток этого микроэлемента в организме сопровождается уменьшением содержания КОКС в тканях.

Молибден входит в состав ряда ферментов (альдегидоксидазы, сульфитоксидазы, ксантинооксидазы и др.), выполняющих важные физиологические функции, в частности, регуляцию обмена мочевой кислоты.

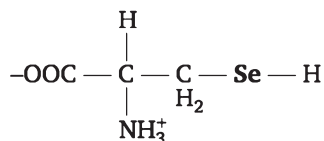
За сутки в организм взрослого человека вместе с пищей поступает 75—250 мкг молибдена, более половины которого в виде растворимых соединений всасывается в кровь из желудочно-кишечного тракта. Затем около 80 % поступившего в кровь молибдена связывается с белками (в первую очередь, с альбуминами) и транспортируется по всему организму. Кроме этого растворимые соединения молибдена абсорбируются из легких и поступают в кровь из мест парентерального введения.

В организме этот микроэлемент накапливается в печени, а в крови распределяется равномерно между форменными элементами и плазмой. Накопления молибдена в организме млекопитающих не происходит, его растворимые соединения выводятся из организма с мочой и калом.

В медицине применяют радиоизотопы молибдена; изучается эффективность тетрамолибдата аммония в терапии новообразований головного мозга, а также при мужском бесплодии.

Селен (Se) является элементом, выполняющим многочисленные защитные функции в организме, усиливает его иммунную защиту, способствует увеличению продолжительности жизни. Он является основным компонентом фермента глутатионпероксидазы, который защищает организм от вредных веществ, образующихся в процессе распада токсинов. Селен участвует как в первой фазе биохимической адаптации (окисление чужеродных веществ с образованием органических оксидов и пероксидов), так и во второй (связывание и выведение активных метаболитов).

В комплексе с какой-либо аминокислотой он входит в состав простетических групп нескольких ферментов, в частности, глутатионпероксидазы, которая вместе с пептидом глутатионом защищает клетки от разрушительного действия пероксид водорода. Активный центр глутатионпероксидазы содержит остаток необычной аминокислоты — селеноцистеина, в котором атом серы цистеина заменен на атом селена:



Оптимальной скоростью поступления селена в организм считается 20—70 мкг/сут. Дефицит селена в организме развивается при поступлении этого микроэлемента в количестве менее 5 мкг/сут. Суточная потребность организма человека составляет 20—100 мкг.

Естественным источником селена являются пищевые продукты. Высоко содержание селена в чесноке, свином сале, пшеничных отрубях и белых грибах.

Всасывание селена происходит в дистальном отделе тонкого кишечника, где из растворимых селенсодержащих соединений образуются соединения Se с метионином и цистеином. Накапливается селен в почках и печени, костном мозге, сердечной мышце, поджелудочной железе, легких, коже и волосах.

Глава 11

МЕТАБОЛИЗМ И БИОЭНЕРГЕТИКА

Метаболизм — биохимические превращения веществ, поступающих с пищей, построение из них тканей организма. Метаболизм включает также распад. В основе метаболизма лежит высокоорганизованная и целенаправленная клеточная активность. Интенсивность и направленность метаболизма обеспечивается регуляцией химического синтеза и химического распада, активностью ферментов, а также изменением проницаемости биологических мембран.

Различают две тесно взаимосвязанные стороны обмена веществ и энергии: катаболизм и анаболизм.

11.1. Энергетическая взаимосвязь анаболизма и катаболизма

Катаболические превращения (от греч. *katabole* — сбрасывание, разрушение) направлены на расщепление сложных молекул (как поступивших с пищей, так и уже входящих в состав клеток) до простых компонентов (на конечных стадиях — преимущественно до диоксида углерода и воды). Катаболизм — это путь от сложного в простому, окислительные, экзергонические процессы, сопровождающиеся понижением энергии Гиббса (ΔG). Эта энергия запасается и идет на обеспечение реакций анаболических путей.

Анаболические превращения (от греч. *anabole* — подъем) направлены на образование и обновление структурно-функциональных компонентов клетки, т.е. на синтез сложных биомолекул (белков, нуклеиновых кислот, коферментов, гормонов и др.) из более простых. Анаболические пути — это восстановительные, эндергонические процессы, протекающие с увеличением энергии Гиббса.

Анаболические процессы протекают за счет энергии, заключенной в химических связях молекул специфической группы соединений (макроэтов, в том числе АТФ и др.), в которых аккумулируется энергия, выделяемая в катаболических процессах. Выигрыш в энергии Гиббса используется для смещения равновесия в сопряженных термодинамически невыгодных биохимических процессах, например в синтезе биополимеров. АТФ является сопрягающим энергетическим звеном обеих сторон метаболизма — катаболизма и анаболизма.

Необходимо подчеркнуть, что каждый из этих процессов (катаболизм и анаболизм) состоит из двух одновременно протекающих и взаимосвязанных процессов (рис. 11.1):

- первый (промежуточный метаболизм) — последовательность ферментативных реакций распада или синтеза, промежуточные продукты которых носят название метаболитов;
- второй (энергетическое сопряжение) — превращения энергии, сопутствующие каждой реакции метаболизма, которая либо запасается в форме энергии фосфатных связей, либо расходуется при распаде этих связей.

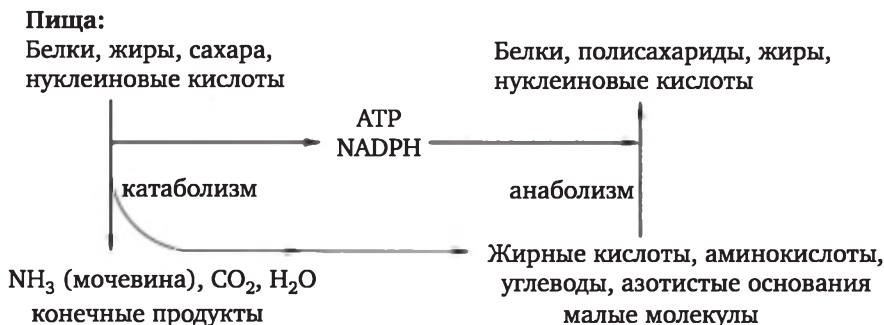


Рис. 11.1. Схема взаимосвязи анаболизма и катаболизма

Процессы катаболизма и анаболизма можно разбить на три основные стадии (рис. 11.2). Здесь приводится существенно упрощенная схема этих процессов. Стрелками обозначены основные пути метаболизма: жирные стрелки — катаболические пути, тонкие штриховые — анаболические.

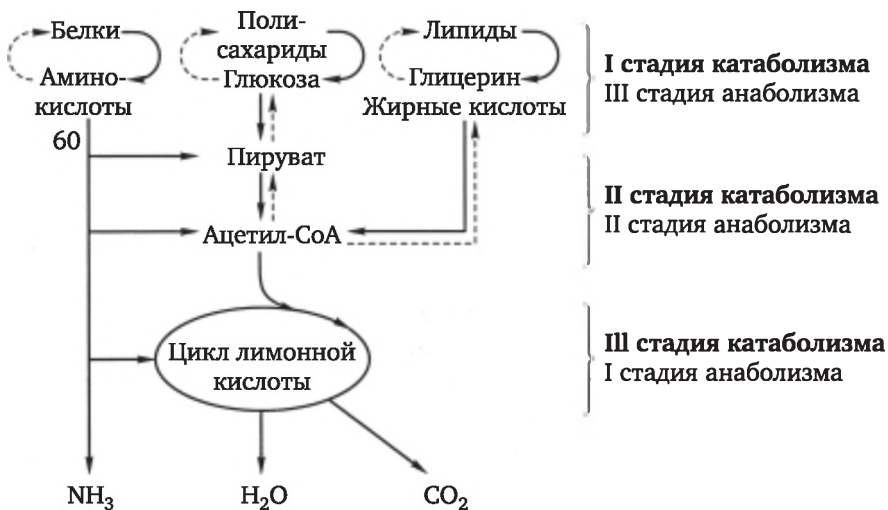


Рис. 11.2. Три стадии метаболизма

Исходными веществами, или «строительными блоками», для анаболизма служат соединения, поставляемые третьей стадией катаболизма. Таким образом, третья стадия катаболизма является первой (исходной) стадией анаболизма.

Из многочисленных метаболитов здесь представлены некоторые наиболее важные представители — пируват, ацетил-СоА и глицерин. Эти соединения являются связующим звеном между метаболизмом белков, углеводов (полисахаридов) и липидов.

Катаболические и анаболические пути не совпадают между собой как по месту действия, так и по типу химических превращений. Однако они, как уже отмечалось, неразрывно связаны между собой промежуточными метаболитами, т.е. промежуточные метаболиты распределяются в организме и направляются на синтез (анаболизм), а также и в процессы распада (катаболизм). Центральную роль в этом распределении играет цикл лимонной кислоты. Как показано на рис. 11.2, промежуточные метаболиты используются и в качестве «строительных блоков» для синтеза необходимых биомолекул (пунктирная стрелка), и в катаболических процессах с целью получения энергии для жизнедеятельности организма (сплошные стрелки). Таким образом, этот циклический путь играет как катаболическую, так и анаболическую роль и называется *центральным* или *амфиболическим* (от греческого *амфи* — оба).

При экспериментальном исследовании метаболического пути, *во-первых*, идентифицируют реагирующие компоненты, выясняют стехиометрию и механизм для каждой из последовательных стадий процесса. Заключительным этапом такого исследования является воспроизведение ферментативных реакций в пробирке. *Во-вторых*, идентифицируют генетические, аллостерические и гормональные механизмы, при помощи которых осуществляется регуляция скорости данного метаболического процесса.

Метаболические пути в живом организме изучают с помощью различных методов: определением вводимых в организм и выводимых из него веществ (в норме, а также в условиях стресса и патологии), перфузией отдельных органов, методами переживающих (живых) срезов клеток и тканей. Очень перспективными являются методы, основанные на изучении мутантных организмов с генетическими дефектами, а также меченых атомов.

11.2. АТФ и NADPH — переносчики энергии от катаболических реакций к анаболическим

Большие молекулы, такие как глюкоза, обладают большим запасом энергии. Когда молекула глюкозы окисляется молекулярным кислородом с образованием шести молекул CO_2 и шести молекул H_2O , высвобождается свободная энергия, которую клетка использует для выполнения работы. Эта свободная энергия запасается в клетке в форме химической энергии (энергии фосфатных связей) *аденозинтрифосфата* (АТФ). Образующиеся молекулы АТФ могут диффундировать в те участки клетки, где необходима энергия, поэтому АТФ можно назвать перемещающимся источником энергии.

Синтез АТФ обеспечивают метаболиты, способные за счет энергетического сопряжения обеспечить энергией субстратное фосфорилирование (синтез АТФ из ADP и неорганического фосфата — P_i). К таким метаболитам с высоким потенциалом переноса групп принадлежат *фосфоенолпируват* и *1,3-дифосфоглицерат*. Оба соединения являются промежуточными продуктами *гликолиза* (на рис. 11.2 — это вещества, образующиеся в промежуточных стадиях превращения глюкозы в пируват). Процесс гликолиза будет рассмотрен подробно в последующих разделах. Также «богаты» энергией ацильные производные кофермента А, такие как *сукцинил-СоА*. Гидролиз сукцинил-СоА до сукцината сопряжен в цикле лимонной кислоты с синтезом GTP (подробнее см. в главе, посвященной циклу лимонной кислоты). Фосфатной связью, богатой энергией, обладает также *креатинфосфат*, с помощью которого в мышце при необходимости может регенерироваться АТФ. Такие экзоэргические процессы катаболизма косвенным образом используются для синтеза АТФ.

Перенос электронов — другая форма передачи химической энергии от катаболических окислительно-восстановительных процессов к тем реакциям анаболизма, для осуществления которых необходимо потребление энергии. Наиболее важным из соединений, способных к такому переносу, является *никотинамидаденин-динуклеотидфосфат* (NADPH).

Обобщая, можно сказать, что в катаболических путях свободная энергия запасается в форме высокоэнергетических фосфатов (в виде АТФ) или восстановительных эквивалентов в виде NADPH.

Энергия, выделяемая АТФ в катаболических процессах, достаточно велика. Изменение энергии Гиббса ΔG гидролиза фосфоангидридных связей в АТФ при pH 7 в стандартных условиях составляет от -30 до -35 кДж/моль. В клетке (физиологические условия) действительное изменение свободной энергии (ΔG) при гидролизе АТФ еще выше. Предположительно в физиологических условиях энергия Гиббса гидролиза АТФ до ADP и неорганического фосфата составляет примерно -50 кДж/моль. Для сравнения можно сказать, что при расщеплении сложноэфирной связи между рибозой и фосфатом высвобождается только -9 кДж/моль.

Следует заметить, что хотя АТФ является источником химической энергии во всех нормально функционирующих клетках, это вещество не следует рассматривать как «резервуар» энергии. Внутриклеточная концентрация АТФ весьма мала, изменчива и быстро расходуется. Действительные «резервуары» энергии (фосфагены), такие как креатинфосфат, существуют в самой клетке. Эти «резервуары» аккумулируют высокоэнергетические фосфатные связи, когда концентрация АТФ высока, и отдают их, когда концентрация АТФ снижается. Аденилнуклеотиды, находящиеся в клетке, обеспечивают ее высокочувствительным механизмом, осуществляющим регуляцию энергопотребляющих и энергопроизводящих процессов.

11.3. Термодинамические основы биохимии

Процессы жизнедеятельности в биосфере в значительной мере обусловлены накоплением солнечной энергии в биогенных веществах — белках, жирах, углеводах и последующими превращениями этих веществ с выделением энергии в живых организмах.

Особенно отчетливо понимание взаимосвязи химических превращений и энергетических процессов в организме пришло после работы А. Лавуазье и П. Лапласа, которые прямыми калориметрическими измерениями показали, что энергия, выделяемая в процессе жизнедеятельности, определяется окислением продуктов питания кислородом воздуха, вдыхаемым животными. С развитием в XIX—XX вв. термодинамики — науки о взаимопревращениях теплоты и энергии — стало возможно количественно рассчитывать превращение энергии в биохимических реакциях и предсказывать их направление.

Термодинамический подход основан на ряде строгих понятий, таких как «термодинамическая система», «состояние системы», «внутренняя энергия системы», «функция состояния системы».

Термодинамической системой называется любой объект природы, состоящий из достаточно большого числа молекул (структурных единиц) и отделенный от других объектов природы (окружающей среды) реальной или воображаемой границей раздела.

Под *состоянием системы* понимают совокупность свойств системы, позволяющих определить систему с точки зрения термодинамики. Состояние системы называется *равновесным*, если все ее свойства остаются постоянными в течение сколь угодно большого промежутка времени и в системе отсутствуют потоки вещества и энергии. Если свойства системы постоянны во времени, но имеются потоки вещества и энергии, состояние называется *стационарным*. Если свойства системы меняются во времени, то состояние называется *переходным*.

Количественно состояния различают с помощью *термодинамических параметров* системы. Важнейшими термодинамическими параметрами (переменными) являются давление (p), температура (T), объем системы (V) или общая масса системы (m), массы химических веществ (компонентов) m_k , из которых состоит система, или концентрация этих веществ (C_k).

Аналогичные параметры используются в медицине для определения состояния здоровья человека: артериальное давление, температура, масса, состав биологических жидкостей.

Переход системы из одного состояния в другое называется *процессом*. В результате процесса состояние системы и ее термодинамические параметры изменяются, что количественно характеризуется разностью термодинамических параметров в начальном и конечном состояниях, между которыми осуществляется переход в рассматриваемом процессе.

В термодинамике для определения изменения энергии системы в тех или иных условиях применяют различные энергетические характери-

стики, зависящие только от термодинамических параметров и отражающие состояние системы. Такие характеристики называют *термодинамическими функциями состояния*. Важной особенностью функций состояния является их независимость от способа достижения данного состояния.

Типы термодинамических систем

Основными характеристиками системы являются масса (m) и внутренняя энергия (E). Масса вещества системы определяется совокупностью масс молекул, из которых она состоит. Внутренняя энергия характеризует общий запас энергии системы и представляет собой сумму энергий теплового движения молекул и энергии взаимодействия между ними.

По характеру обмена веществом и энергией с окружающей средой системы подразделяют на *изолированные* (рис. 11.3, а), *закрытые* (рис. 11.3, б) и *открытые* (рис. 11.3, в). В изолированной системе отсутствует обмен с окружающей средой массой и энергией ($\Delta m = 0$; $\Delta E = 0$); в закрытой системе происходит обмен энергией ($\Delta E \neq 0$), но отсутствует обмен массой ($\Delta m = 0$) с окружающей средой; в открытой системе происходит обмен с окружающей средой как массой ($\Delta m \neq 0$), так и энергией ($\Delta E \neq 0$). Работа (W) и теплота (Q) — две возможные формы передачи энергии от системы к окружающей среде, и наоборот.

Биологические системы, живые организмы можно рассматривать как *открытые термодинамические системы*, поскольку в живой клетке непрерывно протекают химические реакции, в которых происходит поступление реагирующих веществ извне, а продукты реакций выводятся. Такой подход к живым организмам позволяет исследовать процессы их развития и жизнедеятельности на основе законов термодинамики неравновесных процессов, физической и химической кинетики.

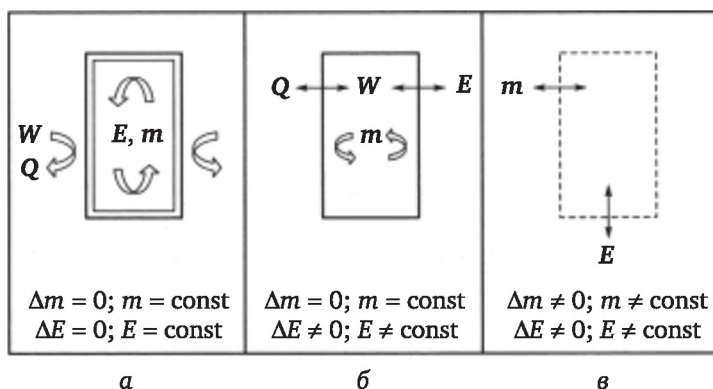


Рис. 11.3. Основные типы термодинамических систем:

а — изолированная; б — закрытая; в — открытая

В зависимости от агрегатного состояния вещества, из которого состоят системы, они подразделяются на гомогенные и гетероген-

ные. В *гомогенной* системе отсутствуют резкие изменения физических и химических свойств по всему объему системы. *Гетерогенная* система состоит из двух или более гомогенных частей. Цельная кровь является примером гетерогенной системы, так как представляет собой плазму с клетками — эритроцитами и лейкоцитами.

Первый закон термодинамики

Первый закон термодинамики представляет собой строгую количественную основу для анализа энергетики различных систем.

Приращение внутренней энергии системы (ΔE) в некотором процессе равно теплоте (Q), полученной системой, + работа (W), совершенная над системой в этом процессе:

$$dE = dQ + dW; \Delta E = Q + W, \quad (11.1)$$

где Q — теплота, подведенная к системе; W — работа, совершенная над системой, $\Delta E = E_2 - E_1$.

В биологических системах теплота обычно отдается системой во внешнюю среду, а работа совершается системой за счет убыли внутренней энергии. Убыль внутренней энергии системы происходит за счет теплоты Q , отданной системой, и работы W , совершенной системой. Поэтому математическую запись первого закона термодинамики в биологических системах удобно представить в виде

$$-\Delta E = -Q - W.$$

Кроме того, строго говоря, для открытых систем надо учитывать, что внутренняя энергия — величина экстенсивная и зависит от массы системы. Поэтому первый закон термодинамики для открытых систем записывается в виде

$$\Delta E = Q + W + E_m, \quad (11.2)$$

где E_m — энергия, связанная с изменением массы системы.

Первый закон термодинамики вытекает из более общего закона сохранения энергии и является количественным выражением этого важнейшего закона природы.

В зависимости от условий протекания процесса в системе используют различные функции состояния. При этом вместо сложных систем для получения выводов о превращениях массы и энергии используют упрощенные модели. Так, например, термодинамические процессы при совершении работы поднятия человеком груза можно смоделировать с помощью цилиндра с поршнем. В цилиндре окисляется глюкоза и выделяющийся углекислый газ и вода совершают работу, поднимая поршень с грузом. Давление в системе при этом поддерживается постоянным и равным внешнему. Такие процессы, протекающие при $p = \text{const}$, называются *изобарными*.

Как известно, работа расширения, совершаемая при изобарном процессе, равна $W = -p\Delta V$, где ΔV — приращение объема системы, равное разности объемов в начальном и конечном состояниях ($V_2 - V_1$).

Подставляя данное выражение для работы расширения в уравнение (11.1) и проведя несложные преобразования, получаем

$$Q_p = \Delta E + p\Delta V = (E_2 + pV_2) - (E_1 + pV_1), \quad (11.3)$$

где Q_p — теплота изобарного процесса; 1, 2 — индексы, относящиеся к началу и концу процесса соответственно.

Величина $(E + pV)$ определена как функция состояния системы — *энтальпия* (H).

Тогда уравнение (11.3) можно записать в виде

$$Q_p = \Delta H. \quad (11.4)$$

Из выражения (11.3) следует, что *энтальпия — функция состояния, приращение которой равно теплоте, полученной системой в изобарном процессе.*

Измерение приращения энтальпии в некотором процессе может быть осуществлено при проведении этого процесса в калориметре при постоянном давлении.

В случае, когда изменение состояния системы происходит при постоянном объеме, процесс называют *изохорным*. Изменение объема равно нулю ($\Delta V = 0$), и соответственно работа расширения $W = 0$. Тогда из 11.1 следует:

$$Q_v = \Delta E.$$

Таким образом, внутренняя энергия — функция состояния, приращение которой равно теплоте (Q_v), полученной системой в изохорном процессе.

Следовательно, изменение внутренней энергии в некотором процессе может быть измерено при проведении его в калориметре при постоянном объеме:

$$\Delta H = \Delta E.$$

Второй закон термодинамики

Организм совершает работу, затрачивая внутреннюю энергию, запасенную в виде энергии химического взаимодействия составляющих его веществ. Наиболее общим методом экспериментального определения эффективности затрат внутренней энергии организмом являются калориметрические измерения, применяемые физиологами. Теоретические оценки затрат осуществляются на основе второго закона термодинамики. Этот закон накладывает строгие ограничения на эффективность преобразования энергии в работу и, кроме того, позволяет ввести кри-

терии возможности самопроизвольного протекания того или иного процесса. Процесс называется *самопроизвольным*, если он осуществляется без каких-либо воздействий извне.

Для формулировки второго закона термодинамики необходимо ввести понятия обратимого и необратимого процессов. *Термодинамически обратимым* процесс называется тогда, когда при переходе из начального состояния в конечное все промежуточные состояния оказываются равновесными. Соответственно процесс называется *термодинамически необратимым*, если хоть одно промежуточное состояние неравновесно.

Обратимый процесс можно осуществить лишь при достаточно медленном изменении параметров системы. Скорость изменения параметров должна быть такой, чтобы возникающие в ходе процесса отклонения от равновесия были пренебрежимо малы. Обратимые процессы являются предельным случаем реальных процессов, происходящих в природе и осуществляемых в промышленных условиях и лабораториях.

Максимальная работа W_{\max} , которая может быть получена при данной убыли внутренней энергии (ΔE) в процессе перехода из начального состояния в конечное, достигается лишь в том случае, если этот процесс обратимый. В соответствии с выражением (11.1) при этом выделяется минимальная теплота Q_{\min} :

$$Q_{\min} = \Delta E - W_{\max}. \quad (11.5)$$

Максимально достижимый коэффициент полезного действия, характеризующий эффективность затрат внутренней энергии системы, можно представить следующим образом:

$$\eta_{\max} = W_{\max} / \Delta E,$$

или, учитывая формулу (11.5),

$$\eta_{\max} = 1 - Q_{\min} / \Delta E.$$

Величину Q_{\min} определяют на основе второго закона термодинамики с помощью термодинамической функции состояния, называемой *энтропией*. Понятие *энтропия* ввел немецкий физик Клаузиус.

Энтропия представляет собой функцию состояния, приращение которой ΔS равно теплоте Q_{\min} подведенной к системе в обратимом изотермическом процессе, деленной на абсолютную температуру T , при которой осуществляется процесс:

$$\Delta S = Q_{\min} / T.$$

Из приведенного уравнения следует, что если известна теплота Q_{\min} , подводимая к системе или отводимая от нее при протекании в изотермических условиях какого-либо физического или химического процесса, можно рассчитать изменение энтропии при этом процессе. Эта

теплота может быть определена с помощью калориметрических измерений. Таким образом, изменение энтропии, так же как и двух других функций состояния системы — внутренней энергии и энтальпии, представляет собой экспериментально определяемую величину.

Физический смысл энтропии становится ясным при рассмотрении с молекулярно-кинетической точки зрения процессов, протекающих в изолированных системах. Изучение различных изолированных систем показывает, что самопроизвольные процессы всегда связаны с ростом числа микросостояний системы, названных термодинамической вероятностью w . Энтропия является мерой разупорядоченности системы и равна числу способов (микросостояний), которыми можно реализовать данное макросостояние системы при данной энергии. Австрийским физиком Больцманом понятие энтропии было определено как

$$S = k \cdot \ln w,$$

где k — постоянная Больцмана, равная $1,38 \cdot 10^{-23}$ Дж/К.

Уравнение Больцмана позволяет рассчитать энтропию системы по числу возможных ее микросостояний.

Оказывается, что в изолированной системе самопроизвольно могут идти только такие процессы, при которых энтропия увеличивается ($\Delta S > 0$); в состоянии равновесия энтропия постоянна ($\Delta S = 0$).

Для неизолированных (закрытых и открытых) систем изменение энтропии, как и изменение внутренней энергии, уже не является критерием самопроизвольности.

Как уже упоминалось ранее, биообъекты с точки зрения термодинамики всегда являются открытыми системами, в которых $p = \text{const}$; $T = \text{const}$, $x_i = \text{const}$ (x_i — содержание различных веществ), т.е. процессы протекают в изобарно-изотермических условиях.

Критерием направленности самопроизвольного процесса для открытых и закрытых систем является функция состояния системы — термодинамический потенциал, носящий название энергии Гиббса (G).

Изменение энергии Гиббса связано с термодинамическими функциями системы H и S уравнением

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

где ΔH — приращение энтальпии; ΔS — приращение энтропии; T — абсолютная температура.

В литературе по биологии величину ΔG выражают в калориях, в других областях науки более распространено выражение ее в джоулях ($1 \text{ кал} = 4,184 \text{ Дж}$).

Таким образом, второй закон термодинамики можно сформулировать следующим образом: *в изобарно-изотермических условиях в системе самопроизвольно могут осуществляться только те процессы,*

в результате которых энергия Гиббса системы уменьшается. В состоянии равновесия энергия Гиббса не изменяется:

$$\Delta G \leq 0, p, T = \text{const.} \quad (11.6)$$

Исходя из выражений (11.1) и (11.6) для первого и второго законов термодинамики следует, что

$$W_{\text{max}} \leq \Delta G, p, T = \text{const},$$

т.е. работа, совершаемая системой в изобарно-изотермических условиях, меньше или равна убыли энергии Гиббса (ΔG) этой системы.

Применительно к биологии полезная работа — это мышечное сокращение, химический синтез в клетке, преодоление осмотических и электрических сил. Приращение энергии Гиббса в ходе любого процесса — важнейший термодинамический параметр. Для химических процессов можно сформулировать следующее общее правило: *химическая реакция протекает лишь в том случае, когда $\Delta G < 0$, т.е. когда энергия Гиббса продуктов реакции меньше, чем исходных веществ.*

11.4. Прогноз направления метаболической реакции

Следствием первого закона термодинамики является закон Гесса, который гласит, что *теплота химической реакции, проводимой в изобарно-изотермических или изохорно-изотермических условиях, зависит только от вида и состояния исходных веществ и продуктов реакции и не зависит от пути ее протекания.*

Таким образом, *теплота химической реакции определяется разностью энергетических состояний продуктов и реагентов.* Поясним закон Гесса на следующем примере: диоксид углерода из углерода и кислорода можно получить двумя путями:

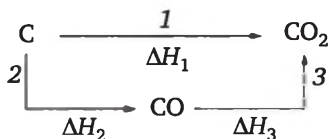
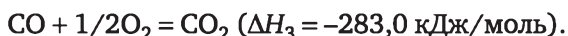
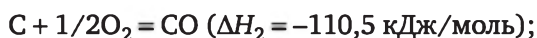


Рис. 11.4.

1-й путь (в одну стадию) — прямым сжиганием в избытке кислорода: $\text{C} + \text{O}_2 = \text{CO}_2$; при этом $\Delta H_1 = -393,5$ кДж/моль;

2-й путь (в две стадии) — получением сначала монооксида углерода и его последующим сжиганием:



Согласно закону Гесса $\Delta H_1 = \Delta H_2 + \Delta H_3$.

Из закона Гесса вытекают три важных следствия.

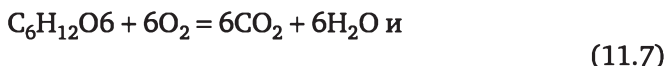
1. Энтальпия реакции ($\Delta H_{\text{р-ции}}$) равна разности энтальпий образования продуктов и реагентов (ΔH_f):

$$\Delta H_{\text{р-ции}} = \sum \Delta H_f(\text{прод.}) - \Delta H_f(\text{реаг.}).$$

Так, если уравнение реакции в общем виде записать как $aA + bB = cC + dD$, то:

$$\Delta H_{\text{р-ции}} = c\Delta H_f(C) + d\Delta H_f(D) - a\Delta H_f(A) - b\Delta H_f(B).$$

Например, окисление глюкозы в организме осуществляется по очень сложному многостадийному механизму, однако суммарный тепловой эффект всех стадий данного процесса равен теплоте сгорания глюкозы. Стандартную теплоту образования (ΔH_f^0) глюкозы можно определить, пользуясь энтальпией ее сгорания (окисления):



$$\Delta H_f^0(\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6) = 6\Delta H_f^0(\text{CO}_2) + 6\Delta H_f^0(\text{H}_2\text{O}) - 6\Delta H_f^0(\text{O}_2) - \Delta H_{\text{р-ции}}^0.$$

Стандартная энтальпия образования простых веществ равна нулю: $\Delta H_f^0(\text{O}_2) = 0$.

2. Энтальпия реакции равна разности энтальпий сгорания реагентов и продуктов:

$$\Delta H_{\text{р-ции}}^0 = \sum \Delta H_{\text{сг}}(\text{реаг.}) - \sum \Delta H_{\text{сг}}(\text{прод.})$$

3. Термохимические уравнения реакций можно складывать и вычитать, умножать и делить.

Закон Гесса применим и для определения изменения свободной энергии реакции (энергии Гиббса реакции):

$$\Delta G_{\text{р-ции}} = \sum \Delta G(\text{продуктов}) - \sum \Delta G(\text{исходных веществ}) \quad (11.8)$$

Энтальпии образования (ΔH_f^0) и энергии Гиббса образования (ΔG_f^0), определенные в стандартных условиях ($p = 101,3$ кПа, $T = 298$ К), сводятся в таблицы стандартных термодинамических величин, по которым на основе закона Гесса можно проводить биоэнергетические расчеты для большого числа биохимических реакций.

В качестве примера по уравнению (11.8) рассчитаем ΔG^0 реакции окисления глюкозы (11.5). Стандартные энергии Гиббса образования для $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$, CO_2 , H_2O равны соответственно $-917,22$; $-395,18$; $-237,19$ кДж/моль. Тогда:

$$\Delta G_{\text{р-ции}}^0 = 6(-395,18) + 6(-237,19) - (-917,22) = -2876,99 \text{ кДж/моль.}$$

В биологических системах такое большое количество энергии освобождается не сразу, а небольшими порциями. Так, полное окисление

глюкозы в организме разбито на три больших этапа: гликолиз, цикл лимонной кислоты и окислительное фосфорилирование, каждый из которых состоит из большого числа последовательных химических превращений, где изменение свободной энергии не превышает 40 кДж. На этапе гликолиза, например, наибольшее выделение свободной энергии характерно для реакций гидролиза АТФ ($-30,54$ кДж/моль), гидролиз других веществ, протекающий в данной последовательности химических превращений, приводит к еще меньшему высвобождению энергии (например, глюкозо-6-фосфат + $H_2O \rightarrow$ глюкоза + фосфат). Другие типы реакций, такие как измеризация (например, фруктозо-6-фосфат \rightarrow глюкозо-6-фосфат или фруктозо-6-фосфат \rightarrow глюкозо-6-фосфат), сопровождаются еще более низкими изменениями свободной энергии. Данные по приращению стандартной энергии Гиббса ΔG^0 (кДж/моль) для некоторых реакций ($p = 101,3$ кПа, $T = 298$ К), приведенные ниже, подтверждают это.

АТФ + $H_2O \rightarrow$ АДФ + фосфат.....	-30,54
Глюкозо-6-фосфат + $H_2O \rightarrow$ Глюкоза + Фосфат.....	-13,81
Глюкозо-1-фосфат \rightarrow Глюкозо-6-фосфат.....	-8,42
Фруктозо-6-фосфат \rightarrow Глюкозо-6-фосфат.....	-1,94
Малат \rightarrow Фумарат + H_2O	+3,14
Глюкоза + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$	-2876,99
Лактоза + $H_2O \rightarrow$ Глюкоза + Галактоза.....	-15,90
Пальмитиновая кислота + $23O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$	-9782,19
$CH_3-CO-O-CO-CH_3$ (уксусный ангидрид) + $H_2O \rightarrow 2CH_3COOH$	-91,21

Законы термодинамики позволяют решать важные задачи при исследовании процессов метаболизма в биологических системах. В частности, по известным концентрациям питательных веществ и продуктов их превращения в тканях организма можно не только рассчитывать энергетику, но и предсказывать преимущественное направление биохимических превращений. Такие расчеты и предсказания очень важны для разработки методов медицинской диагностики. При этом удобно пользоваться не самими первым и вторым законами термодинамики, а их следствиями, выведенными для условия химического равновесия. Такими следствиями являются уравнение изотермы химической реакции и закон действующих масс для химического равновесия.

Выражение $\Delta G_{p-ции} = -RT \ln(K_C/P_C)$ является уравнением *изотермы реакции*, в котором (K_C/P_C) — отношение константы равновесия реакции к стехиометрическому произведению концентраций в данный момент времени для этой реакции, определяющееся в соответствии с законом действующих масс. Для реакции общего вида $aA + bB = dD + fF$ стехиометрическое произведение концентраций:

$$P_C = \frac{C_D^d C_F^f}{C_A^a C_B^b},$$

где C_A, C_B, C_D, C_F — текущие концентрации реагентов и продуктов X_i , в степенях, соответствующих их стехиометрическим коэффициентам.

Константа равновесия $K_C = \frac{[D]^d[F]^f}{[A]^a[B]^b}$, где $[A], [B], [D], [F]$ — равновесные концентрации реагентов и продуктов X_i , в степенях, соответствующих их стехиометрическим коэффициентам.

При $C_{x_i} \rightarrow [X_i]$ система стремится к равновесию, при котором $K_C/\Pi_C = 1$, а $\Delta G^0_{p-ции} = -RT \ln K_C$.

Из этого уравнения следует, что если известна величина константы равновесия для химической реакции при любой заданной температуре, то для этой реакции можно вычислить изменение стандартной энергии Гиббса ΔG^0 .

В сущности, изменение стандартной энергии Гиббса любой химической реакции — это один из возможных способов математического выражения ее константы равновесия.

При термодинамическом анализе биохимических процессов важны следующие условия:

1) если исходным веществом или продуктом является вода, то ее концентрация принимается равной единице, хотя в разбавленных водных растворах ее молярная концентрация существенно выше (около 55,5 М);

2) в биохимической энергетике в качестве стандартного состояния принимается состояние при pH 7,0, а не состояние, при котором активность ионов водорода равна 1,0.

Энергия Гиббса G системы может быть рассчитана как сумма энергий Гиббса G_i , составляющих систему веществ (компонентов системы): $G = \sum G_i$.

Анализ таких систем необходимо проводить с учетом уравнения первого закона термодинамики для открытых систем (11.2), в котором последнее слагаемое характеризует изменение внутренней энергии системы в результате изменения массы, так как химическую реакцию можно рассматривать как добавление в систему продуктов реакции и удаление исходных веществ. Для расчетов энергии Гиббса систем используется понятие *химического потенциала вещества*.

Химическим потенциалом вещества X в данной системе называется величина, которая определяется энергией Гиббса, приходящейся на 1 моль этого вещества при заданных условиях:

$$\mu(X) = G(X)/n(X).$$

Если система состоит из нескольких компонентов, то химический потенциал для каждого вещества можно представить как

$$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln C_i,$$

где C_i — концентрация i -го вещества; R — универсальная газовая постоянная; μ_i — химический потенциал; μ_i^0 — стандартный химический

потенциал, численно равный химическому потенциалу в стандартных условиях ($T = 298 \text{ K}$, концентрация вещества = 1 M).

В биообъекте (т.е. в изобарно-изотермических условиях $p, T = \text{const}$) изменение энергии Гиббса в процессе перехода из одного состояния в другое

$$\Delta G = \sum_i \mu_i \Delta n_i.$$

Энергия Гиббса каждого компонента системы определится уравнением

$$G_i = \mu_i n_i,$$

где индекс i относится к i -му компоненту системы, n_i — его количество в молях.

Энергия Гиббса системы в целом составит

$$\Delta G = \sum_i \mu_i n_i.$$

11.5. Энергия Гиббса гидролиза АТФ

Универсальным переносчиком энергии для всех форм жизни является «*высокоэнергетический фосфат*». При распаде пищевых молекул неорганические фосфатные ионы превращаются в фосфорильные группы молекул — так называемые *макроэргические фосфатные органические соединения*. Эти молекулы в клетке транспортируются туда, где необходимо совершить полезную работу. Такая работа совершается за счет энергии, запасенной в химических связях и выделяющейся при обратном превращении фосфорильных остатков в неорганические фосфатные ионы.

Внутриклеточные соединения, содержащие фосфорильные остатки, подразделяются на «*низкоэнергетические*», при гидролизе которых до неорганического фосфата P_i (свободной фосфатной группы, не соединенной с органическим компонентом), $\Delta G^0 = -12$ — -9 кДж/моль , и «*высокоэнергетические*» (или макроэргические), где ΔG^0 гидролитического отщепления фосфатной группы порядка -30 кДж/моль .

Понятие *высокоэнергетический фосфат* иногда используют для описания фосфатной связи, а не соединения, содержащего ее. Главные структурные особенности высокоэнергетических фосфатов заключаются в том, что при физиологических значениях pH фосфорная кислота (H_3PO_4) находится в основном в виде смеси одно- и двухзарядных ионов и этому состоянию соответствует самый низкий уровень свободной энергии фосфата. Это означает, что равновесие для реакции гидролиза фосфоэфиров сдвинуто в сторону образования продуктов гидролиза, причем для дифосфатов (PP_i) отрицательное изменение свободной

энергии гидролиза значительно больше, чем для монофосфатов (P_i), поскольку структура пирогосфата дестабилизирована за счет электростатического отталкивания двух отрицательно заряженных фосфорильных групп.

Главными переносчиками фосфорильных групп являются *аденозил-монофосфат* (AMP), *аденозилдифосфат* (ADP) и *аденозилтрифосфат* (ATP).

Усвоение (окисление) пищи сопряжено с превращением ADP в ATP. Молекула ADP может присоединять фосфатную группу (P_i) и образовывать ATP, а в ходе сопряженных реакций, протекающих с поглощением энергии, образовавшийся ATP может расщепляться, отдавая фосфатную группу и вновь превращаясь в ADP.

ATP играет большую роль и в процессах регуляции активности ферментов путем их обратимого фосфорилирования. Ряд ферментов, называемых *протеинкиназами*, переносят остаток фосфата с ATP на соответствующий белок. В результате этого изменяется конформация белка и, как следствие, его каталитические свойства. *Фосфорилированию* подвергаются гидроксильные группы отдельных остатков серина и треонина в полипептидной цепи фермента.

Энергия, высвобождающаяся при расщеплении ATP, помимо участия в химических реакциях, обеспечивает мышечное сокращение, генерацию электрических сигналов, а также перекачку ионов и молекул против градиента их концентраций.

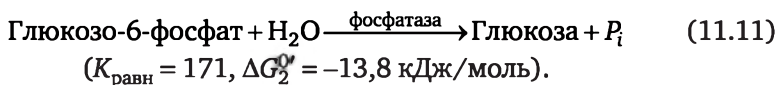
Для определения величины ΔG^0 в суммарной реакции:



можно использовать закон аддитивности (аналог закона Гесса) величин $\Delta G_i^{0'}$ ряда последовательных реакций, из которых состоит данная суммарная реакция:



$$(K_{\text{равн}} = 661; \Delta G_i^{0'} = -16,8 \text{ кДж/моль});$$



Из закона аддитивности следует, что энергия Гиббса суммарной реакции ($\Delta G_i^{0'}$) равна сумме $\Delta G_i^{0'}$ последовательных реакций (11.10) и (11.11):

$$\begin{aligned} \Delta G^{0'} &= \Delta G_1^{0'} + \Delta G_2^{0'} = -16,8 \text{ кДж/моль} + (-13,8 \text{ кДж/моль}) = \\ &= -30,6 \text{ кДж/моль}. \end{aligned}$$

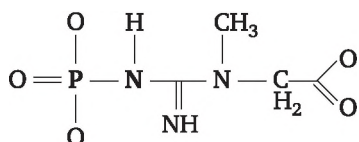
Значение величины $\Delta G_{\text{АТР}}^0$ изменяется в зависимости от pH, от концентрации ионов Mg^{2+} (так как ионы Mg^{2+} участвуют в процессах регуляции синтеза АТР), температуры. Кроме этого в реальных (физиологических) условиях живого организма концентрации АТР, АДФ и P_i существенно отличаются от 1 моля, принятого для расчета стандартной свободной энергии (ΔG^0).

При введении поправок, учитывающих физиологические условия, изменение свободной энергии (ΔG) реакции гидролиза АТР в клетке составляет приблизительно $-52,3$ кДж.

Гидролиз некоторых фосфорилированных соединений, в частности двух промежуточных продуктов гликолиза — фосфоенолпирувата и 1,3-дифосфоглицерата, характеризуется более отрицательным значением ΔG^0 , чем реакция гидролиза АТР.

В клетке не происходит прямого переноса фосфатных групп от какого-либо высокоэнергетического соединения (например, 1,3-дифосфоглицерата) к низкоэнергетическому акцептору фосфата (например, глицерину). Практически все реакции переноса фосфатных групп в клетке протекают с участием системы АТР — АДФ.

Высокоэнергетические фосфорилированные соединения, играющие роль «аккумуляторов» энергии, часто называют *фосфагенами*. Один из наиболее важных фосфагенов — *креатинфосфат* — представляет собой производное гуанидина, в молекуле которого атомы фосфора непосредственно связаны с азотом:



Креатинфосфат образуется из креатина (метилгуанидоуксусной кислоты) в результате переноса фосфатной группы от АТР, катализируемого *креатинфосфокиназой*. Реакция обратима, и равновесие смещено в сторону образования АТР:



Таким образом, креатинфосфат, играющий роль источника фосфатных групп, образуется путем переноса этих групп от АТР к креатину. Единственным путем дефосфорилирования креатинфосфата является обратная реакция.

Креатинфосфат играет важную роль в аккумуляровании энергии для скелетных мышц, он также содержится в гладких мышцах и в нервных клетках. Небольшие его количества присутствуют в почках и печени.

Глава 12

МЕТАБОЛИЗМ УГЛЕВОДОВ

Существуют три пути превращения поступающей в организм глюкозы: 1) немедленное включение в энергетический метаболизм; 2) превращение в гликоген для долгосрочного хранения; 3) превращение в липиды. Первый путь представляет собой хорошо известный гликолитический путь Эмбдена — Мейергофа с переходом в цикл Кребса.

Суммарную реакцию окисления глюкозы можно описать уравнением:



В клетках окисление глюкозы протекает многостадийно и сопряжено с синтезом АТФ из АДФ и P_i . Окисление глюкозы до CO_2 и H_2O в организме можно разделить на три этапа (см. параграф 11.1):

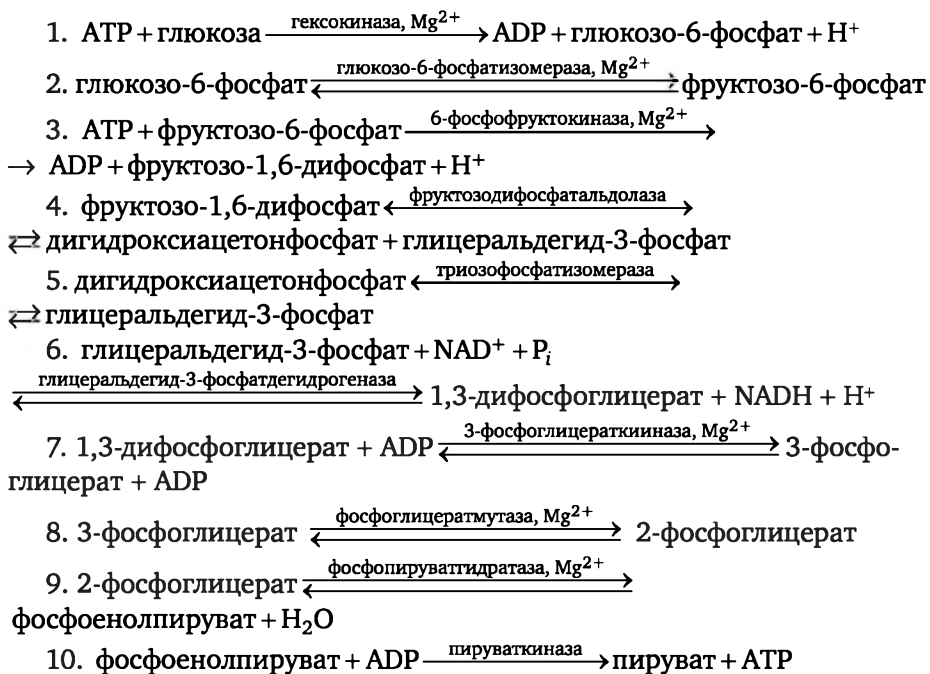
1) *гликолиз* — процесс расщепления глюкозы на два трехуглеродных фрагмента пировиноградной кислоты — *пирувата*, протекающий в цитоплазме клетки и сопряженный с восстановлением переносчика электронов;

2) *цикл Кребса* (или цикл лимонной кислоты, или цикл трикарбоновых кислот) — совокупность реакций, в результате которых второй и третий атомы углерода пировиноградной кислоты превращаются в CO_2 с восстановлением молекул — переносчиков электронов. Таким образом, этот процесс является окислительно-восстановительным, причем молекулярный кислород в нем не участвует. Следует отметить, что цикл Кребса протекает в митохондриях;

3) *перенос электронов на O_2* , который, в свою очередь, забирая из окружающей среды водород в виде протонов, превращается в H_2O (*электронтранспортная цепь*). Эта стадия протекает во внутренней мембране митохондрий и сопровождается образованием наибольшего количества АТФ. При этом биологическое окисление не обязательно связано с участием кислорода.

12.1. Гликолиз — центральный путь катаболизма глюкозы

Первая стадия окисления глюкозы — *гликолиз* — процесс *анаэробный*, в ходе которого синтезируется две молекулы АТФ на молекулу глюкозы. Конечным продуктом первой стадии является *пируват*. Ниже представлена последовательность стадий процесса гликолиза.



Данный гликолитический путь можно представить в виде схемы (рис. 12.1), где цифрами обозначены ферменты, указанные в соответствующих стадиях окисления глюкозы. Знак \rightleftharpoons означает, что в данной сопряженной реакции синтеза АТР происходит аккумуляция энергии, выделяемой в соответствующей стадии гликолиза; знак (*2) означает, что в данной стадии превращаются на 1 моль глюкозы 2 моля соответствующих веществ.

Основные характеристики гликолиза:

- большинство реакций обратимо, за исключением трех (1, 3, 10);
- все метаболиты находятся в фосфорилированной форме;
- источником фосфатной группы в реакциях фосфорилирования являются АТР (реакции 1, 3) или неорганический фосфат (реакция 6);
- регенерация NAD^+ , являющаяся необходимым условием протекания гликолиза, происходит при аэробном гликолизе в дыхательной цепи. В этом случае водород транспортируется в митохондрии с помощью челночного механизма при участии переносчиков. Это происходит потому, что мембрана митохондрий непроницаема для протонов. При анаэробном гликолизе регенерация NAD^+ осуществляется независимо от дыхательной цепи. В этом случае акцептором водорода от NADH является пируват, который восстанавливается до лактата;
- образование АТР при гликолизе может идти двумя путями: либо субстратным фосфорилированием, когда для фосфорилирования АДР используется энергия макроэргической связи субстрата (реакции 7, 9), либо путем окислительного фосфорилирования АДР, сопряженного с дыхательной цепью (реакция 6).

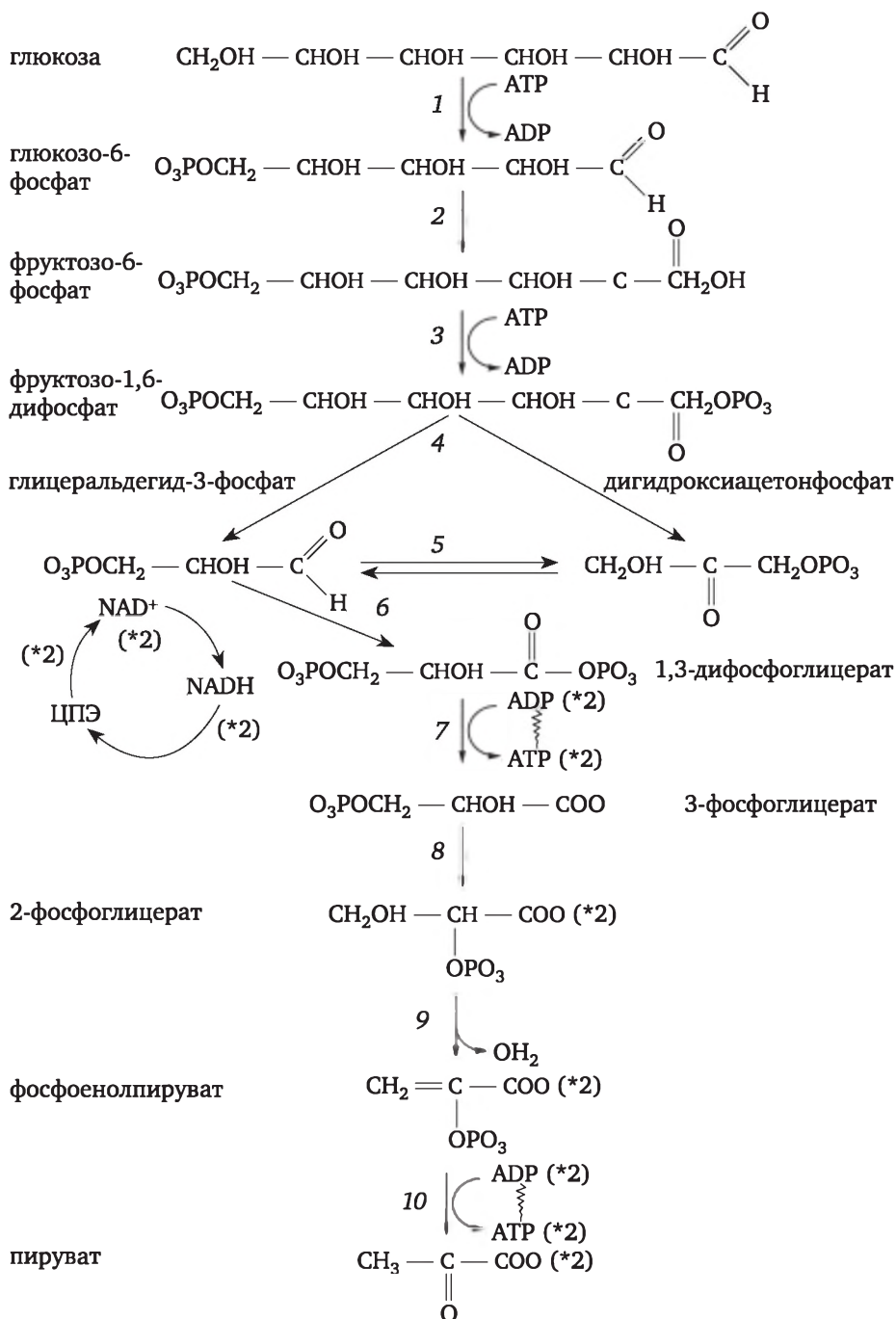


Рис. 12.1. Стадии процесса гликолиза:

ЦПЭ — цепь переноса электронов, обозначающая всю сумму окислительно-восстановительных реакций, протекающих в митохондриях

12.2. Спиртовое и молочно-кислое брожение

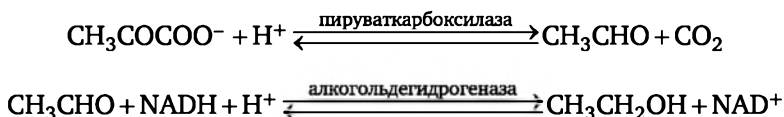
Пути превращения продукта гликолиза — пирувата в организме различны.

Если гликолиз протекает в *аэробных* условиях (в присутствии кислорода), то пируват поступает в митохондрии, где он окисляется до CO_2 и H_2O . В *анаэробных* условиях (при отсутствии кислорода, например, в клетках мышц) $\text{NADH} + \text{H}^+$ постоянно окисляется до NAD^+ , превращая пируват в *лактат* (анион молочной кислоты):



Анаэробный гликолиз при отсутствии кислорода называется *брожением*. Процессы брожения с участием микроорганизмов часто используются на практике при производстве пищевых продуктов, алкогольных напитков или консервировании, поэтому брожение — биотехнологический процесс.

Известно молочнокислое брожение (в соответствии с реакцией (12.1)) и спиртовое, которое могут осуществлять дрожжи, являющиеся эукариотами и относящиеся к одноклеточным грибам. Только в этих клетках пируват декарбоксилируется с образованием ацетальдегида, а последний окисляет NADH :



Анаэробный гликолиз, несмотря на небольшой энергетический эффект, является основным источником энергии для скелетных мышц в начальном периоде интенсивной работы, т.е. в условиях, когда снабжение кислородом ограничено. Зрелые эритроциты извлекают энергию также за счет анаэробного окисления глюкозы, потому что не имеют митохондрий.

Баланс аэробного гликолиза

Запасание энергии в форме АТФ является главным процессом в пути окисления глюкозы (рис. 12.2).

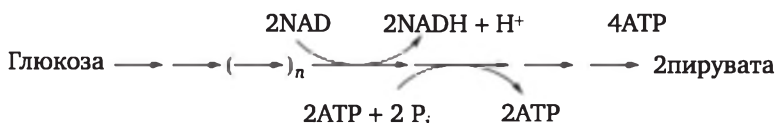
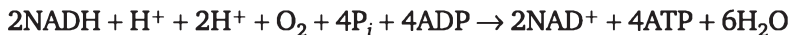


Рис. 12.2. Схема образования АТФ при превращении глюкозы в пируват

Если гликолиз начинается с глюкозы, то превращение 1 моля глюкозы в пируват сопровождается образованием 2 молей АТФ.

При окислении кислородом 2 молей $\text{NADH} + \text{H}^+$, образующихся в процессе аэробного превращения глюкозы в пируват, синтезируется еще 4 моля АТФ:



Далее при окислении пирувата через цикл трикарбоновых кислот на каждую молекулу полностью окисленного пирувата образуется 14 молекул АТФ и одна молекула на α -кетоглутаратной стадии.

Таким образом, окисление 2 молей пирувата в общих путях катаболизма сопровождается синтезом 30 молей АТФ (по 15 молей на каждую молекулу пирувата).

Суммируя все процессы аэробного окисления глюкозы до углекислого газа и воды, получают



Следовательно, суммарный энергетический баланс аэробного распада глюкозы до конечных продуктов (CO_2 и H_2O) составляет энергию 36 молей АТФ.

Глава 13

ЦИКЛ ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ (КРЕБСА)

Цикл лимонной кислоты, или цикл Кребса, — метаболический процесс, представляющий собой цикл реакций, протекающих в матрице митохондрий, в ходе которых осуществляется окисление ацетильных групп (рис. 13.1). При окислении ацетильных групп образуются ионы водорода, в последующих метаболических стадиях взаимодействующие с выделением свободной энергии, необходимой для функционирования тканей.

Продукт гликолиза — пируват вступает в реакции цикла Кребса, предварительно превращаясь в ацетил-СоА (ацетилкоэнзим А). В цитратном цикле синтезируется не АТФ, как в большинстве таких реакций, а гуанозинтрифосфат (GTP), который легко превращается в АТФ под действием фермента — нуклеозиддифосфаткиназы (на рис. 13.1 не показано).

13.1. Роль ацетил-СоА. Вторичные пути катаболизма глюкозы

Суммарную реакцию превращения пирувата в ацетил-СоА можно записать следующим образом:



Реакция катализируется *пируватдегидрогеназой* и поэтому называется *пируватдегидрогеназной*. Эта реакция необратима ($\Delta G^0 = -33,5$ кДж/моль). Отсюда следует, что в организме жирные кислоты не могут непосредственно превращаться в глюкозу.

Ацетильные группы находятся в составе ацетил-СоА, который является тиоэфиром уксусной кислоты и кофермента А. В состав СоА входит также пептид и витамин А.

Цикл лимонной кислоты является основным путем в процессах глюконеогенеза. Эта система реакций начинается с присоединения ацетильного остатка ацетилкофермента А к оксалоацетату (соли щавелевоуксусной или кетоянтарной кислоты) с образованием соли трикарбоновой лимонной кислоты — цитрата.

Далее цитрат претерпевает ряд последовательных превращений, сопровождающихся двумя актами декарбоксилирования, т.е. выделения CO_2 , и приводящих в конечном счете к регенерации оксалоацетата.

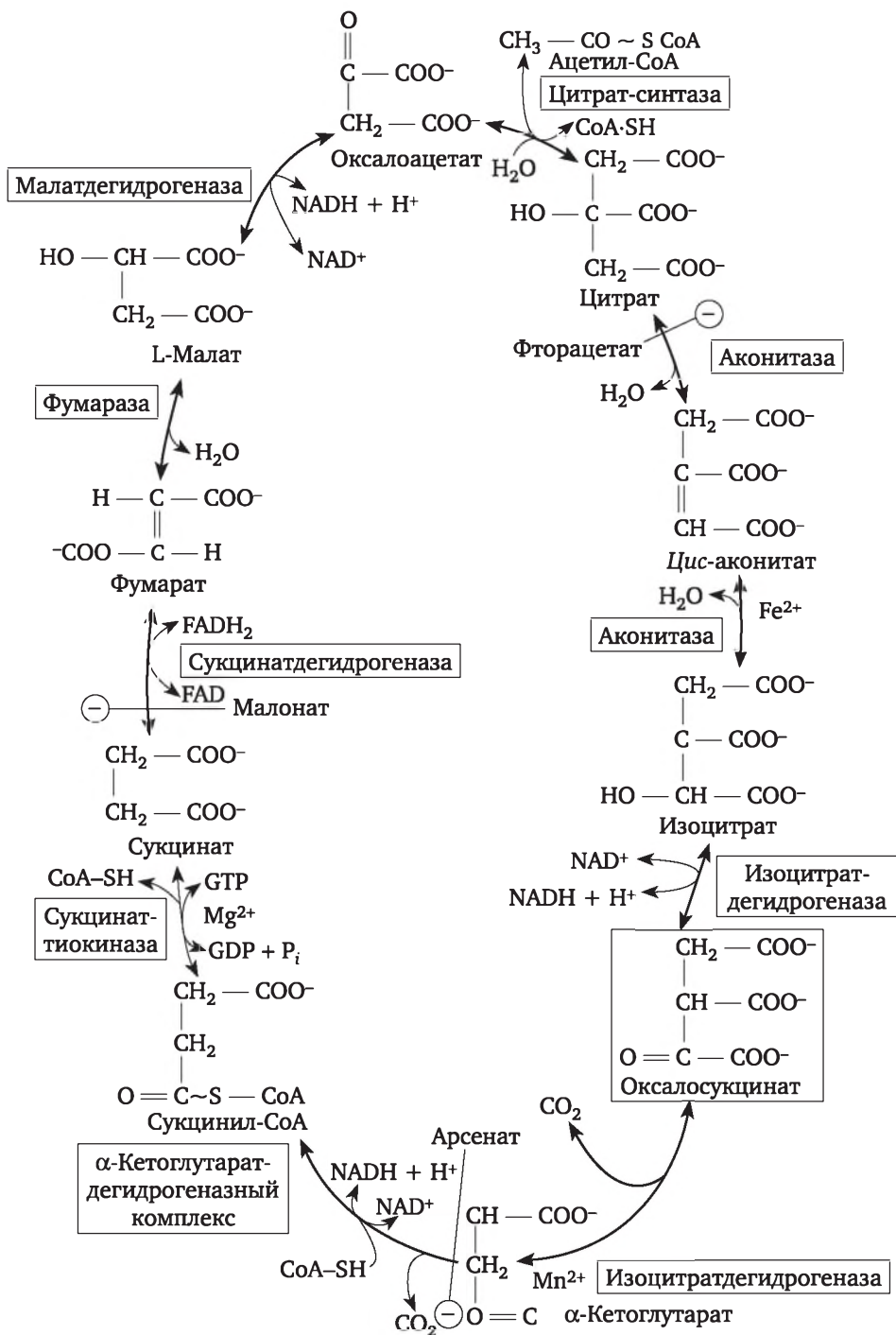
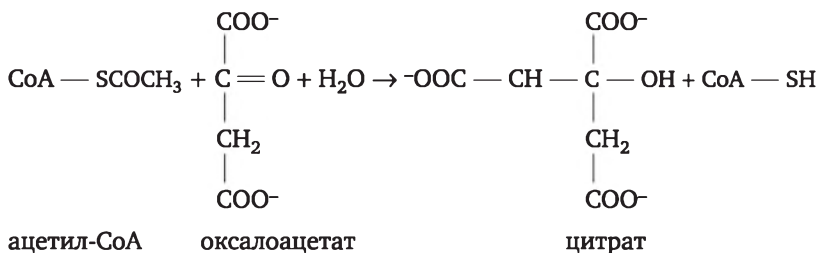


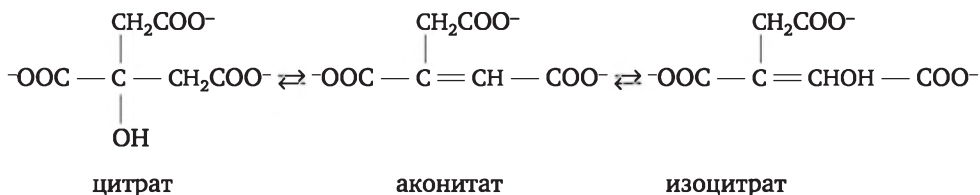
Рис. 13.1. Цикл Кребса

Цикл лимонной кислоты, или цикл трикарбоновых кислот, осуществляется через следующие стадии.

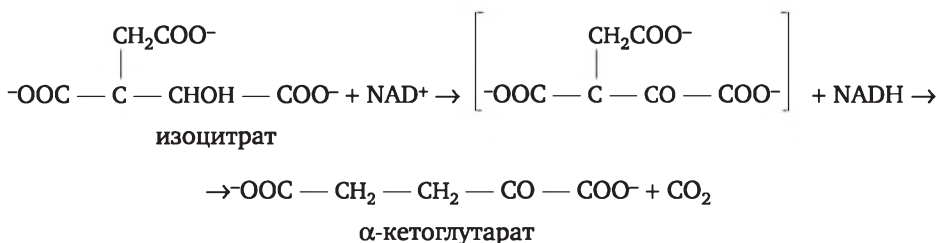
1. Взаимодействие *ацетилкофермента А* с *оксалоацетатом* катализируется ферментом *цитратсинтазой* и заключается в присоединении атома углерода метальной группы ацетильного остатка к карбонильному углероду оксалоацетата при одновременном гидролизе тиоэфирной связи:



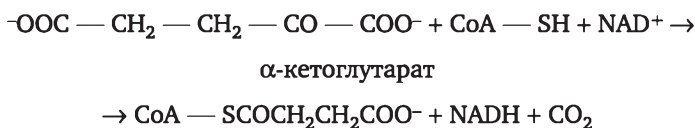
2. Изомеризация *цитрата* в *изоцитрат* катализируется ферментом аконитазой. Реакция проходит через промежуточное образование аконитата путем дегидратации цитрата и последующей гидратации аконитата с превращением его в *изоцитрат*:



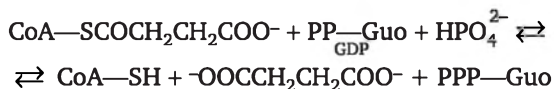
3. Окисление гидроксигруппы *изоцитрата* до карбонильной группы при участии NAD⁺. Реакция сопровождается элиминацией карбоксильной группы в β-положении к образовавшейся кетогруппе. Катализатором служит *изоцитратдегидрогеназа*:



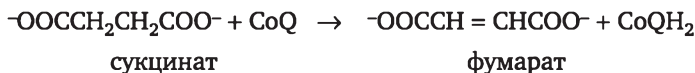
4. Окислительное декарбоксилирование α -кетоглутарата катализируется ферментом α -кетоглутаратдегидрогеназой, входящей в состав α -кетоглутаратдегидрогеназного комплекса. Реакция приводит к образованию **сукцинилкофермента А** и выделению второй молекулы CO_2 :



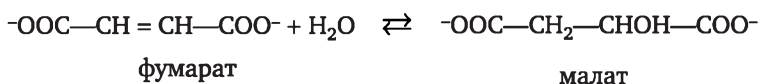
5. Фосфорилирование *GDP*, сопряженное с гидролизом макроэргической тиоэфирной связи в сукцинилкоферменте А, катализируется ферментом сукцинат-*CoA* лигазой (образующей *GDP*). Реакция приводит к высвобождению сукцината:



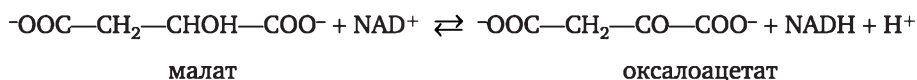
6. Превращение сукцината в *фумарат*. Реакция катализируется ферментом сукцинатдегидрогеназой, входящей в состав комплекса кофермента Q, который является подвижным акцептором электронов:



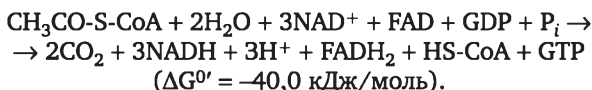
7. Гидратация двойной связи *фумарата* с образованием *малата* (соли яблочной кислоты). Катализируется фумарат-гидратазой (фумаразой):



8. Окисление гидроксигруппы *малата* до *кетогруппы*. Реакция приводит к регенерации *оксалоацетата*, катализируется ферментом *малатдегидрогеназой* (цикл замыкается):



Суммарное стехиометрическое уравнение цикла Кребса можно записать в виде:



Цикл лимонной кислоты является общим конечным путем окисления углеводов, липидов и белков, так как в ходе метаболизма глюкоза, жирные кислоты и аминокислоты превращаются в ацетил-*CoA*. Через промежуточные соединения рассматриваемого цикла синтезируется 12 фосфатных связей.

Цикл лимонной кислоты — это механизм накопления большей части свободной энергии в результате окисления углеводов, липидов и белков.

У аэробных организмов ацетил-*CoA* является важным узловым звеном в процессах окисления основных биоорганических веществ (белков, углеводов и липидов), так как процессы их катаболизма сводятся

к образованию ацетил-СоА, который в свою очередь «запускает» главный катаболический путь — цикл лимонной кислоты.

Ацетил-СоА вступает в цикл вместе с лимонной кислотой и окисляется до оксалоацетата, поставляя восстановленные эквиваленты $\{2H^+\}$ ($NADH$, $FADH_2$). Последующее их окисление в дыхательной цепи происходит в условиях сопряжения с фосфорилированием ADP . За один оборот цикла образуется 11 молекул ATP путем окислительного фосфорилирования и одной GTP на субстратном уровне при превращении сукцинил-СоА в сукцинат. Одна фосфатная связь генерируется на стадии катализирования сукцинилкиназой.

С учетом ATP , образующихся в цепи переноса электронов при окислении $NADH$ и $CoQH_2$, сгорание ацетильного остатка в цикле карбоновых кислот приводит к образованию 12 макроэргических пирофосфатных связей (12 биоэнергетических эквивалентов).

Главная задача цикла — бесперебойное обеспечение «топливом» процесса генерации энергии в митохондриях.

13.2. Окислительно-восстановительные реакции, сопряженные с образованием ATP , и их стандартные потенциалы

Окислительно-восстановительные реакции — это третий, конечный этап окисления глюкозы. С точки зрения генерации энергии результат первых двух этапов скромнен — на одну молекулу глюкозы — две молекулы ATP (гликолиз), столько же в цикле Кребса (с учетом энергетической эквивалентности GTP и ATP), еще одна молекула ATP образуется при превращении гликогена в глюкозу.

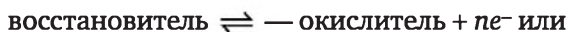
Большая часть энергии в результате первых двух этапов запасается в виде $NADH$ (10 молекул — две из гликолиза, две из пируватдегидрогеназной реакции, шесть из цикла Кребса) и две молекулы $FADH_2$ (из цикла Кребса). Напомним, что из одной молекулы глюкозы образуется две молекулы пирувата, что обеспечивает два оборота цикла Кребса.

Следовательно, основное количество ATP , синтезируемого из ADP и P_i в ходе окисления глюкозы, образуется в результате окисления $NADH$ и $FADH_2$, что и осуществляется на третьем этапе окисления. Этот процесс называется *окислительным фосфорилированием*.

Окислительно-восстановительные превращения, происходящие в клетках, протекают без участия кислорода. Окисление $NADH$ и $FADH_2$ заключается в переносе электронов на кислород.

Реакции, в процессе которых происходит перенос электронов от донора электронов (восстановителя — *red*) к акцептору электронов (окислителю — *ox*), называются *окислительно-восстановительными (редокс) реакциями*. Окислители и восстановители всегда функционируют как сопряженные пары (аналогично кислотно-основным парам).

Для характеристики способности отдавать и принимать электроны используется понятие *окислительно-восстановительного потенциала*, или *редокс-потенциала* E° , который численно равен ЭДС (в вольтах), возникающей в полуэлементе, где восстановитель и окислитель в концентрациях 1 М при температуре 25 °С и рН 7,0 находятся в равновесии с электродом, способным обратимо принимать электроны от восстановителя:



где n — число перенесенных электронов.

Способность восстановленной формы отдавать электроны, а окисленной принимать их описывается *уравнением Нернста*:

$$E = E^{\circ'} + (RT/nF)\ln(\text{ox/red}),$$

где E — наблюдаемый электродный потенциал, В; $E^{\circ'}$ — стандартный восстановительный потенциал, В; R — универсальная газовая постоянная (8,31 Дж·моль⁻¹ · град⁻¹); T — абсолютная температура Кельвина; n — число переносимых электронов; F — число Фарадея (96,406 Дж · В⁻¹); ox/red — отношение концентраций акцептора электронов к концентрации донора электронов.

При 25 °С, десятичном логарифме отношения концентраций (ox/red) член $(RT/nF) = 0,059/n$ и уравнение Нернста приобретает более простую форму:

$$E = E^{\circ'} + (0,059/n)\lg(\text{ox/red}).$$

Уравнение Нернста представляет собой выражение, аналогичное уравнению Гендерсона — Гассельбаха, и поэтому графическое отображение изменения электродного потенциала в зависимости от степени окисления в ходе окислительно-восстановительного процесса имеет близкую к S-образной форму (аналогично кривой титрования, см. гл. 2, рис. 2.5).

Из рис. 13.2 очевидно, что по мере добавления окислителя все большая доля восстановителя переходит в окисленную форму, таким образом, соотношение ox/red растет и соответственно возрастает наблюдаемый электродный потенциал. При соотношении $\text{ox/red} = 1$ $E = E^{\circ'}$, т.е. величине стандартного восстановительного потенциала (*редокс-потенциала*) данной окислительно-восстановительной пары. В точке эквивалентности количество добавленного титранта равно количеству титруемого вещества, что позволяет экспериментально определять концентрацию последнего.

В качестве стандартного (равного нулю) в электрохимии принят редокс-потенциал реакции $\text{H}_2 \rightleftharpoons 2\text{H}^+ + 2e^-$, протекающей при давлении $p = 1$ атм, концентрации ионов $\text{H}^+ = 1,0$ М и температуре 25 °С, однако во всех биохимических расчетах за *стандарт восстановитель-*

ного потенциала принят потенциал системы ($\text{H}_2/2\text{H}^+$), который при pH 7,0 равен $-0,42$ В.

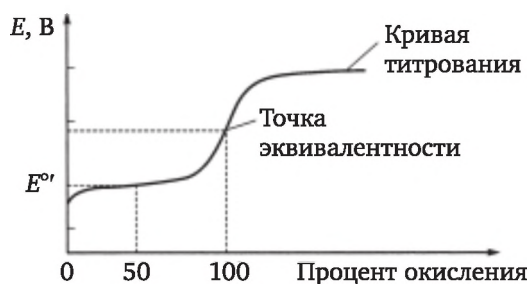


Рис. 13.2. Пример кривой потенциометрического титрования

Стандартные восстановительные потенциалы некоторых *ox/red*-пар при физиологических условиях (для двухэлектронного переноса при pH 7,0 и $T = 25\pm 35$ °C) приведены в табл. 13.1.

Таблица 13.1

Значения стандартных восстановительных потенциалов некоторых окислительно-восстановительных пар

Восстановитель	Окислитель	$E^{\circ'}$, В
Ацетальдегид	Ацетат	$-0,60$
H_2	2H^+	$-0,42$
Изоцитрат	α -Кетоглутарат + CO_2	$-0,38$
$\text{NADH} + \text{H}^+$	NAD^+	$-0,32$
$\text{NADPH} + \text{H}^+$	NADP^+	$-0,32$
Лактат	Пируват	$-0,19$
NADH -дегидрогеназа (восстановленная)	NADH -дегидрогеназа (окисленная)	$-0,11$
Цитохром <i>b</i> [Fe(II)]	Цитохром <i>b</i> [Fe(III)]	$0,00$
Цитохром <i>c</i> [Fe(II)]	Цитохром <i>c</i> [Fe(III)]	$+0,26$
H_2O	$1/2 \text{O}_2$	$+0,816$

Знание стандартных редокс-потенциалов различных биологических *редокс-систем* (см. табл. 13.1) позволяет предсказать направление протекания процессов переноса электронов от одной окислительно-восстановительной пары к другой, так как окислительно-восстановительные потенциалы $E^{\circ'}$ связаны с изменением энергии Гиббса процесса уравнением

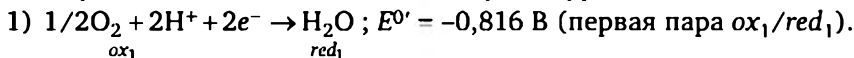
$$\Delta G^{\circ'} = -zF\Delta E^{\circ'}, \quad (13.1)$$

где $\Delta E^{\circ'}$ — разность окислительно-восстановительных потенциалов электронодонорной и электроноакцепторной пар; z — число передаваемых электронов.

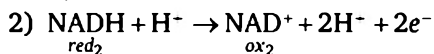
Например, реакцию окисления



можно представить как комбинацию двух полуреакций:



Согласно данным табл. 13.1 первая пара ox_1/red_1 ($1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$) имеет $E^0' = -0,816 \text{ В}$.



Вторая пара ox_2/red_2 имеет $E^0' = 0,320 \text{ В}$ (см. табл. 13.1).

Тогда для суммарной реакции можно найти значение изменения электродного потенциала:

$$\Delta E^0' = \Delta E_2^0' - \Delta E_1^0' = 0,320 - (-0,816) = 1,136 \text{ В}.$$

Используя уравнение (13.1), находят изменение свободной энергии при протекании реакции окисления NADH в стандартных физиологических условиях:

$$\begin{aligned} \Delta G^0' &= -zF\Delta E^0' = -2(96,5 \text{ кДж} \cdot \text{В}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1})(1,136 \text{ В}) = \\ &= -219,25 \text{ кДж} \cdot \text{моль}^{-1}. \end{aligned}$$

13.3. Транспорт электронов в процессе окислительного фосфорилирования. Дыхательная цепь митохондрий и ее компоненты

Окислительно-восстановительные ферменты, катализирующие перенос электронов, и окислительное фосфорилирование локализованы в липидном слое внутренней мембраны митохондрий клеток.

Транспорт электронов к кислороду в митохондриях (рис. 13.3) происходит в несколько этапов и представляет собой цепь из переносчиков электронов, у которых по мере приближения к кислороду возрастает редокс-потенциал (соответственно снижается восстановительный потенциал). Эти транспортные системы получили название *дыхательных цепей*.

Большинство электронных пар поступает в дыхательную цепь благодаря действию ферментов (дегидрогеназ), использующих в качестве акцепторов электронов коферменты NAD^+ и NADP^+ . Всю эту группу ферментов называют NAD(P) -зависимыми дегидрогеназами.

Коферменты NAD^+ (никотинамид — адениндинуклеотид), FAD и FMN (флавинадениндинуклеотид и флавинмононуклеотид), кофермент Q (CoQ), семейство гемсодержащих белков — цитохромов (обозначаемых как цитохромы b, C_1 , C, A, A_3) и белки, содержа-

щие негеминовое железо, являются *промежуточными переносчиками* в дыхательной цепи у высших организмов. Процесс начинается с переноса протонов и электронов от окисляемого субстрата на коферменты NAD^+ или FAD и образования NADH и FADH_2 .

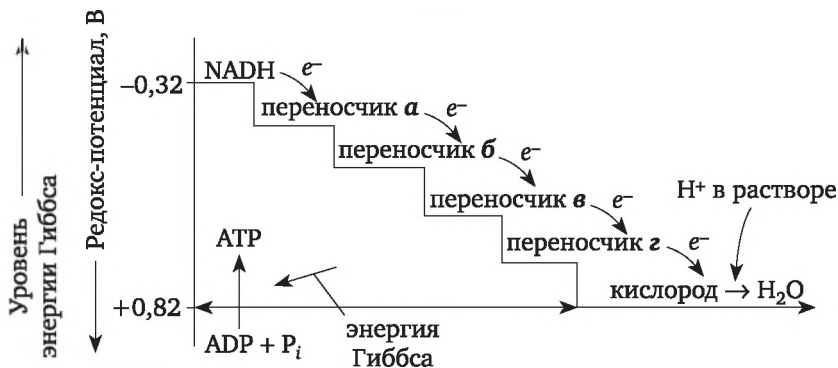


Рис. 13.3. Транспорт электронов в митохондриях

Последующее движение электронов от NADH и FADH_2 к кислороду можно уподобить скатыванию с лестницы, ступеньками которой являются переносчики электронов. При каждом шаге со ступеньки на ступеньку высвобождается порция свободной энергии (см. рис. 13.3).

В переносе электронов от органических субстратов к молекулярному кислороду принимают участие три белковых комплекса (I, III, IV) и две подвижные молекулы-переносчики: убинон (кофермент Q) и цитохром C.

Сукцинатдегидрогеназа, принадлежащая собственно к циклу Кребса, также может рассматриваться как комплекс II дыхательной цепи.

Комплексы дыхательной цепи построены из множества полипептидов и содержат ряд различных окислительно-восстановительных коферментов, связанных с белками.

Переносчики электронов *цитохромы* (названные так из-за своей окраски) — это белки, содержащие в качестве простетической группы различные группы *гемов*. Гемы типа *b* соответствуют гемоглобинам. Гем ковалентно связан с белком (рис. 13.4).

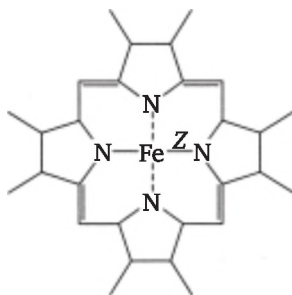
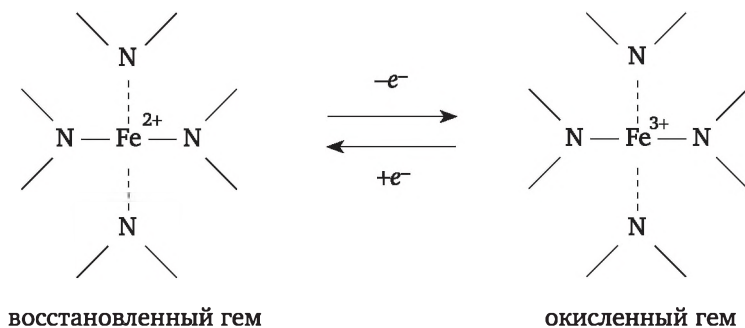


Рис. 13.4. Строение молекулы гема, $z = 2^+$ или 3^+

Общим для цитохромов является способность иона железа, находящегося в геме, изменять степень окисления при передаче электрона:



Флавинзависимые дегидрогеназы — это белки, у которых сульфгидрильные группы цистеина, входящего в состав белка, связаны с атомами железа, в результате чего образуется железосерные комплексы (центры). Как и в цитохромах, атомы железа в таких центрах способны отдавать и принимать электроны, переходя поочередно в ферри- (Fe^{+3}) и ферро- (Fe^{+2}) состояния.

Железосерные центры функционируют совместно с флавинодержащими ферментами FAD или FMN.

Флавинадениндинуклеотид (FAD) является производным витамина B_2 (рибофлавина). Восстанавливаясь, FAD (окисленная форма) присоединяет два атома водорода и превращается в FADH_2 (восстановленная форма) (рис. 13.5).

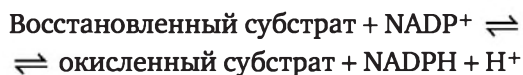
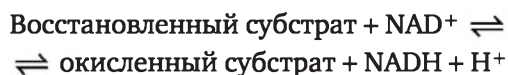
Еще один переносчик электронов, относящийся к данной группе, — флавинмоноклеотид (FMN) также является производным витамина B_2 (отличается от витамина B_2 только наличием фосфатной группы).

Оба флавиновых кофермента могут существовать и в форме так называемых *семихинов* — свободных радикалов, которые образуются в результате переноса только одного электрона на FAD или FMN (рис. 13.6).

Общее обозначение различных флавопротеидов, различающихся белковой составляющей фермента, — FP_n .

Пиридинзависимые дегидрогеназы получили такое название потому, что коферментом для них служат NAD^+ и NADP^+ , в молекулах которых имеется производное пиридина — *никотинамид* (рис. 13.7).

Катализируемые этими ферментами реакции можно представить следующим образом:



флавинадениндинуклеотид

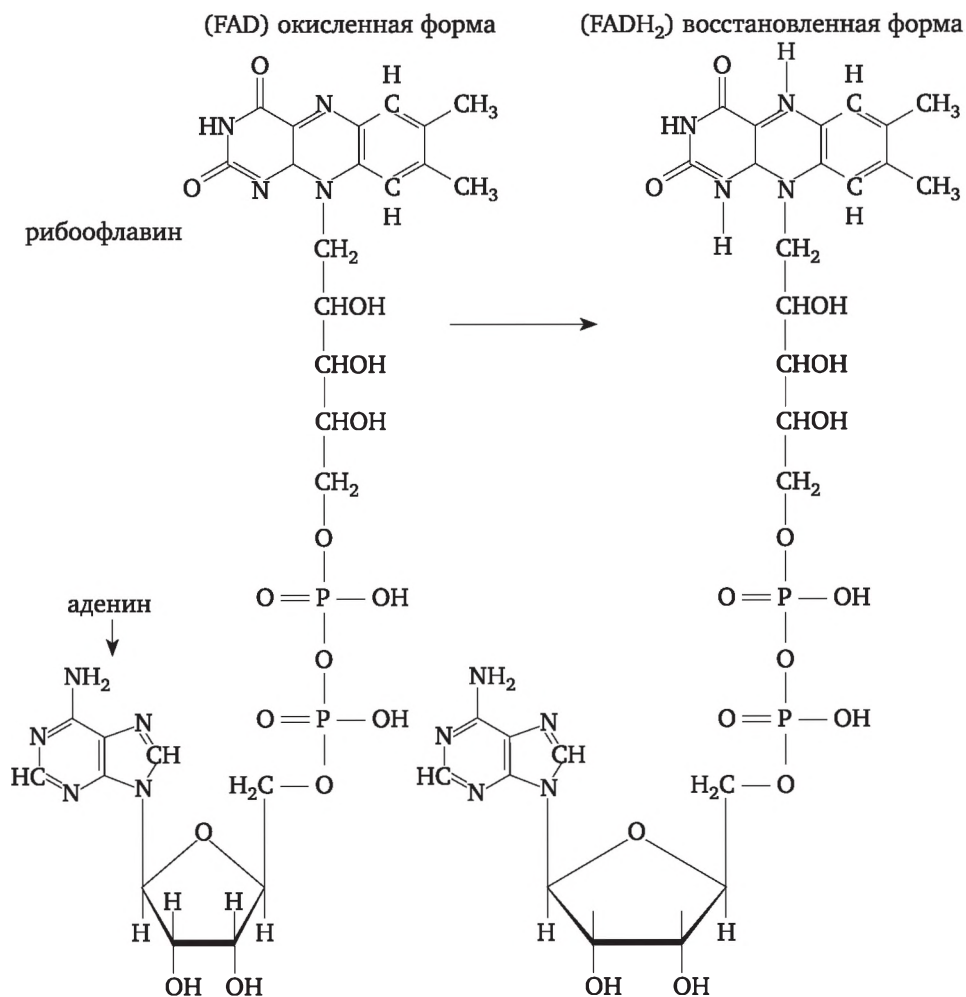


Рис. 13.5

флавинмононуклеотид

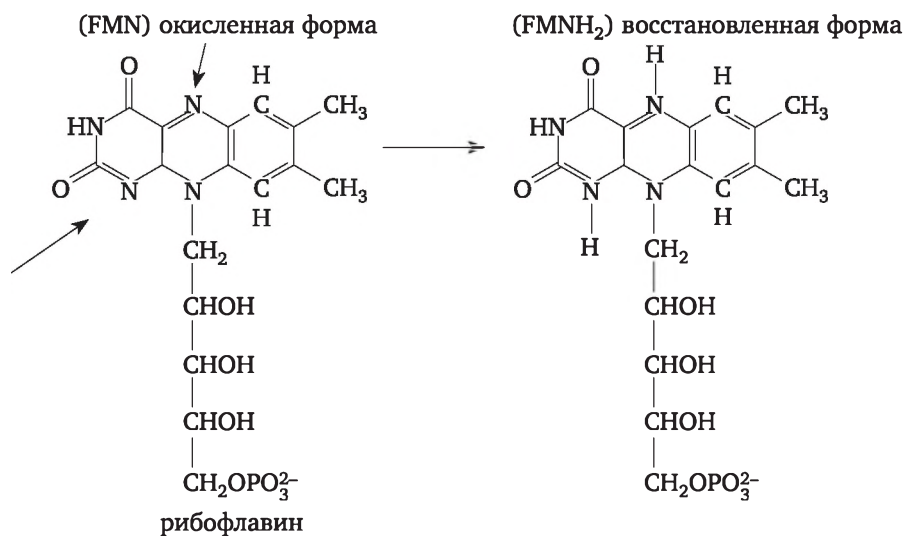


Рис. 13.6

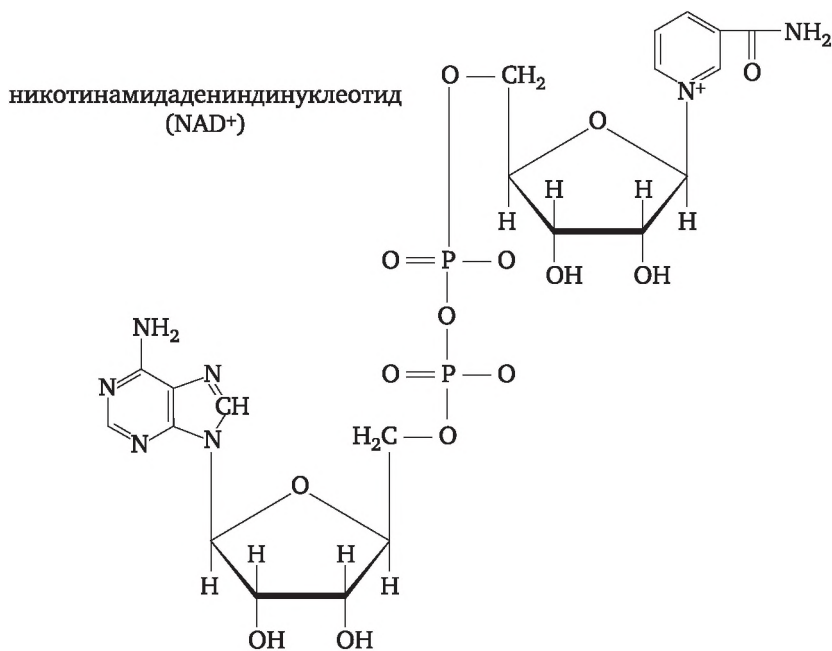


Рис. 13.7

Дегидрогеназы, связанные с NAD⁺, принимают участие главным образом в процессе дыхания, т.е. в процессе переноса электронов от субстратов к кислороду, тогда как дегидрогеназы, связанные с NADP⁺, участвуют преимущественно в переносе электронов от субстратов, возни-

кающих в результате катаболических реакций, к восстановительным реакциям биосинтеза.

Единственный небелковый переносчик электронов — убикинон, названный так потому, что этот хинон встречается везде (от *ubiquitous* — вездесущий). Сокращенно его обозначают CoQ или просто Q. Убикинон при восстановлении присоединяет не только электроны, но и протоны. При одноэлектронном переносе он превращается в *семихинон*, двухэлектронном — в *гидрохинон*.

Последовательность переносчиков электронов в дыхательной цепи митохондрий можно представить следующей схемой (рис. 13.8).

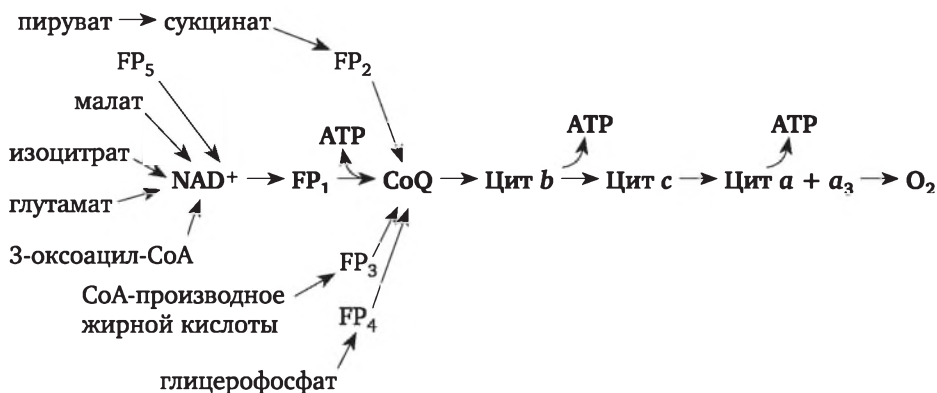
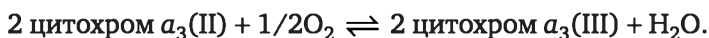
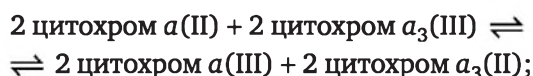
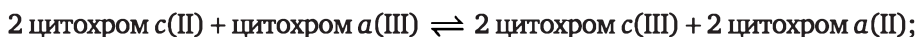
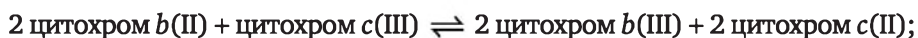
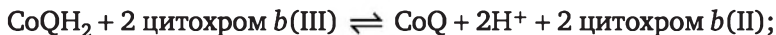
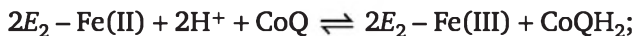
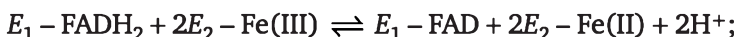


Рис. 13.8

Эта схема описывается цепью последовательных реакций:



Таким путем через дыхательную цепь электроны от субстратов достигают конечного акцептора — атмосферного кислорода. Образующаяся в результате этого процесса вода называется метаболической.

Разделение водорода на протоны и электроны в мембране митохондрий представляет собой цепь переноса электронов, которая работает как протонный насос, перекачивающий ионы водорода из межклеточного пространства на наружную сторону мембраны.

13.4. Взаимосвязь регуляторных механизмов гликолиза, цикла лимонной кислоты и окислительного фосфорилирования

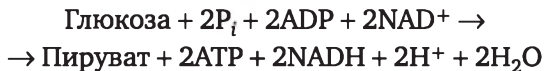
Энергия, накапливаемая при прохождении потока электронов по дыхательной цепи, используется для сопряженного фосфорилирования ADP до АТФ, что было доказано в 1931 г. российским ученым В. А. Энгельгардтом. Энергетическое сопряжение реакций переноса водорода и синтеза АТФ происходит при участии митохондриальной мембраны и фермента H^+ -транслоцирующая АТФ-синтаза.

Идею о сопряжении окислительно-восстановительных процессов при тканевом дыхании впервые сформулировал российский ученый А. Н. Бах. Согласно теории Баха в процессе тканевого дыхания окисление происходит под действием ферментов пероксидаз с участием пероксидных соединений.

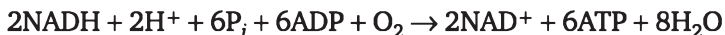
Наиболее обоснован механизм сопряжения фосфорилирования ADP и дыхания в хемиосмотической теории английского биохимика П. Митчелла (1961). Согласно этой теории энергия переноса электронов и протонов по дыхательной цепи первоначально сосредоточивается в виде протонной разности потенциалов, или электрохимического градиента концентраций ионов H^+ , возникающего при их переносе через митохондриальную мембрану компонентами описанной выше дыхательной цепи. Протонная разность потенциалов создается двумя компонентами: осмотическим, возникающим вследствие разности концентраций протонов по сторонам мембраны, и электрическим, обусловленным разностью электрических потенциалов на поверхностях внутренней мембраны митохондрий. Перенос электронов и протонов обеспечивается взаимным расположением мембранных переносчиков и таким свойством самой мембраны, как ее непроницаемость для протонов.

Расчеты показали, что дыхательная митохондриальная цепь создает протонную разность потенциалов 0,25 В, что вполне достаточно для синтеза одной молекулы АТФ. Обратная диффузия протонов через мембрану является самопроизвольным процессом, в результате которого выделяется энергия, используемая для фосфорилирования ADP. В итоге можно оценить энергетический выход при окислении одной молекулы глюкозы, которое осуществляется в системе: гликолиз → цикл лимонной кислоты → дыхательная цепь митохондрий.

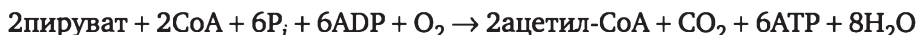
Как уже упоминалось ранее, на первом этапе в процессе гликолитического расщепления глюкозы до пирувата образуются по две молекулы пирувата, АТФ и NADH:



Весь этот процесс идет в цитозоле. Затем две электронные пары с цитозольного NADH переносятся в митохондрии, где они поступают в цепь переноса электронов, по которой направляются на кислород:



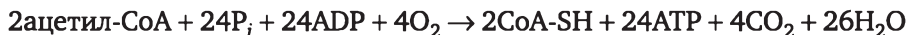
В митохондриях две молекулы пирувата в результате декарбоксилирования преобразуются в две молекулы ацетил-CoA и NADH₂:



Окисление двух молекул ацетил-CoA в цикле лимонной кислоты приводит к образованию шести молекул NADH и по две молекулы FADH и АТФ.

Перенос с каждой молекулы NADH пары электронов в дыхательную цепь приводит к синтезу трех молекул АТФ. Перенос каждой пары электронов с FADH приводит к синтезу двух молекул АТФ, т.е. при двух оборотах цикла образуется четыре молекулы АТФ.

Суммарно из цикла лимонной кислоты синтезируется 24 молекулы АТФ:



В результате сложения четырех уравнений окисления глюкозы и сокращения общих членов получают суммарное уравнение для гликолиза и дыхания:



Таким образом, при полном окислении одной молекулы глюкозы максимальный суммарный выход АТФ в цикле Кребса составит 38 молекул. Это соответствует запасу энергии Гиббса $\Delta G^{0'}$ порядка 1150 кДж/моль, т.е. примерно 60 % от энергии прямого окисления глюкозы кислородом.

Перенос электронов тормозится при понижении концентрации АДФ и ускоряется при возрастании концентрации АДФ в результате протекания различных клеточных процессов, связанных с расходом АТФ. Скорости гликолиза, цикла лимонной кислоты и процесса окислительного фосфорилирования согласованы между собой благодаря этим взаимосвязанным регуляторным механизмам.

Глава 14

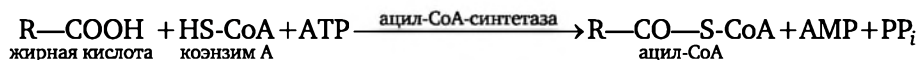
МЕТАБОЛИЗМ ЖИРОВ

Окисление жирных кислот — важный процесс для высших организмов и растений. У человека, по меньшей мере, половина энергии, получаемой в результате окислительных процессов, которые протекают в клетках печени, почек, сердечной и скелетных мышц, находящихся в состоянии покоя, обеспечивается за счет окисления жирных кислот. Исключение составляют клетки мозга, для которых единственным источником энергии служит глюкоза.

14.1. Пути и энергетика метаболизма жирных кислот в тканях животных. Двухстадийная модель окисления жирных кислот

Активация жирных кислот

Свободная жирная кислота независимо от длины углеводородной цепи является метаболически инертной и не может подвергаться никаким биохимическим превращениям (в том числе окислению), пока не будет активирована. Реакция активации жирной кислоты протекает на наружной поверхности мембраны митохондрий при участии АТФ, коэнзима А (HS-CoA) и ионов Mg^{2+} и катализируется ферментом ацил-CoA-синтетазой:



В результате образуется ацилкофермент А (ацил-CoA), являющийся активной формой жирной кислоты.

Активация жирной кислоты протекает в два этапа: сначала жирная кислота реагирует с АТФ с образованием ациладенилата — эфира жирной кислоты и AMP, а далее сульфгидрильная группа коэнзима HS-CoA действует на прочно связанный с ферментом ациладенилат с образованием ацил-CoA и AMP.

Окисление жирных кислот происходит в митохондриях. Коэнзимная форма жирной кислоты, как и свободные жирные кислоты, не обладает способностью проникать внутрь митохондрий. Транспорт жирных кислот из цитоплазмы к местам их окисления — митохондриям осущест-

являет специфический переносчик — *карнитин*. Ацильная группа переносится с атома серы ацил-СоА на гидроксильную группу карнитина с образованием ацилкарнитина, который диффундирует через внутреннюю митохондриальную мембрану (рис. 14.1).

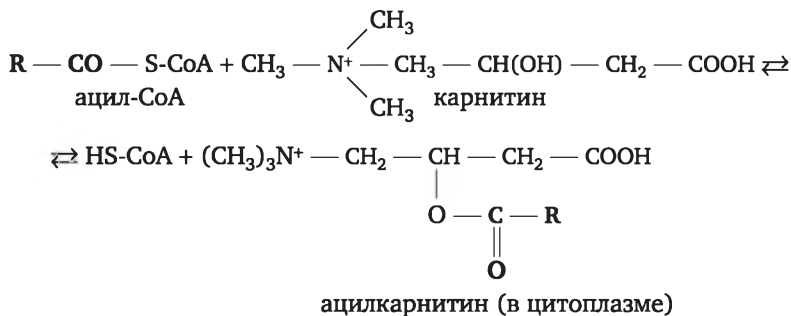


Рис. 14.1

Реакция протекает при участии специфического цитоплазматического фермента **карнитин-ацилтрансферазы**. Уже на той стороне мембраны, которая обращена к матриксу (внутри митохондрий), ацильная группа переносится обратно на HS-CoA, что термодинамически выгодно, поскольку кислородацильная связь в карнитине обладает высоким потенциалом переноса группы. Иными словами, после прохождения ацилкарнитина через мембрану митохондрий происходит обратная реакция — его расщепление при участии HS-CoA и митохондриальной карнитин-ацилтрансферазы (рис. 14.2).

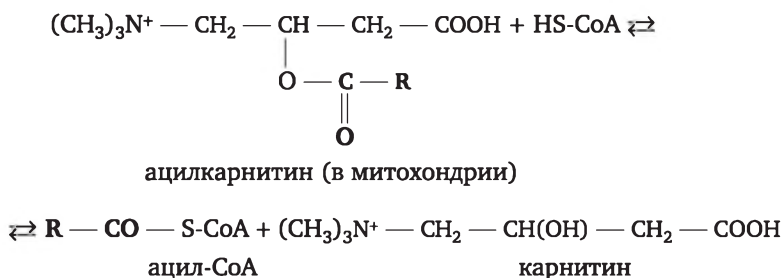


Рис. 14.2

Внутримитохондриальное окисление жирных кислот

Окисление жирных кислот в митохондриях клетки включает несколько последовательных ферментативных реакций. Общая схема окисления жирных кислот представлена на рис. 14.3.

Первая стадия дегидрирования. Стадия окисления. Ацил-СоА в митохондриях прежде всего подвергается ферментативному дегидрированию, при этом ацил-СоА теряет два атома водорода в α - и β -положениях, превращаясь в СоА-эфир ненасыщенной кислоты. Таким образом, первой реакцией в каждом цикле распада ацил-СоА является его окисление

ацил-СоА-дегидрогеназой, приводящее к образованию еноил-СоА с двойной связью между вторым и третьим атомами углерода.

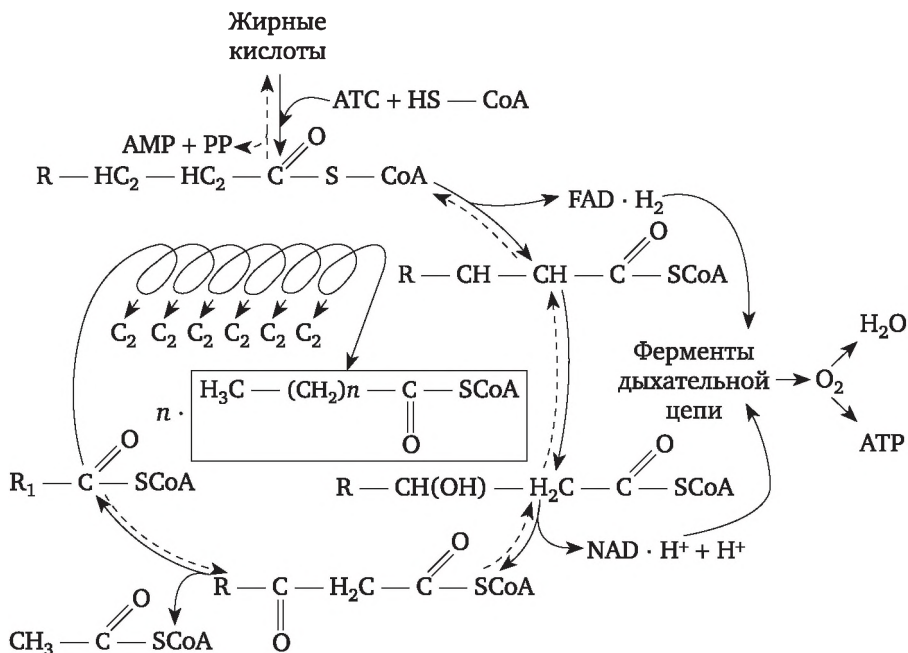
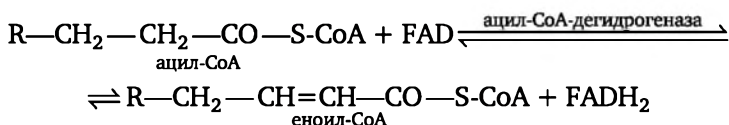
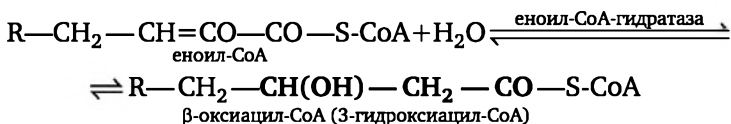


Рис. 14.3. Общая схема окисления жирных кислот



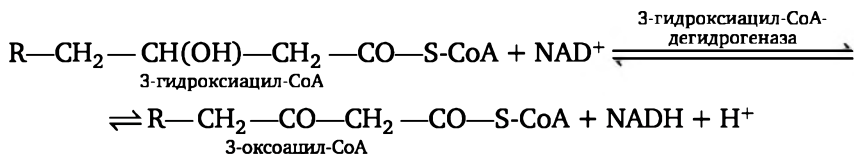
Существует несколько FAD-содержащих ацил-СоА-дегидрогеназ, каждая из которых обладает специфичностью по отношению к ацил-СоА с определенной длиной углеродной цепи.

Стадия гидратации. Ненасыщенный ацил-СоА (еноил-СоА) при участии фермента еноил-СоА-гидратазы присоединяет молекулу воды. В результате образуется β-оксиацил-СоА (или 3-гидроксиацил-СоА).

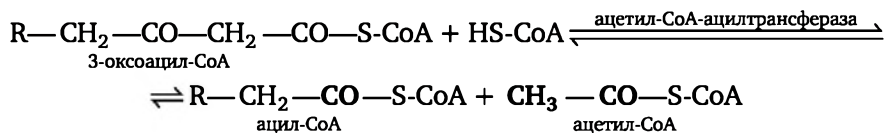


В результате гидратации двойной связи Δ^{2,3}-еноил-СоА-эфиров образуется только β-оксиацил-СоА.

Вторая стадия дегидрирования. Далее образовавшийся β-оксиацил-СоА (3-гидроксиацил-СоА) дегидрируется. Эту реакцию катализируют NAD⁺-зависимые дегидрогеназы.



Тиолазная реакция. В ходе предыдущих реакций происходило окисление метиленовой группы при C-3 в оксогруппу. Тиолазная реакция представляет собой расщепление 3-оксиацил-CoA с помощью тиоловой группы второй молекулы CoA. В результате образуется укороченный на два углеродных атома ацил-CoA и двууглеродный фрагмент в виде ацетил-CoA. Данная реакция катализируется *ацетил-CoA-ацилтрансферазой* (β -кетотиолазой).

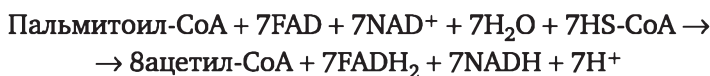


Образовавшийся ацетил-CoA подвергается окислению в цикле трикарбоновых кислот, а ацил-CoA, укоротившийся на два углеродных атома, снова многократно проходит весь путь β -окисления вплоть до образования бутирил-CoA (4-углеродное соединение), которое в свою очередь окисляется до двух молекул ацетил-CoA.

Итак, в результате описанных стадий расщепления жирных кислот образуется β -кетоацил-CoA со все более укороченной углеводородной цепью, поэтому рассмотренный процесс в целом можно называть β -окислением жирных кислот. NADH и FADH₂, образующиеся при β -окислении, затем отдают свои электроны митохондриальной электрон-транспортной цепи.

Например, при окислении пальмитиновой кислоты (C₁₆) повторяется семь циклов β -окисления. При окислении жирной кислоты, содержащей n углеродных атомов, происходит $\left(\frac{n}{2}-1\right)$ цикл β -окисления (т.е.

на один цикл меньше, чем $\frac{n}{2}$, так как при окислении бутирил-CoA сразу происходит образование двух молекул ацетил-CoA), и всего получится $\frac{n}{2}$ молекул ацетил-CoA. Следовательно, суммарное уравнение β -окисления активированной кислоты можно записать следующим образом:



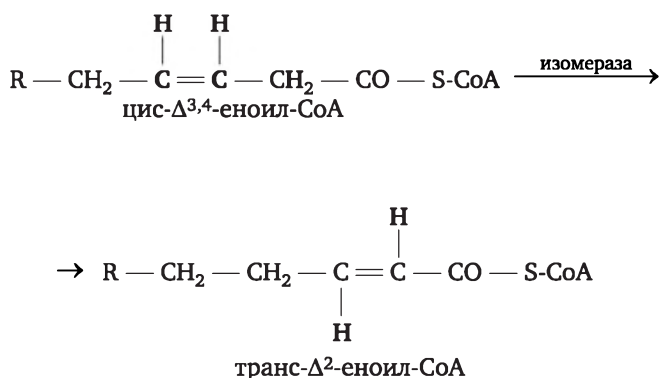
Молекула пальмитиновой кислоты превращается в восемь молекул ацетил-CoA и дополнительно семь молекул NADH и семь молекул FADH₂. При окислении NADH синтезируются 2,5 молекулы ATP, а при окислении FADH₂ — 1,5 молекулы ATP. Таким образом, окисление одной молекулы пальмитиновой кислоты приводит к синтезу 106 молекул ATP из ADP и P_i (с учетом затрат двух молекул ATP на образование пальмитоил-CoA и синтеза одной молекулы GTP на каждый ацетил-CoA в цикле лимонной кислоты).

Следует отметить, что окончательным продуктом β-окисления высших жирных кислот с четным числом углеродных атомов является ацетил-CoA, а с нечетным — пропионил-CoA.

Основной путь деградации жирных кислот протекает через β-окисление. Наряду с этим имеются побочные метаболические пути, такие как разрушение ненасыщенных жирных кислот, разрушение жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов, α- и ω-окисление жирных кислот, а также деградация жирных кислот в пероксисомах.

Окисление ненасыщенных жирных кислот

Окисление ненасыщенных жирных кислот в принципе происходит так же, как и окисление насыщенных, но с некоторыми особенностями. Вплоть до двойной связи цепь такой кислоты укорачивается обычным β-окислением с образованием *цис*-Δ³-еноил-CoA. Двойная связь не позволяет ацил-CoA-дегидрогеназе ввести еще одну, соседнюю, связь между вторым и третьим C-атомами. Фермент, сдвигающий двойную связь в нужное положение и образующий *транс*-изомер, который становится субстратом *еноил-CoA-гидрогеназы*, называется Δ^{3,4}-*цис* → Δ^{2,3}-*транс*-еноил-CoA-изомераза.



При β-окислении жирных кислот, имеющих две и более ненасыщенные связи, требуется еще один дополнительный фермент — 3-гидроксиацил-CoA-эпимераза.

Окисление жирных кислот с нечетным числом углеродных атомов

Основная масса природных липидов содержит жирные кислоты с четным числом углеродных атомов. Однако в липидах многих расте-

ний и некоторых морских организмов присутствуют жирные кислоты с нечетным числом атомов углерода. Кроме того, у жвачных животных при переваривании углеводов в рубце образуется большое количество пропионовой кислоты, которая содержит три углеродных атома. Пропионат всасывается в кровь и окисляется в печени и других тканях.

Жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов окисляются по такому же механизму, как и жирные кислоты с четным числом углеродных атомов, с той лишь разницей, что на последнем этапе расщепления (β -окисления) образуется одна молекула пропионил-CoA и одна молекула ацетил-CoA, а не две молекулы ацетил-CoA.

Активированный трехуглеродный фрагмент — пропионил-CoA включается в цикл трикарбоновых кислот после превращения в сукцинил-CoA (рис. 14.4).

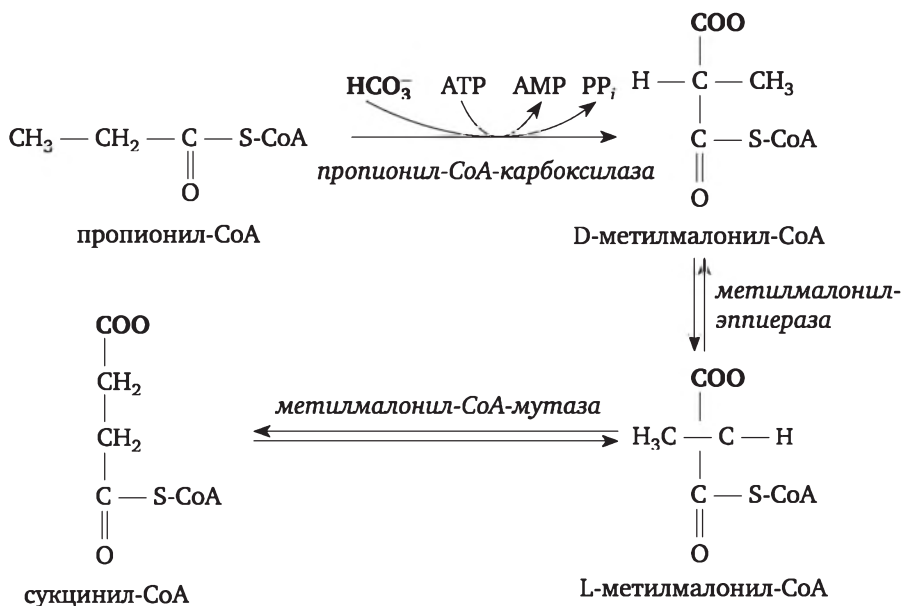


Рис. 14.4

В реакции изомеризации метилмалонил-CoA участвует наиболее сложно устроенный кофермент — 5'-дезоксаденозилкобаламин — производное витамина В₁₂. Если не хватает метилмалонил-CoA-мутазы или нарушен синтез кофермента из витамина В₁₂, развивается смертельно опасный ацидоз.

Пропионат также образуется при расщеплении четырех аминокислот (валина, изолейцина, метионина и треонина), а также из боковой цепи холестерина.

Если организм животного получает энергию почти целиком за счет одного только окисления жирных кислот (что бывает при голодании или при сахарном диабете), то скорость образования ацетил-CoA превышает скорость его окисления в цикле трикарбоновых кислот. В этом случае

лишние молекулы ацетил-CoA реагируют друг с другом, в результате чего в конечном счете образуются *ацетоуксусная* и β -*гидроксимасляная* кислоты. Их накопление является причиной патологического состояния — *кетоза* (одного из видов *ацидоза*), который при тяжелом диабете может вызвать кому и даже привести к смертельному исходу.

Окисление жирных кислот в пероксисомах

Пероксисомы — окруженные мембраной микропузырьки, обнаруженные во многих животных клетках. В них также происходит окисление жирных кислот, хотя основная масса последних подвергается окислению в митохондриях.

При пероксисомальном β -окислении жирных кислот также образуется FADH_2 , который затем окисляется в самих пероксисомах при непосредственном участии кислорода с образованием пероксида водорода и тепла. Считается, что в пероксисомальном β -окислении деградируют жирные кислоты с длиной цепи более 18 углеродных атомов.

14.2. Регуляция биосинтеза жирных кислот. Биосинтез триацилглицеридов, глицерофосфатидов и фосфатидилхолина

Для обмена липидов характерно широкое использование продуктов их распада для ресинтеза. Поэтому значительная часть β -моноглицеридов, глицерина и свободных высших жирных кислот, освобождающихся при гидролизе триглицеридов (получаемых с пищей), используется для синтеза характерных для того или иного организма или органа жирных кислот.

Переключение процессов синтеза жирных кислот на их окисление происходит при смене периода пищеварения на постабсорбтивное состояние и осуществляется с помощью регуляторных механизмов. Синтез малонил-CoA — ключевая реакция в регуляции синтеза и окисления жирных кислот. В период пищеварения в цитозоле увеличивается концентрация цитрата — переносчика ацетильных групп из митохондрий. Цитрат аллостерически активирует *ацетил-CoA-карбоксилазу*, чем ускоряет синтез малонил-CoA и тем самым синтез жирных кислот. Малонил-CoA в свою очередь ингибирует *ацилкарнитилтрансферазу*, катализирующую перенос жирных кислот из цитозоля в митохондрии и «запускающую» механизм β -окисления. Иными словами, в период пищеварения малонил-CoA включает процесс синтеза жирных кислот и выключает β -окисление и синтез кетоновых тел. Ацетил-CoA-карбоксилаза также аллостерически ингибируется длинноцепочечными ацил-CoA, если они накапливаются, не успевая вступить в реакцию этерификации (ингибирование конечным продуктом процесса).

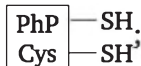
Полный синтез (*de novo*) насыщенных жирных кислот с длинной цепью осуществляется только в растворимой фракции цитоплазмы. Он катализируется особым синтетазным комплексом, состоящим из семи

ферментов. Ни митохондрии, ни эндоплазматическая сеть не способны к синтезу *de novo* жирных кислот. Однако эти компоненты клетки содержат ферменты, способные удлинять цепи жирных кислот, уже имеющих от 12 до 16 атомов углерода.

Биосинтез (*de novo*) включает следующие реакции:

1) карбоксилирование ацетил-CoA до малонил-CoA (Е-карбоксилаза, кофермент — биотин);

2) соединение ацетил-CoA и малонил-CoA с ацетилпереносящими белками



3) конденсация ацетил-CoA и малонил-CoA с образованием комплекса ацетоацетил-ацетилпереносящий белок;

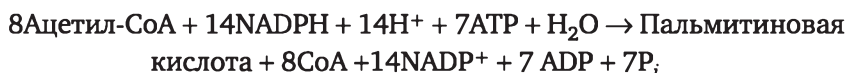
4) восстановление кетонных групп до спиртовых (кофермент — NADH);

5) отщепление воды с образованием ненасыщенной связи;

6) насыщение двойной связи, при котором образуется бутирил-CoA (кофермент — NADPH).

Бутирил-CoA вступает в новый цикл, где удлиняется на два атома. Таким образом, циклы повторяются до тех пор, пока не будет синтезирована цепь из 16, 18 или 20 атомов углерода (рис. 14.5).

Суммарное уравнение синтеза жирных кислот можно записать на примере синтеза пальмитиновой кислоты:



Скорость биосинтеза жирных кислот определяется скоростью образования триацилглицеридов и фосфоглицеридов, поскольку свободные жирные кислоты присутствуют в клетках в небольших количествах и в норме не накапливаются.

Образование полиеновых кислот. Все полиеновые кислоты, обнаруженные у млекопитающих, образуются из жирных кислот, имеющих в цепи от 12 до 16 атомов углерода, путем дальнейшего удлинения цепи и (или) введения новых двойных связей. Однако организм млекопитающих не способен синтезировать линолевую и линоленовую кислоты и поэтому их нужно получать с пищей. Эти кислоты называют незаменимыми жирными кислотами.

У высших растений линолевая и линоленовая кислоты синтезируются из олеиновой кислоты; образование двойной связи в аэробных условиях катализируется специфическими оксигеназами со смешанной функцией, для которых необходимо одновременное присутствие молекулярного кислорода и NADH.

Биосинтез триацилглицеридов (ТАГ). Для синтеза ТАГ, играющих роль запасных липидов и активно образующихся в печени и в жировой ткани, необходимы два главных предшественника: глицерол-3-фосфат и CoA-производное жирной кислоты. Глицерол-3-фосфат образуется

из двух различных источников. Его обычным предшественником служит диоксиацетонфосфат, образующийся в процессе гликолиза в результате реакции, которая катализируется цитоплазматической NAD-зависимой *глицерофосфатдегидрогеназой*:

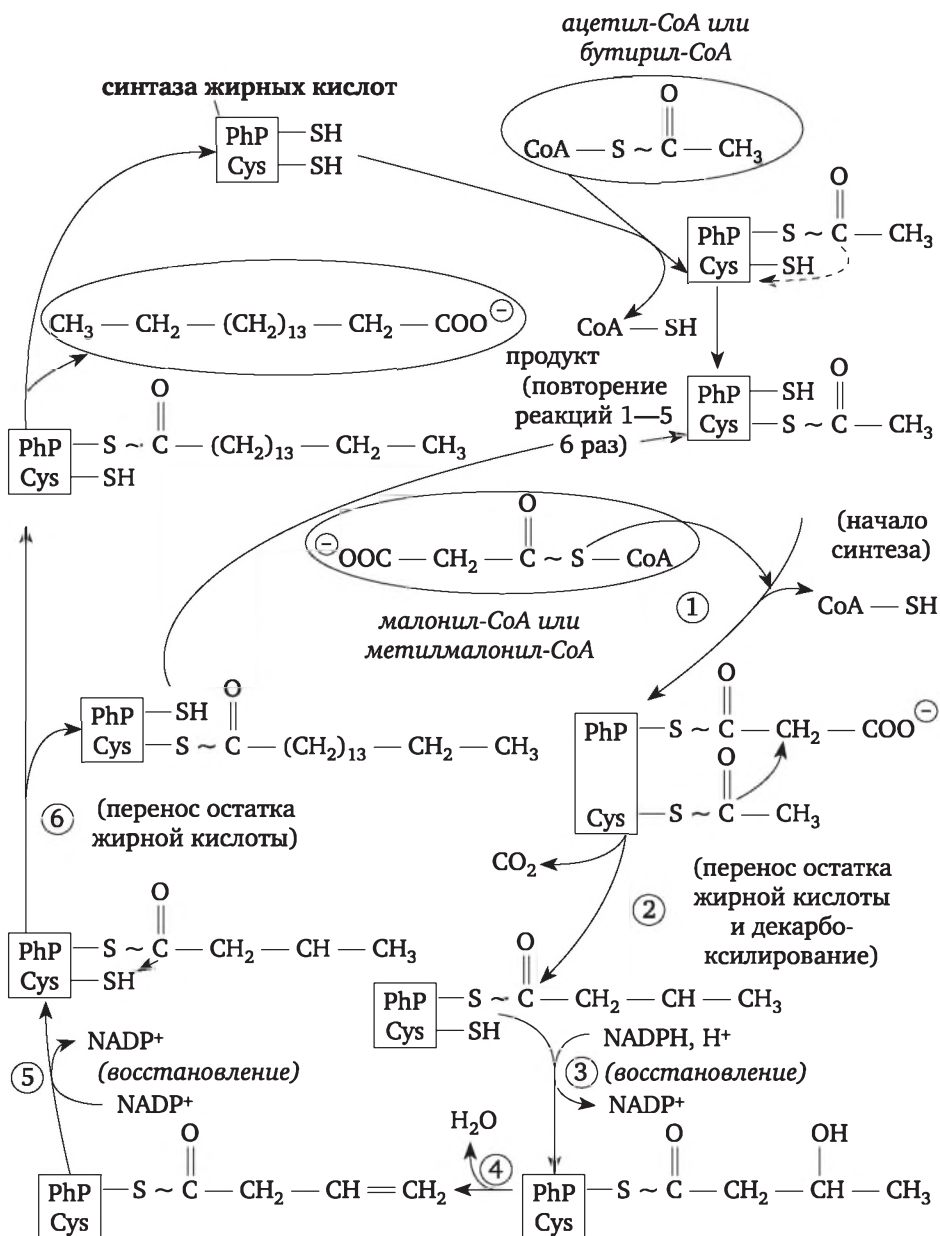
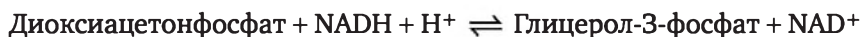


Рис. 14.5. Метаболический путь синтеза (*de novo*) жирных кислот

Глицерол-3-фосфат может образовываться также при действии *глицеролкиназы*:



Первая стадия образования ТАГ состоит в ацилировании свободных гидроксильных групп глицерол-3-фосфата двумя молекулами CoA-производного жирной кислоты с образованием фосфатидной кислоты. В этой реакции участвуют преимущественно насыщенные и ненасыщенные C_{16} и C_{18} производные CoA.

Фосфатидные кислоты присутствуют в клетках в следовых количествах, однако они являются важными промежуточными продуктами, общими для биосинтеза ТАГ и фосфолипидов (ФЛ). Распределение фосфатидных кислот между двумя этими путями имеет решающее значение в регуляции синтеза липидов.

При синтезе ТАГ фосфатидные кислоты гидролизуются специфическими фосфатазами с образованием *диацилглицеридов* (рис. 14.6).

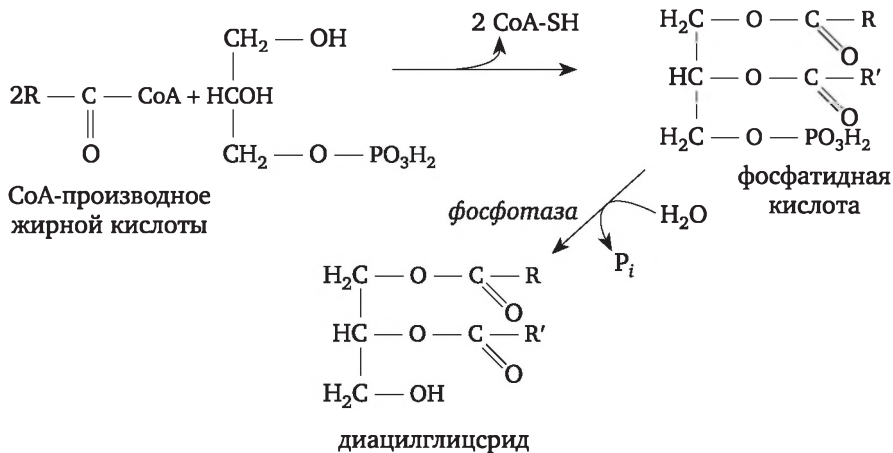
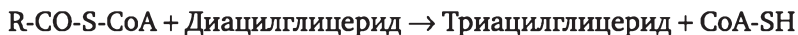


Рис. 14.6

Далее диацилглицериды взаимодействуют с третьей молекулой CoA-производного жирной кислоты с образованием ТАГ:



В клетках кишечного эпителия высших животных, которые активно синтезируют ТАГ в процессе всасывания жирных кислот в кишечнике, имеет место другой тип реакции ацилирования. Моноацилглицериды, образующиеся в кишечнике при переваривании пищи, могут ацилироваться непосредственно, минуя стадию фосфатидной кислоты:



Биосинтез фосфоглицеридов. Наиболее важные *фосфоглицериды* являются компонентами мембран и липопротеидов, выполняющих транспортную функцию.

Различные фосфоглицериды образуются по разветвленному биосинтетическому пути, начинающемуся с фосфатидной кислоты. Реакции этого пути локализованы главным образом в эндоплазматической сети (рис. 14.7).

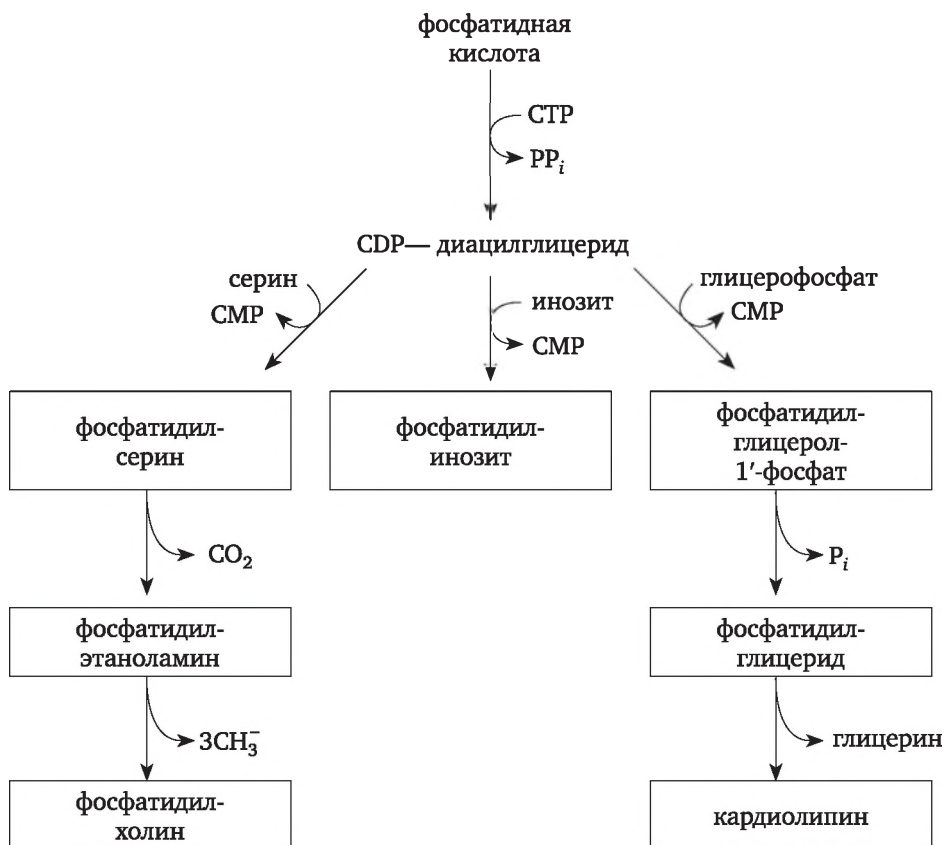


Рис. 14.7

Сначала фосфатидная кислота в результате обратимой реакции с CTP превращается в *цитидиндифосфатдиацилглицерид* (CDP-диацилглицерид), который служит общим предшественником всех фосфоглицеридов, образующихся по этому пути.

Цитидиндифосфатную часть CDP-диацилглицерида можно рассматривать как переносчика фосфатидной кислоты. В последующих реакциях, каждая из которых катализируется специфичным ферментом, цитидинмонофосфат вытесняется из молекулы CDP-диацилглицерида одним из трех спиртов: глицерофосфатом, серином или инозитом с образованием 3-фосфатидилглицерол-1'-фосфата, фосфатидилсерины или фосфатидилинозита соответственно.

Ферментативное декарбоксилирование остатка серина в молекуле фосфатидилсерина приводит к образованию фосфатидилэтанолamina, являющегося предшественником фосфатидилхолина, образующегося в результате последовательного переноса трех метальных групп от трех молекул донора метальных групп *S*-аденозилметионина к аминогруппе остатка этанолamina.

В качестве продуктов этих трех последовательных реакций метилирования образуются *фосфатидилхолин, фосфатидилмонометилэтаноламин и фосфатидилдиметилэтаноламин*.

14.3. Гормональная регуляция биосинтеза триацилглицеридов. Биосинтез холестерина и других стероидов. Генетические дефекты липидного обмена. Лизосомные болезни

Кроме аллостерической регуляции, существует гормональный контроль активности ацетил-СоА-карбоксилгзы. Адреналин и глюкагон путем увеличения концентрации сАМР и активности протеинкиназы фосфорилируют ацетил-СоА-карбоксилазу и переводят ее в неактивное состояние. Эти гормоны также путем фосфорилирования переводят липазу в жировой ткани в активное состояние. В результате синтез жирных кислот прекращается, и начинается мобилизация триацилглицеридов, окисление жирных кислот и синтез кетоновых тел, т.е. включаются процессы, которые поставляют клеткам *энергодативные вещества*.

Процессы обмена жиров в организме регулируются *нейро-гормональным* путем. Нервная система непосредственно влияет на жировую ткань, стимулируя распад (мобилизацию) жира и доставку его к органам, главным образом в печень. Одновременно центральная нервная система и ее высший отдел — кора головного мозга — осуществляют согласованность различных гормональных влияний. Так, *инсулин* усиливает биосинтез жирных кислот, превращение углеводов в жиры и подавляет процесс β -окисления. Адреналин, тироксин и гормон роста активируют распад (липолиз) жира. Снижение выработки гормонов гипофиза и половых гормонов приводит к стимуляции процессов синтеза жиров и торможению липолиза, в результате чего происходит ожирение организма.

Важными регуляторными механизмами обмена жиров являются *факторы внешней среды*. Питание, пол, возраст, характер работы, режим дня, организация отдыха непосредственно влияют на содержание жира в организме. Нерегулярное питание, в том числе избыточное потребление углеводов, сидячий характер работы, отсутствие физической нагрузки способствуют отложению повышенного количества жира, что в дальнейшем приводит к нарушению обмена веществ и развитию различных заболеваний.

В клетках печени, мозга, половых желез, коры надпочечников и других органов постоянно синтезируется *холестерин* — предшественник

многих стероидов, например желчных кислот, в количестве 0,8—1,5 г в сутки. В организме он подвергается разнообразным превращениям и служит источником важнейших соединений (гормонов, витамина D₃, желчных кислот). Синтез холестерина начинается с конденсации (последовательного соединения) трех молекул ацетил-CoA и образования промежуточного продукта — *мевалоновой кислоты*. Затем она проходит через ряд превращений и образует циклическую форму *скалена*, из которого и образуется холестерин.

Желчные кислоты играют важную роль в регуляции всасывания липидов через стенки кишечника. Главный путь распада холестерина — превращение его в желчные кислоты — происходит в печени.

К нарушениям обмена липидов следует отнести:

- *недостаточное поступление жира с пищей*, которое является основным фактором в развитии разнообразных нарушений обменных процессов, а также причиной развития авитаминозов жирорастворимых витаминов, поскольку для их всасывания необходимы жиры (триглицериды) со сниженным против нормы количеством ненасыщенных жирных кислот, которые, как известно, не синтезируются в организме;

- *нарушение процессов переваривания и всасывания липидов*, связанное с недостаточной выработкой липолитических ферментов в пищеварительном тракте и секрецией желчи. Это нарушение приводит к выделению нерасщепившегося жира с калом, который приобретает характерный серовато-белый цвет (ахолический стул);

- *недостаток в организме липотропных веществ* типа холина, метионина, витамина F, которые предохраняют печень от повышенного отложения жира (жировой инфильтрации) путем участия в синтезе фосфолипидов;

- *кетонурия и кетонемия* (ацетонурия и ацетонемия). Эти нарушения проявляются в виде повышенного накопления в моче и крови *кетоновых тел*, к которым относятся нормальные конечные продукты распада жирных кислот: *ацетон, ацетоуксусная и гидроксимасляная кислоты*. Избыток кетоновых тел наблюдается в случаях сахарного диабета и голодания;

- *ожирение*. Эта патология характеризуется повышенным отложением жира во всем организме. Проблема ожирения — это проблема долголетия, так как люди с избыточной массой живут в среднем на 7 лет меньше, чем люди, имеющие нормальную для своего возраста и рода деятельности массу. Кроме этого в случае сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета и рака смертность у людей с ожирением в 3—4 раза выше.

В основе ожирения лежат, во-первых, *энергетический дисбаланс*, возникающий, когда количество энергии, поступающей в организм в виде пищи, намного больше того, которое человек расходует; во-вторых, нарушения липидного обмена, развивающиеся в случае высокой активности процессов синтеза жиров, что наблюдается при различных гормональных сдвигах;

- нарушения обмена холестерина представляют значительный интерес в связи с некоторыми заболеваниями, возникающими на этой почве. Хроническая гиперхолестеринемия (повышенное содержание холестерина в крови) приводит к атеросклерозу.

При атеросклерозе уровень холестерина в крови в отдельных случаях достигает 5 г/л вместо 1,5—2,5 г/л в норме. Наблюдается повышенный уровень β -липопротеидов, которые являются основной транспортной формой липидов и холестерина.

С пищей в организм в норме поступает около 0,2—0,5 г холестерина в сутки, и это количество практически не влияет на его уровень в организме. Поэтому в основном накапливается эндогенный холестерин, количество которого в организме достигает 0,8—1,5 г/сут.

Отмечено, что увеличение содержания холестерина наблюдается при избыточном потреблении жиров и углеводов и нарушении процессов использования ацетил-СоА. Лечение должно быть направлено на нормализацию энергетического обмена и торможение эндогенного синтеза холестерина в организме.

В клинике проводится определение уровня общих жиров и жировых фракций, свободных жирных кислот, фосфатидов и холестерина.

В норме количество общего жира в плазме крови составляет 5,6 г/л, из них нейтрального жира — 1,4 г/л. Эти величины через 1—4 часа после приема пищи могут увеличиться соответственно до 7,8 и 2 г/л. Такое физиологическое состояние называется *алиментарной (пищевой) гиперлипемией*. Патологическая гиперлипемия обнаруживается при сахарном диабете, панкреатитах (воспалениях поджелудочной железы), острых гепатитах (воспалениях паренхимы печени), лихорадочных состояниях.

В норме в плазме крови α - и β -липопротеиды содержатся в количествах 2,0—2,5 и 2,5—3,0 г/л соответственно. Обнаружено, что при атеросклерозе количество β -липопротеидов возрастает, а снижение уровня α -липопротеидов свидетельствует о циррозе печени.

Общее содержание в плазме крови свободных жирных кислот (в норме 2,9—3,4 г/л) значительно повышается при нефрозах (заболевания почек) и диабете.

Увеличение концентрации фосфолипидов (в норме 2,2 г/л) отмечается при диабете, нефрозах, желтухах. При пониженной функции щитовидной железы количество фосфолипидов снижено.

Концентрация холестерина возрастает при атеросклерозе, диабете, микседеме, а при острых инфекционных заболеваниях, легочном туберкулезе, острых воспалениях печени и поджелудочной железы снижается.

Глава 15

МЕТАБОЛИЗМ АМИНОКИСЛОТ И НУКЛЕОТИДОВ

Основным источником аминокислот в организме являются белки пищи. В организме взрослого человека метаболизм азота в целом сбалансирован, т.е. количества поступающего и выделяемого белкового азота примерно равны. Если выделяется только часть вновь поступающего азота, баланс положителен. Это наблюдается, например, при росте организма. Отрицательный баланс встречается редко, главным образом как следствие заболеваний.

15.1. Пути и энергетика метаболизма аминокислот в тканях ЖИВОТНЫХ

Метаболизм аминокислот включен в общую схему метаболизма организма (рис. 15.1). Переваривание пищевых белков осуществляется под действием протеолитических ферментов (пептидгидролазы, пептидазы, протеазы) и начинается в желудке, а завершается в тонком кишечнике (табл. 15.1).

Таблица 15.1

Некоторые протеолитические ферменты пищеварительного тракта

Профермент	Место синтеза	Место активации и активатор	Расщепляемые пептидные связи
Пепсиноген	Слизистая оболочка желудка	<i>Полость желудка</i> Отщепление N-концевого пептида от пепсиногена под влиянием HCl и пепсина	x-Tyr x-Phe-
Трипсиноген	Поджелудочная железа	<i>Полость тонкой кишки</i> Отщепление N-концевого гексапептида от трипсиногена при участии энтерпептидазы, выделяемой клетками кишечника, с последующим автокатализом под действием трипсина	-Arg-x- -Lys-x-
Химотрипсиноген	Поджелудочная железа	<i>Полость тонкой кишки</i> Активируется под влиянием трипсина	-Tyr-x- -Phe-x- -Trp-x-

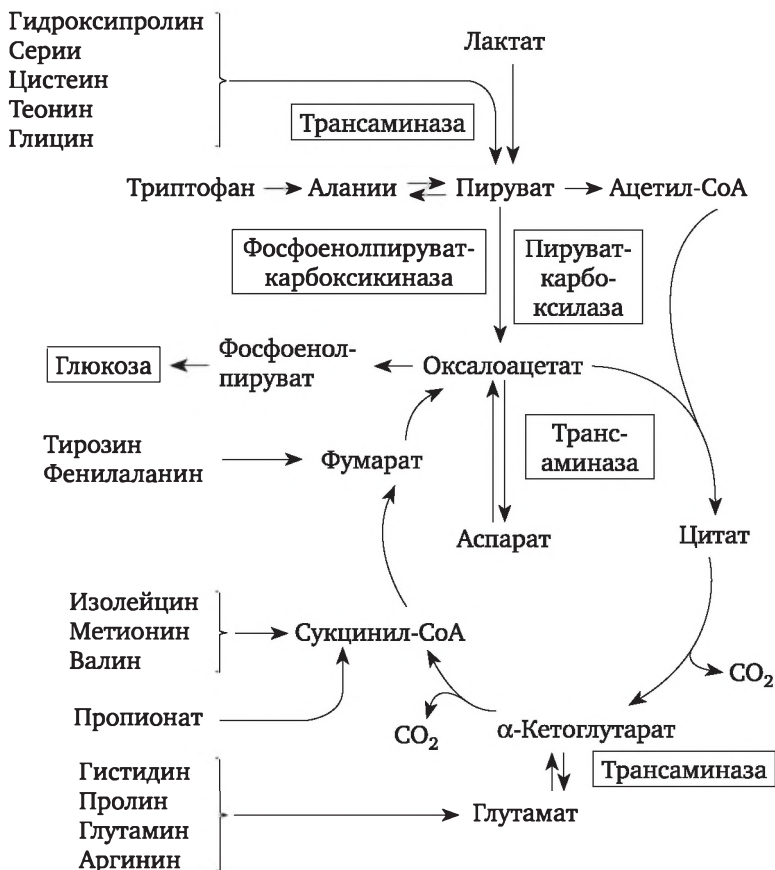


Рис. 15.1. Аминокислоты в общей схеме метаболизма организма

Свободные аминокислоты всасываются, поступают в воротную вену и доставляются кровотоком в печень, в клетках которой включаются в различные пути метаболизма, главным из которых является синтез собственных белков. Катаболизм аминокислот в основном происходит в печени.

Какой-либо специальной формы хранения аминокислот в организме не существует, поэтому резервными для аминокислот веществами служат все функциональные белки, но основными являются белки мышц (их больше всего), однако при их интенсивном использовании, например при глюконеогенезе в печени, наблюдается мышечная атрофия.

Из 20 аминокислот, входящих в состав белков, половину человек получает только из пищевых продуктов. Их называют *незаменимыми*, так как организм их не синтезирует или их синтез включает особенно много стадий и требует большого числа специализированных ферментов, кодируемых многими генами. Иными словами, их синтез чрезвычайно «дорог» для организма. Абсолютно незаменимыми для человека являются *лизин, фенилаланин и триптофан*.

Ниже представлена классификация аминокислот по способности организма к их синтезу.

Незаменимые аминокислоты

Аргинин (нужен только в период роста)
Гистидин
Изолейцин
Лейцин
Лизин
Метионин
Фенилаланин
Треонин
Триптофан
Валин

Заменимые аминокислоты

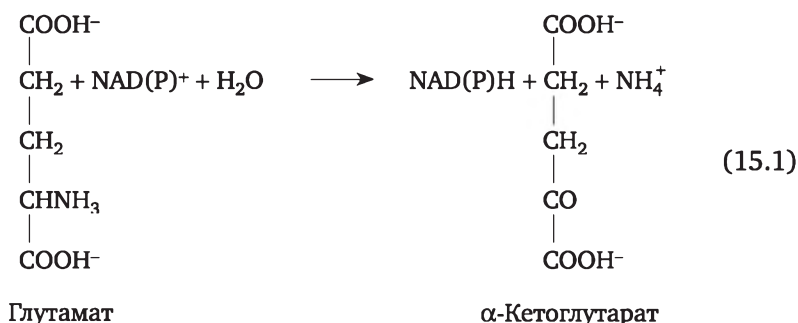
Аланин
Аспаргин
Аспаргиновая кислота
Цистеин
Глутаминовая кислота
Глутамин
Глицин
Пролин
Серин
Тирозин

Результатом недополучения в пищевом рационе хотя бы одной незаменимой аминокислоты является патологическое состояние, называемое *квashiоркором*. Его проявлениями являются истощение, апатия, недостаточный рост, а также снижение сывороточных белков в крови. Последнее приводит к снижению онкотического давления крови, что является причиной отеков. От квashiоркора особенно страдают дети, так как растущему организму необходимо синтезировать много белков.

Однако даже при длительном употреблении пищи, богатой полноценными белками, организм не может отложить про запас незаменимые аминокислоты. Избыток аминокислот (не использованных в синтезе белка и на другие специфические нужды) расщепляется для производства энергии или создания энергетических запасов (жиров и гликогена).

Основные направления метаболических путей, по которым происходит поступление аминокислот в организм и дальнейшие их превращения в организме, приведены на рис. 15.2.

Одной из важнейших в метаболизме аминокислот является *глутаминовая кислота* (глутамат), дезаминирование которой катализируется *глутаматдегидрогеназой*. Глутамат выступает восстановителем либо NAD^+ , либо NADP^+ , причем при физиологических значениях pH группа NH_3 протонирована и находится в ионизированной форме (NH_4^+):



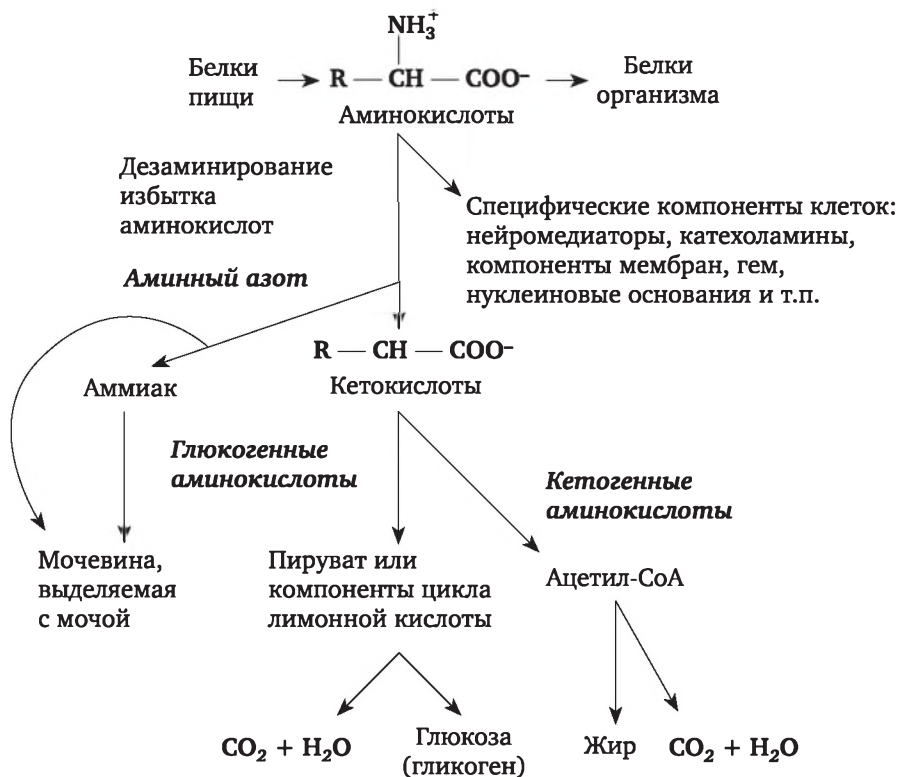


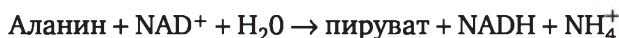
Рис. 15.2. Общая схема метаболизма аминокислот

Глутаматдегидрогеназа — ключевой фермент дезаминирования, участвующий в окислении многих аминокислот. Она аллостерически ингибируется АТФ и GTP (их можно назвать индикаторами высокого уровня энергии: запасов много — «топлива» не нужно) и активируется ADP и GDP (увеличение их содержания говорит о том, что запасы «топлива» иссякают).

α -Кетоглутарат участвует в цикле лимонной кислоты, что делает возможным, с одной стороны, окисление глутаминовой кислоты (уже после дезаминирования) до H_2O и CO_2 , а с другой стороны, α -кетоглутарат может превращаться в оксалоацетат, что свидетельствует об участии глутаминовой кислоты в синтезе глюкозы. Аминокислоты, которые могут участвовать в синтезе глюкозы, называются *глюкогенными*.

Для других аминокислот (кетогенных) не имеется соответствующих ферментов — дегидрогеназ. Дезаминирование большинства из них основано на переносе аминогруппы с аминокислоты на α -кетоглутарат, в результате которого образуется соответствующая кетокислота и глутамат, который далее дезаминируется глутаматдегидрогеназой, т.е. процесс протекает в две стадии.

Первая стадия называется *трансаминированием*, вторая — *дезаминированием*. Стадия трансаминирования может быть представлена следующим образом:

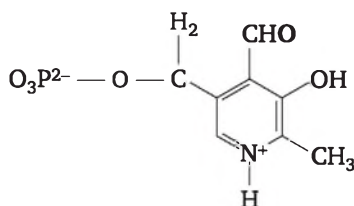
$$\begin{array}{ccccccc}
 \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CHNH}_3^+ \\ | \\ \text{COO}^- \end{array} & + & \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CO} \\ | \\ \text{COO}^- \end{array} & \longrightarrow & \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ | \\ \text{CO} \\ | \\ \text{COO}^- \end{array} & + & \begin{array}{c} \text{COO}^- \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CH}_2 \\ | \\ \text{CHNH}_3^+ \\ | \\ \text{COO}^- \end{array} \\
 \text{Аланин} & & \alpha\text{-Кетоглутарат} & & \text{Пируват} & & \text{Глутамат}
 \end{array}$$


По меньшей мере, у 11 аминокислот (аланина, аргинина, аспаргина, тирозина, лизина, аспаргиновой кислоты, цистеина, лейцина, фенилаланина, триптофана и валина) в результате ферментативной реакции трансаминирования отщепляется α -аминогруппа аминокислоты, которая переносится на α -углеродный атом одной из трех α -кетокислот (пировиноградной, щавелевоуксусной или α -кетоглутаровой).

Известны две наиболее важные трансаминазы — аланин-трансаминаза и глутамат-трансаминаза. Реакции, катализируемые трансаминазами, легко обратимы, и их константы равновесия близки к единице.

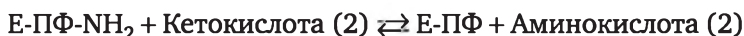
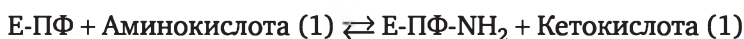
В активных центрах всех трансаминаз имеется кофермент *пиридоксаль-5'-фосфат (ПФ)*, участвующий во многих ферментативных

превращениях аминокислоты в качестве электрофильного интермедиата:



пиридоксаль-5'-фосфат

Активной группой пиридоксаль-5'-фосфата служит альдегидная группа $-\text{CHO}$. Функция кофермента в составе фермента (Е-ПФ) заключается в том, чтобы сначала принять аминогруппу от аминокислоты (акцептирование), а затем передать ее кетокислоте (донорство) (реакция трансаминации):



α -Кетоглутарат и глутамат широко участвуют в метаболическом потоке азота, который отражает *глутаматный путь* трансформации аминокислот.

Рассмотренный путь трансаминации является наиболее общим для аминокислот, однако некоторые из них отдают свою аминогруппу иначе (реакция деаминации).

Серин деаминируется в реакции дегидратации, катализируемой специфической дегидрогеназой.

Цистеин (содержит тиольную группу вместо гидроксильной у серина) деаминируется после отщепления H_2S (процесс идет в бактериях). В обеих реакциях продуктом является пируват (рис. 15.3).

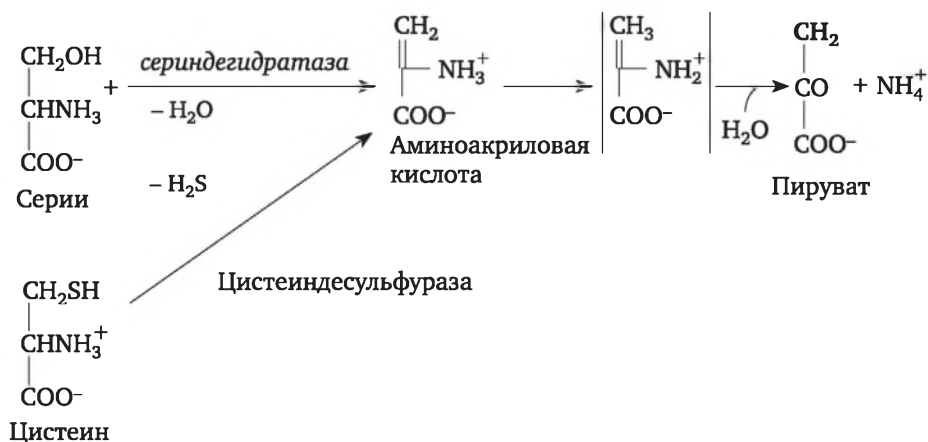


Рис. 15.3

Гистидин дезаминируется с образованием уроканиновой кислоты, которая в серии последующих реакций превращается в аммиак, C₁-фрагмент, присоединенный к тетрагидрофолиевой кислоте, и глутаминовую кислоту.

Физиологически важный путь превращений гистидина связан с его декарбоксилированием и образованием гистамина (рис. 15.4).

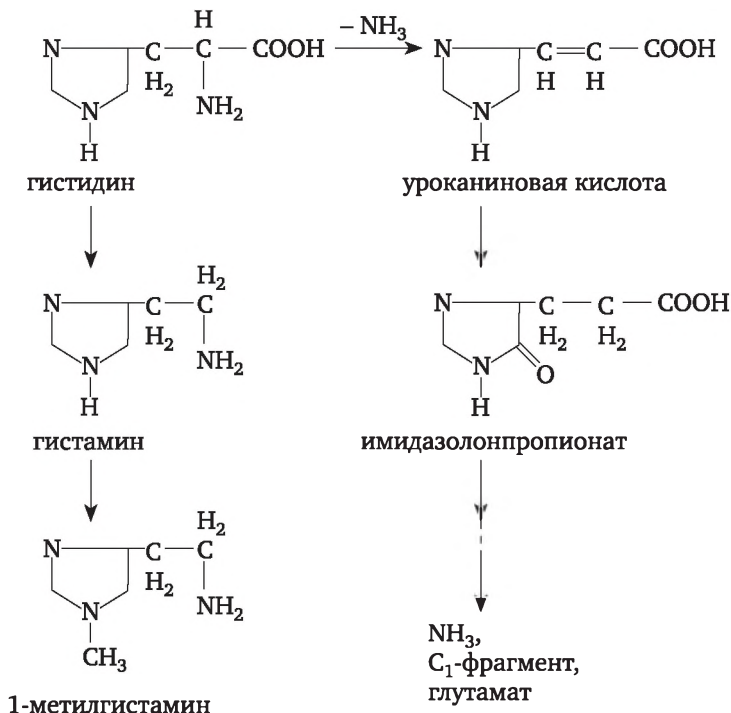


Рис. 15.4

Дезаминирование гистидина катализируется *гистидазой*, содержащейся в печени и в коже; уроканиновая кислота превращается в имидазолонпропионовую кислоту при действии *урокаидазы*, которая содержится только в печени. Оба эти фермента появляются в крови при заболеваниях печени, и измерение их активности используется для диагностики.

15.2. Наследственные нарушения катаболизма фенилаланина

Специфической частью катаболизма *фенилаланина* и *тирозина* является последовательность реакций, завершающаяся образованием фумарата и ацетоацетата (рис. 15.5).

Фенилаланин в норме прямо не подвергается дезаминированию, предварительно он должен превратиться в тирозин с участием фермента *фенилаланингидроксилазы*. Данный фермент интересен тем, что два

атома водорода в реакции этого превращения поставляются донором электронов — коферментом *тетрагидробиотином* (RH_4), который при этом трансформируется в *дигидробиотин* (RH_2).

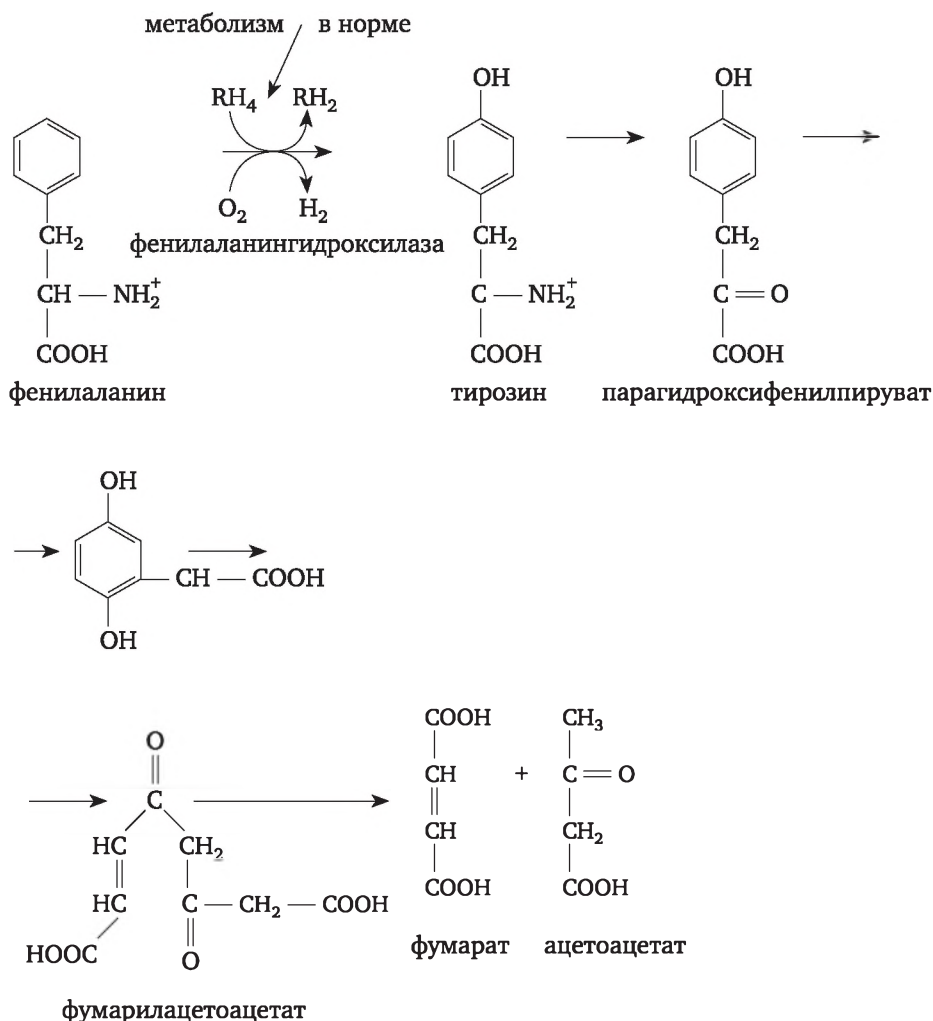
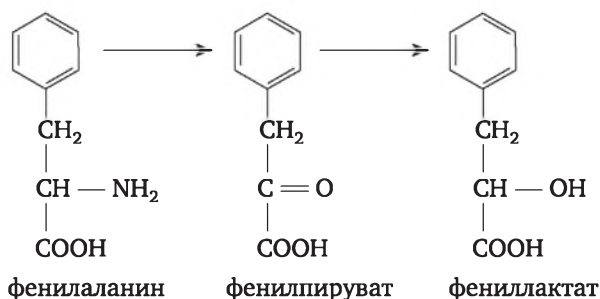


Рис. 15.5. Катаболизм фенилаланина и тирозина

Известен сравнительно часто встречающийся генетический дефект, при котором фенилаланингидроксилазная активность в тканях не обнаруживается, в результате чего блокируется реакция превращения фенилаланина в тирозин. Этот дефект метаболизма проявляется как болезнь, называемая *фенилкетонурией*. Концентрация фенилаланина в тканях больного повышается в десятки раз; его содержание в крови достигает 10—80 мг/дл (в норме 1—4 мг/дл).

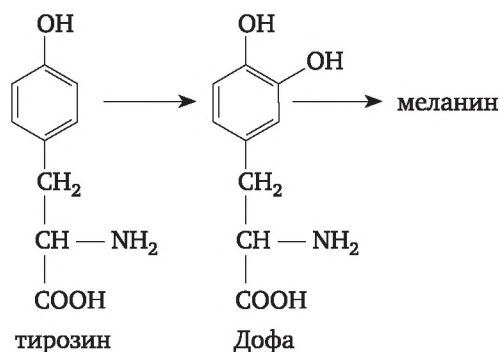
В этих условиях фенилаланин трансаминируется и превращается в фенилпировиноградную и фенилмолочную кислоты (в норме они практически не образуются).



Все эти соединения выделяются с мочой больного. Наиболее опасно это заболевание для младенцев, так как фенилпируват необратимо повреждает мозг, в результате чего у детей возникает резкое нарушение умственного и физического развития (в 10 лет ребенок не ходит, знает всего несколько слов). Если болезнь обнаруживается сразу после рождения, то при диете, бедной фенилаланином, повреждение мозга ребенка в значительной мере предотвращается. Родителей — гетерозиготных носителей гена фенилкетонурии можно определить с помощью теста толерантности к фенилаланину.

Существует также наследственная болезнь *алкаптонурия*, связанная с блокированием катаболизма тирозина на стадии гомогентизиновой кислоты. Для этой болезни характерно выделение с мочой значительного количества гомогентизиновой кислоты, представляющей собой дифенол, который, быстро окисляясь кислородом воздуха, превращается в черный пигмент.

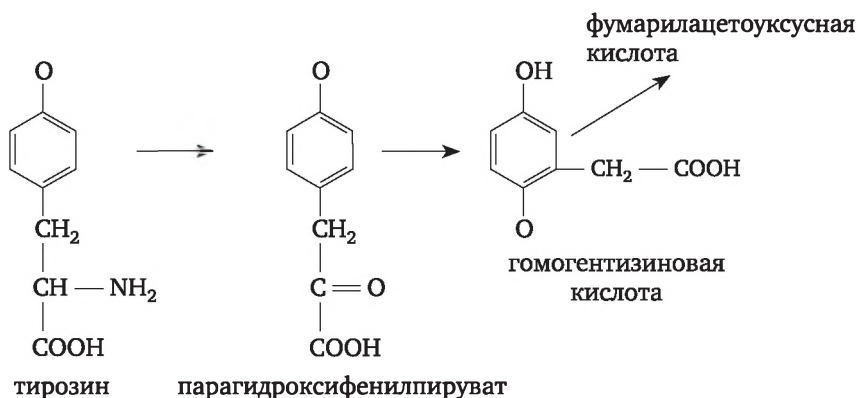
В норме биосинтез меланинов осуществляется в пигментных клетках (меланоцитах). Тирозин служит предшественником темноокрашенных пигментов меланинов (от греч. *melas* — черный). При действии тирозиназы тирозин окисляется в дигидроксифенилаланин (Дофа), из которого в результате неферментативных реакций образуется меланин.



Меланины представляют собой группу полимерных соединений с неупорядоченной структурой. Цвет кожи зависит от количества и распределения меланоцитов и содержания меланинов в них. Меланины имеются и в сетчатке глаз. Врожденное отсутствие тирозиназы в меланоцитах или отсутствие самих меланоцитов проявляется как аль-

бинизм. Для этой болезни характерны отсутствие пигментации кожи и волос, светобоязнь, снижение остроты зрения.

Гомогентизиновая кислота в норме превращается в фумарилацетоксусную кислоту при действии *оксидазы гомогентизиновой кислоты*. У больных *алкаптонурией* этот фермент отсутствует или его активность очень низка, поэтому превращение тирозина останавливается на стадии образования гомогентизиновой кислоты.



Еще одно генетическое нарушение — *болезнь кленового сиропа*. При этой патологии в организме накапливаются кетокислоты, соответствующие лейцину, изолейцину и валину. Заболевание получило свое название по характерному запаху мочи и сопряжено с нарушениями биохимических превращений в мозге.

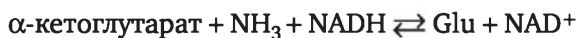
В настоящее время известно более ста болезней, обусловленных наследственными дефектами, поскольку простые биохимические реакции контролируются генами. Последнее указывает на то, что число аллельных вариантов соответствующего гена в генофонде человека больше двух. Многие наследственные нарушения обмена аминокислот, как и других соединений, приводят к нарушениям развития и функций мозга.

Катаболизм разрушения С–С связей углеродных скелетов, полученных в результате дезаминирования аминокислот, приводит к образованию либо метаболитов, способных включаться в глюконеогенез (гликогенные аминокислоты) и поддерживать уровень глюкозы в крови при голодании, либо к образованию ацетил-CoA, а далее из него жиров или кетонных тел (кетогенные аминокислоты).

15.3. Выведение аминного азота из организма

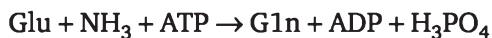
Образующийся при дезаминировании аминокислот аммиак токсичен и должен быть выведен из организма. Ион аммония (в физиологических условиях аммиак находится в форме иона аммония) может непосредственно включаться в биомолекулы в нескольких реакциях:

1) *восстановительное аминирование α-кетоглутарата с образованием глутамата при участии глутаматгидрогеназы:*



Эта реакция не является основным путем обезвреживания аммиака, так как протекает в небольшом объеме;

2) *образование из глутамата (Glu) амида глутаминовой кислоты, т.е. глутамина (Gln), при участии глутаминсинтетазы:*



Эта реакция протекает во многих тканях и особенно важна для нервной ткани, более других чувствительной к токсическому действию аммиака;

3) *образование карбамоилфосфата* путем компенсации NH_3 , CO_2 , АТР, катализируемое карбамоилфосфатсинтазой 1 (фермент работает в митохондриях). Эта реакция происходит в печени и является начальной стадией синтеза мочевины — конечного продукта метаболизма азота:



15.4. Биосинтез мочевины (орнитиновый цикл)

Аминный азот катаболизируемых аминокислот выводится из организма млекопитающих (человека) с мочой в виде мочевины — инертного водорастворимого нетоксичного вещества.

Образование мочевины целиком протекает в печени и состоит из ряда ферментативных реакций, представляющих собой замкнутый цикл, получивший название *цикл мочевины*. В этом цикле две аминокислоты, отщепляющиеся при деаминации аминокислот, включаются вместе с молекулой CO_2 в цикл, в результате которого из орнитина (диаминокислоты, являющейся гомологом лизина и не входящей в состав белков) в конечном счете образуется аргинин.

Далее при отщеплении гуанидиновой группы от аргинина при помощи гидролитического фермента аргиназы образуется орнитин (рис. 15.6).

Этот цикл катализируется ферментами и регулируется путем изменения их содержания: количество ферментов возрастает при значительном поступлении аминокислот из пищи, а также при голодании, когда расщепляются мышечные белки. Аллостерически цикл регулируется на стадии карбамоилфосфатсинтазы.

Первая аминокислота вступает в цикл мочевины в виде свободного аммиака, образовавшегося в процессе деаминации глутамата в митохондриях (по реакции (15.1)). Свободный аммиак вместе с CO_2

образует карбамоилфосфат (реакция (15.2)), представляющий собой высокоэнергетическое соединение, мощный ацилирующий агент.

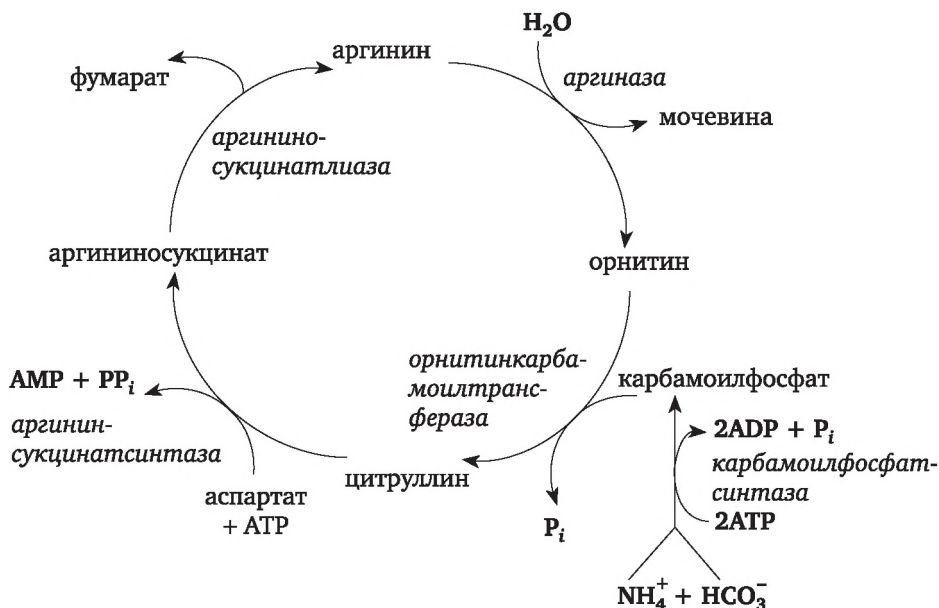


Рис. 15.6

Далее карбамоилфосфат реагирует с орнитином, отдавая ему свою карбамильную группу, в результате чего образуются **цитруллин** и свободная фосфорная кислота. Орнитин преобразуется в цитруллин внутри митохондрий. Данная реакция катализируется **орнитин-карбамоилтрансферазой** (рис. 15.7).

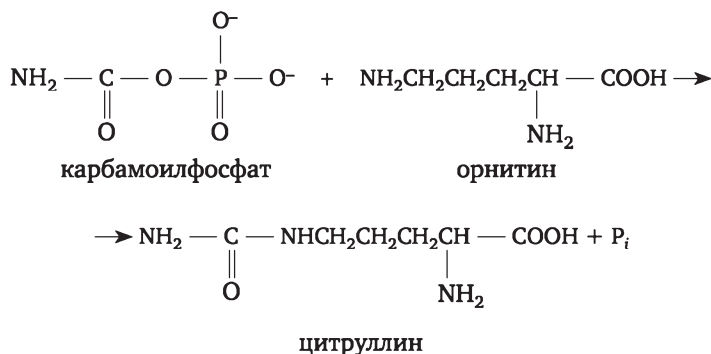


Рис. 15.7

Второй этап синтеза аргинина протекает в цитоплазме (цитозоле). Второй аминогруппой, вступающей в цикл мочевины, является аминогруппа **аспарагиновой кислоты** (**аспартата**) (рис. 15.8).

На следующей стадии при расщеплении **аргининосукцината** образуются **аргинин** и **фумарат** (рис. 15.9).

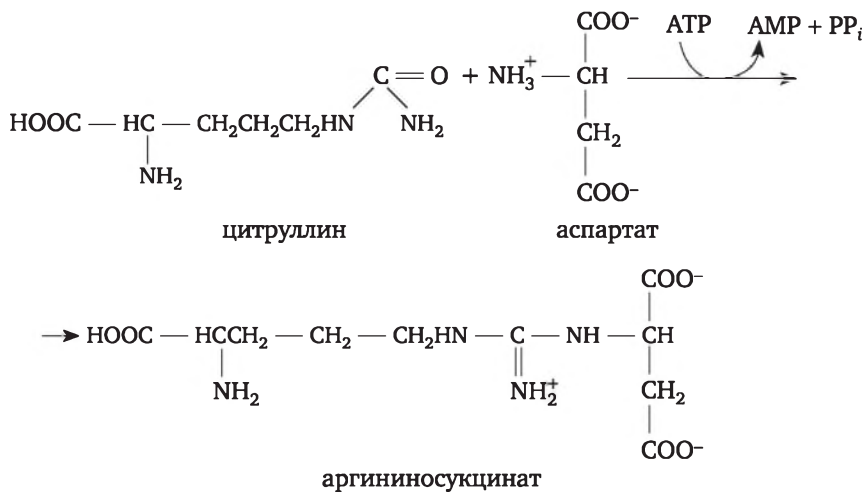


Рис. 15.8

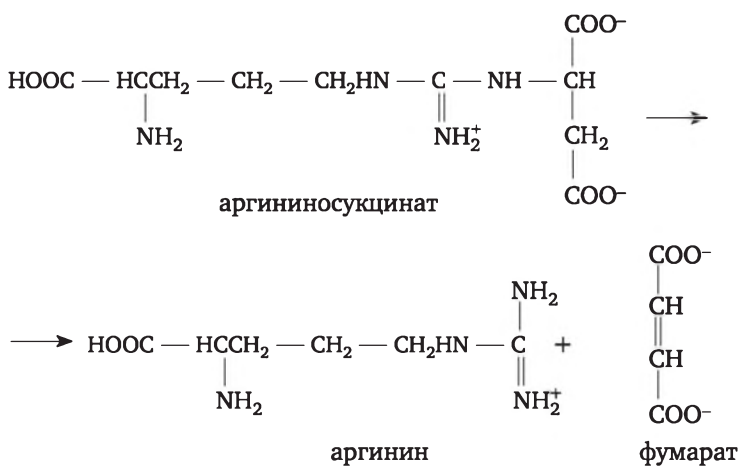
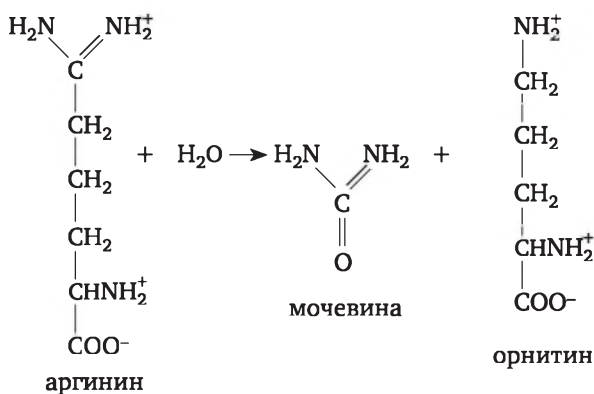


Рис. 15.9

И наконец, отщепление гуанидиновой группы от *аргинина* приводит к образованию *мочевины* и регенерации *орнитина*.



Таким образом, суммарное уравнение цикла мочевины имеет вид



15.5. Небелковые азотистые компоненты крови

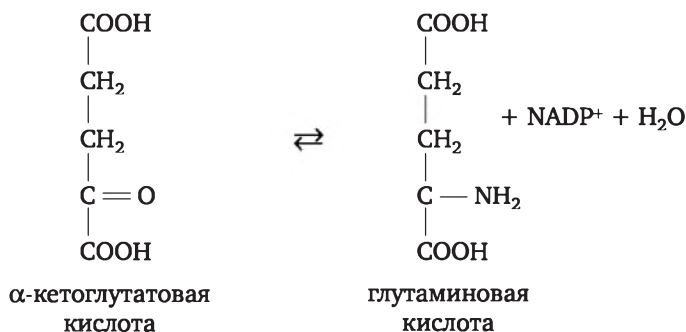
Небелковый азот крови включает азот, входящий в состав мочевины (50 % от общего количества небелкового азота), аминокислот (25 %), мочевой кислоты (4 %), креатина (5 %) и других небелковых азотсодержащих веществ (полипептиды, нуклеотиды, нуклеозиды, глутатион, билирубин, холин, гистамин и др.). Таким образом, в состав небелкового азота крови входит главным образом азот конечных продуктов обмена простых и сложных белков. Небелковый азот крови называют также остаточным азотом, т.е. остающимся в фильтрате после осаждения белков. У здорового человека колебания в содержании небелкового, или остаточного, азота крайне незначительны, и его концентрация в цельной крови составляет 15—25 ммоль/л. При ряде патологий уровень небелкового азота в крови повышается. Это состояние носит название *азотемия*.

Нормальное содержание мочевины в крови составляет 3,3—6,6 ммоль/л. Установлено, что мочевина в 18 раз менее токсична, чем остальные азотистые вещества. При острой почечной недостаточности концентрация мочевины в крови составляет 50—83 ммоль/л. Нарастание содержания мочевины в крови до 16—20 ммоль/л (в расчете на азот мочевины) является признаком нарушения функции почек средней тяжести, до 33 ммоль/л — тяжелым, а свыше 50 ммоль/л — очень тяжелым нарушением с неблагоприятным прогнозом. Количество мочевины в крови и моче понижено при циррозе печени, острой желтой атрофии, отравлениях фосфором, мышьяком и другими ядами, поражающими печень.

15.6. Биосинтез аминокислот

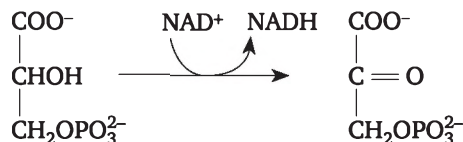
Аминокислоты синтезируются из промежуточных соединений, образующихся в процессах гликолиза и цикла лимонной кислоты (цикла Кребса). Предшественниками всех аминокислот в организме являются пять соединений: 3-фосфоглицерат, фосфоенолпируват, пируват, оксалоацетат и α -кетоглутарат. Эти соединения вместе с двумя моносахаридами пентозофосфатного пути служат предшественниками всех аминокислот в бактериях и растениях.

Фундаментальное значение для биосинтеза всех аминокислот во всех организмах имеет реакция образования глутаминовой кислоты (глутамата) из аммиака и α -кетоглутаровой кислоты (α -кетоглутарата) под действием фермента *глутаматдегидрогеназы*.

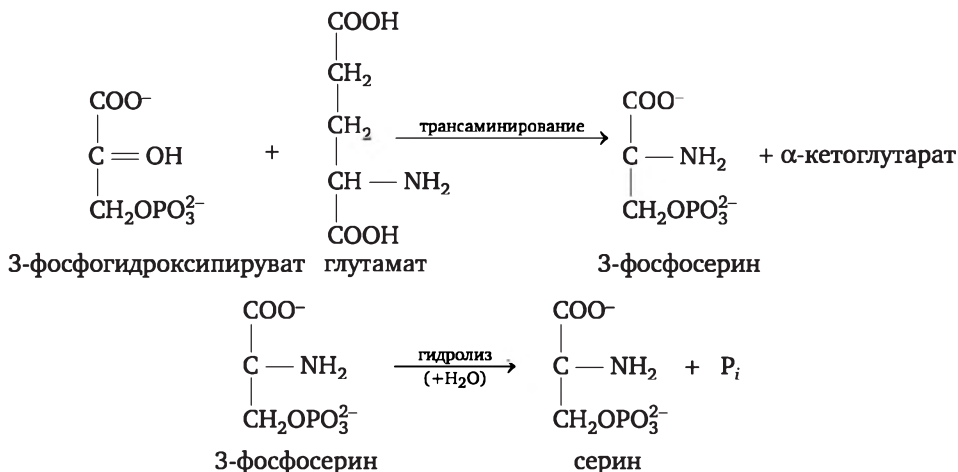


Трансаминирование α -кетокислот с использованием глутаминовой кислоты в качестве донора аминогруппы представляет собой основной путь введения α -аминогруппы при биосинтезе большинства других аминокислот.

Серин синтезируется в три стадии из промежуточного продукта гликолиза — 3-фосфоглицерата, который сначала окисляется в кетокислоту — 3-фосфогидроксипируват.

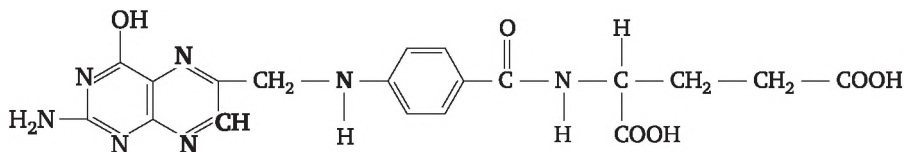


Затем эта кетокислота подвергается трансаминированию глутаминовой кислотой и превращается в 3-фосфосерин, который далее гидролизует до серина.

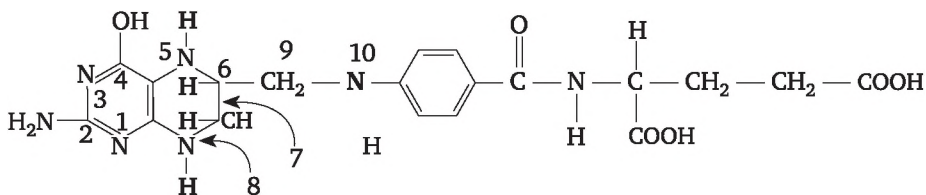


Глицин — простейшая аминокислота, синтез которой осуществляется путем удаления концевой гидроксиметиленовой группы серина. Реакция протекает с участием кофермента — тетрагидрофолиевой кислоты (FH_4), который служит переносчиком одноуглеродных групп. Такого рода перенос играет важную роль в синтезе нуклеотидов.

Тетрагидрофолиевая кислота образуется из птероилглутаминовой (фолиевой) кислоты (витамин F). Четыре атома водорода, добавляющиеся при образовании тетрагидрофолиевой кислоты (FH₄), выделены жирным шрифтом. Атомы N-5 и N-10 участвуют в переносе одноуглеродных групп.



птероилглутаминовая кислота



тетрагидрофолиевая кислота

FH₄ служит акцептором β-углеродного атома, который отщепляется от серина в результате реакции, протекающей с участием пиридоксальфосфата и приводящей к образованию глицина.

Суммарно реакцию биосинтеза глицина из его предшественника — серина — можно записать следующим образом:



Заболевания при нарушении обмена аминокислот

В сыворотке крови (в норме) содержание свободных аминокислот составляет 2,7—4,6 ммоль/л. Аминокислотный состав сыворотки соответствует составу свободных аминокислот в органах и тканях за исключением более низкого содержания аспартата и глутамата и повышенного содержания аспарагина и глутамина (25 %). Изменение содержания общего аминного азота в сыворотке и моче может служить одним из показателей нарушения соотношения катаболических или анаболических процессов в организме, сопровождающих ряд патологий.

Увеличение содержания аминокислот в крови (*гипераминоацидемия*) наблюдается при заболеваниях печени, что связано с пониженным синтезом мочевины, а также при различных тяжелых инфекционных заболеваниях, опухолях, тяжелых оперативных вмешательствах, приводящих к усиленному распаду белков тканей.

Повышение содержания аминокислот в моче (*гипераминоацидурия*) наблюдается при заболеваниях паренхимы печени. Это связано с нару-

шением процессов дезаминирования и трансминирования в печени, а также в связи с усиленным распадом клеток при тяжелых инфекционных заболеваниях, злокачественных новообразованиях, тяжелых травмах, миопатии, коматозных состояниях, гипертиреозе, при лечении кортизоном и АКТГ.

15.7. Пути и энергетика биосинтеза пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов

Центральное звено биосинтеза мононуклеотидов — это синтез пуриновых и пиримидиновых оснований. Почти все организмы за исключением немногих бактерий способны синтезировать основания нуклеиновых кислот из очень простых предшественников. Для биосинтеза мононуклеотидов характерно то, что этот процесс находится под непосредственным контролем значительного числа *аллостерических регулирующих систем*. Четыре основных рибонуклеотида и четыре основных дезоксирибонуклеотида включаются в РНК и ДНК клеток в строго определенных молярных соотношениях, которые меняются в зависимости от вида. Поэтому регуляторные механизмы должны обеспечивать образование нуклеотидного «фонда» с заданным соотношением нуклеотидов, соответствующим потребностям данного типа клеток. Эти механизмы также способствуют наиболее экономному использованию азотсодержащих предшественников и промежуточных продуктов (как в процессе биосинтеза аминокислот). Во многих клетках существуют специальные пути, обеспечивающие «утилизацию» свободных пуринов и пиримидинов, образующихся при гидролизе нуклеотидов.

Синтез пуриновых нуклеотидов. Пуриновый цикл синтезируется («собирается») поэтапно путем присоединения необходимых фрагментов к *рибозо-5-фосфату*. В результате к моменту завершения построения цикла образуется готовый нуклеотид. Иными словами, синтез пуринов *de novo* не дает свободных пуриновых оснований — сразу образуются пуриновые нуклеотиды. Процесс присоединения к рибозо-5-фосфату называется *риботилированием*.

Ниже представлена химическая структура пурина, на которой отмечены источники атомов в кольце пурина (рис. 15.10).

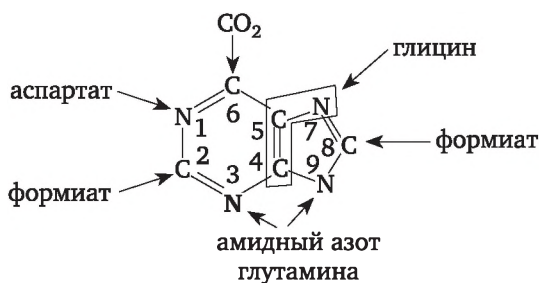


Рис. 15.10

Два атома азота (N-3 и N-9) пуринового кольца входили в состав амидной группы глутамина, третий атом азота (N-1) — аспарагиновой кислоты (аспартата), а (N-7) — глицина. Атомы углерода (C-4, C-5) входили в состав глицина, т.е. молекула глицина дает три атома. Атомы углерода C-2 и C-8 происходят из формиата, а шестой атом углерода из CO₂.

Сначала образуются нуклеотиды с открытой цепью, а затем кольцо замыкается и образуется пуриновый нуклеотид.

1. Синтез адениловой и гуаниловой кислот начинается с D-рибозо-5-фосфата, который при ферментативном пиррофосфорилировании за счет энергии АТФ превращается в α-5-фосфорибозил-1-пиррофосфат (ФРПФ).

В этой реакции происходит перенос пиррофосфатной группы АТФ (рис. 15.11).

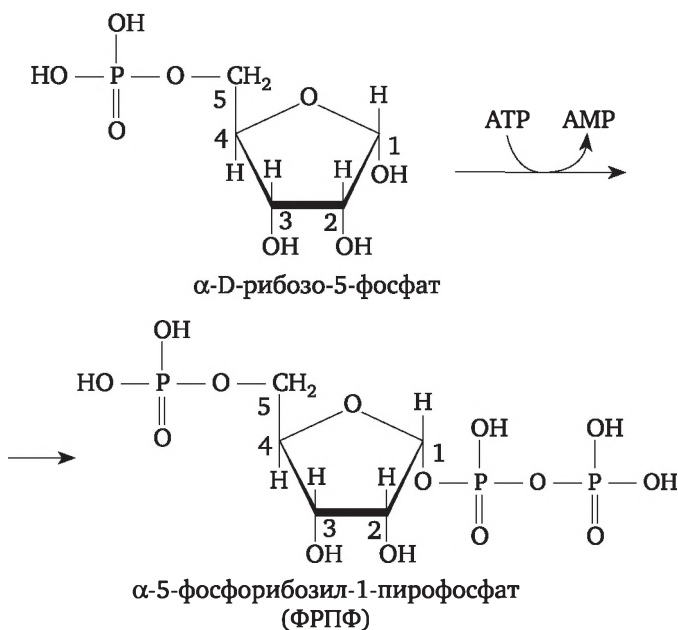


Рис. 15.11

2. На следующей стадии α-5-фосфорибозил-1-пиррофосфат реагирует с глутамином. При этом аминогруппа амидной части молекулы глутамина замещает пиррофосфатную группу в первом положении пентозы. В результате образуется β-5-фосфорибозил-1-амин и выделяются свободная глутаминовая кислота и неорганический пиррофосфат (рис. 15.12).

3. На третьей стадии карбоксильная группа глицина взаимодействует с 1-аминогруппой β-5-фосфорибозил-1-амин. В этой реакции для образования амидной связи между глицином и аминсахаром требуется АТФ. Продуктами реакции являются рибонуклеотид с открытой цепью, глицинамид-рибонуклеотид, а также ADP и фосфат (рис. 15.13).

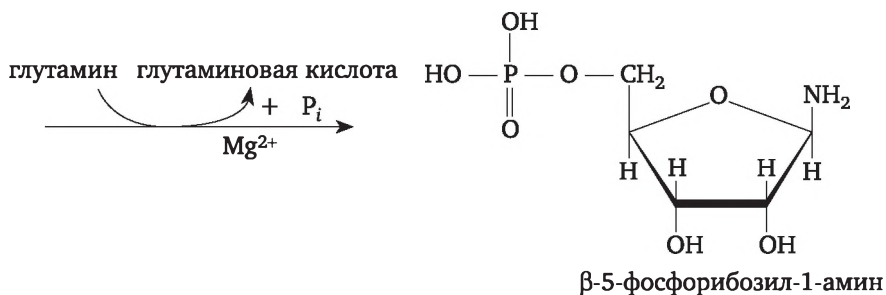
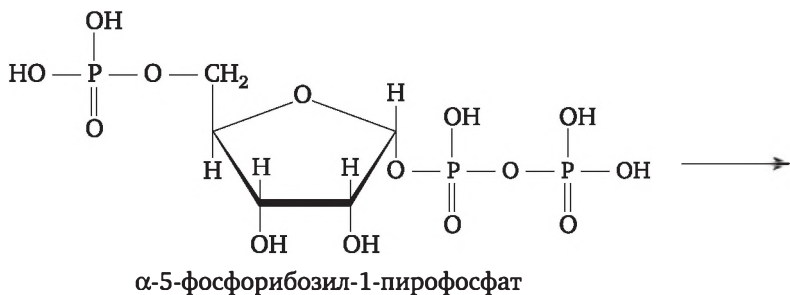


Рис. 15.12

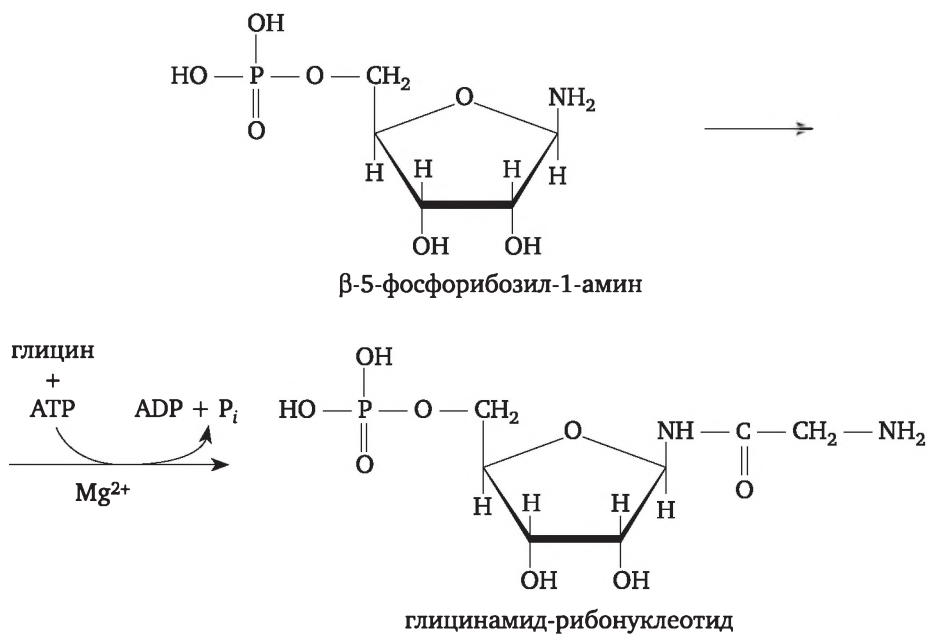


Рис. 15.13

4. Далее начинает формироваться пуриновое кольцо, причем атомы 4, 5, 7 и 9 происходят из глицинамидной части молекулы. Этот процесс завершается добавлением одноуглеродной формильной группировки, дающей восьмой атом углерода пуринового кольца.

Донором формильной группы служит N⁵, N¹⁰-метенил-тетрагидрофолат, переносчик формильной группы. Формильная группа присоединяется к свободной α-аминогруппе глицинамидной части молекулы, в результате чего образуется α-N-фор-милглицинамид-рибонуклеотид (рис. 15.14).

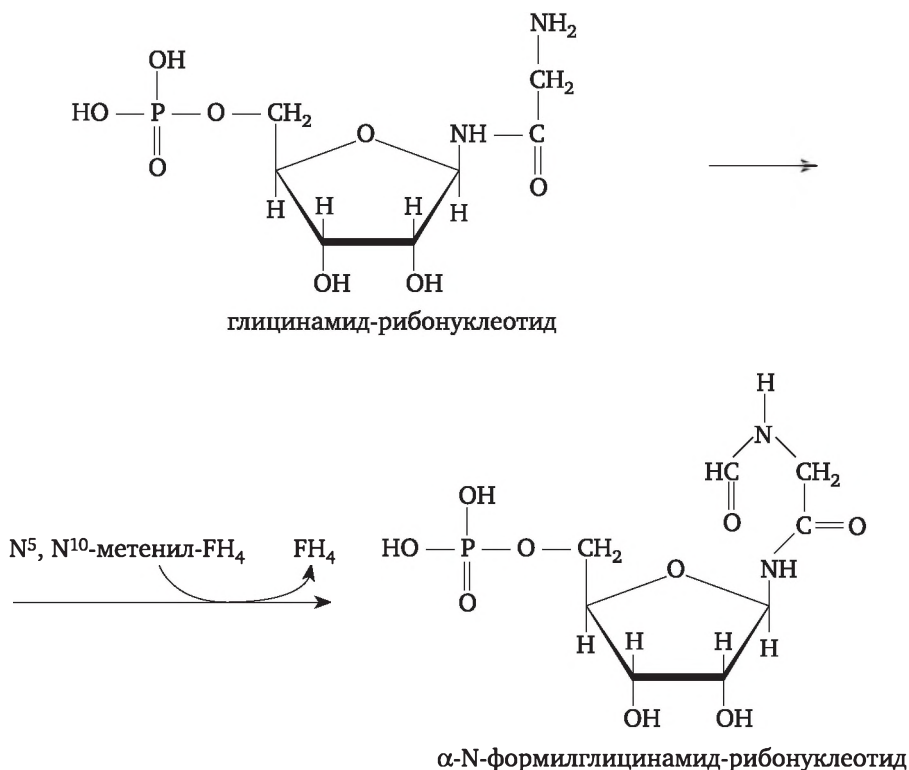


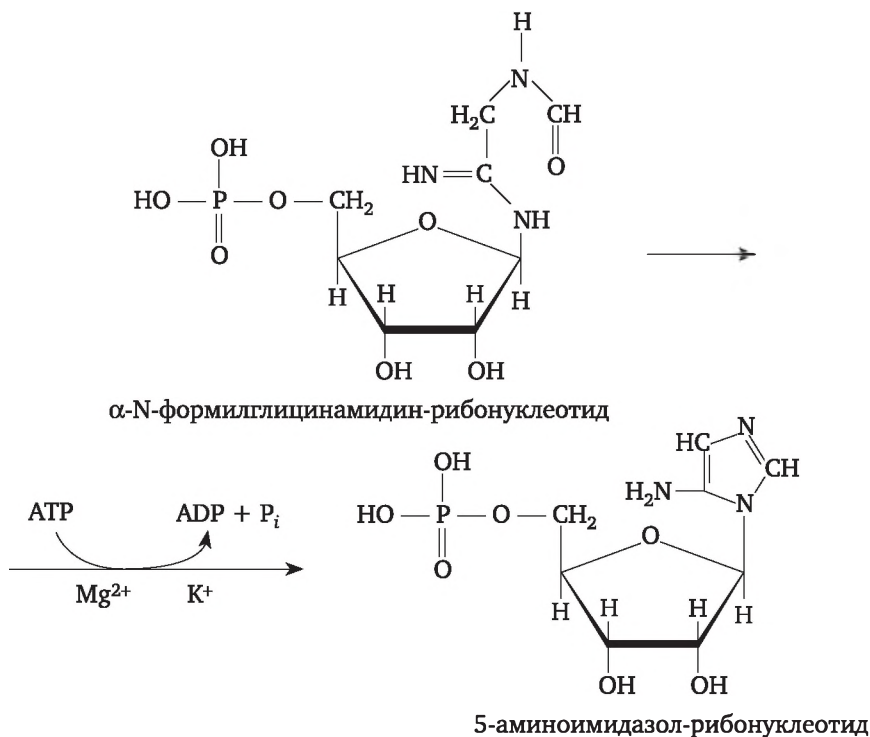
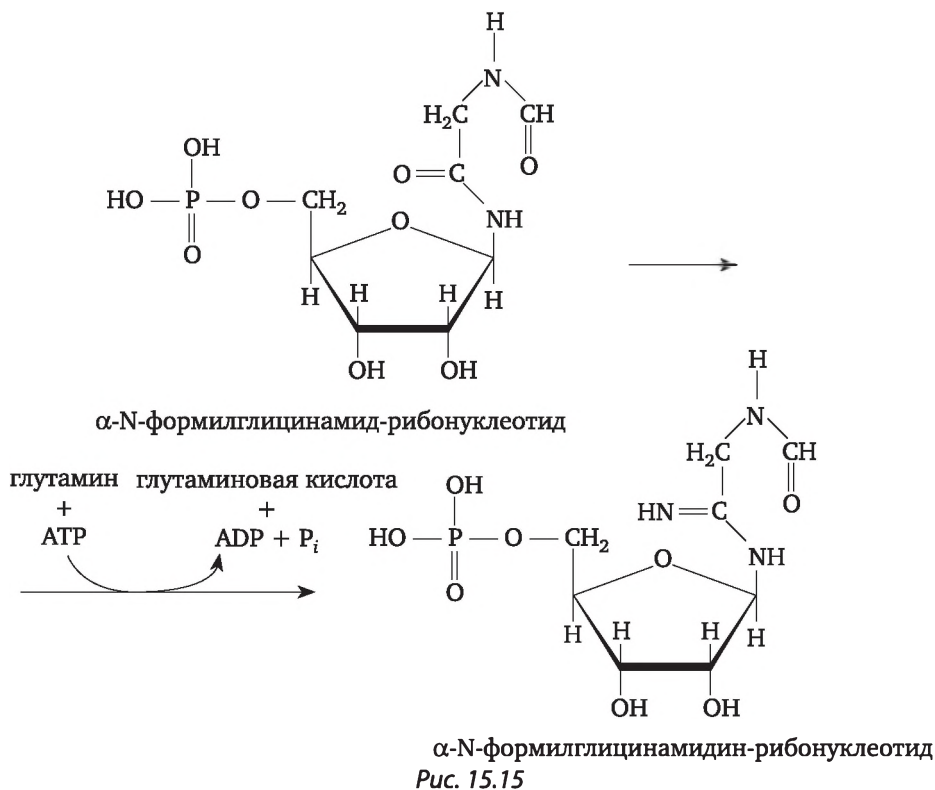
Рис. 15.14

5. На следующей стадии атом азота N-9 из амидной группировки глутамина переносится на формильную группу α-N-формилглицинамид-рибонуклеотида и образуется α-N-формилглицинамидин-рибонуклеотид. При переносе аминогруппы глутамина потребляется энергия концевой фосфатной связи АТФ. Продукт этой реакции содержит уже пять атомов будущего имидазольного кольца пурина (рис. 15.15).

6. Далее пятичленное кольцо замыкается с отщеплением молекулы воды и образуется 5-аминоимидазол-рибонуклеотид (рис. 15.16).

7. Атом углерода в положении С-6 пуринового кольца добавляется в результате присоединения СО₂ на следующей стадии (реакция карбоксилирования). Эта стадия протекает без участия кофермента, давая рибонуклеотид 5-аминоимидазол-4- карбоновой кислоты (рис. 15.17).

8. На этой стадии происходит введение атома азота в будущее положение С-1 пуринового кольца включением целой молекулы аспарагиновой кислоты с образованием 5-амино-имидазол-4-N-сукцинокарбоксамид-рибонуклеотида (рис. 15.18).



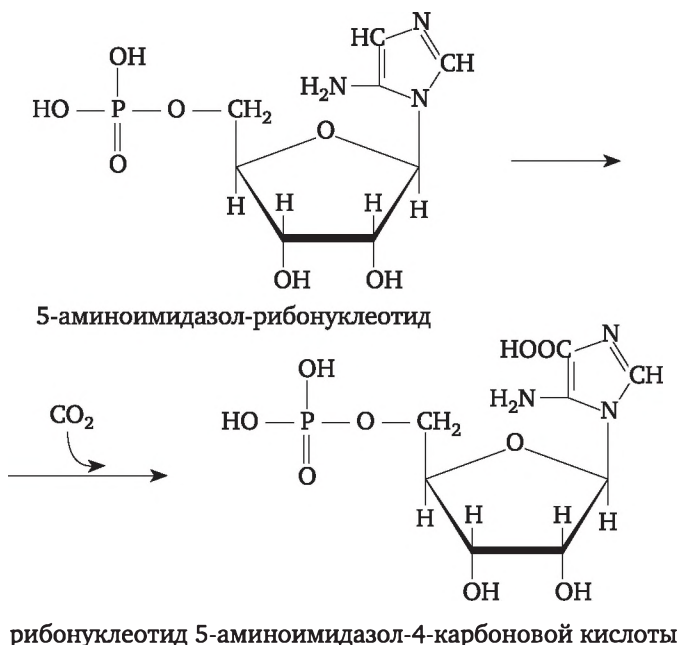


Рис. 15.17

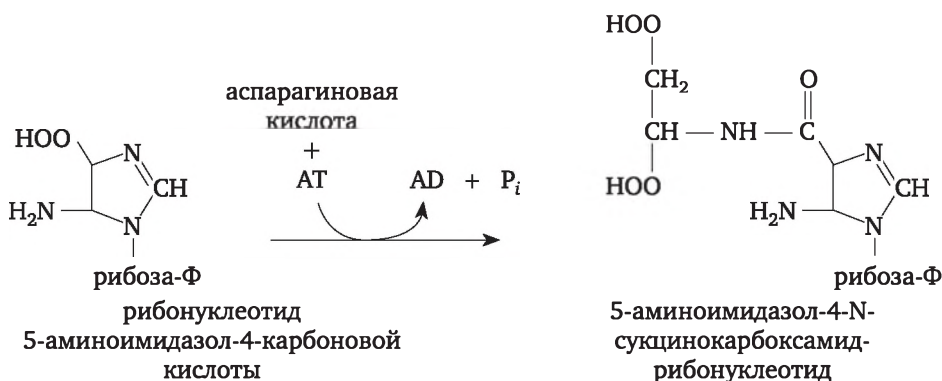


Рис. 15.18

9. Затем отщепляется свободная фумаровая кислота, в результате чего образуется 5-аминоимидазол-4-карбоксамид-рибонуклеотид (рис. 15.19).

10. На этой стадии второй атом углерода пуринового кольца вводится путем переноса формильной группы N¹⁰-формилтетрагидрофолата к 5-аминогруппе рибонуклеотида.

11. На последней стадии происходит отщепление воды и пиримидиновая часть пуриновой кольцевой системы замыкается. В результате образуется пуриновый рибонуклеотид — инозиновая кислота или инозинмонофосфат (IMP) (рис. 15.20).

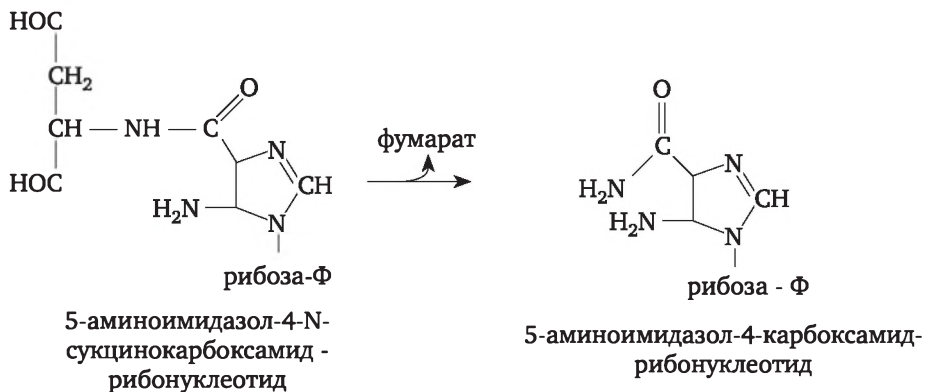


Рис. 15.19

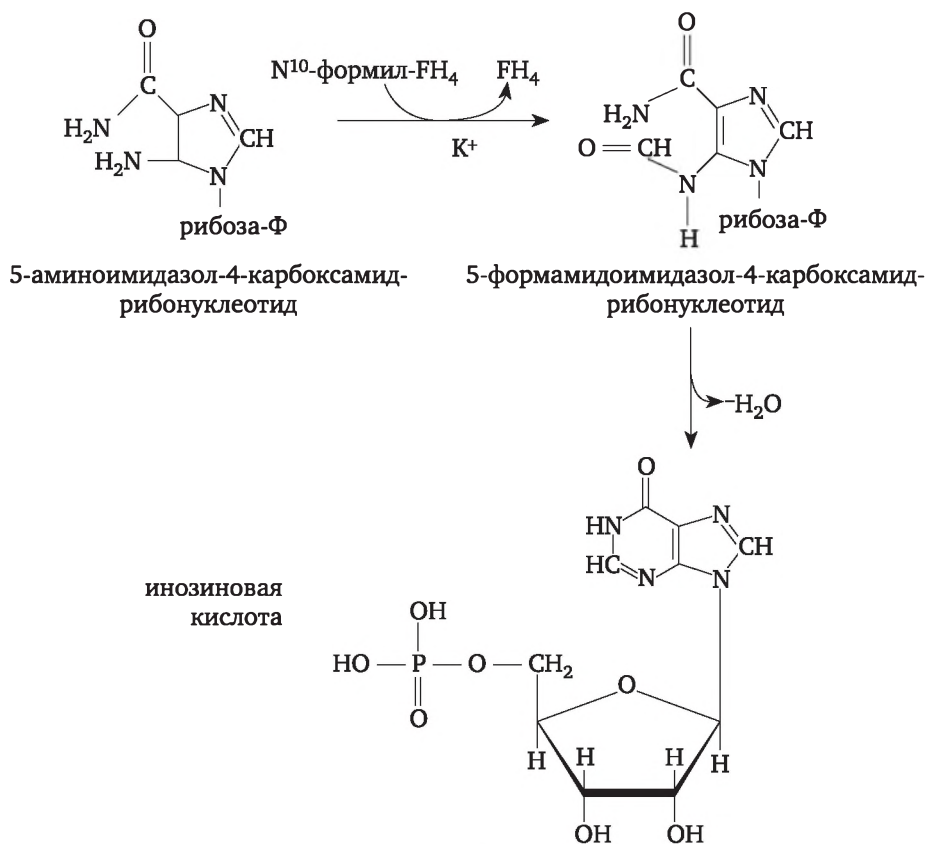


Рис. 15.20

На метаболическом пути образования инозиновой кислоты, начиная с рибозо-5-фосфата, требуется расщепление шести высокоэнергетических фосфатных связей.

Образование адениловой и гуаниловой кислот из инозиновой кислоты

Инозиновая кислота служит общим промежуточным продуктом метаболизма нуклеотидов, так как ее основание — гипоксантин — превращается или в аденин, или в гуанин, образуя соответственно AMP или GMP.

Для превращения IMP в адениловую кислоту необходимо только введение аминогруппы в положении С-6 пуринового кольца инозиновой кислоты. Однако это превращение не совершается в ходе прямой реакции. IMP сначала взаимодействует с аспарагиновой кислотой с образованием аденилоянтранной кислоты, и уже после отщепления fumarовой кислоты образуется адениловая кислота. Эта реакция катализируется тем же ферментом, который ответственен за отщепление fumarовой кислоты от 5-аминоимидазол-4-сукцинокарбоксамид-рибонуклеотида (рис. 15.21).

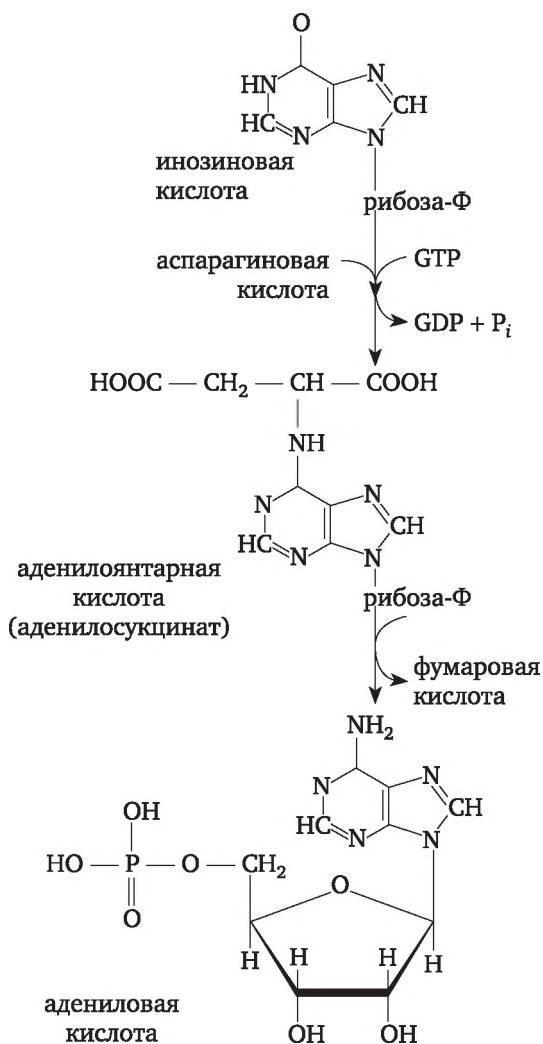


Рис. 15.21. Превращение IMP в адениловую кислоту

Для образования адениловой кислоты из IMP необходима затрата энергии одной высокоэнергетической фосфатной связи, специфическим донором которой служит GTP. Таким образом, суммарное количество энергии, необходимое для образования адениловой кислоты из α -D-рибозо-5-фосфата, соответствует энергии семи высокоэнергетических фосфатных связей.

При образовании гуаниловой кислоты IMP сначала окисляется в результате оксигеназной реакции до ксантиновой кислоты, которая далее аминируется с образованием гуаниловой кислоты; для этой реакции необходим АТР.

При этом происходит отщепление пиррофосфата и его гидролиз. Поэтому для превращения в гуаниловую кислоту требуются две высокоэнергетические фосфатные связи. Следовательно, для превращения α -D-рибозо-5-фосфата в гуаниловую кислоту нужно всего восемь высокоэнергетических связей (рис. 15.22).

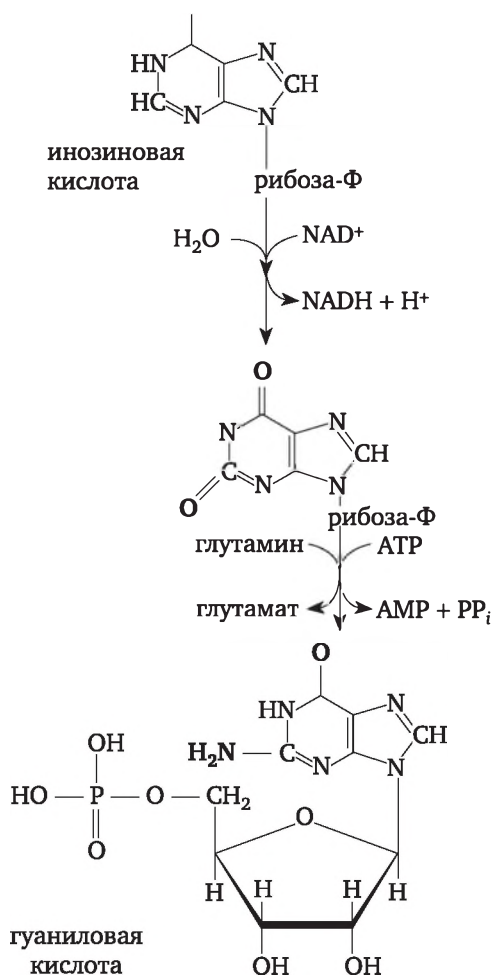


Рис. 15.22. Образование гуаниловой кислоты

Регуляция биосинтеза нуклеотидов по типу обратной связи

Для протекания большинства реакций биосинтеза в клетке необходимы *нуклеозидтрифосфаты*. Прежде всего они нужны для синтеза нуклеиновых кислот. Превращение адениловой и гуаниловой кислот соответственно в АТФ и ГТФ происходит в двух последовательных фосфокиназных реакциях, катализируемых киназами — *нуклеозидмонофосфокиназой и нуклеозиддифосфокиназой*:



Регуляция общей скорости синтеза пуриновых нуклеотидов и относительных скоростей синтеза двух конечных продуктов — адениловой и гуаниловой кислот — осуществляется по нескольким регуляторным механизмам.

Путь синтеза пуриновых нуклеотидов *de novo* является классическим примером *аллостерического ингибирования по принципу обратной связи*: избыток конечных продуктов (АТФ, ГТФ) ингибирует активность ключевого фермента — *фосфорибозиламинотрансферазы* (*ФРПФ-аминотрансферазы*), избыток же пиримидиновых нуклеотидов его активирует. *ФРПФ-аминотрансфераза*, катализирующая эту реакцию, представляет собой мультивалентный регуляторный фермент, ингибируемый АТФ, АДФ или АМФ, а также ГТФ, ГДФ или ГМФ, причем каждая серия нуклеотидов действует на отдельный регуляторный участок фермента. В частности, если накапливаются пуриновые мононуклеотиды, то ингибированию по принципу обратной связи подвергается первая стадия их биосинтеза.

Для образования гуаниловой кислоты из инозиновой в качестве кофактора требуется АТФ, тогда как для превращения инозиновой кислоты в адениловую нужен ГТФ. Следовательно, при избытке ГТФ будет ускоряться синтез адениловой кислоты, а при избытке АТФ — синтез гуаниловой кислоты.

Еще один регуляторный механизм основан на том, что избыток ГМФ вызывает аллостерическое ингибирование превращения инозиновой кислоты в аденилоянтарную, и тем самым происходит подавление синтеза АМФ.

Синтез пиримидиновых нуклеотидов

Путь биосинтеза пиримидиновых нуклеотидов сходен с путем биосинтеза пуриновых нуклеотидов, так как и в этом случае свободные основания не образуются в качестве промежуточных продуктов.

Однако биосинтез пиримидиновых нуклеотидов менее сложен, и, кроме того, отличается от биосинтеза пуриновых нуклеотидов тем, что присоединение *рибозы* происходит *после* образования пиримидинового кольца. Этот путь начинается с аспарагиновой кислоты (аспартата)

и приводит к образованию оротовой кислоты — вещества с циклической структурой.

Оротовая кислота в ходе реакции с ФРПФ превращается в соответствующий нуклеотид, а тот в свою очередь превращается в уридинмонофосфат — UMP (рис. 15.23).

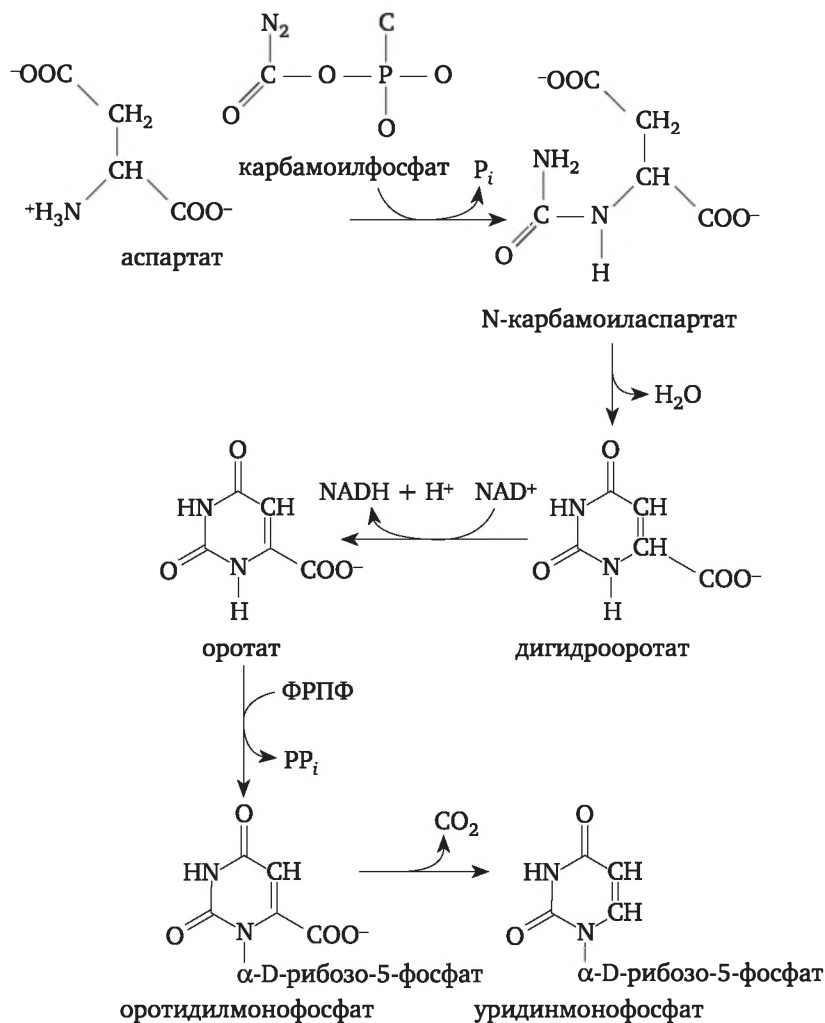


Рис. 15.23. Превращение оротовой кислоты в уридинмонофосфат

Подобно пуринам UMP образуется под действием ферментов — **киназ**. UMP служит предшественником цитидиннуклеотидов, но прежде он должен превратиться в уридинтрифосфат (UTP):



УТР аминируется в положении 4 пиримидинового кольца с образованием цитидин-5'-трифосфата (СТР). В организме млекопитающих донором аминогруппы в этой реакции служит глутамин.

Реутилизация пуриновых оснований

Распад (катаболизм) нуклеотидов приводит к образованию свободных гипоксантина и гуанина (рис. 15.24).

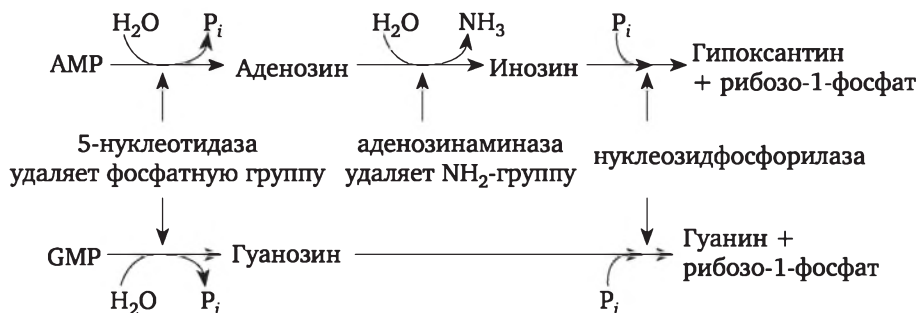
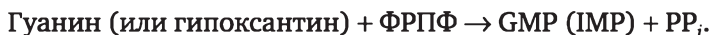


Рис. 15.24

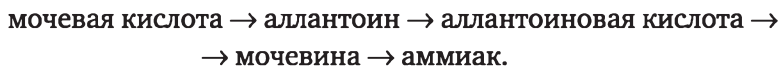
Часть этих продуктов может использоваться повторно для синтеза нуклеотидов. Существует путь синтеза пуриновых нуклеотидов, в котором свободные основания превращаются в нуклеотиды после взаимодействия с ФРПФ. В этом процессе участвуют два фермента — две фосфорибозилтрансферазы, одна из которых образует нуклеотиды из аденина, другая из гипоксантина и гуанина. Второй фермент (гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансфераза — ГГФРТ) катализирует реакцию:



Механизм реутилизации свободных пуриновых оснований энергетически выгоден, так как позволяет клетке ограничить синтез *de novo*. Более того, например, эритроциты не способны синтезировать пурины *de novo* и используют только имеющиеся готовые основания.

Другая часть свободных пуриновых оснований окисляется с образованием мочевой кислоты (рис. 15.25).

Дальнейшая деградация пуринов протекает по схеме:



У высших животных мононуклеотиды, высвобождающиеся при распаде нуклеиновых кислот под действием нуклеаз, обычно подвергаются ферментативному гидролизу с образованием в итоге свободных пуриновых и пиримидиновых оснований. Конечным продуктом распада пуринов, выводимым с мочой, является мочевая кислота или аллантион (например, у моллюсков) (рис. 15.26).

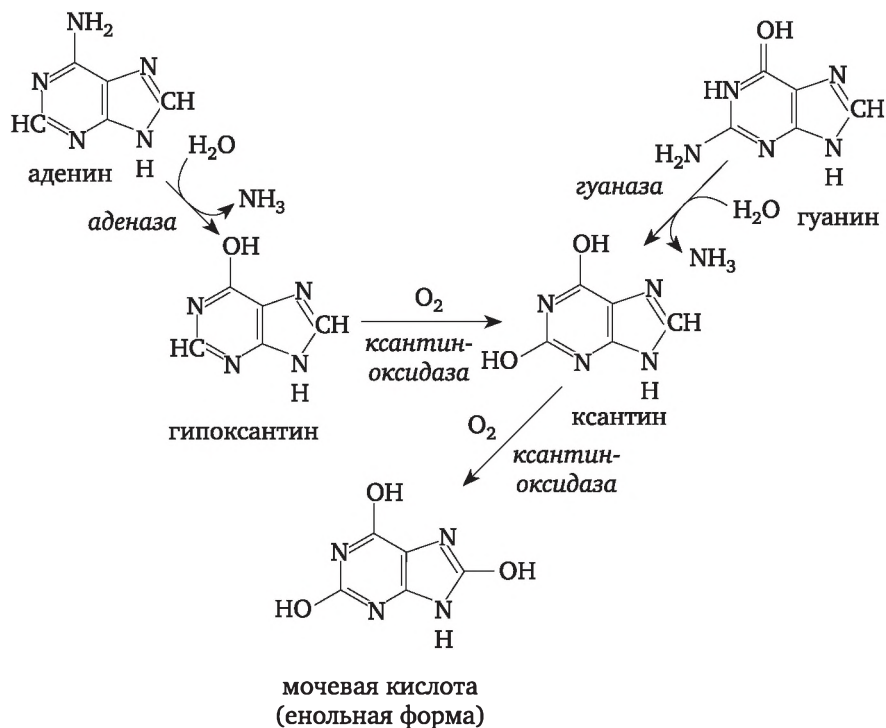


Рис. 15.25

Конечные продукты катаболизма пуринов

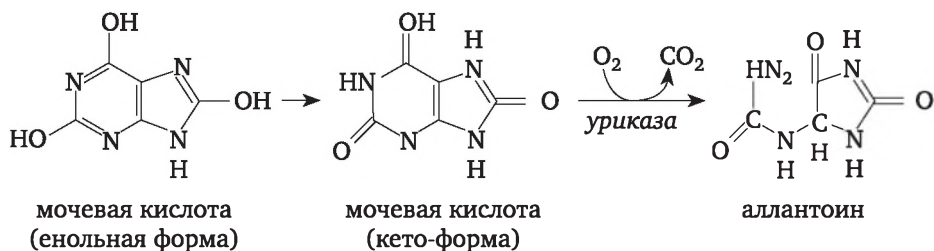


Рис. 15.26

У рыб аллантоин распадается далее на аллантоиновую кислоту и мочеви́ну (рис. 15.27).

У многих беспозвоночных конечным продуктом катаболизма пуринов является аммиак. Таким образом, природа конечного азотсодержащего продукта, выводимого из организма, зависит от вида этого организма.

Распространенным метаболическим расстройством является гиперурикемия (подагра). Первичным биохимическим нарушением при подагре является избыточное образование мочевой кислоты, что, как правило, обусловлено высокой активностью ФРПФ-синтетазы.

При правильном лечении подагра не опасна. Значительно более тяжелым является сходное с подагрой заболевание, известное как *синдром Леша — Нихана*, связанное с отсутствием фермента *гипоксантин-гуанин-фосфорибозилтрансферазы* (ГГФРТ). Свободные пурины вместо повторного использования окисляются до мочевой кислоты, вызывая симптомы подагры. Болезнь приводит к неврологическим патологиям и проявляется в умственной отсталости, нарушении координации движений и агрессивности.

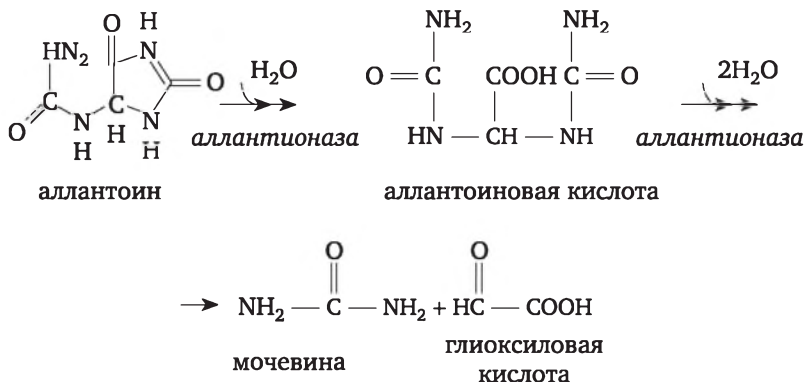


Рис. 15.27

Биосинтез нуклеотидных коферментов

Флавиновые нуклеотиды, пиридиннуклеотиды и CoA являются производными адениловой кислоты и образуются из своих «строительных блоков» в результате ферментативных реакций, имеющих некоторые общие черты с реакциями биосинтеза мононуклеотидов нуклеиновых кислот.

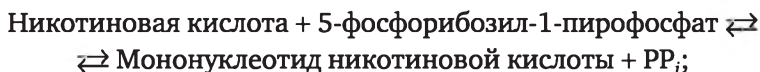
Флавинмононуклеотид (ФМН) (более точно *рибофлавин-5-фосфат*) синтезируется с участием фермента *флавокиназы* из свободного *рибофлавина* (витамина B_2) и АТФ:

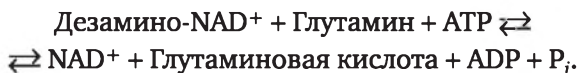


Далее образуется *флавинаденидиннуклеотид* (FAD^+) под действием фермента *флавиннуклеотидфосфорилазы*:



Никотинамидаденидиннуклеотид (NAD^+) синтезируется из свободной *никотиновой кислоты* (но не из *никотинамида*) в результате следующих реакций:





Вместо свободной никотиновой кислоты или мононуклеотида никотиновой кислоты в реакции могут вступать непосредственно свободный никотинамид или никотинамидмононуклеотид NADP^+ , который образуется из NAD^+ в результате следующей реакции:



Путь синтеза кофермента А (CoA), начиная от свободного витамина B_2 (*пантотеиновой кислоты*), можно представить следующим образом (рис. 15.28).

В последней реакции происходит фосфорилирование 3'-гидроксильной группы аденозиновой части молекулы дифосфо-CoA с образованием CoA.

15.8. Круговорот азота в природе. Биофиксация азота

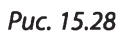
Атмосфера содержит 76 % азота, являющегося довольно инертным элементом. Это необходимый элемент, входящий в состав аминокислот и белков, и никакой другой элемент так не ограничивает ресурсы питательных веществ в экосистеме. Живые организмы могут усваивать азот только в связанной форме, т.е. в результате азотфиксации.

Биохимический цикл азота в биосфере можно представить следующей схемой (рис. 15.29).

Фиксация атмосферного азота происходит либо в результате жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий, либо в результате высокоэнергетических воздействий. На схеме процессы 1, 4 — абиотические, 2, 3 — биофиксация. Процессы нитрификации-денитрификации и аминирования осуществляются в результате деятельности бактерий или сине-зеленых водорослей.

Биотрансформация азота протекает медленно и сильно подвержена антропогенным воздействиям.

Неорганические формы азота в окружающей среде очень разнообразны — от нитрат-иона до аммиака. *Органические* формы азота чаще всего образуются путем включения живыми клетками аммоний-иона в состав аминокрупп или амидных групп.



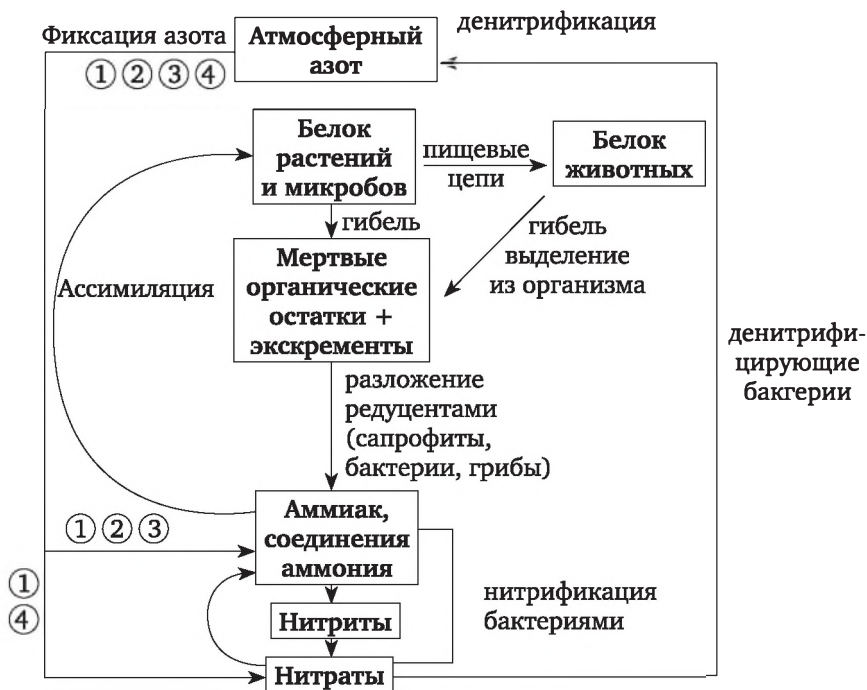


Рис. 15.29

Глава 16

БИОСИНТЕЗ УГЛЕВОДОВ

Гликолиз — превращение глюкозы в пируват — является центральным путем катаболизма углеводов. Обратный гликолизу анаболический путь — синтез глюкозы из неуглеводных веществ, один из наиболее важных биосинтетических процессов, называется глюконеогенезом.

16.1. Пути и энергетика глюконеогенеза.

Глюконеогенез в период восстановления после мышечной работы

Глюконеогенез — синтез глюкозы из неуглеводных веществ. Такими веществами могут быть пируват или любое соединение, превращающееся в процессе катаболизма в пируват, или один из промежуточных продуктов цикла Кребса, в частности лактат, так называемые гликогенные аминокислоты, глицерин.

На схеме (рис. 16.1) показаны пути включения первичных субстратов в глюконеогенез.



Рис. 16.1

У млекопитающих глюконеогенез в основном осуществляется в печени, в меньшей степени — в почках и клетках слизистой кишечника. В условиях длительной физической работы, а также при углеводном или полном голодании концентрация глюкозы в крови поддерживается за счет глюконеогенеза.

При голодании часть тканевых белков распадается до аминокислот, многие из которых превращаются в аланин (частично в глутамин). Эти аминокислоты в печени преобразуются в пируват, который является основным метаболитом глюконеогенеза. В условиях нормальной жизнедеятельности организма образующийся в мышцах при интенсивной физической работе лактат транспортируется в печень, где также пре-

вращается в пируват. При распаде жиров образуется глицерин, который через диоксиацетонфосфат тоже включается в глюконеогенез.

Глюконеогенез осуществляется от пирувата в направлении, обратном гликолизу (см. гл. 12) (рис. 16.2).

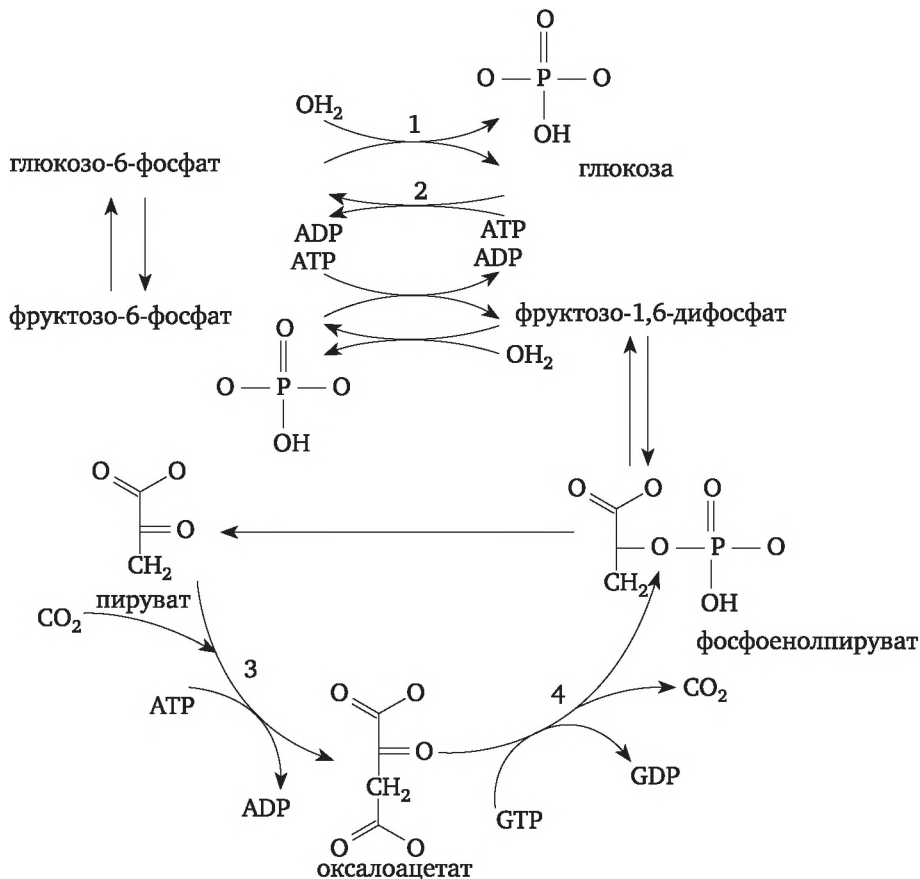
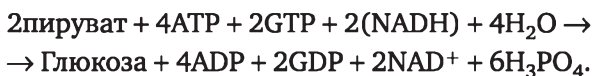


Рис. 16.2

На схеме представлены следующие ферменты: 1 — глюкозо-6-фосфатаза; 2 — гексокиназа; 3 — пируваткарбоксилаза; 4 — фосфоенолпируваткарбоксикиназа.

Суммарное уравнение синтеза глюкозы из пирувата при глюконеогенезе можно представить следующим образом:



Большинство стадий гликолиза и глюконеогенеза совпадают и катализируются одинаковыми ферментами. Исключение составляют следующие необратимые реакции гликолиза: 1) фосфорилирование глюкозы (фермент гексокиназа); 2) фосфорилирование фруктозо-6-фосфата;

3) превращение фосфоенолпирувата (ФЕП) в пируват (см. схему гликолиза в параграфе 12.1). Обратные превращения этих метаболитов при глюконеогенезе идут обходными путями, а именно: фруктозо-1,6-дифосфат и глюкозо-6-фосфат гидролитически дефосфорилируются специфическими фосфатазами в фруктозо-6-фосфат и глюкозу соответственно, а пируват фосфорилируется до образования ФЕП в две стадии через оксалоацетат, который образуется в митохондриях (катализируется пируваткарбоксилазой), транспортируется в цитоплазму и далее включается в глюконеогенез.

Регуляция глюконеогенеза

Регуляция глюконеогенеза осуществляется в основном через реакции синтеза фосфоенолпирувата и глюкозо-6-фосфата.

Для первой реакции, катализируемой *пируваткарбоксилазой*, аллостерическим модулятором этого фермента является ацетил-СоА, при отсутствии которого фермент почти полностью лишен активности. Когда в клетке накапливается митохондриальный ацетил-СоА, биосинтез глюкозы из пирувата усиливается, одновременно накопление ацетил-СоА замедляет окислительное декарбоксилирование пирувата, что также способствует превращению последнего в глюкозу.

Вторая реакция катализируется *фруктозо-1,6-дифосфатазой*, которая ингибируется АМР и активируется АТР. При низкой концентрации АМР и высоком уровне АТР происходит стимуляция глюконеогенеза. И наоборот, когда отношение концентрации АТР к АМР мало, в клетке происходит расщепление глюкозы. Таким образом, количество глюкозы в крови, оттекающей от печени, зависит в основном от двух взаимосвязанных процессов: гликолиза и глюконеогенеза, которые в свою очередь регулируются ключевыми ферментами.

Следует отметить, что между гликолизом, интенсивно протекающим в мышечной ткани при ее активной деятельности, и глюконеогенезом, особенно характерным для печени, существует тесная взаимосвязь. При максимальной активности мышц в результате усиления гликолиза образуется избыток лактата, диффундирующий в кровь, а в печени значительная его часть превращается в глюкозу (глюконеогенез). Такая глюкоза затем может быть использована как энергетический субстрат, необходимый для деятельности мышечной ткани.

Взаимосвязь между гликолизом в мышцах и глюконеогенезом в печени может быть представлена в виде схемы (рис. 16.3).

Активность ферментов, регулирующих интенсивность процессов гликолиза и глюконеогенеза (углеводный обмен), адаптирована к пищевому и гормональному состоянию организма. Регуляция метаболизма глюкозы в печени связана с режимом питания. Направление метаболизма глюкозы меняется при смене периода пищеварения на состояние усвоения продуктов питания. При пищеварении глюкоза задерживается в печени и депонируется в виде гликогена — разветвленного полисахарида, мономерными звеньями в котором является

глюкоза. Кроме того, глюкоза используется для синтеза жиров. В периоде усвоения направление процессов меняется на распад гликогена и глюконеогенез.

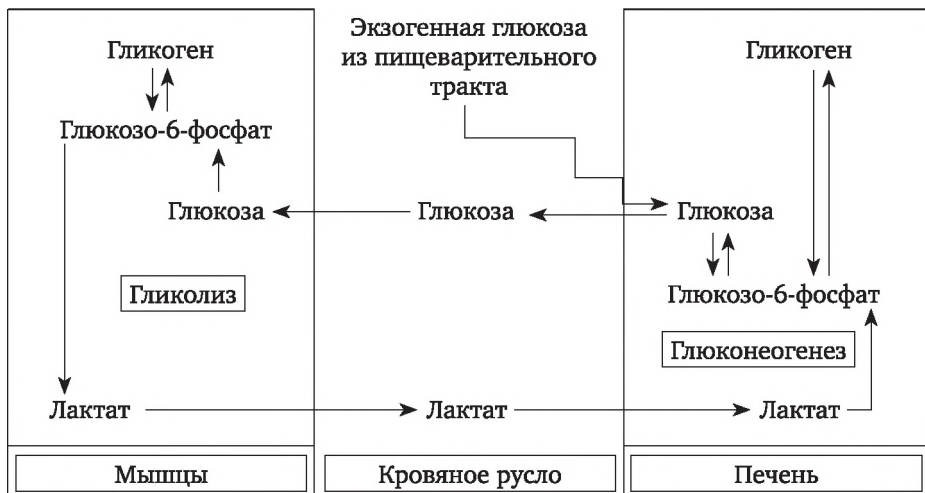


Рис. 16.3. Взаимосвязь гликолиза и глюконеогенеза

У человека на всех стадиях синтеза и распада углеводов регуляция углеводного обмена осуществляется при участии центральной нервной системы (ЦНС) и гормональной системы.

Например, установлено, что концентрация глюкозы в крови ниже 3,3—3,4 ммоль/л (60—70 мг/100 мл) приводит к рефлекторному возбуждению высших метаболических центров, расположенных в гипоталамусе. В регуляции углеводного обмена особая роль принадлежит высшему отделу ЦНС — коре большого мозга.

Наряду с ЦНС важное влияние на содержание глюкозы оказывают гормональные факторы, т.е. регуляция уровня глюкозы в крови осуществляется ЦНС через ряд эндокринных желез. Гормональная регуляция заключается в том, что инсулин тормозит синтез ферментов глюконеогенеза; катехоламины, глюкагон и адренокортикотропин, наоборот, стимулируют глюконеогенез.

Депонирование и распад гликогена

Гликоген — основная форма депонирования глюкозы в клетках животных. У растений эту функцию выполняет крахмал. Высокая разветвленность полимера увеличивает скорость синтеза и обеспечивает при распаде гликогена быстрое освобождение большого количества концевых мономеров. Синтез и распад гликогена не являются обратимыми, эти процессы происходят разными путями.

Гликоген синтезируется в период пищеварения (в течение одного-двух часов после приема углеводной пищи). Синтез гликогена — *гликогенез* — особенно интенсивно протекает в печени и скелетных мышцах.

Первоначально глюкоза подвергается фосфорилированию при участии фермента *гексокиназы* (в печени и *глюкокиназы*). Затем глюкозо-6-фосфат под влиянием фермента *фосфоглюкомутазы* переходит в глюкозо-1-фосфат (рис. 16.4).

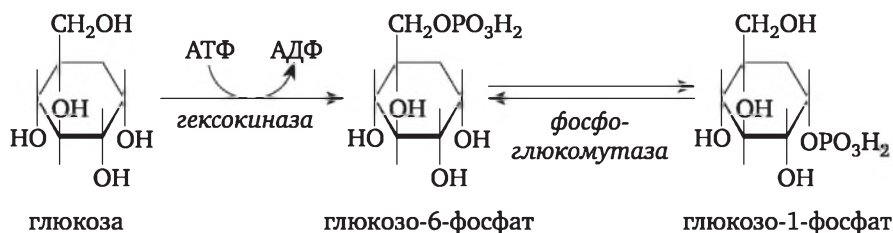


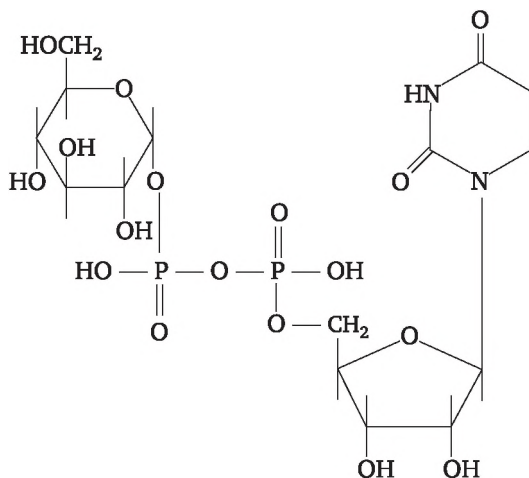
Рис. 16.4

Образовавшийся глюкозо-1-фосфат (G1P) уже непосредственно вовлекается в синтез гликогена. На первой стадии синтеза G1P вступает во взаимодействие с уридинтрифосфатом (UTP), образуя уридиндифосфатглюкозу (UDP-глюкозу) и пирогосфат (PP_i):



Данная реакция катализируется ферментом *глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферазой* (UDPG-пирогосфорилазой).

Химическая формула UDP-глюкозы выглядит следующим образом:



UDP-глюкоза является активированной формой глюкозы, которая непосредственно включается в реакцию полимеризации. На стадии образования гликогена происходит перенос глюкозного остатка, входящего в состав UDP-глюкозы, на глюкозидную цепь гликогена. При этом образуется связь между первым атомом углерода добавляемого остатка глюкозы и гидроксильной группой остатка на 4-м атоме углерода глюкозы, находящегося в глюкозидной цепи.

Эта последняя реакция катализируется *гликоген-синтазой*, которая присоединяет глюкозу к олигосахариду или к уже имеющейся в клетке молекуле гликогена. Необходимо подчеркнуть, что реакция, катализируемая *гликогенсинтазой*, возможна только при условии, что полисахаридная цепь содержит более четырех остатков глюкозы (рис. 16.5).

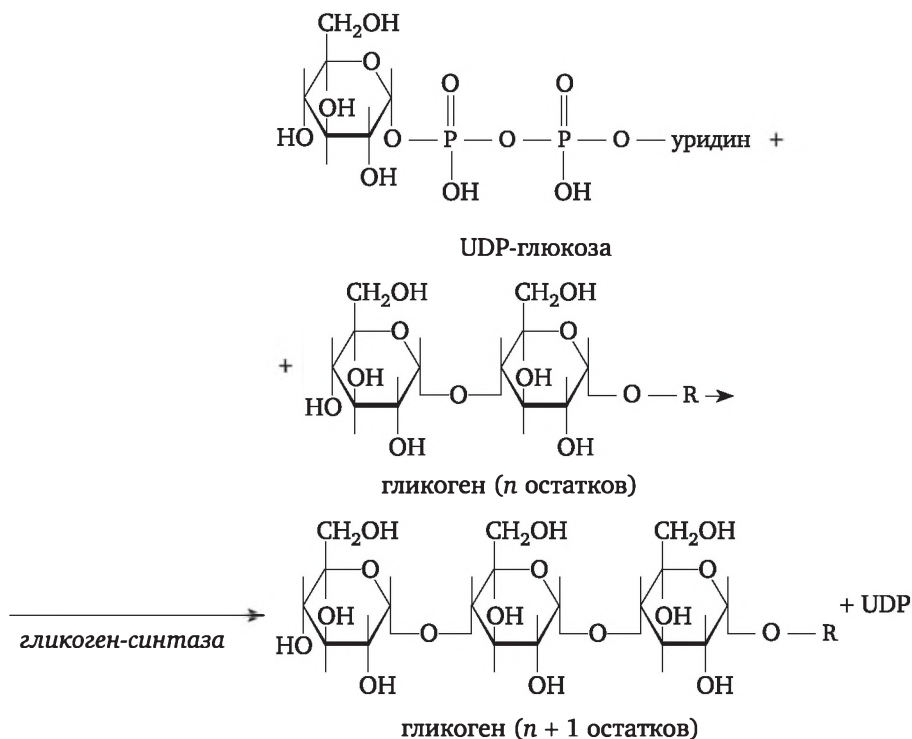


Рис. 16.5

Образующийся UDP затем вновь фосфорилируется в UTP за счет АТФ, и таким образом весь цикл превращений глюкозо-1-фосфата начинается сначала.

В целом синтез гликогена можно представить следующей схемой (рис. 16.6).

Ветвление полисахаридной цепи происходит при участии фермента *амило- α -1,4- α -1,6-гликозилтрансферазы* путем разрыва одной α -1,4-связи и переноса олигосахаридного остатка от конца растущей цепи к ее середине с образованием в этом месте α -1,6-гликозидной связи. В результате образуется новая боковая цепь.

Молекула гликогена содержит до 1 млн остатков глюкозы (степень полимеризации равна 10^6), следовательно, на синтез расходуется значительное количество энергии. Для подготовки и включения 1 моля остатков глюкозы в растущие полисахаридные цепи требуется затрата энергии 1 моля АТФ и 1 моля UTP.

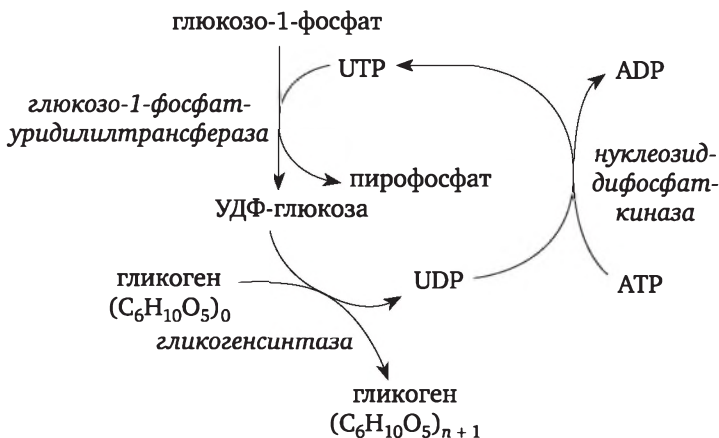


Рис. 16.6

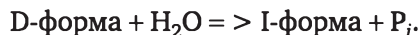
Необходимость превращения глюкозы в гликоген связана с тем, что накопление значительного количества глюкозы в клетке привело бы к повышению осмотического давления, так как глюкоза — хорошо растворимое вещество. Напротив, гликоген содержится в клетке в виде гранул и мало растворим в воде.

Благодаря способности к отложению гликогена (главным образом в печени и мышцах) создаются условия для накопления в норме некоторого резерва углеводов. При повышении энерготрат в организме в результате возбуждения ЦНС обычно происходят усиление распада гликогена и образование глюкозы. Помимо непосредственной передачи нервных импульсов к эффекторным органам и тканям при возбуждении ЦНС повышаются функции ряда желез внутренней секреции, гормоны которых активируют распад гликогена, прежде всего в печени и мышцах. Эти гормоны действуют на разные стадии обмена глюкозы.

Регуляция активности гликогенсинтазы, гликогенфосфорилазы. В основе регуляции обмена гликогена лежит изменение активности ключевых ферментов: *гликогенсинтазы* и *гликогенфосфорилазы*. Регуляция активности этих ферментов осуществляется путем фосфорилирования-дефосфорилирования.

Гликогенфосфорилаза может существовать в активной — фосфорилированной форме (*фосфорилаза а*) и в неактивной — дефосфорилированной форме (*фосфорилаза б*). Гликогенсинтаза также имеет фосфорилированную и дефосфорилированную формы. Фосфорилированная форма представляет собой регуляторный фермент, который сам по себе малоактивен или полностью неактивен, но в значительной мере активируется положительным модулятором — глюкозо-6-фосфатом (G6P), который увеличивает скорость ферментативной реакции. Эта форма гликогенсинтазы называется D-формой, или зависимой формой, поскольку ее активность зависит от глюкозо-6-фосфата. Стимулирующее действие G6P снимается отрицательным модулятором — UDP. Дефосфорилированная форма гликогенсинтазы, называемая также

I-формой, или независимой формой, активна и при отсутствии G6P. D-форма дефосфорилируется с образованием I-формы под действием специфического фермента — *фосфотазы гликогенсинтазы*:



Дефосфорилированная форма (I-форма) может фосфорилироваться в D-форму с участием фермента *киназы гликогенсинтазы*:



Киназа гликоген-синтазы также является регуляторным ферментом и аналогично гликоген-фосфорилазе существует в активной и неактивной формах. Неактивная форма активируется положительным модулятором — циклической формой AMP (сАМР), образующимся из АТФ под действием фермента *аденилатциклазы*:



Образование сАМР стимулируется адреналином — катехоламиновым гормоном, секретируемым надпочечниками при различных формах физиологического стресса. В целом суммарный результат действия адреналина состоит в ускорении превращения гликогена в глюкозу.

Распад гликогена — *гликогенолиз* — происходит в период между приемами пищи по следующей схеме (рис. 16.7).

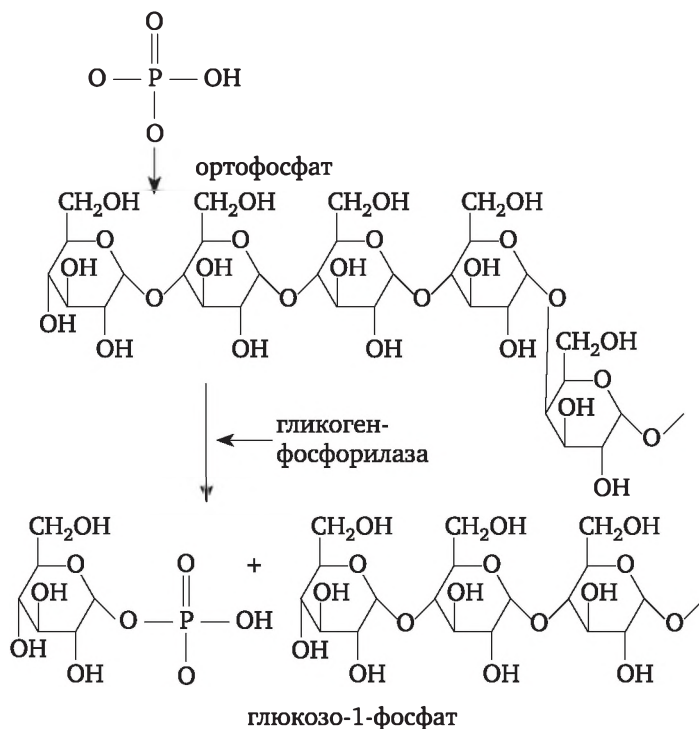


Рис. 16.7

Генетические болезни, связанные с нарушением обмена гликогена

Существует множество типов врожденной «гликогеновой» болезни, которая заключается в накоплении полисахарида в органах. Различные типы болезни характеризуются отсутствием одного из ферментов: *амило-1,6-глюкозидазы, трансглюкозидазы, фосфорилазы* в печени и мышцах.

При «печеночном» типе гликогеновой болезни (болезни Гирке) увеличивается печень, снижается уровень сахара в крови, наблюдается отставание в росте. Течение заболевания приводит к отложению больших количеств гликогена в печени. Специфический ферментативный дефект состоит в отсутствии *глюкозо-6-фосфатазы*. При «мышечном» типе происходит задержка гликогена в мышцах (преимущественно в сердечной).

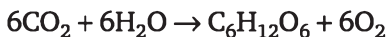
16.2. Общее уравнение фотосинтеза растений.

Пути и энергетика фотосинтеза глюкозы из CO_2 .

Крахмал и целлюлоза. Цикл Кальвина

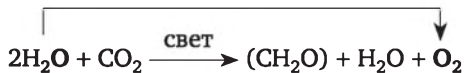
Фотосинтез — биологический процесс осуществляющий перенос электронов по электронтранспортной цепи от одной окислительно-восстановительной системы к другой.

При фотосинтезе растений из углекислого газа и воды образуются углеводы:



(суммарная реакция фотосинтеза).

Роль донора электронов или атомов водорода для последующего восстановления CO_2 в процессе фотосинтеза у растений играет вода. Поэтому уравнение, описывающее фотосинтез, можно переписать в виде:



При сравнительном изучении фотосинтеза было обнаружено, что в фотосинтезирующих клетках в роли акцептора электронов (или атомов водорода), кроме CO_2 , в некоторых случаях выступают нитрат-ион, молекулярный азот или даже ионы водорода. В роли же доноров электронов или атомов водорода, кроме воды, могут выступать сероводород, изопропиловый спирт и любой другой возможный донор в зависимости от вида фотосинтезирующих клеток.

Для осуществления суммарной реакции фотосинтеза необходимо затратить энергию 2872 кДж/моль. Иными словами, необходимо иметь восстанавливающий агент с достаточно низким редокс-потенциалом. При фотосинтезе растений таким восстановителем служит NADPH⁺.

Реакции фотосинтеза протекают в *хлоропластах* клеток зеленых растений — внутриклеточных органеллах, аналогичных митохондриям и также имеющим собственную ДНК. Внутренние мембранные структуры у хлоропластов — *тилакоиды* — содержат *хлорофилл* (пигмент, улавливающий свет), а также все переносчики электронов. Свободное от тилакоидов пространство внутри хлоропласта называют *стромой*.

В светозависимой части фотосинтеза, «световой реакции», происходит расщепление молекул H_2O с образованием протонов, электронов и атома кислорода. Электроны, «возбужденные» энергией света, достигают уровня энергии, достаточного для восстановления NADP^+ . Образующийся $\text{NADP} + \text{H}^+$, в противоположность H_2O , является подходящим восстановителем для перевода диоксида углерода в органическое соединение. Если в системе присутствуют $\text{NADPH} + \text{H}^+$, АТФ и соответствующие ферменты, фиксация CO_2 может протекать также в темноте; такой процесс называется *темновой реакцией*.

В тилакоидной мембране находится три типа комплексов (рис. 16.8). Первые два связываются диффундирующим переносчиком электронов — *пластохиноном* (Q), похожим по структуре на убихинон, а третий — небольшим водорастворимым белком — *пластоцианином* (Pc), также участвующим в переносе электронов. Он содержит атом меди, который служит то донором, то акцептором электронов (поочередно находится в состоянии Cu^+ или Cu^{2+}). Эти три типа комплексов называются соответственно *фотосистемой II* (ФС II), *комплексом цитохрома b/f* (цит b/f), состоящим из двух цитохромов и железосерного центра и осуществляющим перенос электронов от восстановленного пластохинона к пластоцианину, и *фотосистемой I* (ФС I). Нумерация фотосистем отражает очередность их открытия, а не порядок вступления в цепь переноса.

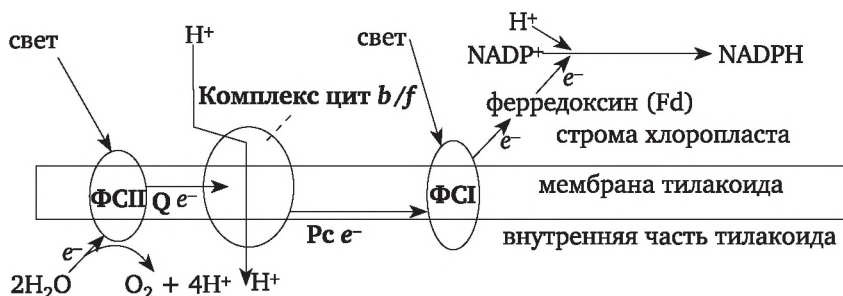
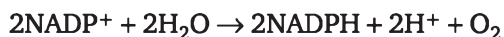


Рис. 16.8. Схема фотосинтеза в тилакоидной мембране

Функция всего этого аппарата заключается в осуществлении суммарной реакции



Реакция сопровождается большим увеличением энергии Гиббса, поступающей в систему в виде солнечного света: на образование каждой молекулы NADPH расходуется энергия двух поглощенных квантов.

Энергия фотонов прямо пропорциональна частоте падающего света и может быть рассчитана по формуле Эйнштейна, определяющей энергию E одного «моля» квантов света, равного $6,023 \cdot 10^{23}$ квантов (1 Эйнштейн):

$$E = Nh\nu.$$

Здесь N — число Авогадро ($6,023 \cdot 10^{23}$ 1/моль); h — постоянная Планка ($6,626 \cdot 10^{-34}$ Дж/с); ν — частота падающего света, численно равная отношению c/λ , где c — скорость света в вакууме ($3,0 \cdot 10^8$ м/сек); λ — длина волны света, м; E — энергия, Дж.

При поглощении фотона атом или молекула переходят в возбужденное состояние с большей энергией. Возбудить атом или молекулу могут только фотоны с определенной длиной волны, поскольку процесс возбуждения носит дискретный (квантовый) характер. Возбужденное состояние крайне неустойчиво, возврат в основное состояние сопровождается потерей энергии.

В растениях рецептором, поглощающим свет, служит молекула хлорофилла *a*, химическая структура которого приведена ниже (рис. 16.9).

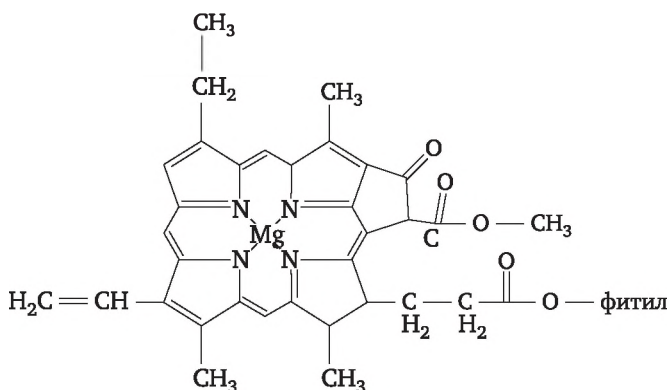


Рис. 16.9

Хлорофилл — это тетрапиррол, напоминающий по строению гем. В отличие от гема центральный атом хлорофилла — магний, а одна из боковых цепей содержит длинную гидрофобную углеводородную цепь, «якорем» удерживающую хлорофилл в липидном бислое мембраны тилакоида. Как и гем, хлорофилл имеет систему сопряженных двойных связей, определяющих появление интенсивной окраски. В зеленых растениях молекулы хлорофилла упакованы в фотосистемы, состоящие из молекул хлорофилла, улавливающих свет, реакционного центра и цепи переноса электронов.

Хлорофилл в составе ФС II обозначают P_{680} , а в ФС I — P_{700} (от англ. *pigment* — пигмент; число соответствует длине волны максимума поглощения света в нм). Молекулы хлорофилла, закачивающие энер-

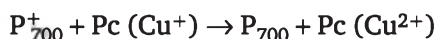
гию в такие центры, называют *антенными*. Сочетание поглощения молекулами хлорофилла света этих двух длин волн дает более высокую скорость фотосинтеза, чем при поглощении света каждой из этих длин волн по отдельности. Фотосинтез в хлоропластах описывается так называемой Z-схемой (от фр. *zigzag*).

Хлорофилл P_{680} в реакционных центрах ФС II в темноте находится в основном состоянии, не проявляя никаких восстановительных свойств. Когда P_{680} получает энергию фотона от антенного хлорофилла, он переходит в возбужденное состояние и стремится отдать электрон, оказавшийся на верхнем энергетическом уровне. В результате этот электрон приобретает переносчик электронов ФС II — феофитин (Ph) — пигмент, по своему строению похожий на хлорофилл, но не содержащий Mg^{2+} .

Две восстановленные молекулы феофитина последовательно отдают полученные электроны на восстановление пластохинона — растворимого в липидах переносчика электронов от ФС II к комплексу цитохромов *b/f*.

В реакционном центре ФС I на хлорофилл P_{700} также стекает энергия фотона, уловленная антенным хлорофиллом. При этом P_{700} становится мощным восстанавливающим агентом. Электрон с возбужденного хлорофилла P_{700} передается по короткой цепочке на *ферредоксин* (Fd) — водорастворимый белок стромы, содержащий электроноакцепторный кластер атомов железа. Ферредоксин с помощью FAD-зависимого фермента *ферредоксин-NADP⁺-редуктазы* восстанавливает $NADP^{+}$ до NADPH.

Для возвращения в исходное (основное) состояние P_{700} приобретает электрон у восстановленного пластоцианина:



В ФС II P_{680}^{+} возвращается в исходное состояние, получая электрон от воды, так как его сродство к электрону выше, чем у кислорода.

Фотосинтез отличается от других биохимических процессов тем, что восстановление $NADP^{+}$ и синтез АТФ происходят за счет энергии света. Все дальнейшие химические превращения, в ходе которых образуется глюкоза и другие углеводы, ничем принципиально не отличаются от ферментативных реакций.

Ключевым метаболитом является *3-фосфоглицерат*, из которого далее синтезируются углеводы так же, как и в печени, с той лишь разницей, что восстановителем в этих процессах служит NADPH, а не NADH.

Синтез 3-фосфоглицерата из диоксида углерода осуществляется с помощью фермента — *рибулозодифосфат-карбоксилазы/оксигеназы* (схема на рис. 16.10).

Карбоксилаза расщепляет рибулозо-1,5-дифосфат на две молекулы 3-фосфоглицерата и при этом присоединяет одну молекулу диоксида углерода.

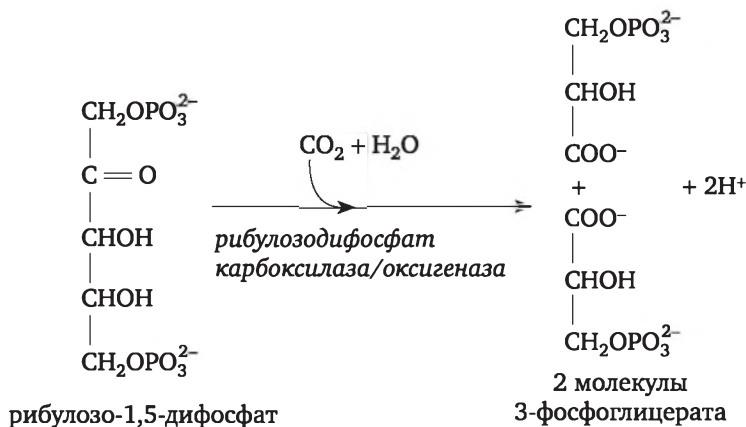
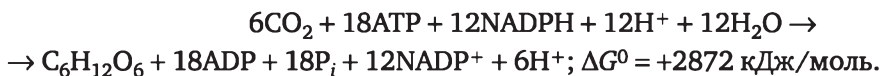


Рис. 16.10

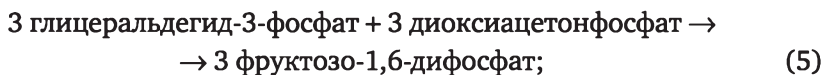
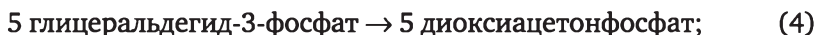
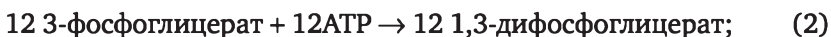
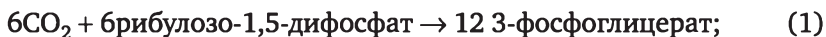
Присоединение (фиксация) диоксида углерода происходит в циклическом процессе, именуемом *циклом Кальвина*.

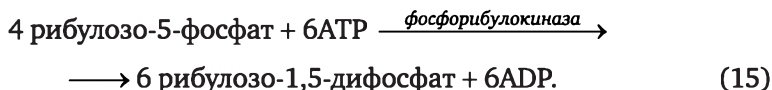
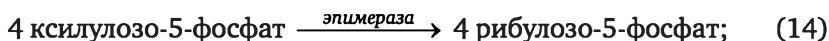
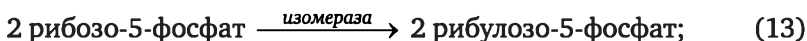
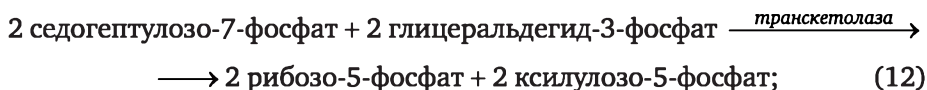
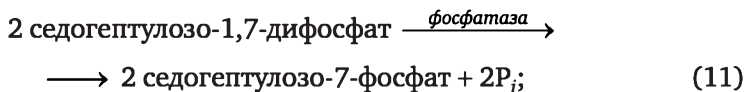
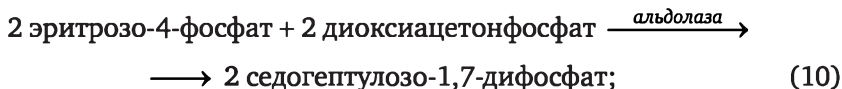
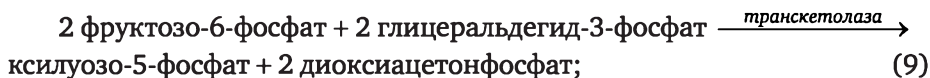
Суммарная реакция цикла:



При катаболизме эта реакция идет в обратном направлении (см. гл. 12).

Последовательность реакций цикла Кальвина можно представить следующим образом:





На 15-й стадии цикл завершается и 6 рибулозо-1,5-дифосфат вступает в 1-ю стадию.

Итак, при фотосинтезе у растений диоксид углерода входит в углеродный скелет глюкозы в результате темновой реакции с рибулозо-1,5-фосфатом с образованием 3-фосфоглицерата (1-я стадия цикла).

В растительном мире углеводы накапливаются в больших количествах в качестве запасного питательного материала (крахмала). Полисахарид крахмал образуется в результате полимеризации глюкозы, полученной в 8-й стадии.

Глава 17

ОСНОВЫ БИОТЕХНОЛОГИИ

Биотехнология — пограничная между биологией и техникой научная дисциплина и сфера практики, изучающая пути и методы изменения окружающей человека природной среды в соответствии с его потребностями, в частности, получение продуктов и материалов с помощью биологических агентов.

В качестве разделов в нее входят биохимия и прикладная биохимия, медицинская и промышленная микробиология, энзимология, а также разделы, связанные с конструированием промышленного оборудования и созданием специализированных поточных линий.

К биотехнологии относится любое производство, в котором используются живые организмы (животные, растения, микроорганизмы) и продукты их жизнедеятельности.

Согласно определению созданной в 1978 г. Европейской биотехнологической федерации, биотехнология, основываясь на применении знаний и методов биохимии, микробиологии, генетики и химической технологии, позволяет в ходе технологического процесса получать вещества и соединения, важные для жизни и благосостояния людей, с помощью легкодоступных и возобновляемых ресурсов. К биотехнологии, в частности, относят использование культур бактерий, дрожжей, животных или растений, метаболизм и биосинтез которых обеспечивают выработку специфических биогенных веществ.

17.1. Промышленное применение приемов и методов биотехнологии

Биотехнология включает в себя, с одной стороны, отрасли промышленности, в которых биотехнологические методы могут с успехом заменить широко используемые в настоящее время традиционные методы, а с другой — современные отрасли, в которых биотехнология играет ведущую роль. Поэтому к биотехнологии можно отнести производство мясомолочных продуктов и древесных материалов. В настоящее время под биотехнологией обычно понимают генную, клеточную и экологическую инженерию (табл. 17.1).

Биотехнология решает проблемы не только медицины или создания продовольственных продуктов; с ее помощью также ведется разработка

полезных ископаемых, борьба с нарушениями экологического равновесия, решается проблема энергоресурсов. В ряде стран (например, Японии) биотехнология объявлена стратегической индустрией. В других странах (например, Израиле) биотехнология включена в число научных направлений, имеющих национальный приоритет.

Таблица 17.1

Отрасли и основные продукты биотехнологии

Технология	Медицина	Сельское хозяйство, пищевое производство	Энергетика	Химическая промышленность
Брожение	Антибиотики, витамины, ферменты, аминокислоты, нуклеотиды, стероиды, алкалоиды, препараты для диагностики	Лимонная кислота, аминокислоты, нуклеотиды, ферменты, биополимеры, биопестициды	Этанол, смесь ацетон-бутанола и биогаза	Этанол, бутанол, уксусный альдегид, ацетон, этилен, бутадиен
Энзимоинженерия	—	Сиропы фруктозы и глюкозы	Этанол	—
Генная инженерия	Интерфероны, гормоны, вакцины	—	—	—
Культуры клеток	Интерфероны, вакцины, компоненты крови, антитела	Кормовой белок, клоны клеточных культур	—	—

Развитие биотехнологии можно разбить на два периода: эмпирический и научный (современный). Эмпирическая биотехнология (преимущественно как сфера производства) не отделима от развития цивилизации с древнейших времен и до нашего времени. К ней можно отнести приготовление теста, получение молочнокислых продуктов, сыров, а также виноделие, пивоварение, ферментацию табака и чая, выделку кож и обработку растительных волокон.

В течение тысячелетий человек применял ферментативные процессы, не имея научных знаний ни о ферментах, ни о клетках с их видовой специфичностью и тем более генетическим аппаратом.

С середины XIX в. быстрое развитие биотехнологии как научной дисциплины было инициировано работами французского ученого Луи Пастера (1822—1895), который, по существу, ввел понятие биообъекта,

доказав «живую природу» разных видов брожения. Каждый из широко известных видов брожения (спиртовое, уксусное, молочнокислое) вызывается деятельностью микроорганизмов разных видов. Неудачи, как правило, связаны с несоблюдением чистоты биообъекта — культуры микроорганизма.

Биотехнология в медицине. Здесь биотехнологические приемы и методы играют ведущую роль при создании новых биологически активных веществ и лекарственных препаратов, предназначенных для ранней диагностики и лечения различных заболеваний.

Антибиотики — самый большой класс фармацевтических соединений, получение которых осуществляется с помощью микробиологического синтеза.

Созданы генно-инженерные штаммы кишечной палочки, дрожжей, культивируемых клеток млекопитающих и насекомых, используемые для получения гормона роста, инсулина и интерферона человека, различных ферментов и противовирусных вакцин.

В так называемой белковой инженерии, изменяя нуклеотидную последовательность в генах, кодирующих соответствующие белки, оптимизируют структуру ферментов, гормонов и антигенов.

Важнейшим открытием явилась разработанная в 1975 г. Г. Келером и С. Мильштейном техника использования гибридов для получения моноклональных антител желаемой специфичности, применяемых в качестве уникальных реагентов для диагностики и лечения различных заболеваний.

Биотехнология в сельскохозяйственном производстве направлена на усовершенствование традиционных методов селекции растений и животных, разработку новых технологий, позволяющих повысить эффективность сельского хозяйства.

Во многих странах с использованием методов генетической и клеточной инженерии созданы высокопродуктивные и устойчивые к вредителям, болезням, гербицидам сорта сельскохозяйственных растений. Разработана техника оздоровления растений от накопленных инфекций, что особенно важно для вегетативно размножаемых культур, таких как картофель и др.

Как одна из важнейших задач биотехнологии исследуется возможность управления процессами фотосинтеза и азотфиксации, в том числе введение генов азотфиксации в геном полезных растений.

Ведутся исследования по улучшению аминокислотного состава растительных белков. Разрабатываются новые регуляторы роста растений, микробиологические средства их защиты от болезней и вредителей, а также бактериальные удобрения.

Генно-инженерные вакцины, сыворотки, моноклональные антитела используют для профилактики, диагностики и лечения болезней сельскохозяйственных животных. В племенном деле применяют технику трансплантации и микроманипуляций на эмбрионах домашних животных, а также генно-инженерный гормон роста. Для повышения

продуктивности животных используют кормовой белок, полученный путем микробиологического синтеза.

Биотехнология в промышленном производстве. В пищевой промышленности широко применяют биотехнологические процессы с использованием микроорганизмов и ферментов уже на современном техническом уровне.

Промышленное выращивание микроорганизмов, растительных и животных клеток используют для получения многих ценных соединений — ферментов, гормонов, аминокислот, витаминов, антибиотиков, метанола, органических кислот (уксусной, лимонной, молочной).

С помощью микроорганизмов проводят биотрансформацию одних органических соединений в другие (например, сорбита во фруктозу). Широкое применение в различных производствах получили иммобилизованные ферменты.

Для выделения биологически активных веществ из сложных смесей используют моноклональные антитела.

Академик А. С. Спирин в 1985—1988 гг. разработал принципы бесклеточного синтеза белка, когда вместо клеток применяются специальные биореакторы, содержащие необходимый набор очищенных клеточных компонентов. Этот метод позволяет получать разные типы белков и может быть эффективен в производстве.

Многие промышленные технологии заменяются технологиями, использующими ферменты и микроорганизмы. Таковы биотехнологические методы переработки сельскохозяйственных, промышленных и бытовых отходов, очистки и использования сточных вод для получения биогаза и удобрений.

В ряде стран с помощью микроорганизмов из растительных отходов производят этиловый спирт, используемый как горючее для автомобилей. В Бразилии его получают из сахарного тростника и других растений. В России так называемый гидролизный спирт производят с помощью микроорганизмов из обработанной кислотой древесной стружки.

Различные бактерии обладают свойствами накапливать металлы или переводить их в растворимые соединения. На этой их способности основано извлечение многих металлов из бедных руд или сточных вод.

Биотехнология — одна из современных научных дисциплин, необходимая специалистам, работающим как в сфере науки, так и на производстве. Помимо знания ее общих основ обязательно также глубокое знакомство с теми разделами науки, которые наиболее близки к профилю работы специалиста. Знакомство с биотехнологией особенно необходимо всем выпускникам вузов медицинской направленности. Биотехнологические методы все более интенсивно проникают в практику диагностики, профилактики и лечения различных заболеваний. Биотехнология включена в учебные программы не только медицинских, но и технических вузов, а также университетов.

Общепризнано, что содержанием биотехнологии является использование достижений фундаментальных биологических наук в практических целях.

Для специалиста по биомедицинской технике в биотехнологии открывается широкое поле деятельности, поскольку здесь используются различные технические системы во взаимодействии с биологическими объектами различной природы.

17.2. Биохимические основы биотехнологий получения и переработки сырья

Каждый биотехнологический процесс непосредственно или косвенно связан с теми или иными биохимическими процессами, протекающими в живых организмах. В качестве примера можно рассмотреть биотехнологию гидролизного спирта — этанола.

Изучение метаболизма различных дрожжей (одноклеточных грибов) показывает, что их жизнедеятельность обеспечивается спиртовым брожением — катаболизмом глюкозы до этанола (см. гл. 12). Если дрожжевые клетки (инокулят, затравку) ввести в питательную среду с глюкозой, клетки начнут расти, размножаться. При этом в среде накапливается этанол. Таким образом, при наличии субстрата — глюкозы — биотехнологическим путем можно производить дешевый этанол (рис. 17.1). Доступным источником дешевой глюкозы может служить целлюлоза — полисахарид растительного происхождения (см. гл. 5).

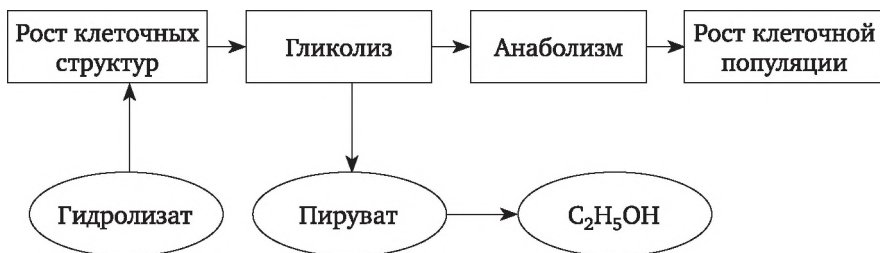
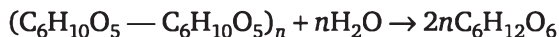


Рис. 17.1. Биотехнологический процесс получения этанола (C_2H_5OH)

Отходы деревообрабатывающей промышленности (стружка) или сахаропроизводства (стебли тростника), содержащие целлюлозу $(C_6H_{10}O_5)_n$, помещают в водный раствор серной кислоты и подвергают кислотному гидролизу (отсюда название продукта — гидролизный спирт):



В результате полимер — целлюлоза — распадается на мономерные молекулы — глюкозу ($C_6H_{12}O_6$). Серная кислота в этом процессе явля-

ется катализатором. Полученный раствор нейтрализуют и очищают от примесей. Затем очищенный и нейтрализованный раствор глюкозы — гидролизат — помещают в биореактор — ферментер.

Сюда же вводят клеточную культуру — дрожжи — и проводят процесс брожения.

На рис. 17.2 приведена структура типовой биотехнологической системы и выделены ее основные составляющие. Здесь в качестве субстрата выступает раствор глюкозы, биологического объекта — дрожжи, аппаратуры для осуществления процесса — ферментер, где в процессе брожения (технология) получается этанол.

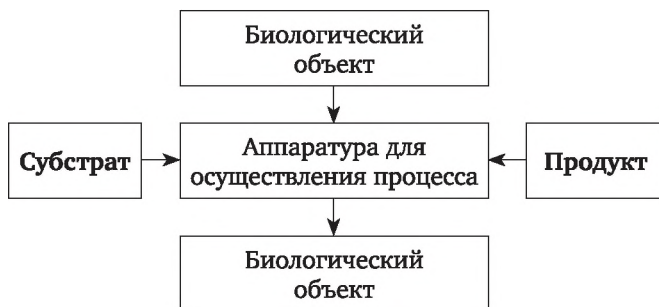


Рис. 17.2. Структура типовой биотехнологической системы

17.3. Управление биотехнологическими процессами

Важным научным разделом биотехнологии, интенсивно развивающимся в настоящее время, является *микробиологическая биотехнология*, или *биотехнология микробного синтеза*, изучающая закономерности, присущие популяциям микроорганизмов различных видов.

Развитие биотехнологии микробного синтеза продиктовано, с одной стороны, потребностью в определенных продуктах, а с другой — наличием дешевого сырья и накоплением отходов, которые экономичнее утилизировать, чем уничтожать.

К основным задачам микробиологической биотехнологии относится теоретическое и экспериментальное обоснование методов и режимов, обеспечивающих воспроизводимое (с требуемой вероятностью) получение популяций микроорганизмов и целевых продуктов их жизнедеятельности с заданными свойствами в оптимальных условиях на макроуровне.

Результаты изучения закономерностей роста и метаболизма популяций служат научной основой создания микробиологических производств, а также оборудования, приборов и автоматизированных систем, необходимых для получения, обработки и хранения микробиологических препаратов.

С помощью микробиологического синтеза получают:

- 1) микробную биомассу (дрожжи, микроводоросли, белково-витаминный концентрат);
- 2) биохимические продукты, выделяемые микроорганизмами при культивировании или получаемые из биомассы (антибиотики, витамины, органические кислоты, ферменты, спирты);
- 3) химические продукты, образующиеся в результате ферментативной активности микроорганизмов, и их компоненты (6-аминопенициллиновая кислота);
- 4) очищенные от нежелательных компонентов среды (осветленные сточные воды, депарафинизированная нефть);
- 5) ценные металлы, выделенные с помощью микробиологического выщелачивания металлов из руд.

Производства на основе микробиологической технологии носят многостадийный характер и включают наряду с микробиологической стадией большое число других процессов, характерных для химической технологии в целом.

Наиболее важным элементом микробиологических технологий является собственно микробиологическая стадия — ферментация, включающая культивирование, брожение, биосинтез, биотрансформацию, биоконверсию.

Перечислим основные особенности проведения микробиологической стадии.

1. Культивирование микроорганизмов должно проходить в условиях строгой чистоты культуры, что достигается стерилизацией как основной, так и вспомогательной аппаратуры, а также всех компонентов, поступающих в ферментер.
2. Культивирование микроорганизмов проводится в гетерогенных многофазных системах, реологические свойства которых в ходе процесса часто изменяются.
3. Многокомпонентность питательных сред.
4. Сложность биохимических механизмов регуляции роста биомассы и синтеза микробных метаболитов.
5. Автокаталитичность процесса, т.е. влияние продуктов на его скорость.
6. Более высокая вариабельность биотехнологических процессов по сравнению с химико-технологическими.
7. Относительно низкие скорости реакций, а также концентрации субстратов и получаемых продуктов, которые, как правило, еще не являются конечными.
8. Обычно умеренная температура (20—40 °C) и близкие к нейтральным значения pH.
9. Различие условий, оптимальных для роста микроорганизмов и биосинтеза целевых продуктов метаболизма.
10. Культивирование микроорганизмов является сложной системой с выраженной многоуровневой структурой.

11. Культивирование микроорганизмов — технологический процесс, требующий наличия сложной аппаратуры, инструментального, компьютерного и других видов обеспечения.

17.4. Основные понятия биотехнологии

Биообъект — центральный и обязательный элемент биотехнологического производства, создающий его специфику. Им может быть целостный сохранивший жизнеспособность многоклеточный или одноклеточный организм, изолированные клетки многоклеточного организма, а также вирусы и выделенные из клеток мультиферментные комплексы, включенные в определенный метаболический процесс. Наконец, биообъектом может быть индивидуальный изолированный фермент.

Функцией биообъекта в биотехнологии является полный биосинтез *целевого продукта*, включающий ряд последовательных ферментативных реакций, или катализ лишь одной ферментативной реакции, имеющей ключевое значение для получения целевого продукта.

Биообъект, осуществляющий полный биосинтез целевого продукта, называется *продуцентом*. Биообъект, являющийся индивидуальным ферментом или выполняющий функцию одной ферментативной реакции, используемой в биотехнологическом процессе, называют промышленным *биокатализатором*.

Таким образом, к биообъектам относят макромолекулы, микро- и макроорганизмы. В качестве макромолекул в промышленном производстве используют ферменты всех известных классов, но наиболее часто — гидролазы и трансферазы. Наиболее рационально использовать ферменты в иммобилизованном виде, т.е. связанные с нерастворимым носителем.

Для приготовления вакцин используют такие биообъекты, как вирусы. Микробные клетки прокариот и эукариот в биотехнологическом производстве занимают доминирующее положение. Эти биообъекты являются продуцентами первичных метаболитов, используемых в качестве лекарственных средств: аминокислот, азотистых оснований, коферментов, моно- и дисахаридов, ферментов, применяемых в заместительной терапии.

С помощью микроорганизмов синтезируют огромное число вторичных метаболитов, многие из которых нашли широкое применение (антибиотики и другие корректоры гомеостаза клеток млекопитающих).

Пробиотики — препараты на основе биомассы отдельных видов микроорганизмов, используют при дисбактериозах для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Микробные клетки методами генной инженерии могут быть превращены в продуценты видоспецифических для человека белковых гормонов, белковых факторов неспецифического иммунитета.

Высшие растения являются традиционным и наиболее обширным источником получения лекарственных средств. При использовании растений в качестве биообъектов основное внимание уделяется вопросам культивирования растительных тканей на искусственных средах (каллусные и суспензионные культуры) и открывающихся при этом новых перспективах.

Традиционным источником лекарственных и диагностических средств является животный мир. В этом случае в качестве биообъектов выступают органы, клетки и биоматериал млекопитающих, птиц, рептилий, амфибий, членистоногих, рыб, моллюсков. Разнообразие биологически активных соединений животного происхождения крайне велико.

В последние годы в связи с развитием технологии рекомбинантной ДНК возрастает важность такого биообъекта исследования, как органы и биоматериал организма человека.

Ранее организм человека в качестве биообъекта использовали при получении гомологичной антисыворотки или при пересадке его тканей и органов, например костного мозга, почек.

Однако с позиций биотехнологии человек стал биообъектом лишь после реализации возможности клонирования его ДНК в клетках микроорганизмов. За счет такого подхода ликвидирован дефицит сырья для получения видоспецифических белков человека.

Биотехнология микробного синтеза — это научная область, предметом изучения которой является многообразие биосинтетических процессов, осуществляемых с помощью микроорганизмов. Ее научной основой являются знания о закономерностях роста и жизнедеятельности популяций микроорганизмов в искусственно создаваемых условиях при биотехнологических исследованиях. Чтобы приступить к их проведению, необходимо располагать некоторыми предварительными сведениями о свойствах объекта изучения, о причинно-следственных связях между его параметрами и внешними и внутренними возмущающими воздействиями.

В случае сложных биотехнологических объектов нельзя четко и однозначно определить и изучить отдельные их свойства. В таких объектах одновременно действует много факторов, протекает большое число взаимосвязанных явлений различной физической природы, механизм которых, как правило, до конца не ясен.

Установление законов поведения биотехнологических систем — сложная задача, для решения которой прибегают к построению физических, вещественно-математических и логико-математических моделей, в той или иной мере имитирующих поведение реальных объектов.

Моделирование биотехнологических процессов и их оптимизация

При моделировании оперируют такими понятиями, как физические, вещественно-математические и логико-математические модели.

Физические модели имеют природу, сходную с природой изучаемого объекта, и отличаются от него лишь размерами, скоростью течения исследуемых явлений и иногда материалом. *Вещественно-математические модели* имеют отличную от прототипов природу, но допускают одинаковое с оригиналом математическое описание. *Логико-математические модели* конструируются из знаков и являются абстрактными моделями, строящимися как исчисления.

В микробиологическом синтезе лабораторное культивирование микроорганизмов является физической моделью промышленного производства. Вещественно-математические модели применяют в биотехнологии микробного синтеза с начала прошлого века. Это системы дифференциальных уравнений различной степени сложности, разработкой которых занимались А. Г. Мак-Кендрик, В. В. Пай, Н. Д. Иерусалимский, Ж. Моно и многие другие исследователи. В настоящее время общес число таких моделсей около тысячи.

Логико-математические модели также находят применение в биотехнологии микробного синтеза. Например, В. В. Бирюков (1985) с успехом использовал булевы модели для прогнозирования ферментативных процессов. Следует подчеркнуть, что за логико-математическими моделями большое будущее, так как они составляют основу формализованного языка биотехнологических процессов.

Биотехнология занимается изучением живых систем различной степени сложности. При этом для описания разнообразных явлений наряду с обычным используют биохимический, морфологический, физико-химический, генетический, энергетический и физиологический языки, которые применяют на различных уровнях организации живой материи: клеточном, тканевом, популяционном, биоценоотическом.

При исследованиях процессов микробиологического синтеза происходит непрерывная трансформация моделей изучаемого объекта, усложнение и изменение их характера.

На основе данных, полученных из анализа литературных источников или предварительно проведенных экспериментов, биотехнолог-исследователь строит гипотезу о наиболее существенных факторах микробиологического синтеза, которая, как правило, формулируется словесно и представляет собой *описательную модель*. Затем осуществляется постановка эксперимента и физическое моделирование биотехнологического процесса, на основе результатов которых подтверждаются или опровергаются первичные гипотетические представления о ходе процесса микробиологического синтеза. Полученные результаты затем используются как в лабораторной, так и промышленной биотехнологической практике.

При математическом моделировании исследователь после формулировки описательной модели создает вещественно-математическую модель (как правило, в виде систем дифференциальных уравнений), на основе которой (после проверки ее адекватности и идентификации)

осуществляется поиск оптимального режима биотехнологического процесса.

В настоящее время имеется большое число работ по математическому моделированию биотехнологических процессов микробиологического синтеза, начиная от моделей накопления биомассы, антибиотиков, аминокислот и других продуктов жизнедеятельности микроорганизмов и кончая моделями, учитывающими возрастную структуру популяции, автоселекцию и адаптацию микробных сообществ. Математические описания основываются на законах биохимии, ферментативного катализа и роста клеточных популяций.

Для расчета выхода целевого продукта в биотехнологических исследованиях осуществляется построение схемы изучаемого процесса. Биотехнолог определяет набор начальных субстратов, внутриклеточных регуляторов, в частности ферментов, и конечных продуктов, в том числе целевых. Затем схему изучаемого процесса описывают уравнениями, представляющими собой вещественно-математическую модель этого процесса. Решения этих уравнений лежат в основе управления биотехнологическими процессами.

Скорость накопления целевого продукта микробиологического синтеза в первую очередь определяется кинетикой роста клеточной популяции — объекта культивирования. Целевым физиологически активным соединением может быть суммарная биомасса микробных клеток, их низко- или высокомолекулярные эндометаболиты (например, для ферментов нуклеинового обмена), а также экзометаболиты (например, аминокислоты, антибиотики, витамины).

Количество конечного продукта пропорционально биомассе. Поэтому в работах по математическому моделированию биотехнологических процессов микробиологического синтеза модели накопления биомассы играют первостепенную роль. В качестве такой модели рассмотрим квазихимическую модель роста клеточных популяций.

Квазихимическая модель роста клеточных популяций

Название *квазихимической* модель получила потому, что взаимодействие клеток и химических веществ (субстратов и токсикантов) в растущей популяции отображается в виде химических реакций с помощью квазихимических уравнений. При этом отображается биохимическая структура растущей популяции — ее химические взаимодействия с окружающей средой.

Так как построение *квазихимической* модели роста клеточных популяций начинается с анализа основных стадий *клеточного цикла*, предварительно введем его основные понятия.

Клеточный, точнее *митотический*, цикл — это период жизни клетки от одного деления до другого или от деления до смерти (рис. 17.3). Клеточный цикл — согласованная однонаправленная последовательность событий, в ходе которой клетка последовательно проходит разные его стадии без пропуска или возврата к предыдущим стадиям. Клеточный цикл заканчивается делением исходной клетки на две дочерние. Вновь

образованные клетки приобретают способность к делению после некоторого периода роста. Кроме того, делению предшествует удвоение клеточных структур: хлоропластов, митохондрий, центриолей и др.

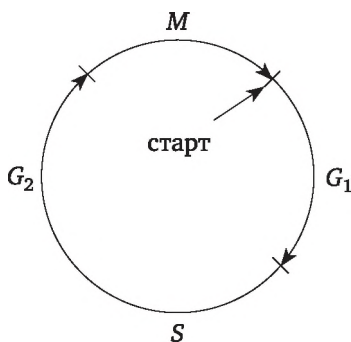


Рис. 17.3. Схема клеточного цикла

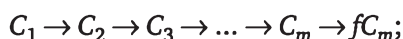
Перед началом клеточного деления должна реплицироваться ДНК, поскольку она несет в себе информацию, необходимую клетке для синтеза белков. Если бы дочерние клетки не получали точных копий ДНК материнской клетки, они перестали бы быть похожими друг на друга. Это в конечном счете привело бы к невозможности существования определенных видов организмов. Чтобы этого не случилось, ДНК должна идеально реплицироваться и каждая дочерняя клетка при клеточном делении должна получать ее копию. Совокупность последовательных и взаимосвязанных процессов в период подготовки клетки к делению и в период деления называется митотическим циклом (от названия основного типа деления — *митоза*).

В непрерывно размножающихся тканевых клетках клеточный цикл совпадает с митотическим циклом и состоит из четырех фаз со строгой последовательностью смен друг друга: *пост-митотической* G_1 -фазы (начального роста от англ. *grow* — расти, увеличиваться), *синтетической* S-фазы (удвоения от англ. *synthesis* — синтез), *премитотической* G_2 -фазы (роста), амитоза М-фазы (клеточного деления). Первые три периода — это интерфаза. По продолжительности она составляет большую часть митотического цикла клетки. В фазе G_1 клетка растет, в ней усиленно образуются РНК и белки, в первую очередь ферменты, катализирующие образование предшественников ДНК, ферменты метаболизма РНК и строительных белков. В S-фазе происходит репликация ДНК (синтез новых цепочек ДНК — отсюда и название фазы). В результате удвоения молекул ДНК в каждой хромосоме оказывается вдвое больше ДНК, чем было до S-фазы, т.е. количество ДНК в диплоидных клетках соответствует тетраплоидному набору. Однако количество хромосом считается диплоидным, потому что образовавшиеся дочерние хромосомы (хроматиды) тесно переплетены между собой и составляют единую хромосому. В S-фазе, кроме репликации ДНК, продолжается синтез РНК и белков, осуществляется синтез рРНК, которые использу-

ются в следующем периоде для синтеза белков, обеспечивающих митоз, происходит удвоение центриолей, а также деление митохондрий, увеличивается количество других органелл клетки. Время от окончания синтеза ДНК и до начала митоза — это G_2 -фаза, в которой завершается подготовка клетки к митозу, активно синтезируются различные белки, в том числе и тубулиновые, из которых образуются нити веретена деления, а также иРНК и белки для осуществления G_1 -фазы после митоза. Далее наступает деление клетки.

Установлено, что при заданных внешних условиях длительность отдельных стадий клеточного цикла и цикла в целом воспроизводится с характеристиками, присущими данной клеточной линии.

Описательная (вербальная) квазихимическая модель клеточного цикла, начиная с митоза — деления материнской клетки C_m — может быть представлена схемой в виде цепи последовательных стадий:



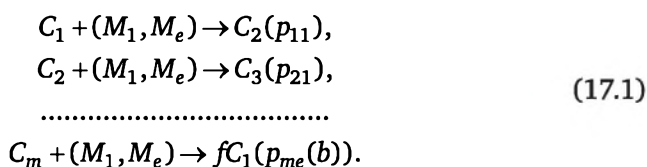
где C_1 — молодая клетка непосредственно после деления, C_2, C_3, \dots, C_m — последующие стадии ее развития до митоза; f — фактор размножения. Стадии C_1, C_2, C_3, C_m представляют соответственно клетки четырех возрастов — фаз G_1, S, G_2, M , т.е. различные *состояния* популяции, в которых могут находиться особи, которые количественно оцениваются по численности особей s_i в этих состояниях ($i = 1, \dots, m$), т.е. по населенности состояний. Объединение населенностей в векторной записи формирует *вектор состояния* популяции. Его компонентами является численность особей в каждом из состояний.

Необходимым условием роста популяций тех или иных биологических видов является наличие набора питательных веществ (субстратов):



где M_s — вектор набора субстратов (M_{s1}, M_{se}) для биологического вида, соответствующего фазе S.

В качестве набора субстратов могут выступать кислоты, сахара, нуклеиновые кислоты и т.д. В результате поглощения субстратов на стадиях C_1 , C_2 , C_3 происходит образование зрелой клетки C_m , поглощающей субстраты (совсем не обязательно те же самые) и при делении образующей f новых клеток. Таким образом, развивается популяция в целом. Этот процесс можно описать системой последовательных квазихимических (псевдохимических) реакций (для краткости индекс «5» опускается):



Здесь C_1 — молодая клетка, которая в результате поглощения субстрата M_1 вызревает до клетки C_2 , в свою очередь поглощающей M_2 и превращающейся в C_3 , и т.д. Таким образом описывается весь путь развития от молодой клетки C_1 до зрелой C_m , которая образует две новые клетки C_1 (акт рождения).

Набор кинетических констант (p_{m1}, p_{me}) определяет кинетический вектор роста.

Каков смысл записи роста популяции в виде квазихимических реакций? Например, $C_2 + (M_1, M_e) \rightarrow C_3$? Такая запись отображает факт, что клетка C_2 перешла в состояние C_3 , причем этот переход происходит в результате поглощения клеткой каких-либо субстратов, веществ M_1, M_e .

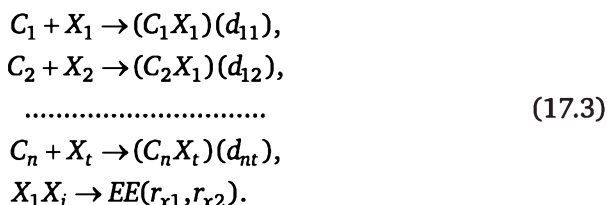
При этом по виду это та же самая реакция, только уже в качестве реагента выступает не химическое вещество, а клетка.

В общем случае открытых систем следует учесть приращение (или убыль) численности популяции в результате притока (оттока) из внешней среды EE :



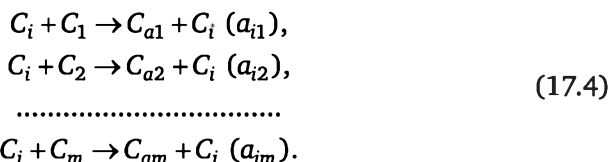
где (w_1, \dots, w_m) — набор скоростей приращения числа особей C_1, \dots, C_m из внешней среды.

Действие химических агентов — токсикантов X_i — может проявляться на любой стадии роста и также описывается с помощью квазихимических уравнений:



Здесь (X_1, X_t) — вектор (список) химических агентов — токсикантов; d_{ij} — соответствующая матрица кинетических коэффициентов токсического действия. Химическими агентами, в частности, могут быть лекарственные вещества.

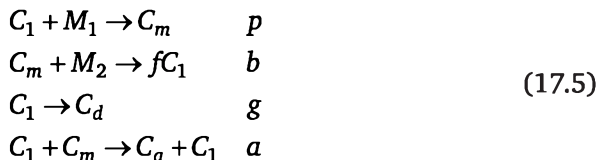
Кроме того, следует учесть процессы автоингибирования, когда, например, зрелые особи C_n задерживают рост молодых:



Совокупность этих взаимодействий описывается кинетическим вектором автоингибирования (a_{i1}, \dots, a_{im}). Сходным образом можно отобразить половое размножение.

С помощью различных приближений система псевдохимических уравнений (17.1)—(17.4) может быть редуцирована до второго порядка. Такая система достаточно информативна и позволяет качественно, а во многих случаях и количественно, описывать развитие популяций различных видов.

Двухстадийная модель роста популяции. Редуцированная двухстадийная система псевдохимических реакций имеет вид



Здесь использованы те же обозначения, что и в системах (17.1)—(17.4), только для краткости опущены индексы: C_1 — совокупность клеток разных возрастов до митоза; C_m — митотические клетки; C_a — клетки в анабиозе (покое); M_1, M_2 — субстраты.

В предположении постоянства количеств субстратов M_1, M_2 кинетика цепного роста изолированной популяции, состоящей из особей C_1 и C_m , описывается системой из двух дифференциальных уравнений:

$$dc_1/dt = -pc_1 + fbc_m; \quad (17.6)$$

$$dc_m/dt = pc_1 - bc_m - ac_1c_m, \quad (17.7)$$

где c_1, c_m — количества растущих и митотических клеток; a, b, p — кинетические коэффициенты автоингибирования, рождения (разветвления) и роста популяционной цепи. В коэффициенты p и b включены постоянные количества субстратов M_1 и M_2 ; f — коэффициент размножения. Для данной разделившейся митотической клетки C_m $f = 2$. В общем случае значение f может отличаться от двух.

Уравнение (17.6) по сравнению с (17.7), как правило, описывает более быстрые изменения. Поэтому для митотических клеток C_m система уравнений (17.6) и (17.7) сводится к одному уравнению:

$$dc_1/dt = p_1c_1(K_1 - c_1)/(K_2 + c_1) + w_1, \quad (17.8)$$

где K_1 — предельная плотность особей C_1 при $w_1 = 0$.

$$K_1 = (fbp - p_x b_x)/ap_x; K_2 = b_x/a.$$

При значениях f , отличных от двух, динамику численности популяции $c_1(t)$ в общем случае нельзя представить в виде явной функции от времени. Поэтому целесообразно использовать обратную функцию

$t(c_1)$, получаемую в общем случае интегрированием уравнения (17.8) по c_1 в качестве независимой переменной:

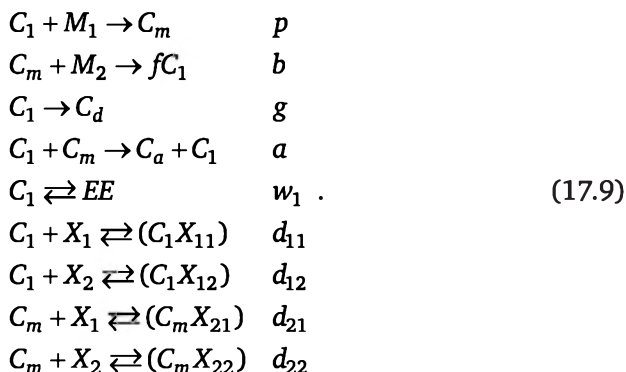
$$t(c_1) = (\ln(c_1/c_0) - f \ln((K(f-1) - c_1)/(K + c_1)))/p.$$

Математическая модель действия ингибиторов на рост популяции

Воздействие химических веществ на биологические системы интенсивно изучается с прошлого столетия в связи с фармакологическими и экологическими проблемами.

Двухстадийная модель роста популяции, описываемая квазихимическими уравнениями (17.5), позволяет провести наглядную математическую формализацию и получить в явном виде уравнения, количественно описывающие токсические воздействия.

При одновременном воздействии двух веществ X_1 и X_2 (комбинированная токсичность) двухстадийная квазихимическая модель имеет вид:



Здесь (X_{11}, X_{12}) — двумерный вектор (список) токсикантов-ингибиторов; d_{ij} — соответствующая матрица кинетических коэффициентов токсического действия. Остальные обозначения те же, что и в системах (17.1)—(17.4).

В предположении постоянства количеств субстратов M_1, M_2 и токсикантов X_1, X_2 кинетика цепного роста и ингибирования популяции, состоящей из особей C_1 и C_m , описывается системой из двух дифференциальных уравнений, по форме аналогичных уравнениям (17.6) и (17.7):

$$dc_1/dt = -p_x c_1 + f b c_m + w_1; \quad (17.10)$$

$$dc_m/dt = p c_1 - b_x c_m - a c_1 c_m. \quad (17.11)$$

Здесь c_1, c_m — количества растущих и митотических клеток; a, b, p — те же коэффициенты, что и в уравнениях (17.6), (17.7). Коэффициенты b_1 и p_1 являются функциями от количества ингибиторов x_1 и x_2 .

$$p_x = p + d_1; b_x = b + d_2,$$

где $d_1 = d_{11}x_1 + d_{12}x_2$; $d_2 = d_{21}x_1 + d_{22}x_2$.

Уравнение (17.11) по сравнению с (17.10) во многих случаях описывает более быстрые изменения. Тогда для митотических клеток C_m применимо квазистационарное приближение. При этом система, состоящая из уравнений (17.10) и (17.11), сводится к одному:

$$dc_1/dt = p_x c_1 (K_1 - c_1) / (K_2 + c_1) + w_1, \quad (17.12)$$

где K_1 — в соответствии с вышесказанным предельная численность особей c_1 ;

$$K_1 = (fbp - p_x b_x) / ap_x; K_2 = b_x / a.$$

С возрастом содержания токсикантов величина K_1 уменьшается. При достижении значения $K_x = c_0$, где c_0 — начальная численность особей c_1 , скорость роста популяции согласно (17.12) обращается в нуль. Рост популяции отсутствует, и ее численность остается на исходном уровне. Наборы концентраций (x_1, x_2) ингибиторов, соответствующие условию $K_x = c_0$, являются в этом смысле *цитостатическими*.

Динамику численности популяции $c_x(t)$ в общем случае получают в виде обратной функции $t(c_1)$ интегрированием уравнения (17.12) по c_1 :

$$t(c_1) = \ln\{(c_1/c_0)[(K_1 - c_0)/(K_1 - c_1)]^{(1+n)}\} / (np_x). \quad (17.13)$$

График функции (17.13) описывает рост биологических популяций в присутствии химических агентов. Поэтому данную зависимость целесообразно называть *экотоксикологической кривой* роста популяции.

На рис. 17.4 приведены экспериментальные результаты, полученные по уравнению (17.13) и описывающие рост пивных дрожжевых клеток в присутствии солей хрома и никеля. В пределах точности измерений расчетные кривые согласуются с экспериментальными данными при изменении численности примерно на шесть порядков.

Все параметры экотоксикологических кривых роста популяций могут быть экспериментально определены по кривым роста, измеренным при различных концентрациях (x_1, x_2) ингибиторов.

Обработка доступных экспериментальных данных в рамках описанного выше подхода показывает, что расчетные кривые в пределах точности согласуются с измерениями (см. рис. 17.4).

Существенно, что предлагаемая здесь модель позволяет описывать не только ингибирование, но и стимуляцию (промотирование) биологического роста.

Любое экспериментальное изучение биотехнологических процессов микробиологического синтеза складывается из двух этапов.

На первом этапе исследователь выбирает:

- 1) объект культивирования — конкретную популяцию, которая обеспечивает накопление целевого продукта;
- 2) исходную питательную среду;
- 3) условия культивирования по регулируемым параметрам;
- 4) способ культивирования — периодический или непрерывный с конкретизацией способа регулирования скорости роста популяции микробов в ферментере (режим — хемостат, рН-стат, турбидостат, оксистат или какие-либо другие варианты);
- 5) установку для культивирования данного объекта. Последние два пункта первого этапа — поле деятельности специалиста по биомедицинской технике.

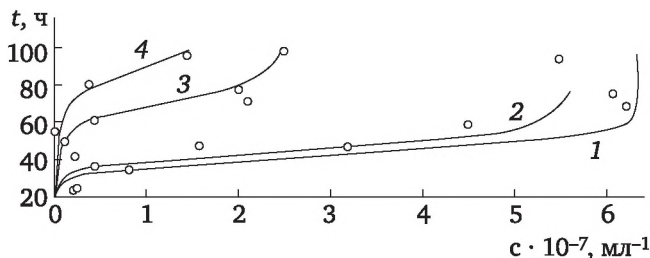


Рис. 17.4. Кривые роста пивных дрожжевых клеток в присутствии солей Cr^{2+} и Ni^{2+} . Кривые построены по уравнению (17.12). Экспериментальные точки получены для разных концентраций (ммоль/л):

- 1 — $C(\text{Cr}) = C(\text{Ni}) = 0,0$; 2 — $C(\text{Cr}) = 0,0$, $C(\text{Ni}) = 0,5$;
3 — $C(\text{Cr}) = 0,5$, $C(\text{Ni}) = 0,0$; 4 — $C(\text{Cr}) = 0,5$, $C(\text{Ni}) = 0,5$

На втором этапе проводят экспериментальное изучение динамики накопления целевого продукта микробиологического синтеза. Для изучения причинно-следственных связей в объекте используются биохимический, морфологический, физико-химический, генетический и физиологический языки описания. Количественные результаты эксперимента выражаются в виде кинетических кривых роста популяций, потребления экзогенных субстратов, синтеза эндогенных низко- и высокомолекулярных соединений, накопления продуктов жизнедеятельности, применения морфологических, физико-химических и генетических параметров микробной популяции.

Кинетические кривые роста позволяют установить причинно-следственные связи между трофикой микробных клеток, их метаболизмом и таким физиологическим параметром, как скорость изменения концентрации целевого физиологически активного соединения. На этой основе оптимизируется технология производства этого соединения (см. рис. 17.4).

Вопросы и задачи

Глава 1

1. К какому типу относятся клетки организма человека: к гетеротрофам или автотрофам?

2. Перечислите основные структурные элементы эукариотической клетки.

3. Назовите основные функции клетки.

4. Где в клетке синтезируется АТФ?

5. Перечислите известные вам физические и химические методы анализа, используемые в биохимии.

6. Рассчитайте число молекул глюкозы, содержащихся в одной клетке *Mycoplasma pneumoniae* (микоплазмы — самые мелкие сферические клетки с диаметром около 0,33 мкм), если известно, что ее концентрация в клетке 1,2 мМ/л (миллимоля/литр). Рассчитайте молярную концентрацию гексокиназы (мол. масса 100 000, количество 10 г/л), являющейся ферментом для запуска цепи реакций расщепления глюкозы в клетке *Mycoplasma pneumoniae*.

7. Сколько весит одна клетка *E. coli*, имеющая цилиндрическую форму высотой 2,0 мкм и диаметром 0,8 мкм, если ее плотность в среднем равна 1,05 г/см³? Какую долю (в %) от общего объема бактерии составляет клеточная стенка, если толщина последней равна 10,0 нм?

8. Определите число микроворсинок на поверхности эпителиальной клетки, если она представляет собой сферу диаметром 20 мкм, микроворсинки имеют форму цилиндров высотой 1,0 мкм и диаметром 0,1 мкм, расположены на поверхности клетки в виде регулярной решетки с расстоянием 0,2 мкм между центрами двух микроворсинок и занимают 25 % площади поверхности клетки.

9. На сколько процентов увеличится поглощающая способность эпителиальной клетки (см. задачу 8) благодаря наличию микроворсинок? (Поглощающая способность определяется отношением площади поверхности клетки к ее объему.)

Глава 2

1. Перечислите аминокислоты, имеющие в боковой цепи карбоксильные группы.

2. Изобразите кривую титрования лизина и напишите уравнения кислотно-основного равновесия для данной аминокислоты.

3. Напишите уравнение кислотно-основного равновесия и уравнение Гендерсона — Гассельбаха для вещества R-COOH, имеющего карбоксильную группу с $pK_1 = 4,76$. Изобразите кривую титрования этого вещества.

4. К 1 л раствора муравьино-кислого натрия с концентрацией 0,1 М добавляют концентрированную соляную кислоту до тех пор, пока значение pH не станет равным 1,9. Каковы будут концентрации формиат-иона и неионизированной муравьиной кислоты в полученном растворе?

5. Определите количество (в граммах) первичного кислого фосфата натрия ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; мол. масса 138) и вторичного кислого фосфата натрия (Na_2HPO_4 ; мол. масса 142), необходимых для приготовления 1 л стандартного буфера с pH 7,2, в котором суммарная концентрация фосфатов равна 0,1 М, если при 25 °С для $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ $pK_a = 6,86$.

6. Содержание ионов Na^+ в моче человека может достигать концентрации 340 мМ. Концентрация этих ионов в морской воде вдвое выше. На основании этих данных обоснуйте недопустимость постоянного употребления человеком морской воды.

7. В качестве вещества, понижающего температуру замерзания воды в радиаторе автомобиля, обычно используется двухатомный спирт — этиленгликоль ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CH}_2\text{OH}$). Какова должна быть приблизительная концентрация этиленгликоля для предотвращения замерзания раствора при -10 °С?

8. Рассчитайте количество уксусной кислоты, которое нужно растворить в дистиллированной воде, чтобы получить 1 л раствора, имитирующего пищевой уксус, если известно, что уксусная кислота при 25 °С представляет собой жидкость с плотностью 1,05 г/мл и $pK_a = 4,76$, а пищевой уксус имеет pH = 3,1.

9. Для определения кислотности было оттитровано до нейтральной реакции раствором NaOH с концентрацией 0,1 моль/л 10,0 мл желудочного сока. Какова величина pH желудочного сока, если на титрование потребовалось 7,2 мл раствора NaOH?

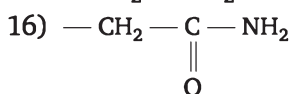
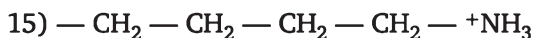
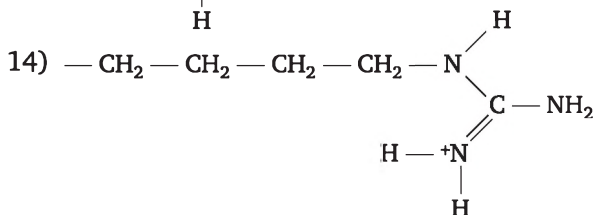
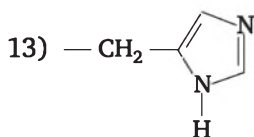
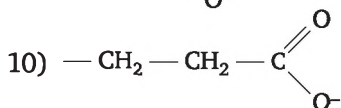
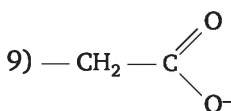
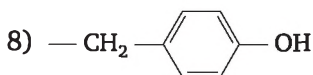
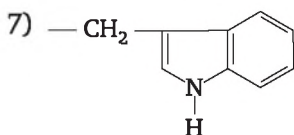
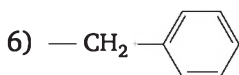
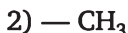
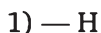
10. Исходя из выражения для константы равновесия подтвердите правильность тезиса о том, что pK — это такой pH, при котором кислота ионизирована на 50 %, т.е. представляет собой смесь недиссоциированных молекул кислоты и сопряженного с ней основания в соотношении 50:50.

11. В каком интервале pH глицин может быть использован как эффективный буфер за счет его аминогруппы, если pK_a для равновесия $-\text{NH}_3^+ \rightleftharpoons -\text{NH}_2 + \text{H}^+$ равен 9,3? Каково должно быть численное соотношение между величинами pH раствора и pK_a аминогруппы глицина, чтобы у 99 % молекул глицина аминогруппа находилась в протонированной форме?

12. Вычислите, чему равны молярные концентрации ионов H^+ в матриксе митохондрий и в окружающей среде, если pH митохондриального матрикса равен 7,65, а в среде 7,2.

13. Укажите, какие из аминокислот (глицин, аланин, глутаминовая кислота, лизин, аргинин и гистидин), находящиеся в смеси в растворе с pH 6,0, в электрическом поле будут двигаться к аноду, а какие к катоду.

14. Ниже приведены структурные формулы боковых цепей 16 аминокислот (Ala, Arg, Asn, Asp, Cys, Glu, Gly, His, Lys, Met, Phe, Pro, Ser, Trp, Tyr и Val). Назовите аминокислоты, которым принадлежат изображенные здесь боковые цепи.



15. У какой из перечисленных в задаче 14 аминокислот боковая цепь имеет pK_a равный 10,5, и при физиологических значениях pH несет положительный заряд?

16. У какой из перечисленных в задаче 14 аминокислот боковая цепь ароматическая, имеет гидрофобную природу и нейтральна при всех значениях pH?

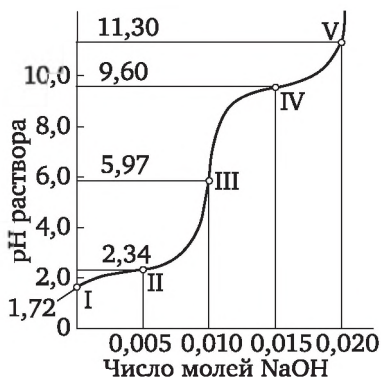
17. Среди перечисленных в задаче 14 назовите единственную аминокислоту, содержащую замещенную α -аминогруппу.

18. Среди перечисленных в задаче 14 аминокислот назовите способную образовывать дисульфидные поперечные связи между полипептидными цепями.

19. Напишите уравнения для всех возможных процессов ионизации гистидина и укажите примерные величины констант равновесия pK_a для каждого из этих процессов.

20. К аноду (+) или к катоду (–) будет двигаться гистидин в ходе электрофореза при значениях pH 1, 4, 8 и 12?

21. 100 мл раствора глицина с концентрацией 0,1 М и pH 1,72 было оттитровано 2 М раствором NaOH. В ходе титрования производилась регистрация значений pH. Полученные экспериментальные данные представлены на приведенном ниже графике. Требуется охарактеризовать все точки, отмеченные на графике римскими цифрами I—V:



а) какая точка соответствует pH, при котором в 0,1 М растворе глицина эта аминокислота существует в форме ионов $^+H_3N-CH_2-COOH$;

б) в какой точке значение pH равно величине pK_a ионизации карбоксильной группы глицина;

в) в какой точке значение pH равно величине pK_a ионизации протонированной аминогруппы $-NH_3^+$ глицина;

г) в какой точке карбоксильная группа глицина оказывается полностью оттитрованной (первая точка эквивалентности);

д) в какой точке глицин полностью оттитрован (вторая точка эквивалентности);

е) в какой точке глицин существует преимущественно в форме $^+H_3N-CH_2-COO^-$;

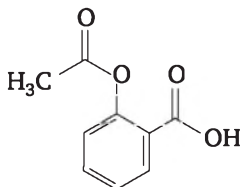
ж) в какой точке раствор глицина обладает максимальной буферной емкостью;

з) в какой точке средний суммарный заряд молекулы глицина равен -1 ;

и) какому pH соответствует изоэлектрическая точка глицина;

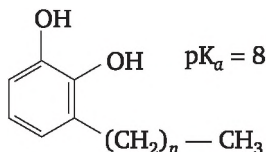
к) какой точке соответствует конец титрования?

22. Широко используемый лекарственный препарат аспирин представляет собой слабую кислоту с $pK_a = 3,5$.



Где аспирин легче всасывается в кровь: в желудке или в тонком кишечнике, если pH желудочного сока в желудке близок к единице, а в тонком кишечнике pH 6 и известно, что ионизированные (заряженные) и сильно полярные молекулы проходят сквозь мембраны медленно, тогда как нейтральные гидрофобные молекулы быстро?

23. Содержащиеся в тканях сумаха производные пирокатехина с длинными цепями алкильных групп вызывают характерную зудящую сыпь. Какой способ обработки пораженного участка кожи из перечисленных ниже будет наиболее эффективным и почему ($pK_a = 8$):



а) промывание поверхности кожи холодной водой;

б) разбавленным уксусом или лимонным соком;

в) мылом и водой;

г) мылом, водой и пищевой (питьевой) содой (бикарбонатом натрия)?

24. Напишите с помощью формул строения уравнение образования тетрапептида Ala-Cys-Gln-His. Выделите пептидные связи.

Глава 3

1. Сколько различных трипептидов можно приготовить из трех аминокислот — глицина, аланина и серина при условии, что любая из них может занимать любое из трех возможных положений, причем каждую аминокислоту можно использовать более одного раза? Сколько различных трипептидов можно приготовить, если использовать каждую аминокислоту только один раз?

2. Напишите с помощью формул строения уравнение образования тетрапептида Ala-Cys-Gln-His. Выделите пептидные связи.

3. Укажите, какая аминокислота из приведенных ниже пар, находящихся в смеси, будет уходить с колонки первой при пропускании буфера с pH 7,0: а) Asp и Lys; б) Arg и Met; в) Glu и Val; г) Gly и Leu; д) Ser и Ala.

4. Рассчитайте минимальную молекулярную массу сывороточного альбумина быка, если по данным количественного аминокислотного анализа в нем содержится 0,58 % (по массе) триптофана, молекулярная масса которого равна 204.

5. Полипептид, выделенный из мозга, имеет последовательность: Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly. Определите суммарный заряд молекулы при pH 3, 5,5, 8, 11? Значения pK_a для боковых цепей Glu, Ser, Tyr и Arg равны соответственно 4,3; 6,0; 13,6; 10 и 12,5. Рассчитайте значение изоэлектрической точки этого полипептида.

6. Какие функциональные группы должны присутствовать в пепсине в таком количестве, чтобы этот фермент мог иметь значение изоэлектрической точки, равное 1,2? Какие аминокислоты имеют в своем составе функциональные группы, обеспечивающие такой низкий pH?

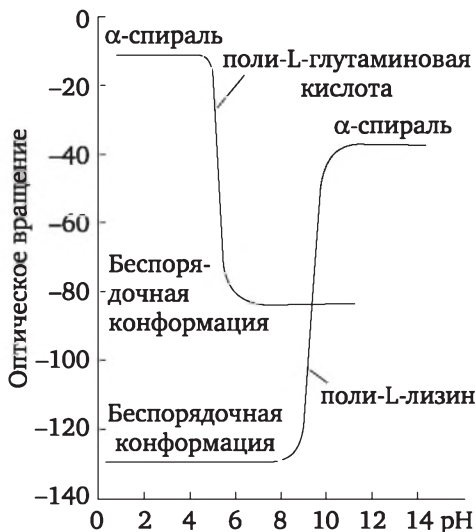
7. Значение изоэлектрической точки гистонов около 10,8. Какие аминокислотные остатки должны присутствовать в гистонах в относительно больших количествах?

8. Укажите связи в (β -цепи инсулина, в которых происходит ее расщепление под действием а) трипсина и б) химотрипсина.

9. Какой из каждой пары приведенных ниже полипептидов более растворим в указанных условиях:

- а) (Cly)₂₀ или (Glu)₂₀ при pH 7,0;
- б) (Lys-Ala)₃ или (Phe-Met)₃ при pH 7,0;
- в) (Ala-Ser-Gly)₅ или (Asn-Ser-His)₅ при pH 9,0;
- г) (Ala-Asp-Gly)₅ или (Asn-Ser-His)₅ при pH 3,0?

10. Используя приведенный ниже рисунок, объясните влияние pH на конформацию полиглутаминовой кислоты и полилизина. Почему переход из одной конформации в другую происходит в таком узком интервале значений pH?



11. Ниже приведены значения pK_a для аланина и ди-, три- и олигопептидов, содержащих остатки аланина:

	pK_1	pK_2
Ala	2,34	9,69
Ala-Ala	3,12	8,30
Ala-Ala-Ala	3,39	8,03
Ala-(Ala) $_n$ -Ala, $n > 4$	3,42	7,94

а) нарисуйте структурную формулу пептида Ala-Ala-Ala. Укажите функциональные группы, которым соответствуют величины pK_1 и pK_2 ;

б) объясните, почему при переходе от Ala к олигопептидам, состоящим из остатков Ala, величина pK_1 возрастает, а величина pK_2 уменьшается.

12. Объясните, какие свойства белков лежат в основе аффинной хроматографии и каким образом можно получить белок, оставшийся на аффинной колонке, в чистом виде. Объясните, какие принципы лежат в основе предлагаемой операции.

Глава 4

1. Рассчитайте среднюю молярную концентрацию ферментов в гипотетической клетке исходя из следующих условий: в клетке, имеющей вид цилиндра диаметром 1 мкм и высотой 2 мкм, цитозоль (удельный вес 1,20) содержит 20 % масс, растворимого белка, полностью состоящего из различных ферментов; клетка содержит 1000 разных ферментов, растворенных в цитозоле, молекулярная масса каждого из которых в среднем составляет 100 000; все ферменты присутствуют в одинаковой концентрации.

2. Фермент уреазы повышает скорость гидролиза мочевины при pH 8,0 и 20 °C в 10^{14} раз. Если заданное количество уреазы может полностью гидролизовать заданное количество мочевины за 5 мин при pH 8,0 и 20 °C, сколько времени потребовалось бы для полного гидролиза мочевины в тех же условиях без уреазы?

3. При какой концентрации субстрата фермент будет работать со скоростью, равной $1/4$ максимальной (v_{max}), если v_{max} превращения субстрата составляет 30 мкмоль/мл-мин, а значение K_m равно 0,005 М? Определите, какую долю v_{max} будет составлять скорость реакции при концентрациях субстрата, равных $1/2$, 2 и 10 K_m .

4. Исходя из определения v_{max} и K_m оцените приблизительные значения этих величин для ферментативной реакции по следующим данным:

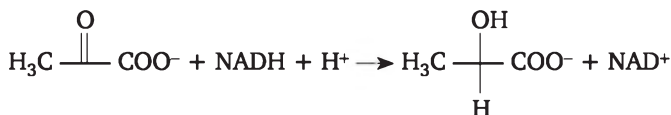
[S], моль/л	$5 \cdot 10^{-6}$	$24,0 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-2}$
V_a , мкмоль/мл-мин	28	40	70	95	112	128	139	140

5. По представленным в задаче 4 данным графическим путем определить величины v_{max} и K_m для реакции глицилглицин + $H_2O \rightarrow 2$ глицин.

[S], мМ	1,5	2,0	3,0	4,0	8,0	16,0
Продукт, мг/мин	0,21	0,24	0,28	0,33	0,40	0,45

6. Рассчитайте число оборотов фермента карбоангидразы, катализирующей реакцию $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$, если 15 мкг чистой карбоангидразы катализируют гидратацию 0,42 г CO_2 за 60 с при 36 °С.

7. Лактатдегидрогеназа катализирует реакцию:



Объясните, как свойство NADH поглощать свет в диапазоне 330—350 нм можно использовать для количественного определения лактатдегидрогеназы, если известно, что NAD^+ не поглощает свет в этой области.

8. В присутствии катализатора энергия активации некоторой реакции при 20 °С снижается на 38 кДж/моль. Во сколько раз при этом возрастет скорость реакции?

9. Рассчитайте предэкспоненциальный множитель в уравнении Аррениуса при 393 К, если при этой температуре константа скорости реакции равна $4,02 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, а при 413 К — $19,83 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Изобразите зависимость скорости реакции от температуры.

10. Изобразите кинетические кривые веществ А, Х, В в ходе последовательных реакций первого порядка $\text{A} \rightarrow (k_1)\text{X} \rightarrow (k_2)\text{B}$, если $k_2 \gg k_1$.

11. Рассчитайте время достижения максимальной концентрации лекарственного препарата в крови t_{max} , если константа всасывания препарата из желудка $k_1 = 0,5 \text{ ч}^{-1}$, а константа элиминации (выведения) лекарства с мочой $k_2 = 0,05 \text{ ч}^{-1}$. Изобразите кинетические кривые всасывания и элиминации препарата.

12. Денатурация данного вируса является процессом, протекающим по уравнению реакции первого порядка с энергией активации, равной 63,0 кДж/моль. Период полураспада (стерилизации) вируса при 40 °С равен 4 часа. Вычислите период его полураспада при 60 °С. Изобразите кинетические кривые реагентов и продуктов и зависимость скорости стерилизации от температуры.

13. Активность аланинтрансминазы (скорость аланинтрансминазной реакции) обычно измеряют, вводя в реакционную систему избыток очищенной лактатдегидрогеназы и NADH. Скорость исчезновения аланина равна скорости исчезновения NADH, которую измеряют спектрофотометрическим методом. Объясните, что при этом происходит.

14. Рассчитайте зависимость максимального количества промежуточного вещества Х от констант скорости k_1 , k_2 в цепи последовательных реакций $\text{A} \rightarrow (k_1)\text{X} \rightarrow (k_2)\text{B}$.

Глава 5

1. Напишите с помощью формул строения уравнение образования дисахарида $\alpha\text{Glc}-\beta\text{Fru}$ (сахарозы). Выделите эфирные связи. Рассчитайте массовые и молярные доли элементов в дисахариде.

2. Напишите с помощью формул строения уравнение образования дисахарида $\alpha\text{Glc}-\alpha\text{Glc}$ (мальтозы). Выделите эфирные связи. Рассчитайте массовые и молярные доли элементов в дисахариде.

3. При кислотном гидролизе углевода трегалазы образуется только D-глюкоза. Представьте химическую формулу трегалазы, если при исчерпывающем метилировании (т.е. тогда, когда все OH-группы превращаются в $-\text{OCH}_3$) и дальнейшем кислотном гидролизе данного вещества образуется только один продукт — 2,3,4,6-тетраметилглюкоза.

4. Мышечная работа крыльев птиц почти полностью обеспечивается энергией за счет распада глюкозо-1-фосфата, который образуется при расщеплении накопленного в мышцах гликогена под действием гликоген-фосфорилазы. Скорость выработки энергии (в форме АТФ) во время полета птицы лимитируется скоростью распада гликогена. Рассчитайте возможное время полета, если известно, что в мышцах птицы содержится около 0,4 % масс. гликогена, а скорость его распада составляет 110 мкмоль/мин глюкозо-1-фосфата в расчете на 1 г массы мышц птицы.

Глава 6

1. Назовите структурные компоненты, играющие роль гидрофобных и гидрофильных групп, в каждом из указанных ниже мембранных липидов: а) фосфатидилэтаноламине; б) сфингомиелине; в) галактоцереброзиде; г) ганглиозиде; д) холестероле.

2. Объясните, какими свойствами липидов обусловлены такие свойства бислоев, как образование двумерных пленок и смыкание их краев. Каково биологическое значение этих свойств и как они связаны со структурой биологических мембран?

3. Почему липидный бислой клеточной мембраны предохраняет клетки от быстрой потери ионов K^+ , Mg^{2+} ?

4. Многие включенные в мембрану белки практически невозможно экстрагировать из мембраны в водный раствор. Однако если в раствор, используемый для экстракции, добавить додецилсульфат натрия ($[\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{OSO}_3^-\text{Na}^+]$) или холат натрия, или какой-либо другой детергент, эти белки удается выделить из мембраны и получить в растворенном виде. На каких свойствах белков основан описанный прием?

5. Назовите продукты, образующиеся при мягком гидролизе раствором NaOH соединений: а) 1-стеароил-2,3-дипальмотоилглицерола; б) 1-пальмотоил-2-олеилфосфатидилхолина.

6. Напишите с помощью формул строения уравнение образования триглицерида пальмитиновой кислоты. Выделите эфирные связи. Рассчитайте массовые и молярные доли элементов в липиде.

Глава 7

1. ДНК *E. coli* имеет молекулярную массу около $2,5 \cdot 10^9$. Средняя молекулярная масса пары нуклеотидов равна 660, вклад каждой пары нуклеотидов в общую длину молекулы ДНК составляет 0,34 нм. Рассчитайте длину молекулы ДНК *E. coli*. Вычислите чему равно максимальное число белков, которое может быть закодировано в молекуле ДНК *E. coli*, если белковая молекула *E. coli* состоит в среднем из 400 аминокислот? Сравните длину молекулы ДНК с размерами клетки. Каким образом молекуле таких размеров удастся разместиться в клетке?

2. Клетки *E. coli* имеют форму цилиндра высотой 2 мкм и диаметром 0,8 мкм. Сколько весит одна клетка *E. coli*, если в среднем ее плотность равна $1,1 \text{ г/см}^3$?

3. Толщина защитной клеточной стенки *E. coli* равна 10 нм. Какую долю (в процентах) общего объема бактерии (параметры клетки см. в задаче 2) составляет клеточная стенка?

4. *E. coli* быстро растет и размножается благодаря тому, что в ее клетке присутствует около 15 000 сферических частиц — рибосом диаметром 18 нм, осуществляющих синтез белков. Какая часть общего объема клетки (параметры клетки см. в задаче 2) приходится на долю рибосом?

Глава 8

1. Укажите, с недостаточностью каких витаминов связаны следующие заболевания: а) цинга; б) рахит; в) бери-бери; г) пеллагра.

2. Какая основная функция витаминов в организме?

3. Напишите формулу липоевой кислоты и поясните связывание этого соединения с белками.

4. К каким классам относятся следующие витамины: А, В₁₂, С, D, В₁, Р, РР(В₅)?

5. Охарактеризуйте биологическую роль железа в организме.

Глава 10

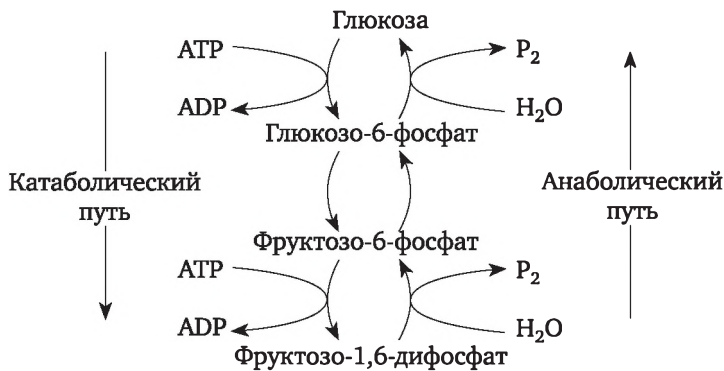
1. Вычислите изменение стандартной энергии Гиббса ΔG^0 следующих метаболически важных ферментативных реакций при 25 °С исходя из приведенных значений констант равновесия (рН 7,0):

а) Глутамат + Оксалоацетат $\xrightarrow{\text{аспаратаминотрансфераза}}$ Аспартат + α -Кетоглутарат, $K_p = 6,8$;

б) Дигидроксиацетонфосфат $\xrightarrow{\text{триозофосфатизомераза}}$ Глицеральдегид-3-фосфат, $K_p = 0,0475$;

в) Фруктозо-6-фосфат + АТФ $\xrightarrow{\text{фосфофруктокиназа}}$ фруктозо-1,6-дифосфат + АДФ, $K_p = 254$.

2. Выявите явные различия в процессе взаимопревращения глюкозы и фруктозо-1,6-дифосфата. В обмене углеводов эта последовательность реакций играет ключевую роль. Расщепление глюкозы представляет собой катаболический путь, а ее биосинтез из фруктозо-1,6-дифосфата — анаболический.



Напишите уравнения химического баланса для каждой из стаций катаболического пути. Напишите суммарное уравнение, представляющее собой результат сложения отдельных стадий. Прodelайте то же самое для анаболического пути. Укажите различия между катаболическим и анаболическим путями, проявляющиеся в их суммарных уравнениях. Можно ли считать, что каждый из этих путей является простым обращением другого? Чем обеспечивается направленность катаболизма глюкозы? Иными словами, что препятствует обращению этого процесса? Возможно ли, чтобы один и тот же фермент катализировал и катаболическую, и анаболическую реакции взаимопревращения глюкозы и глюкозо-6-фосфата?

3. Вычислите константы равновесия следующих реакций при pH 7,0 и температуре 25 °C, используя данные, приведенные в гл. 11:

- Глюкозо-6-фосфат + H₂O $\xrightarrow{\text{глюкозо-6-фосфатаза}}$ Глюкоза + фосфат;
- Лактоза + H₂O $\xrightarrow{\beta\text{-галактозидаза}}$ Глюкоза + Галактоза
- Малат $\xrightarrow{\text{фумараза}}$ фумарат + H₂O.

4. Используя значения ΔG^0 , приведенные в параграфе 11.4, вычислите константу равновесия для суммарной реакции Глюкозо-1-фосфат → Фруктозо-6-фосфат при 25 °C.

5. Вычислите константу равновесия реакции Глюкоза + Фосфат → Глюкозо-6-фосфат + H₂O ($\Delta G^0 = +16,0$ кДж/моль), если физиологические концентрации глюкозы и фосфата поддерживаются в клетке на уровне около 4,8 mM.

6. Вычислите значения ΔG^0 и константу равновесия для суммарной реакции Глюкоза + ATP → Глюкозо-6-фосфат + ADP, если процесс протекает по следующему пути:



$$(\Delta G^0 = +16,0 \text{ кДж/моль});$$



$$(\Delta G^0 = -30,22 \text{ кДж/моль}).$$

7. В цитозоле печени крысы стехиометрическое соотношение концентраций $\frac{[ATP]}{[ADP][P_i]} = 5,33 \cdot 10^2$. Вычислите количество свободной

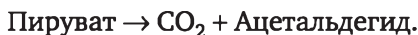
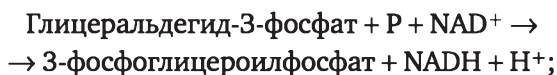
энергии, необходимой для синтеза АТФ в печени крысы.

8. Здоровый взрослый человек, масса которого составляет около 70 кг, должен ежедневно получать с пищей 8400 кДж. Вычислите энергию Гиббса, необходимую для синтеза АТФ в клетке печени человека при физиологических концентрациях АТФ, АДФ и P_i равных соответственно 3,5, 1,50 и 5,0 мМ. Вычислите (в весовых единицах) количество АТФ, утилизируемого за сутки организмом взрослого человека, если принять, что эффективность превращения заключенной в пище энергии в энергию АТФ равна 50 %.

9. На сколько времени хватает запаса АТФ в мышцах спринтеру, бегущему 100-метровую дистанцию, если концентрация АТФ в мышечной ткани (в которой около 70 % приходится на долю воды) равна приблизительно 8,0 мМ, а в периоды усиленной мышечной активности АТФ расходуется для мышечного сокращения со скоростью 300 мкмоль/мин на 1 г мышечной ткани?

Глава 11

1. Используя уравнения и зная химическую структуру каждого промежуточного продукта, выведите и запишите последовательность химических превращений (метаболический путь), из которых состоит процесс расщепления глицеральдегид-3-фосфата до этанола:



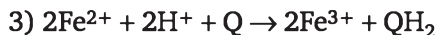
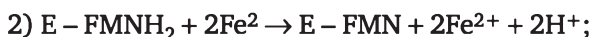
Напишите суммарное уравнение этого процесса и изобразите метаболический путь. Укажите, как связаны между собой отдельные части этого пути.

2. Напишите уравнения химического баланса для последовательности реакций, в ходе которых происходит расщепление D-глюкозы на две молекулы D-глицеральдегид-3-фосфата (первая стадия гликолиза). Для каждого уравнения укажите изменение стандартной свободной энергии. Напишите также суммарное уравнение первой стадии гликолиза и укажите суммарное изменение стандартной свободной энергии, соответствующее этой стадии.

3. Напишите уравнения химического баланса для последовательности реакций в процессе превращения глицеральдегид-3-фосфата в лактат (вторая стадия гликолиза). Напишите также суммарное уравнение для второй стадии гликолиза и укажите суммарное изменение стандартной свободной энергии для этой стадии.

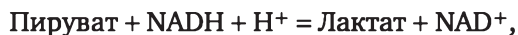
Глава 12

1. Укажите для каждой из приведенных ниже трех окислительно-восстановительных реакций, катализируемых NADH дегидрогеназным комплексом, а) донор электронов, б) акцептор электронов, в) сопряженную окислительно-восстановительную пару, г) восстановитель и д) окислитель:



(Fe^{3+} и Fe^{2+} — атомы железа железосерных центров; Q — убихинон; QH_2 — убихинол; E — фермент).

2. Стандартные восстановительные потенциалы двух сопряженных пар NAD^+/NADH и пируват/лактат равны соответственно $-0,32$ и $-0,19$ В. В каком направлении пойдет реакция



если в начальный момент времени концентрации исходных веществ и продуктов равны 1 М при pH 7? Чему равно изменение стандартной свободной энергии ΔG^0 для этой реакции при 25°C ? Чему равна константа равновесия этой реакции при той же температуре?

3. Ниже приведены стандартные восстановительные потенциалы E^0 ряда веществ, способных обратимо присоединять электроны:

E^0 (цитохром *b* (II)/цитохром *b* (III)) = $-0,06$ В;

E^0 (цитохром *f* (II) /цитохром *f* (III)) = $+0,365$ В;

E^0 (ферредоксин (*red*) / ферредоксин (*ox*)) = $-0,432$ В;

E^0 (ферредоксин — восстанавливающий субстрат (*red*)/ферредоксин — восстанавливающий субстрат (*ox*)) = $-0,60$ В;

E^0 (пластоцианин (*red*))/ (пластоцианин (*ox*)) = $+0,40$ В.

На каких этапах переноса выделение свободной энергии (в стандартных условиях) представляется недостаточным для того, чтобы на каждую пару переносимых электронов могла синтезироваться одна молекула АТФ?

4. Рассчитайте число молекул АТФ, образующихся при полном окислительном расщеплении (до CO_2 и H_2O) одной молекулы каждого из следующих субстратов: фруктозо-6-фосфат; ацетил-СоА; глицеральдегид-3-фосфат; сахараза.

5. Вычислите величины ΔE^0 и ΔG^0 для суммарной реакции митохондриального переноса электронов: $\text{NADH} + \text{H}^+ + 1/2\text{O}_2 = \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$. Сколько молекул АТФ теоретически может быть синтезировано за счет этой реакции, если изменение стандартной свободной энергии образования АТФ равно $+30,5 \text{ кДж/моль}$?

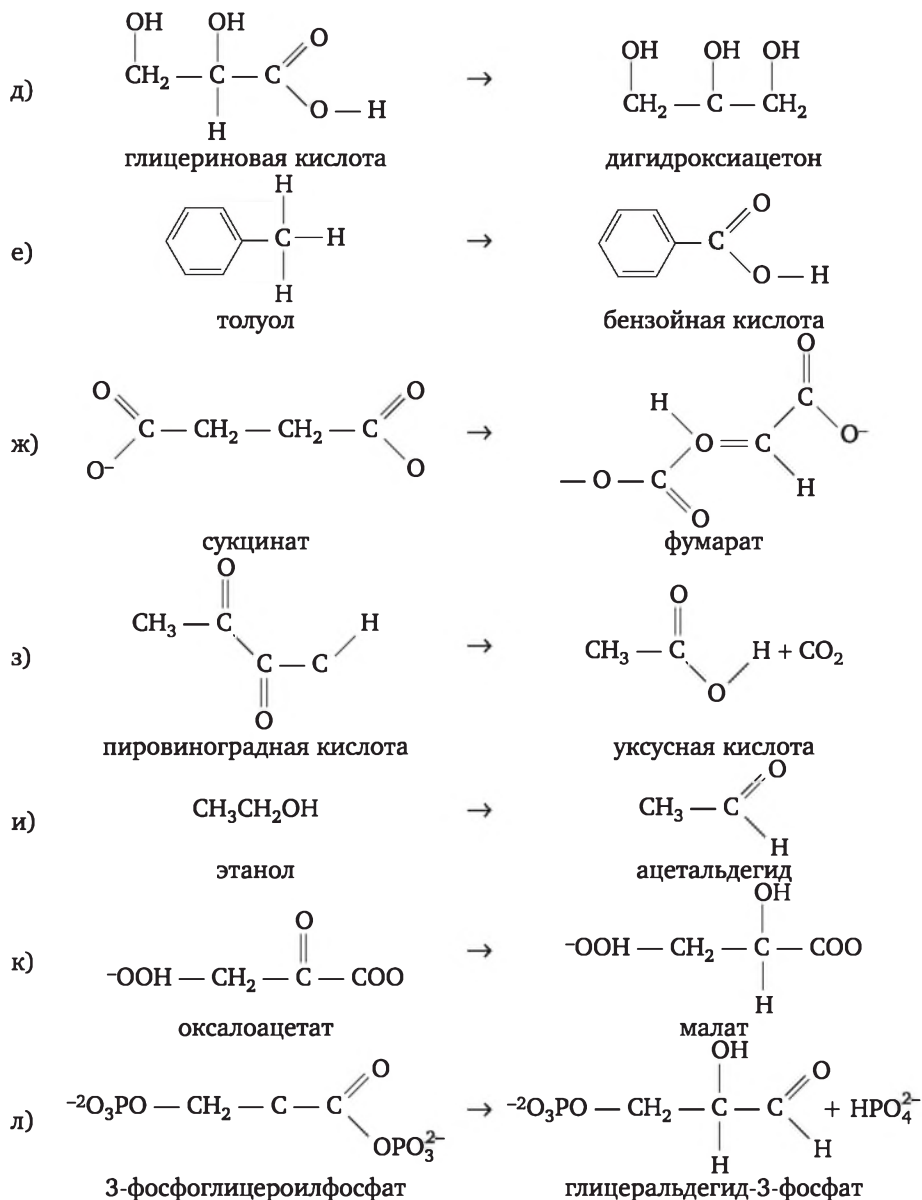
6. Исходя из сравнения величин E^0 сукцинат-фумаратной системы, сопряженной пары NAD^+/NADH ($E^0 = -0,32 \text{ В}$) и пары FAD/FADH_2 ($E^0 = +0,05 \text{ В}$), объясните, почему FAD является более подходящим акцептором электронов, чем NAD^+ , при дегидрировании сукцината.

7. Объясните известный эффект, названный эффектом Пастера: если в суспензию анаэробных клеток, потребляющих глюкозу с большой скоростью, ввести кислород, то клетки начнут его поглощать и уровень потребления глюкозы резко снизится. Почему в присутствии кислорода снижается скорость потребления глюкозы? Почему при введении в клеточную суспензию кислорода прекращается накопление лактата?

8. Напишите суммарное уравнение химического баланса для превращения ацетил-СоА в диоксид углерода.

9. Укажите, что именно происходит (окисление, восстановление или степень окисления вещества остается неизменной) в каждом из приведенных ниже метаболических превращений:





10. Предложите последовательность известных ферментативных реакций, результатом которых будет реальный синтез α-кетоглутарата из пирувата.

11. Напишите суммарное уравнение образования оксалоацетата из ацетил-CoA.

Глава 13

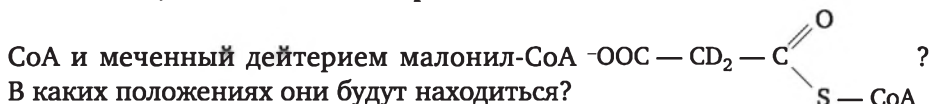
1. В чем заключается специфическая роль CO₂ в биосинтезе жирных кислот?

2. Напишите суммарное уравнение биосинтеза пальмитиновой кислоты в печени крысы, начиная с митохондриального ацетил-CoA и цитозольных NADPH, ATP и CO₂.

3. Сколько атомов дейтерия (тяжелого изотопа водорода) включится в каждую молекулу пальмитиновой кислоты, если в качестве субстратов использовать меченный дейтерием ацетил-CoA



и избыток немеченого малонил-CoA? В каких положениях они будут находиться? Сколько атомов дейтерия включится в каждую молекулу пальмитата, если в качестве субстратов использовать немеченый ацетил-

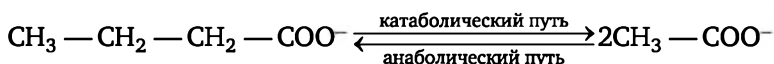


В каких положениях они будут находиться?

4. Исходя из суммарного уравнения биосинтеза трипальмитина из глицерола и пальмитиновой кислоты, подсчитайте, сколько молекул ATP требуется для образования одной молекулы трипальмитина.

5. Напишите последовательные этапы и суммарное уравнение для биосинтеза фосфатидилхолина по «спасательному» пути из олеиновой и пальмитиновой кислот, дигидроксиацетонфосфата и холина. Сколько молекул ATP потребуется для синтеза фосфатидилхолина этим способом, если начинать его с олеиновой кислоты, пальмитиновой кислоты и дигидроксиацетонфосфата?

6. Один оборот анаболического и катаболического циклов короткоцепочечных жирных кислот можно представить уравнением:



Сравните суммарные уравнения катаболического и анаболического путей. Являются ли они просто обратными реакциями по отношению друг к другу? В чем их различия? Какие специфические факторы позволяют этим путям идти независимо друг от друга?

Глава 14

1. Используя в качестве исходного субстрата пируват, укажите реакции, ведущие к образованию следующих соединений: а) аспарагиновой кислоты; б) молочной кислоты; в) этанола; г) ацетоуксусной кислоты; д) ацетона; е) аланина; ж) уксусной кислоты; з) глутаминовой кислоты; и) пропионовой кислоты; к) фосфоенолпирувата.

2. Назовите α-кетокислоты, образующиеся из перечисленных ниже аминокислот в реакции трансаминирования с α-кетоглутаратом. Напишите структурные формулы этих α-кетокислот: а) аспарагиновой; б) глутаминовой; в) аланина; г) фенилаланина.

3. Дайте аргументированный ответ на следующие вопросы:

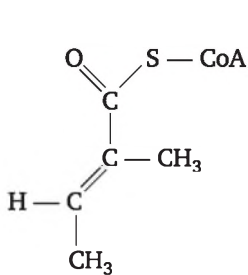
а) будут ли у человека обнаруживаться признаки недостаточности аспартата на рационе, который богат аланином, но беден аспартатом;

б) будут ли у человека обнаруживаться признаки недостаточности аспартата на рационе, который богат аспартатом, но беден аланином?

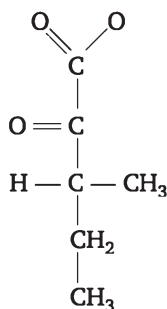
4. Количественный анализ мочи больного ребенка дал следующие результаты: фенилаланин 7,0 ммоль (против 0,01 ммоль в норме); фенилпируват 4,8 ммоль (против его отсутствия в норме); фениллактат 10,3 ммоль (против его отсутствия в норме). Жалобы: частая рвота после приема пищи. Ребенок отстает в весе и физическом развитии. Почему в моче в больших количествах появляется фенилаланин? Что служит источником образования фенилпирувата и фениллактата? Какой фермент, наиболее вероятно, неактивен? Предложите лечение для данного случая.

5. По степени окисления трех атомов углерода, входящих в молекулы лактата и аланина, эти соединения идентичны; в животном организме оба этих источника углерода могут служить метаболическим топливом. Сравните суммарные выходы АТР (число молей АТР, образовавшихся на 1 моль субстрата) при полном окислении (до CO_2 и H_2O) лактата и аланина, учитывая при этих расчетах расход АТР на выведение азота в форме мочевины.

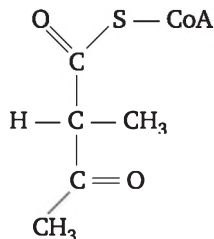
6. Ниже приведены промежуточные продукты расщепления изолейцина. Расположите их в надлежащей метаболической последовательности на основании того, что вам известно о цикле лимонной кислоты и об окислении жирных кислот. Для каждого из указанных выше этапов опишите химический процесс.



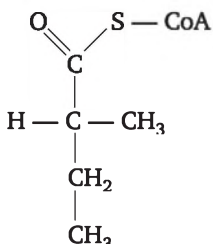
I



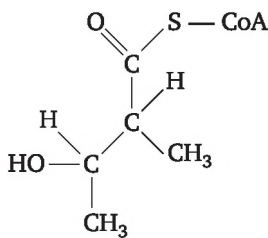
II



III



IV



V

7. Напишите отдельные сбалансированные уравнения и суммарное уравнение для окисления глутамата, при котором из 2 молей глутамата

6. Поясните: а) почему скорость фотосинтеза, измеряемая по выделению O_2 , при освещении зеленого растения светом с длиной волны 680 нм больше, чем при освещении светом с длиной волны 700 нм; б) почему освещение растения светом с той и другой длиной волны одновременно обеспечивает более высокую скорость фотосинтеза, чем освещение каждым светом в отдельности.

7. Стационарные концентрации АТФ, АДФ и Р, в изолированных хлоропластах шпината при полном освещении и рН 7 равны соответственно 120, 6 и 700 мкМ. Сколько требуется энергии Гиббса для синтеза 1 моля АТФ при этих условиях?

Приложение

Таблицы. Питание, пищеварение, выделение

Таблица П1

Рекомендуемое суточное потребление с пищей белка и энергии взрослыми людьми

Возраст, лет	Суточная норма белка, г/кг		Суточная норма энергии, ккал (кДж)	
	Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины
25	0,9	1,0	2600 (10 900)	2200 (9200)
45	0,9	0,9	2400 (10 000)	2200 (8400)
65	1,0	0,9	2200 (9200)	1800 (7500)

Примечание. Масса белка указана в г на 1 кг массы тела в сутки ($\pm 20\%$), энергия в ккал (кДж) в расчете на преобладание сидячего образа жизни. Для кормящих матерей в дополнение к указанным значениям следует добавлять 5 г белка на 100 г массы ребенка. (По Verbraucher-dienst, 1979; с изменениями.)

Составные части искусственного рациона, достаточного для питания человека*

Аминокислоты, г	6,330
Углеводы, г	
Глюкоза	24,0
Олигосахариды (получены ферментативно из кукурузного крахмала)	45,5
Всего:.....	69,5
Незаменимые жирные кислоты, г	
Сафлоровое масло.....	0,22
Витамины и прочие вещества, мг	
Витамин А (ацетат).....	0,287 (834 МЕ)
Витамин С, аскорбиновая кислота.....	11,7
Витамин D ₂	1,67 мг (67 МЕ)
Витамин Е, токоферол (ацетат)	3,33
Витамин В ₁₂ , цианкобаламин.....	0,83
Никотинамид, витамин РР	2,22
Витамин В ₆ , пиридоксин (гидрохлорид)	0,33
Витамин В ₂ , рибофлавин (натриевая соль 5-фосфорного эфира).....	0,2
Минеральные вещества, мг	
Хлорид натрия.....	978,0
Хлорид калия	672,0
Хлорид кальция.....	489,0

Оксид магния	43,2
Сульфат железа (II)	8,26
Ацетат меди (II)	1,03
Ацетат марганца (II)	2,09
Хлорид цинка	0,14
Иодид калия	0,03

*Приведенные значения соответствуют образованию 1225 кДж (300 ккал).
О потребности человека в витаминах см. табл. 3. МЕ — международные единицы.
(По Grimme, 1975; с изменениями.)

Потребление энергии человеком при различной физической деятельности, ккал (кДж)**

Пешеходная прогулка.....	50—200 (200—800)
Езда на велосипеде	100—300 (400—1200)
Поднятие тяжестей.....	200—400 (800—1600)
Бег на длинные дистанции.....	200—400 (800—1600)
Танцы	300—400 (1200—1600)
Футбол.....	400—500 (1600—2000)
Теннис.....	400—500 (1600—2000)
Плавание.....	200—600 (800—2400)
Тренировочный бег.....	500—1000 (2000—4000)
Бег на лыжах	400—800 (1600—3200)

**Указана энергия, выделяемая за час в результате основного обмена. Основной обмен 7200 кДж/сут (300 кДж/ч). (По Forster, 1980.)

Таблица П2

Состав различных продуктов питания и их энергетическая ценность в расчете на 100 г продукта. (По Documenta Geigy, 1975; с изменениями.)

Продукты питания	Вода	Белки	Жиры	Углеводы	Энергетическая ценность, ккал (кДж)
Апельсины	87,1	1,0	0,2	12,2	49 (205)
Арбузы	92,6	0,5	0,2	6,4	26(109)
Бананы	75,7	1,1	0,2	22,2	85 (356)
Виноград	81,4	0,6	0,3	17,3	67 (280)
Вишня	83,4	1,2	0,4	14,6	60 (251)
Земляника	89,9	0,7	0,5	8,4	37 (155)
Сливы	85,7	0,7	0,1	12,3	50(210)
Яблоки (сладкие)	84,0	0,3	0,6	15,0	58 (243)
Капуста белоко- чанная	92,1	1,4	0,2	5,7	25 (105)
Картофель	79,8	2,1	0,1	17,7	76 (318)
Лук репчатый	87,8	2,0	0,3	9,4	44 (184)
Морковь	88,6	1,1	0,2	9,1	40 (167)

Продукты питания	Вода	Белки	Жиры	Углеводы	Энергетическая ценность, ккал (кДж)
Огурцы	95,6	0,8	0,1	3,0	13 (55)
Помидоры	93,5	1,1	0,2	4,7	22 (92)
Свекла столовая	87,3	1,6	0,1	9,9	43 (180)
Фасоль белая	11,6	21,3	1,6	61,6	338 (1415)
Шпинат	90,7	3,2	0,3	4,3	26 (109)
Белые грибы	88,6	2,8	0,4	5,9	31 (130)
Грецкие орехи	3,5	14,8	64,0	15,8	651 (2725)
Лесные орехи	6,0	12,7	60,9	18,0	627 (2624)
Овсяные хлопья	10,3	13,8	6,6	67,6	387 (1620)
Пшеничная мука	12,6	12,1	2,1	71,5	331 (1385)
Ржаной хлеб	38,5	6,4	1,0	52,7	227 (950)
Мед	17,2	0,3	0,0	82,3	304 (1272)
Молочный шоколад	0,9	7,7	32,3	56,9	520 (2176)
Маргарин	19,7	0,5	78,4	0,4	698 (2921)
Масло сливочное	17,4	0,6	81,0	0,7	716 (1996)
Рыбий жир	0,0	0,0	99,9	0,0	901 (3771)
Свиное сало	1,0	0,0	99,0	0,0	901 (3771)
Яйца куриные	74,0	12,8	11,5	0,7	162 (678)
Молоко коровье	88,5	3,2	3,7	4,6	64 (268)
Сбитые сливки	64,1	2,2	30,4	2,9	288 (1205)
Творог нежирный	79,4	17,2	0,6	1,8	86 (360)
Говядина(филе)	75,1	19,2	4,4	0,0	122 (511)
Курица жареная	72,7	20,6	5,6	0,0	138 (578)
Свинина	71,2	18,6	9,9	0,0	168 (703)
Сазан, карп	72,4	18,9	7,1	0,0	145 (607)
Селедка	62,8	17,3	18,8	0,0	243 (1017)

Предметный указатель

Символы

3,4-дигидроксифенилаланин см. Дофа 230

5-фосфорибозил-1-пирофосфат 239

А.

Абсорбция 63

Авитаминоз (недостаток витаминов) 140

Автотрофные клетки 12

Адениловая кислота 245

Аденилосукцинат 245

Аденин 126

Аденозилдифосфат (ADP) 186

Аденозилмонофосфат (адениловая кислота) 128, 186, 245

— биосинтез 246

Аденозилтрифосфат (АТФ) 186

Аденозин 127

Адреналин 219

Азот

— круговорот в биосфере 13

— фиксация 12

Активаторы ферментов 86

Активный центр 84

Аланин 42

Аланинтрансаминаза 226

Алкалоз 38

Алкогольдегидрогеназа 191

Аллостерическое ингибирование 87

Альдегид(-ы) 24

Альдоза 103

Амид(-ы) 24

Аминогруппа 42

Аминокислоты

— алифатические 42

— анализ 52

— ароматические 43

— биосинтез 235

— гидрофильные 43

— глюкогенные 225

- дезаминирование 225
- заменимые 224
- кетогенные 225
- метаболизм 223, 224
- незаменимые 223
- структура 42
- трансаминирование 225

Аммиак

- выведение 231

Анаболизм 13, 171

Анаэробный гликолиз 191

Анаэробный гликолиз (окисление глюкозы) 191

Антиоксиданты 156

Аргинин 44, 223

Аспарагин 44

Аспарагиновая кислота 43, 233

АТФ (аденозилтрифосфат) 186

Ацетил-КоА (CoA) 252

Ацидоз 37

Ацил-КоА 208

Ацил-КоА-дегидрогеназа 210

Б.

Белки

- аминокислотная последовательность 57
- вторичная структура 66
- глобулярные 69, 72
- денатурация 69
- домены 68
- компоненты питания 172
- метаболизм 172
- первичная структура 66
- промежуточные 69
- простые 56
- свертывание 68
- синтез 55
- сложные 56
- структура 66
- третичная структура 66
- трехмерная структура 66
- функции 69
- четвертичная структура 66

Бери-бери (болезнь) 142

Биомембраны 115

Биосинтез белков 41

Биотехнология

- в медицине 271
- в промышленности 272
- в сельском хозяйстве 271
- микробного синтеза 274

Биотин 149

Бислойные липидные мембраны 122

Брожение

- молочнокислое 191
- спиртовое 191

Буферы

- в моче 39
- в плазме 35
- емкость 34
- растворы буферные 33
- системы буферные 33

В.

Валин 42

Величина pH

- в моче 38
- в плазме 36

Величина pK_a

- фосфорной кислоты 33

Величина pK_a

- аминокислот 48

Витамеры 140

Витамин(-ы)

- B_1 (тиамин) 141
- B_2 см. рибофлавин 142
- B_{12} (цианкобаламин) 146
- С (аскорбиновая кислота) 150
- D (кальциферол) 154
- H (биотин) 149
- K (филлохинон) 157
- A (ретинол) 153
- B_3 (пантотеновая кислота) 143
- B_6 (пиридоксин) 145
- B_c (фолиевая кислота) 148
- E (см. токоферол) 155
- PP (никотиновая кислота) 145

Витамины(-ы)

- водорастворимые (гидрофильные) 139
- жирорастворимые (липофильные) 139

Вода

- водно-солевой баланс 29
- водный баланс 27

Водород-ион H^+ (гидрид-ион) 29

Водородные связи

— в белках 67

— в ДНК 131

Восстановители 198

Восстановительный потенциал

— пары $NADP^+ \backslash NADPH$ 199

Вторичная структура

— белка 66

Высаливание 62

Г.

Галактоза 104

Гексозы 103

Гексокиназа 256

Гель-фильтрация 60

Гем 201

Гемоглобин 73

Генетический код 134

Гетеротрофные клетки 12

Гидрид-ион (водород-ион) 29

Гидрокарбонат-ион 31

— величина pH 36

— величина pK_a 33

Гидрокарбонатная буферная система 35

Гидроксид-ион 30

Гидролазы 81

Гидролиз 24

Гидрофосфат-ион см. моногидрофосфат-ион 33

Гипертонический раствор 28

Гистидин 44, 228

Гистоны 133

Гликоген 110, 260

— биосинтез 258

— в мышцах 261

— в печени 258

— запасной полисахарид 261

— структура 110

Гликоген-синтаза 260

Гликоген-фосфорилаза 261

Гликозидные связи 109

Гликолиз 188

— в анаэробных условиях 191

— в аэробных условиях 191

— энергетический баланс 192

Гликолипиды 110

Гликопротеины 110
Глицеральдегид-3-фосфат 189
Глицерин 114
Глицерол-3-фосфат 215
Глицин 42, 236
Глобулярные белки 69
Глутаматгидрогеназа 232
Глутаматдегидрогеназа 225, 235
Глутамин 44
Глутаминовая кислота 43
Глутаминовая кислота (глутамат) 224
Глюкагон
 — роль в регуляции 219
Глюкоза 103
 — анаэробное окисление 191
 — аэробное окисление 191
Глюкозо-6-фосфат 256
Глюконеогенез 255
Голофермент 76
Гомеостаз
 — водно-солевой 29
 — кислотно-основной 29
Гормоны
 — гормональная регуляция 219
Гуаниловая кислота 246
Гуанин 126
Гуанозинмонофосфат (ГМФ, гунилат) 128

Д.

Двойной липидный слой 122
Дегидрогеназы 202
Дезаминирование 225, 227
Дезоксирибоза 106, 124
Дезоксирибонуклеиновая кислота см. ДНК 124
Дезоксирибонуклеозид 127
Денатурация 70
Диабет 220, 221
Диализ 62
Дигидрофосфат-ион 33
Динуклеотид 130
Дипептид 56
Дисахариды
 — в питании 107
Диссоциация 30
ДНК
 — двойная спираль 132

- денатурация 136
- ДНК-полимеразы 135
- ренатурация 136
- репликация 135

ДНК-лигаза 136

ДНК-полимераза 135

Дофа (дигидроксифенилаланин) 230

Дыхательная цепь 200

Ж.

Железо 162

Желудочный сок 30

Жирные кислоты 112, 113

З.

Закон

- Аррениуса 96
- Бугера — Ламберта — Бера 63
- Гесса 181
- действующих масс для скорости 89
- Рауля 25
- термодинамики 1-й, 2-й 177

Заменимые аминокислоты 224

Запасание энергии 173, 183

- энергия Гиббса гидролиза 186

Зона буферного действия 34

И.

Изолейцин 43

Изомеразы 82

Изотонический раствор 28

Изоэлектрическая точка 45

Ингибиторы ферментов 86

Инозинмонофосфат 243

Инозиновая кислота 243

Инсулин 219

Иод 165

К.

Кальциферол 140

Кальциферол, витамин D 154

Катаболизм 13, 171

Каталитический центр ферментов 84

Квазихимическая модель роста 279

Кератин 71

Кетоз 214

Кетоза 103
Кетон(-ы) 24
Кислота(-ы) 24
Классы ферментов 79
Клетка 14
 — мембрана 115
Клеточная популяция 279
Кобальт 164
Кодон 135
Коллаген 71
Комплементарные основания 132
Константа
 — кислотно-основного равновесия 32
 — Михаэлиса 99
 — скорости реакции 89
Кофактор ферментов 75, 84
 — CoA 252
 — CoQ 200
Коэффициент экстинкции 64
Крахмал 109, 268
Креатинфосфат 187

Л.

Лактатдегидрогеназа 79
Лактоза 108
Лауриновая кислота 112
Лейцин 43
Лиазы 82
Лигазы 83
Лизин 43
Линолевая кислота 112
Липиды 111
Липопroteины 120

М.

Макроэлементы 22
Малатдегидрогеназа 196
Мальтоза 107
Манноза 104
Марганец 166
Медь 163
Меланин 230
Метаболизм 10
Метионин 43
Микроэлементы 22
Миоглобин 74

Митохондрия 200
Мицеллы 121
Молибден 168
Моногидрофосфат-ион 33
Моносахариды
— пинарозная форма 103
— фуранозная форма 103
Мочевина
— цикл 232

Н.

Никотинамидадениндинуклеотид (NAD/NADH) 130
Никотинамидадениндинуклеотидфосфат (NADP/NADPH) 130
Нингидрин 54
Нуклеозид 126
Нуклеозидтрифосфаты 247
Нуклеотиды 127
— биосинтез 128

О.

Окислитель 197
Окислительно-восстановительные реакции 24, 197
Окислительно-восстановительный потенциал 198
Окислительное
— декарбоксилирование 195
— фосфорилирование 196
Оксидоредуктазы 80
Олеиновая кислота 112
Осмометрический метод 61
Осмоз 27
Осмотическое давление 27

П.

Пальмитиновая кислота 112
Пальмитоолеиновая кислота 112
Пентозы 103
Пепсин 222
Пептидная связь 56
Первичная структура 66
Пероксидаза 76
Пиримидиновые нуклеотиды 247
Пируватдегидрогеназа 193
Пируваткарбоксилаза 191, 257
Пируваткиназа 76
Плавление ДНК 136
Плазмолиз 28

Пластохинон 264
Пластоцианин 264
Полипептиды 55
Праймер 136
Прокариоты 16
Пролин 45
Протеинкиназа 186

Р.

Рацемизация 41
Реакция
— простая 93
— сложная 93
Регуляция
— биосинтеза жирных кислот 214
— биосинтеза триацилглицеридов 215
Ренатурация 69
Репликация 125, 135
Ретинол 153
Рибоза 106, 124
Рибонуклеиновая кислота (РНК) 124
— матричная 125
— рибосомальная 125
— транспортная 125
Рибонуклеозид 127
Рибофлавин 142

С.

Сахароза 108
Селен 169
Серин 44, 227
Сиаловая кислота 119
Синтазы 82
Синтетазы 83
Сквален 220
Спектра поглощения 64
Спектроскопические методы 63
Спектрофотометр 64
Спиральная структура 67
Субстраты ферментативных реакций 83
Субъединица 68

Т.

Тетрагидрофолиевая кислота 236
Тиамин 139, 141
Тилакоиды 264

Тимин 126
Тиол(-ы) 24
Тирозин 43, 229
Титрование
— потенциометрическое 39
Токоферол 155
Трансаминазы 226
Транскрипция 125
Трансляция 125
Трансферазы 80
Треонин 44
Третичная структура 68
Трипсин 58
Триптофан 43
Тропоколлаген 71

У.

Убихинон 205
Уравнение
Гендерсона — Гассельбаха 33
— изотермы реакции 183
— Михаэлиса — Ментен 99
— Нернста 198
Урацил 126
Уридинмонофосфаты 128

Ф.

Фенилаланин 43, 228
Ферменты 75
— активный центр 84
— классы 79
— подклассы 79
Ферредоксины 266
Фибриллярные белки 69, 70
Фибриноген 69
Физиологический раствор 28
Флавинадениндинуклеотид 202
Флавинмононуклеотид 202
Флавопротеиды 202
Фолиевая кислота 148, 237
Фосфатаза 257
Фосфатидилхолин 219
Фосфатидная кислота 117, 217
Фосфолипиды 116, 218
Фосфоенолпируват 257
Фосфолипиды 115, 116

Фосфорилирование 186
Фосфорная кислота 33
Фотосинтез 263
Фотосистема I 264
Фотосистема II 264
Фруктоза 105

Х.

Хлоропласты 264
Хлорофилл 264, 265
Холестерин 120, 219, 221
Хром 168
Хроматография 51
— афинная 60
— гель-фильтрация 60

Ц.

Цвиттер-ион 42
Целлюлоза 109
Цикл
— Кальвина 267
— Кребса (трикарбоновых кислот) 188
— мочевины 232
Цинк 167
Цистеин 45, 227
Цитидинмонофосфат 128
Цитозин 126
Цитохромы 201, 205

Ч.

Четвертичная структура 68

Э.

Электрофорез 50
— белков 59
Энергия
— активации 96
— внутренняя 176
— Гиббса 180, 184
Эритроциты 191
Этерификация (реакция) 24
Эукариотические клетки 16
Эфиры 24

Я.

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) 66

Ядро клетки 17

α .

α -спираль 66

β .

β -слои (складки) 66

A.

ADP см. аденозилдифосфат 186

Рекомендуемая литература

Основная

1. Ершов, Ю. А. Основы биохимия для инженеров / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева. — М. : Изд-во МГТУ, 2010.
2. Ершов, Ю. А. Общая биохимия и спорт / Ю. А. Ершов. — М. : Изд-во МГУ, 2012.
3. Ершов, Ю. А. Общая химия / Ю. А. Ершов [и др.]. — М., 2011—2013.
4. Ленинджер, А. Основы биохимии / А. Ленинджер. — М. : Мир, 1985.
5. Николаев, А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. — М. : Медицинское информационное агентство, 2004.
6. Биохимия с упражнениями и задачами / под ред. Е. Н. Северина. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2008.
7. Строев, Е. А. Биологическая химия / Е. А. Строев. — М. : Высшая школа, 1986.
8. Флорентьев, В. Л. Биохимия / В. Л. Флорентьев. — М., 2004.
9. Березов, Т. Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. — М. : Медицина, 1998.

Дополнительная

1. Доусон, Р. Справочник биохимика / Р. Доусон [и др.]. — М. : Мир, 1991.
2. Ершов, Ю. А. Общая химия / Ю. А. Ершов [и др.]. — 8-е изд. — М. : Высшая школа, 2009.
3. Ершов, Ю. А. Кинетика и термодинамика биохимических и физиологических процессов / Ю. А. Ершов [и др.]. — М. : Медицина, 1990.
4. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем. — М. : Мир, 2004.
5. Основы общей биологии / под ред. Э. Либберт. — М. : Мир, 1982.
6. Румянцев, Е. В. Химические основы жизни / Е. В. Румянцев, Е. В. Антина, Ю. В. Чистяков. — М. : Химия, 2007.
7. Хмелевский, Ю. В. Основные биохимические константы человека в норме и при патологии / Ю. В. Хмелевский, О. К. Усатенко. — Киев : Здоровье, 1987.
8. Публичная электронная библиотека. — URL: <http://www.plib.ru/library>.
10. Bohler et al. BMC Bioinformatics (2015) 16:267.

Новые издания по дисциплине «Биохимия» и смежным дисциплинам

1. Биохимия растений: вторичный обмен : учеб. пособие для вузов / Г. Г. Борисова, А. А. Ермошин, М. Г. Малева, Н. В. Чукина ; под общ. ред. Г. Г. Борисовой. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

2. Биохимия человека : учеб. пособие для вузов / Л. В. Капилевич, Е. Ю. Дьякова, Е. В. Кошельская, В. И. Андреев. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

3. Бутлеров, А. М. Введение к полному изучению органической химии / А. М. Бутлеров. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

4. Гавронская, Ю. Ю. Коллоидная химия : учебник и практикум для академического бакалавриата / Ю. Ю. Гавронская, В. Н. Пак. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

5. Ершов, Ю. А. Биохимия : учебник и практикум для академического бакалавриата / Ю. А. Ершов, Н. И. Зайцева ; под ред. С. И. Щукина. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

6. Ершов, Ю. А. Биохимия человека : учебник для академического бакалавриата / Ю. А. Ершов. — 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

7. Ершов, Ю. А. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов. В 2 кн. : учебник для вузов / Ю. А. Ершов, В. А. Попков, А. С. Берлянд. — 10-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

8. Ершов, Ю. А. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов. : учебник для вузов / Ю. А. Ершов, В. А. Попков, А. С. Берлянд ; под ред. Ю. А. Ершова. — 10-е изд., перераб. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2016.

9. Каминский, В. А. Органическая химия. В 2 ч. : учебник для академического бакалавриата / В. А. Каминский. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

10. Капилевич, Л. В. Физиология человека. Спорт : учеб. пособие для прикладного бакалавриата / Л. В. Капилевич. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

11. Комов, В. П. Биохимия. В 2 ч. : учебник для академического бакалавриата / В. П. Комов, В. Н. Шведова ; под общ. ред. В. П. Комова. — 4-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

12. Кривенцев, Ю. А. Биохимия: строение и роль белков гемоглобинового профиля : учеб. пособие для академического бакалавриата /

Ю. А. Кривенцев, Д. М. Никулина. — 2-е изд., перераб. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

13. Новокшанова, А. Л. Биохимия для технологов. В 2 ч. : учебник и практикум для академического бакалавриата / А. Л. Новокшанова. — 2-е изд., испр. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

14. Новокшанова, А. Л. Органическая, биологическая и физколлоидная химия. Практикум : учеб. пособие для академического бакалавриата / А. Л. Новокшанова. — 2-е изд., испр. и доп. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

15. Общая и неорганическая химия. Лабораторный практикум : учеб. пособие для вузов / И. Б. Аликина [и др.]. — М. : Издательство Юрайт, 2019.

16. Стефанов, В. Е. Биоинформатика : учебник для академического бакалавриата / В. Е. Стефанов, А. А. Тулуб, Г. Р. Мавропуло-Столяренко. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

17. Фоминых, В. Л. Органическая химия и основы биохимии. Практикум : учеб. пособие для вузов / В. Л. Фоминых, Е. В. Тарасенко, О. Н. Денисова. — М. : Издательство Юрайт, 2018.

Наши книги можно приобрести:

Учебным заведениям и библиотекам:

в отделе по работе с вузами

тел.: (495) 744-00-12, e-mail: vuz@urait.ru

Частным лицам:

список магазинов смотрите на сайте urait.ru

в разделе «Частным лицам»

Магазинам и корпоративным клиентам:

в отделе продаж

тел.: (495) 744-00-12, e-mail: sales@urait.ru

Отзывы об издании присылайте в редакцию

e-mail: gred@urait.ru

**Новые издания и дополнительные материалы доступны
на образовательной платформе «Юрайт» urait.ru,
а также в мобильном приложении «Юрайт.Библиотека»**

Учебное издание

**Ершов Юрий Алексеевич,
Зайцева Наталья Ильинична**

БИОХИМИЯ

Учебник и практикум для вузов

Под редакцией *С. И. Щукина*

Формат 70×100 1/16.

Гарнитура «Charter». Печать цифровая.

Усл. печ. л. 25,06

ООО «Издательство Юрайт»

111123, г. Москва, ул. Плеханова, д. 4а.

Тел.: (495) 744-00-12. E-mail: izdat@urait.ru, www.urait.ru